



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

LORENA LIMÃO VIEIRA

**ADIÇÃO DE ÁCIDO ESTEÁRICO E SURFACTANTE EM FILMES ELABORADOS
COM PROTEÍNAS MIOFIBRILARES OBTIDAS DE CORVINA**
(Micropogonias furnieri)

BELÉM

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

LORENA LIMÃO VIEIRA

**ADIÇÃO DE ÁCIDO ESTEÁRICO E SURFACTANTE EM FILMES ELABORADOS
COM PROTEÍNAS MIOFIBRILARES OBTIDAS DE CORVINA
(*Micropogonias furnieri*)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço

BELÉM
2017

Dados Internacionais de Catalogação na
Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da
Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos
pelo(a) autor(a)

- V657a Vieira, Lorena Limão
 Adição de ácido esteárico e surfactante em filmes elaborados com proteínas
 miofibrilares obtidas de corvina (*Micropogonias furnieri*) / Lorena Limão Vieira. — 2017
 91 f. : il. color
- Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
 (PPGCTA), Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.
 Orientação: Profa. Dra. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço
1. Filme biodegradável . 2. Proteínas miofibrilares. 3. Subproduto de peixe. 4. Ácido
 esteárico. 5. Surfactante SDS. I. Lourenço, Lúcia de Fátima Henriques , *orient.* II. Título
-

CDD 664.09



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

LORENA LIMÃO VIEIRA

DATA DA AVALIAÇÃO: ____ / ____ / _____

CONCEITO: _____

Banca examinadora:

Prof^ª. Dra. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço
FEA/ITEC/UFPA - Orientadora

Prof. Dra. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele
IFPA/Campus Castanhal – Membro Interno

Prof. Dr. Éder Augusto Furtado Araujo
FEA/ITEC/UFPA – Membro Externo

Prof. Dr. Antônio Manoel da Cruz Rodrigues
FEA/ITEC/UFPA – Membro Interno - Suplente

BELÉM
2017

*Aos meus pais Olivar e Zinalva (in memoriam), por todo sacrifício, amor e princípios passados. Aos meus irmãos Alexandre e Luciana, por se preocuparem constantemente com meu futuro e por me amarem cada um à sua forma.
Com amor dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Santíssima Trindade por me amar primeiro e a Nossa Senhora por todo cuidado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal do Pará (UFPA) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

A minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Lúcia Lourenço, por ter me apoiado e incentivado a voltar pra vida acadêmica, pelo carinho, ensinamentos, críticas e por toda orientação dispensada ao longo de toda minha vida como discente da UFPA. Saiba que lhe serei sempre grata.

Aos membros da banca examinadora, Prof.^a Dra. Regina Joele, Prof. Dr. Eder Araújo e Prof. Dr. Antônio Rodrigues, meus sinceros agradecimentos por toda colaboração e atenção dispensada.

Ao Prof. Dr. Rosinelson Pena por ser sempre pronto e atencioso em tirar minhas dúvidas, ao Pesquisador Dr. Marcos Enê pelas análises mecânicas e ao Laboratório Nanomanipulação do Programa de Pós Graduação de Física da UFPA pelas análises de MEV e DRX, nas pessoas da Grazi, Lia e Kelly. Ao Laboratório de Cromatografia do Programa de Pós-Graduação em Geologia e Geoquímica (PPGG) do Instituto de Geociências da UFPA na pessoa de Liliane Silva. Meus sinceros agradecimentos.

A todos da família LAPOA. Em especial, as amigas Cleidiane Araújo e Jaira Batista por todo auxílio, amizade, conhecimento compartilhado e apoio nas horas difíceis.

Aos demais amigos do LAPOA, em especial a Wagner Barreto, Milena Passo, Eleda Xavier, Natácia Silva, Arlen Victor, Gláucia e Gleice Pereira, agradeço pelo apoio, incentivo e amizade.

Às estagiárias do JK, Maria, Rafaela, Joseane e Socorro por toda ajuda no laboratório, risadas e amizade.

Ao Ministério Universidades Renovadas por ser como piscina de siloé na minha vida, em especial aos amigos Rafael Rosa, José Augusto, Leonardo Miranda, Shirley Souza, Sanny Assis, Rayane Alves e Matheus Rolemberg.

Aos amigos do PPGCTA, em especial a Samíria Santos, Alessandra Lisboa, Adriano de Araújo, Jean Araújo, Rayane Vieira, Victor Nascimento, Sérgio Henrique, Yamila Alves e Elaine de Souza, pela amizade e apoio.

Ao meu namorado Edmilson Santos, por todo apoio, carinho, cumplicidade, paciência, amor e companheirismo. Esse suporte emocional me ajudou a vencer os desafios.

Ao meu padrinho Roberto Célio Limão por todo incentivo, conselhos e pela constante preocupação com meu crescimento profissional.

MUITO OBRIGADA!

*Um pouco de ciência nos afasta de Deus.
Muito, nos aproxima. (Louis Pasteur)*

*O coração do homem planeja o seu caminho,
mas é Deus que dirige seus passos.
(Provérbios 16, 9)*

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Corvina: <i>Micropogonias furnieri</i> (Desmarest, 1823).....	13
FIGURA 2	Representação gráfica de uma micela de surfactante resultando uma gota de óleo.....	20
FIGURA 3	Ilustração do processo de micelização do SDS em solução aquosa.....	21
FIGURA 4	Estrutura química do SDS.....	22
FIGURA 5	Filés de corvina (1) e as aparas da filetagem (2).....	27
FIGURA 6	Proteínas miofibrilares liofilizadas de corvina.....	28
FIGURA 7	Superfície de resposta e curva de nível mostrando o efeito do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Ácido Esteárico (AE) (a); do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (b) e do Ácido Esteárico (AE) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (c), na permeabilidade ao vapor de água ($\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) do filme de proteínas miofibrilares de corvina.....	44
FIGURA 8	Superfície de resposta e curva de nível mostrando o efeito do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Ácido Esteárico (AE) (a); do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (b) e do Ácido Esteárico (AE) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (c), na resistência atração (MPa) do filme de proteínas miofibrilares de corvina.....	46
FIGURA 9	Superfície de resposta e curva de nível mostrando o efeito do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Ácido Esteárico (AE) (a); do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (b) e do Ácido Esteárico (AE) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (c), na elongação (%) do filme de proteínas miofibrilares de corvina.....	48
FIGURA 10	Perfis de valores preditos e desejabilidade para as respostas PVA, RT e E.....	50
FIGURA 11	Filme controle com 2,84% PM e 30% glicerol (1) e filme otimizado com 2,84% PM, 30% glicerol, 3,18% AE e 78,41% SDS (2).....	58
FIGURA 12	Curvas de TG e TDA para o filme controle (a) e para o filme otimizado (b).....	61
FIGURA 13	Difratograma do filme de proteínas miofibrilares de corvina.....	63

FIGURA 14	Microfotografias da superfície do filme controle: A: 65x, B: 705x e C:10.000x, respectivamente.....	64
FIGURA 15	Microfotografias da superfície do filme otimizado: A: 707x, B \cong 5000x e C:10.000x, respectivamente.....	64

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Composição físico química da Corvina: <i>Micropogonias furnieri</i> (Desmarest, 1823) inteira.....	13
TABELA 2	Algumas propriedades químicas e físicas do ácido esteárico.....	19
TABELA 3	Planejamento fatorial completo composto central rotacional (2^3) com valores reais e codificados.....	30
TABELA 4	Composição físico química da matéria prima <i>in natura</i> e das proteínas miofibrilares liofilizadas da corvina (<i>Micropogonias furnieri</i>)*.....	37
TABELA 5	Matriz codificada do planejamento fatorial completo 2^3 para a otimização do filme de proteínas miofibrilares de corvina.....	38
TABELA 6	Estimativa dos efeitos das variáveis associada à significância para cada resposta estudada.....	39
TABELA 7	Modelo reduzido para PVA, Resistência à tração e Elongação, em função das variáveis independentes, teste F, R^2 e P.....	39
TABELA 8	Condições de desejabilidade (d_i) das variáveis respostas durante a otimização da produção dos filmes.....	49
TABELA 9	Valores preditos pela função desejabilidade e verificação experimental.....	51
TABELA 10	Caracterização mecânica, física, de barreira e cor do filme controle e do filme otimizado.....	51
TABELA 11	Transmissão de luz e transparência do filme controle e otimizado.....	57
TABELA 12	Eventos térmicos relacionados à análise termogravimétrica do filme controle e otimizado.....	62

LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1	Equação do rendimento do músculo de peixe.....	29
EQUAÇÃO 2	Equação de α	30
EQUAÇÃO 3	Equação polinomial.....	31
EQUAÇÃO 4	Equação de resistência à tração (RT).....	32
EQUAÇÃO 5	Equação da porcentagem de alongação (E).....	32
EQUAÇÃO 6	Equação para o cálculo da permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	33
EQUAÇÃO 7	Equação do cálculo da transparência do filme utilizando o método ASTM D1746.....	34
EQUAÇÃO 8	Equação do cálculo da diferença total de cor (ΔE^*) do filme.....	34

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE EQUAÇÕES	11
1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 GERAL.....	11
2.2 ESPECÍFICOS	11
3 REVISÃO DE LITERTURA	12
3.1 SUBPRODUTOS GERADOS NA INDÚSTRIA PESQUEIRA.....	12
3.2 CORVINA: <i>Micropogonias furnieri</i> (Desmarest, 1823)	13
3.3 PROTEÍNAS DE PEIXE	14
3.4 FILMES.....	15
3.5 EMULSÃO E FILMES EMULSIONADOS	17
3.6 ÁCIDOS GRAXOS.....	18
3.7 SURFACTANTES	20
3.7.1 Concentração Micelar Crítica (CMC)	21
3.7.2 Balanço Hidrofílico e Lipofílico (BHL)	21
3.7.3 Dodecil Sulfato de Sódio [SDS (BHL=40)]	22
3.8 PROPRIEDADES DOS FILMES	23
3.8.1 Espessura	23
3.8.2 Propriedades mecânicas	23
3.8.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	23
3.8.4 Solubilidade e intumescimento	24
3.8.5 Transmissão de luz e transparência	24
3.8.6 Cor	24
3.8.7 Análises térmicas	25
3.8.8 Difração de Raio-X (DRX)	25
3.8.9 Caracterização microscópica da superfície do filme	26
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 MATERIAL	27
4.1.1 Matéria-prima	27

4.2 MÉTODOS.....	28
4.2.1 Pré-tratamento da matéria-prima.....	28
4.2.2 Obtenção das proteínas miofibrilares.....	28
4.2.3 Caracterização da matéria proteica.....	29
4.2.4 Definição das condições ótimas no processo de obtenção do filme.....	29
4.2.5 Elaboração dos filmes.....	31
4.2.6 Caracterização do filme.....	32
4.2.6.1 Espessura.....	32
4.2.6.2 Propriedades mecânicas.....	32
4.2.6.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	32
4.2.6.4 Solubilidade e intumescimento.....	33
4.2.6.5 Transmissão de luz e transparência.....	33
4.2.6.6 Cor.....	34
4.2.6.7 Análises térmicas: Análise Térmica Diferencial e Termogravimétrica (DTA/TGA).....	34
4.2.6.8 Difração de Raio-X (DRX).....	34
4.2.6.9 Caracterização microscópica da superfície do filme.....	35
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
6.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PROTEICA.....	37
6.2 CONDIÇÕES PARA OTIMIZAÇÃO DO FILME.....	38
6.3 ESTIMATIVA DOS COEFICIENTES DOS MODELOS.....	39
6.4 GRÁFICOS DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	43
6.4.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	43
6.4.2 Resistência à tração (RT).....	Erro! Indicador não definido.
6.4.3 Elongação (E).....	47
6.5 DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES ÓTIMAS DE PROCESSO: FUNÇÃO DESEJABILIDADE.....	49
6.6 CARACTERIZAÇÃO DO FILME OTIMIZADO.....	51
6.6.1 Espessura.....	52
6.6.2 Propriedades mecânicas: força na ruptura, resistência à tração e alongação.....	53
6.6.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	54
6.6.4 Solubilidade e intumescimento.....	55
6.6.5 Transmissão de luz e transparência.....	57
6.6.6 Cor.....	59

6.6.7	Análises térmicas: termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA) ..	60
6.6.8	Difração de Raio-X (DRX)	62
6.6.9	Caracterização microscópica da superfície do filme	64
7	CONCLUSÃO	66
8	REFERÊNCIAS	67

RESUMO

O interesse em filmes biodegradáveis como embalagens de alimentos é uma tendência mundial que tem aumentado de modo significativo nos últimos anos. As proteínas miofibrilares, particularmente as de peixe, vem ganhando interesse na tecnologia de filmes. Os filmes elaborados a partir de polissacarídeos ou proteínas apesar de possuírem excelentes propriedades mecânicas e ópticas, apresentam alta permeabilidade ao vapor de água (PVA). A incorporação de substâncias hidrofóbicas, como o ácido esteárico na solução filmogênica é uma alternativa para aumentar as propriedades de barreira ao vapor d'água do filme. Mas para facilitar a incorporação do lipídeo na matriz proteica, é necessária a adição de surfactante, que são substâncias capazes de interagir com a proteína e com o ácido graxo. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes de proteínas miofibrilares obtidas a partir de subprodutos do processamento da corvina (*Micropogonias furnieri*) utilizando dodecil sulfato de sódio (SDS) e ácido esteárico (AE), visando melhorar as propriedades tecnológicas do filme. Foi realizada a caracterização do subproduto e das proteínas miofibrilares liofilizadas (PM) que apresentou elevado teor proteico (96,03% b.s.), importante para a formação da matriz biopolimérica. Realizou-se um planejamento fatorial completo para definir a região de melhores propriedades mecânicas, física e de barreira dos filmes. O filme otimizado foi elaborado com 2,84% PM, 3,18% AE, e 78,41% SDS e 30% de glicerol. As concentrações de AE e SDS provocaram significativamente a diminuição de PVA, alcançando $5,87E-11 \text{ g m m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, representando uma redução de 31% quando comparado ao filme controle. As propriedades mecânicas do filme apresentaram excelentes resultados de alongação (235,60%) e resistência a tração (6,35Mpa), indicando filmes fortes e flexíveis. Os valores de transparência foram elevados, indicando tendência ao opaco e de tom amarelado, no entanto, com excelentes propriedades de barreira UV podendo ser utilizado em alimentos sensíveis à luz. O filme otimizado também apresentou boa estabilidade térmica e a microestrutura revelou mudança estrutural na matriz filmogênica, em relação ao controle, com presença de ranhuras e protuberâncias na superfície, confirmados pela difração de raio-x, que indicou a influência do SDS e AE na cristalinidade do filme. Observou-se aumento de 22% na solubilidade e ligeira diminuição do intumescimento do filme otimizado em relação ao controle.

Palavras-chave: filme, proteínas miofibrilares, subproduto de peixe, ácido esteárico, SDS.

ABSTRACT

The interest in biodegradable films as food packaging is a worldwide trend that has increased significantly in recent years. The myofibrillar proteins, particularly fish ones, have been gaining interest in film technology. The films made from polysaccharides or proteins have excellent mechanical and optical properties, but these films have a high water vapor permeability (WVP). The incorporation of hydrophobic substances, such as stearic acid, into the film-forming solution, is an alternative to increase the barrier properties of the film to water vapor. But to facilitate the incorporation of the lipid in the protein matrix, it is necessary to add surfactant, which are substances capable of interacting with the protein and the fatty acid. The objective of this work was to develop and characterize films of myofibrillar proteins obtained from corvina waste (*Micropogonias furnieri*) using glycerol as plasticizer, sodium dodecyl sulfate (SDS) as surfactant and stearic acid (SA) as lipid, to improve the technological properties of the film. The characterization of the waste and lyophilized myofibrillar proteins (MP) was performed, indicating that the raw material had a high protein content (96.03% b.s.), important for the formation of the biopolymer matrix. A complete factorial planning was done to define the region of better mechanical, physical and barrier properties of films. The optimized biofilm was prepared with 2.84% MP, 3.18% SA, and 78.41% SDS and 30% glycerol. Concentrations of SA and SDS significantly reduced the WVP, reaching $5.87E-11 \text{ g m m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, representing a reduction of 31% when compared to the control biofilm. The mechanical properties of the optimized biofilm were favored, presenting 235.60% of elongation and 6.35 MPa of tensile strength producing stronger and more flexible films. The values of transparency were high, indicating tendency to opaque and yellowish tone, however, with excellent UV barrier properties and it can be used in light sensitive foods. The optimized film also presented good thermal stability and the microstructure revealed a structural change in the filmogenic matrix, in relation to the control, with presence of grooves and protuberances on the surface, confirmed by X-ray diffraction, which indicated the influence of SDS and SA on crystallinity of the film. A 22% increase in solubility and a slight decrease in the swelling of the optimized film were observed.

Keywords: film, myofibrillar proteins, fish byproduct, stearic acid, SDS.

1 INTRODUÇÃO

Uma grande quantidade de subprodutos, tais como peles, escamas e aparas, são geradas durante o processo de produção de filés de peixe, causando poluição ao meio ambiente quando não utilizados corretamente ou de forma responsável. Os subprodutos do pescado apresentam considerável valor nutricional que viabilizam a aplicação de tecnologias para a elaboração de co-produtos de qualidade, minimizando o impacto ambiental. Uma alternativa tecnológica que pode ser aplicada é a elaboração de filmes (ou filmes biodegradáveis), a partir do aproveitamento desses resíduos de grande valor biológico.

As proteínas miofibrilares, particularmente as de peixe, vem ganhando interesse na tecnologia de filmes (SOUZA et al., 2004; ROSTAMZAD et al., 2016) e estão entre os biopolímeros naturais mais utilizados, pois são provenientes de fontes renováveis e capazes de formar matriz contínua e coesa (ZAVAREZE et al., 2012). Vários estudos revelaram que filmes podem ser elaborados a partir de proteínas de peixe e apresentarem boas propriedades tecnológicas (CHINABHARK et al., 2007; PRODPRAN et al., 2007; ARTHARN et al., 2009; LIMPAN et al., 2010; ZAVAREZE et al., 2012; ZAVAREZE et al., 2014; PHAKAWAT et al., 2015; TAO et al., 2015; WENG; ZHENG, 2015; KAEWPRACHU et al., 2016; ROSTAMZAD et al., 2016).

A utilização de filmes biodegradáveis como embalagens de alimentos é uma tendência mundial que tem aumentado de modo significativo nos últimos anos, motivando estudos relacionados ao desenvolvimento e caracterização destes filmes (KHWALDIA et al, 2010). Filmes biodegradáveis são obtidos a partir de materiais biológicos e agem como barreira a elementos externos, protegendo os produtos embalados de danos físicos e biológicos, diminuem a volatilização de compostos e a perda de umidade, aumentando a vida útil do produto.

Filmes elaborados a partir de proteínas possuem excelentes propriedades mecânicas e ópticas e são boas barreiras ao O₂ e CO₂ em ambientes com baixa umidade relativa, porém, na presença de alta umidade há susceptibilidade do filme em absorver umidade, o que não é tecnologicamente viável (GALLO et al., 2000; DAVANÇO et al., 2007). A propriedade de barreira ao vapor de água é considerada uma das mais importantes, pois dependendo da taxa de transferência do vapor de água, podem ser iniciados processos de deterioração nos alimentos embalados (BRAZEIRO et al., 2014).

Filmes compostos ou de duas camadas estão sendo pesquisados para melhorar as características de permeabilidade, força, flexibilidade e valor nutricional. Quando se adiciona

um componente hidrofóbico à suspensão formadora do filme, produzem-se filmes compostos, nos quais o componente lipídico atua como barreira ao vapor de água e a proteína ou polissacarídeo fornecem as características mecânicas necessárias a um bom filme e a barreira ao oxigênio (ANKER et al., 2001). Lipídios podem ser incorporados na formulação de filmes protéicos na forma de filmes emulsionados ou bicamada, quando o lipídio é aplicado sobre a camada de filme protéico (GALLO et al., 2000).

Entre os materiais lipídicos estudados, as ceras, os ácidos graxos saturados de cadeia longa e o álcool graxo foram os mais efetivos em promover propriedades de barreira à umidade em filmes de hidrocolóides (YANG; PAULSON, 2000). Porém, agentes emulsionantes ou surfactantes são frequentemente necessários para melhorar a estabilidade das partículas de lipídios na matriz proteica. Os surfactantes ou agentes tenso-ativos são compostos que apresentam atividade na superfície da interface entre duas fases, tais como ar-água, óleo-água, e na superfície de sólidos, devido possuírem duas regiões distintas na mesma molécula: uma região polar hidrofílica e outra região não-polar hidrofóbica (DAVANÇO et al., 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes de proteínas miofibrilares obtidas de subprodutos (aparas) do processamento da corvina (*Micropogonias furnieri*) utilizando glicerol como plastificante, dodecil sulfato de sódio (SDS) como surfactante e ácido esteárico (AE) como lipídeo visando melhorar as propriedades tecnológicas do filme.

2.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Elaborar filme utilizando as proteínas miofibrilares de corvina;
- ✓ Definir as condições ótimas do processo de obtenção do filme com adição de SDS e AE.
- ✓ Avaliar as características físicas, mecânicas e de barreira do filme otimizado.

3 REVISÃO DE LITERTURA

3.1 SUBPRODUTOS GERADOS NA INDÚSTRIA PESQUEIRA

A produção mundial de pescado alcançou 158 milhões de toneladas em 2012, sendo 66,6 milhões provenientes da aquicultura e 91,3 milhões da pesca ou captura. Desse total, 136 milhões foram utilizados como alimento humano e cerca de 21,7 milhões destinados a fins não alimentares, dos quais 75% foram reduzidos à farinha de peixe e óleo; e o restante, utilizado para fins farmacêuticos, utilização como iscas, dentre outros (FAO, 2014).

Os subprodutos do beneficiamento do pescado são destinados principalmente à alimentação animal e produção de alimentos para o consumo humano. O valor nutricional desses subprodutos, destaca-se pela quantidade e qualidade de suas proteínas que contêm todos os aminoácidos essenciais, presença de vitaminas e minerais e, sobretudo por ser fonte considerável de ácidos graxos essenciais, da família ômega 3. Estudos apontam que o consumo desses lipídeos auxilia na redução do risco das doenças cardiovasculares e está associado a funções importantes nas fases iniciais do desenvolvimento humano (ARRUDA et al., 2006; SARTORI; AMANCIO, 2012; BORGHESI et al., 2013).

Portanto, devido à valorização emergente do aproveitamento do resíduo do setor de pescado, gerada pelas necessidades de gerenciamento ambiental, busca do desenvolvimento sustentável, redução de custos de produção do pescado brasileiro a ser ofertado para a comercialização e industrialização e ainda, o aumento dos benefícios da agroindústria do pescado, faz-se necessário o desenvolvimento de tecnologias que tenham o objetivo de aproveitar este material, rico em proteína e lipídios (BORGHESI et al., 2013; LIMA, 2013)

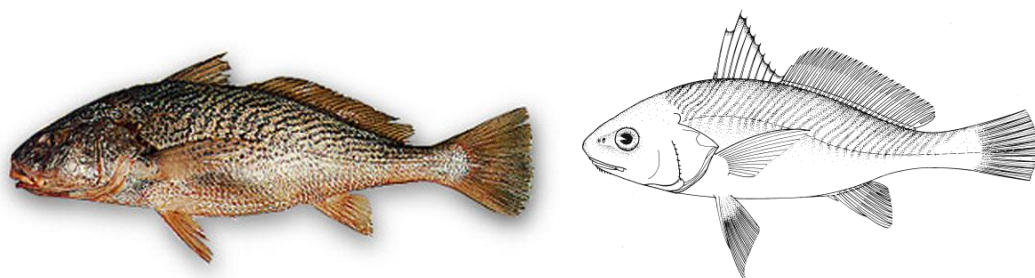
O processamento de peixes em particular a produção de filés e porções de peixe gera uma quantidade substancial de subprodutos com teor de proteínas semelhantes ao de músculo de peixe. Assim, a recuperação dessas proteínas e sua utilização para preparar filmes biodegradáveis representam uma valiosa alternativa para a modernização de subprodutos da indústria de peixe (PIRES et al., 2011).

A maior justificativa de montar sistemas de aproveitamento dos resíduos nas indústrias é de ordem econômica e preservacionista, sendo este resíduo fonte de nutriente de baixo custo (OETTERER et al.; 2003). Muitos estudos têm sido realizados para utilizar as grandes quantidades de proteína, óleo, minerais, carboidratos e ácidos nucléicos provenientes de co-produtos da pesca (PASCHOALICK et al., 2003; JUN et al., 2004; FONTANA et al., 2009; MARTINS et al, 2009; KIM; WIJESKARA, 2010; NGO et al., 2012).

3.2 CORVINA: *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823)

A corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Figura 1) é considerada uma das espécies mais tradicionais capturadas pela pesca no Brasil, Argentina e Uruguai (ELSDON; GILLANDERS, 2002). Esta espécie é onívora, mostrando preferência por pequenos crustáceos, como camarões e caranguejos. Em relação ao ciclo de vida, os indivíduos jovens migram para os estuários, enquanto os adultos migram para áreas costeiras para se reproduzir. A população de corvina varia ao longo do ano, como resultado da migração e da disponibilidade de alimentos (COSTA; ARAUJO, 2003).

Figura 1. Corvina: *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823)



Fonte: FAO (2016)

No Brasil, é uma das principais espécies no setor da pesca (HAIMOVICI; IGNÁCIO, 2005), com capturas anuais mais de 40.000 toneladas (MPA, 2010). O tamanho do corpo, alta longevidade e baixa taxa de crescimento (ISAAC, 1988) fazem desta espécie especialmente vulnerável a pesca. A espécie é atualmente considerada sobre-explorada no Brasil (VASCONCELLOS; HAIMOVICI, 2006). A composição físico química da corvina (Tabela 1) varia em função das estações do ano, estas variações também podem ocorrer devido a fatores como sexo, tamanho, ciclo reprodutor e alimentação (CENTENARO, 2007).

Tabela 1. Composição físico química da corvina: *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) inteira.

Umidade (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Cinzas (%)	Autores
78,00	18,80	1,20	1,10	Bonacina; Queiroz. (2007)
80,10	15,60	0,80	1,00	Fontana et al. (2009)
81,73	16,51	0,62	0,54	Zavareze et al. (2014)

3.3 PROTEÍNAS DE PEIXE

A proteína de peixe tem sido utilizada na elaboração de materiais de embalagens devido à sua abundância, biodegradabilidade, valor nutritivo, propriedades funcionais notáveis, e sua estrutura específica heterogênea (GERRARD, 2002; ROSTAMZAD et al., 2016).

Filmes à base de proteínas de pescado têm propriedades de barreira ao oxigênio e dióxido de carbono com baixa condição de umidade relativa, em comparação com filmes sintéticos. As propriedades dos filmes à base de proteínas dependerão de vários fatores tais como a fonte de proteínas, pH da solução, plastificantes, condições de preparação e de substâncias incorporadas nas soluções de formação de película (CUQ et al., 1995; MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000; SOBRAL, 2000; GERRARD, 2002; PRODPRAN et al., 2007; ROSTAMZAD et al., 2016)

A composição do músculo comestível de peixes e moluscos varia entre 70-85 g/100 g de umidade, 20-25 g/100 g de proteína, 1-10 g/100 g de lipídeo, e 1-1,5 g/100 g de cinza ou minerais. A composição proteica da carne de peixe pode variar em função da espécie, tamanho, sexo, época do ano, etc, porém, em geral o músculo contém cerca de 20% de proteína. As proteínas musculares são classificadas de acordo com a solubilidade em proteínas sarcoplasmáticas, miofibrilares e do estroma. As primeiras são hidrossolúveis ou solúveis em soluções diluídas de sais de força iônica ($I \leq 0,1$ M); as proteínas miofibrilares são solúveis em soluções salinas mais concentradas ($I > 0,5$ M), enquanto as estromáticas são insolúveis em água e soluções salinas, porém uma fração solubiliza-se em álcali. (OGAWA; MAIA, 1999, BEIRÃO et al., 2000).

Os principais componentes das proteínas estruturais são: actomiosina, tropomiosina, miosina e actina. Sendo a actina e a miosina as proteínas de maior importância principalmente pelas suas propriedades funcionais. A miosina é responsável por uma série dessas propriedades como: a gelificação, retenção de água e de emulsificação (RAGHAVAN; KRISTINSSON, 2008). A miosina e a actina têm a capacidade de formar géis sob determinadas condições, em um processo que envolve desnaturação parcial seguida de agregação, devida a associações moleculares.

As proteínas miofibrilares de músculos de peixe têm sido amplamente utilizadas como material de formação de película (PASCHOALICK et al., 2003; CHINABHARK et al., 2007; PRODPRAN et al., 2007; ARTHARN et al., 2009; LIMPAN et al., 2010; TAO et al., 2015; WENG; ZHENG, 2015; KAEWPRACHU et al., 2016; ROSTAMZAD et al., 2016)

Para preparar o filme de proteínas miofibrilares, o pH da solução necessita ser ajustado para cima ou para baixo do ponto isoelétrico da proteína para completar a solubilização (IWATA et al., 2000). Para serem usadas no processo de elaboração de filme, as proteínas miofibrilares têm que ser preparada de forma adequada, empregando-se processos análogos ao preparo de surimi, onde a lavagem do músculo com água destilada se faz conveniente para eliminar as proteínas sarcoplasmáticas. Depois disso, o material deve ser triturado e passado numa peneira fina, para eliminação das proteínas do estroma (proteínas insolúveis) obtendo-se assim, uma pasta fina constituída de proteínas miofibrilares (CUQ et al., 1995; MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000; LIMPAN et al., 2010).

3.4 FILMES

Coberturas são finas camadas de material aplicadas e formadas diretamente sobre a superfície do produto, enquanto filmes são definidos como materiais aplicados ao produto após serem formados separadamente (GALLO et al., 2000). Os filmes podem ser classificados em comestíveis e/ou biodegradáveis, dependendo dos constituintes utilizados para sua produção e da quantidade das substâncias empregadas.

Os filmes são preparados a partir de materiais biológicos que atuam como barreira a elementos externos, pois podem proteger os produtos embalados de danos físicos e biológicos, assim como impedem a volatilização de compostos e a perda de umidade, aumentando a vida útil do produto (RHIM; NG, 2007; KAEWPRACHU et al., 2016). Filmes comestíveis ou coberturas vêm sendo aplicadas há décadas para proteger alimentos e tornar os produtos atrativos ao consumidor. Desde o início do século XX, os filmes comestíveis têm sido utilizados para evitar a perda de água nos alimentos e adicionar brilho à superfície de frutas e hortaliças (PAVLATH; ORTS, 2009; BALDWIN; HAGENMAIER, 2012).

Um grande aumento no número de pesquisas vem sendo realizadas envolvendo filmes (PASCHOALICK et al., 2003; CHINABHARK et al., 2007; PRODPRAN et al., 2007; ARTHARN et al., 2009; NUTHONG; BENJAKUL; PRODPRAN, 2009; LIMPAN et al., 2010; AHMAD et al., 2012; ZAVAREZE et al., 2012; PHAKAWAT et al., 2015; RUBILAR et al., 2015; TAO et al., 2015; WENG; ZHENG, 2015; KAEWPRACHU et al., 2016; ROSTAMZAD et al., 2016) para prolongar a vida comercial e melhorar a qualidade de alimentos frescos, congelados e industrializados, devido aos seguintes fatores: preocupações ambientais sobre o descarte de materiais não renováveis de embalagem; aumento das exigências dos consumidores por alimentos frescos como frutas e vegetais minimamente

processados; oportunidades para a abertura de novos mercados às matérias-primas formadoras de filmes (DIAB et al., 2001).

Entre os biopolímeros naturais mais utilizados, estão as proteínas, as quais apresentam algumas vantagens, pois são provenientes de fontes renováveis e são capazes de formar uma matriz contínua e coesa (RHIM; NG, 2007, KAEWPRACHU et al., 2016, ROSTAMZAD et al., 2016). Filmes ou filmes biodegradáveis podem ser produzidos a partir de proteínas (BERTAN et al., 2005a,b; CHO et al., 2007; TONGNUANCHAN et al., 2014; ZAVAREZE et al., 2014; KAEWPRACHU et al., 2016), lipídios (DAVANÇO et al., 2007; CHIUMARELLI; HUBINGER, 2014), polissacarídeos (ANTONIOU et al., 2014) ou de uma combinação destes polímeros (BINSI et al., 2013; KOWALCZYK; BARANIAK, 2014).

A funcionalidade e o desempenho dos filmes e revestimentos dependem de suas propriedades mecânicas e de barreiras, que por sua vez dependem da composição do filme, do processo de formação e o método de aplicação do produto (AHMAD et al., 2012). As interações desses filmes com a água representam uma séria limitação tecnológica à sua comercialização, uma vez que as propriedades dos filmes são afetadas pela variação da umidade relativa do ar durante a sua estocagem ou o seu uso (THIRÉ et al., 2004).

A reduzida barreira de permeabilidade ao vapor de água é fator limitante, principalmente, em filmes de matriz proteica, devido à propriedade hidrofílica das proteínas e dos plastificantes (sorbitol, glicerol, etileno glicol, polietileno glicol, etc) geralmente utilizados nas formulações. Assim sendo, a adição de lipídeos, quer sob a forma de uma emulsão ou camada, vem sendo estudada como alternativa para diminuir a permeabilidade ao vapor de água dos filmes (POMMET et al., 2003; FABRA et al., 2009).

Estudos utilizaram gelatina como matriz proteica com a adição de componentes hidrofóbicos (FERREIRA, 2006; DAVANÇO et al., 2007; ANDREUCETTI et al., 2009; PEREZ-MATEOS et al., 2009; TONGNUANCHAN et al., 2015), proteína do soro do leite (PEDRAZ et al., 2012; GALUS; KADZIŃSKA, 2016) bem como metilcelulose (DEBEAUFORT et al., 2000); o que mostra que pesquisas voltadas para o melhorar a barreira ao vapor de água em filmes oriundos de proteínas miofibrilares contendo na composição ácidos graxos e surfactantes, são viáveis.

Em comparação com películas de gelatina, filmes de proteínas miofibrilares são melhores e mais resistentes à água por terem menores propriedades mecânicas. Além disso, as películas de gelatina exibem maior solubilidade a água, principalmente devido a interações fracas envolvidas na matriz do filme tais como ligações de hidrogênio (HOQUE et al., 2010).

3.5 EMULSÃO E FILMES EMULSIONADOS

Filmes emulsionados são caracterizados pela presença de lipídios dispersos uniformemente na matriz contínua e obtidos através de uma homogeneização lipídica na solução proteica, formando uma emulsão, com auxílio de surfactantes (SHERWIN et al., 1998; BRAVIN et al., 2004; ANDREUCETTI et al., 2011; KOWALCZYK; BARANIAK, 2014).

Os lipídios são utilizados devido ao seu caráter hidrofóbico e as suas propriedades físico-químicas. A estrutura química, grau de saturação, estado físico (sólido ou líquido), tamanho da cadeia e dimensão dos cristais, determinam o grau de eficiência na interação da partícula lipídica com os outros componentes do filme, como proteínas e polissacarídeos (GALLO et al., 2000; McHUGH, 2000).

As dispersões fluidas, as emulsões e as espumas são estabilizadas por tensoativos ou surfactantes, que são proteínas ou polímeros com propriedades anfifílicas. São moléculas com uma extremidade polar adsorvida na fase aquosa e a outra extremidade apolar, dissolvida na fase lipídica. Migram para a interface, diminuindo tensão superficial, estabilizando-a (KABALNOV, 2001).

As propriedades de barreira dos filmes emulsionados são influenciadas pela natureza do surfactante, tamanho e dispersão das gotas de lipídio formadas na matriz hidrofílica. O tamanho das gotas de lipídios influencia diretamente na estabilidade das emulsões e conseqüentemente nas propriedades dos filmes. Isso porque, a formação de gotas grandes pode levar a coalescência e floculação das micelas lipídicas formadas (BRAVIN et al., 2004; PENG et al., 2013; TONGNUANCHAN et al., 2014).

As forças intermoleculares de repulsão entre as substâncias hidrofóbicas e hidrofílicas nos filmes emulsionados dificultam a inclusão dos glóbulos de lipídios na estrutura filmogênica, apresentando heterogeneidade na distribuição e no tamanho dos componentes hidrofóbicos. Essa separação estabelece um caminho mais tortuoso ou um aumento da distância para a difusão das moléculas quando comparadas com uma matriz composta apenas por substância hidrofílica (FAIRLEY et al., 1997). Devido a esta dificuldade os sistemas emulsionados são geralmente instáveis e a adição de surfactantes é frequentemente necessária para melhorar esta estabilidade (ADAMSOM, 1997; SINGH; HAMME; WARD, 2006).

3.6 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos são compostos que contêm uma cadeia alifática e um grupo ácido carboxílico. A maioria dos ácidos graxos da natureza apresenta entre 14 e 24 carbonos, costumam ser classificados como saturados e insaturados, sendo que os insaturados apresentam ligação dupla. Os principais ácidos graxos encontrados na natureza são o láurico, o palmítico e o esteárico.

Mais de 99% dos ácidos graxos encontrados em plantas e animais são esterificados com glicerol. Ácidos graxos livres não são comuns em tecidos vivos, pois apresentam citotoxicidade devido a sua capacidade de romper a organização da membrana celular. Quando estão esterificados com glicerol, sua atividade e sua toxicidade diminuem. Os acilgliceróis existem como mono, di e triésteres, sendo conhecidos como monoacilgliceróis, diacilgliceróis e triacilgliceróis, respectivamente. Desses três, os triacilgliceróis, como o ácido esteárico, são os mais comuns em alimentos (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Muitos pesquisadores têm estudado o efeito da adição de componentes lipídicos nas propriedades mecânicas e de permeabilidade de filmes elaborados a partir de proteínas ou polissacarídeos. De acordo com McHugh (2000), filmes formados somente à base de lipídios promovem uma boa barreira ao vapor de água, mas para obtê-lo é frequentemente necessária a utilização de solventes orgânicos ou altas temperaturas. O ácido esteárico um produto natural e os filmes preparados a partir desse ácido graxo são mais compatíveis com o meio ambiente que os preparados a partir de produtos químicos sintetizados (KARNNET et al., 2005).

Dentre os vários produtos químicos, o ácido esteárico, também tem o potencial de ser utilizado na modificação de filmes. Os segmentos de hidrocarbonetos de cadeia longa do ácido esteárico podem atuar como um plastificante para o sistema. Isto sugere que as funções do ácido esteárico, tanto como agente modificador como plastificante. Dado que o ácido esteárico é um produto natural, os filmes preparados a partir de proteínas de peixes e ácido esteárico não agridem o meio ambiente como as embalagens elaboradas a partir de produtos químicos sintetizados (KARNNET et al., 2005). Na Tabela 2 estão demonstradas algumas propriedades químicas e físicas do ácido esteárico.

Tabela 2. Algumas propriedades químicas e físicas do ácido esteárico.

Nome	Fórmula	Estrutura	Viscosidade* (cP, 110°C)	Densidade* (g/cm ³ , 80°C)	Ponto de fusão* (°C)	Índice de refração*(nD 70)
Ácido esteárico	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	4.24	0.8390	69.6	1.4337

Fonte: GUNER; YAGCI; ERCIYES, 2006 / * a 60°C

Ácidos graxos saturados são mais efetivos no controle de migração de umidade que os ácidos graxos insaturados. Isso porque, os ácidos graxos insaturados apresentam um maior grau de mobilidade devido às duplas ligações do que os ácidos graxos saturados, o que favorece a difusividade molecular da água na estrutura.

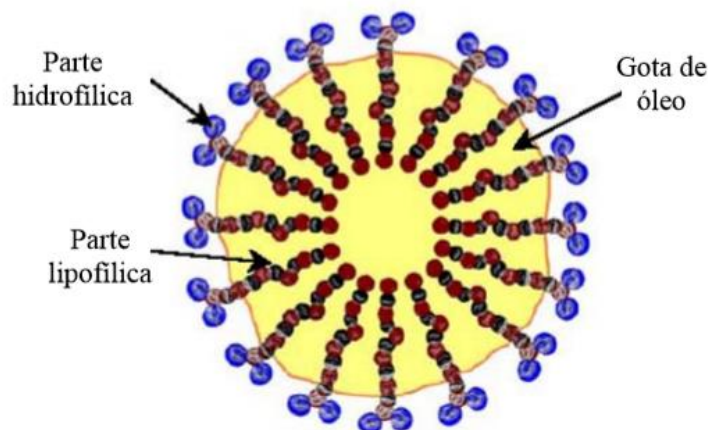
Os filmes compostos de proteínas e lipídios apresentam a vantagem de terem boa barreira ao vapor de água e filmes hidrofílicos apresentam boa barreira a gases, além de propiciar boas propriedades mecânicas (AMARANTE, BANKS, 2001). Filmes compostos de proteínas ou polissacarídeo adicionados de lipídios, gelatina, triacetina e ácidos graxos (FAKHOURI e GROSSO, 2003; BERTAN et al., 2005a; DAVANÇO et al., 2007), farinha de amaranto e ácido esteárico (COLLA et al., 2006), gelatina de peixe e óleo de palma (PHAKAWAT et al., 2015), apresentam menor permeabilidade ao vapor de água quando comparados a filmes de proteínas do soro de leite (ANKER et al., 2002; GALUS; KADZIŃSKA, 2016), caseinatos (AVENA-BUSTILLOS; KROCHTA, 1993), glúten de trigo (GONTARD et al., 1994; POMMET et al., 2003), ágar e amido (PHAN THE et al, 2009) e zeína (WELLER et al., 1998). O mesmo comportamento foi observado em filmes compostos de polissacarídeos e lipídios, elaborados com metilcelulose (DEBEAUFORT; VOILLEY, 1995; GALLO et al., 2000; GARCIA et al., 2000; AYRANCI; TUNC, 2001) e hidroxil-propil-metilcelulose (KAMPER; FENNEMA, 1984).

3.7 SURFACTANTES

Os surfactantes são compostos que apresentam atividade na superfície da interface entre duas fases, tais como ar-água, óleo-água e na superfície de sólidos; conhecidos como agentes tensoativos. Tais compostos caracterizam-se por possuir duas regiões distintas na mesma molécula: uma região polar hidrofílica e outra região não polar hidrofóbica (MINATTI, 2005).

Os principais surfactantes (ou tensoativos) podem ser de dois tipos: os polímeros e as pequenas moléculas anfifílicas (estas costumam ser chamadas também de emulsificantes). A parte hidrofóbica de uma pequena molécula anfifílica geralmente é uma cadeia alifática. Existe uma grande diversidade de partes hidrofílicas. Em um surfactante clássico, o sabão comum, a porção hidrofílica é um grupo carboxila ionizado. A maioria das substâncias anfifílicas não é muito solúvel, nem em água nem em óleo, sofrendo menos repulsão por esses solventes quando uma de suas partes está em ambiente hidrofílico (água) e a outra, em um ambiente hidrofóbico (óleo), ou seja, em uma interface óleo/água. Elas também adsorvem em interfaces ar-água e em algumas interfaces sólido-água. Em solução, elas tendem a se associar, formando micelas (Figura 2) a fim de minimizar as interações de repulsão com os solventes (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). As caudas hidrofóbicas tendem a se reunir umas às outras enquanto as cabeças hidrofílicas proporcionam película externa protetora conforme pode ser observado na Figura 2.

Figura 2. Representação gráfica de uma micela de surfactante resultando uma gota de óleo.

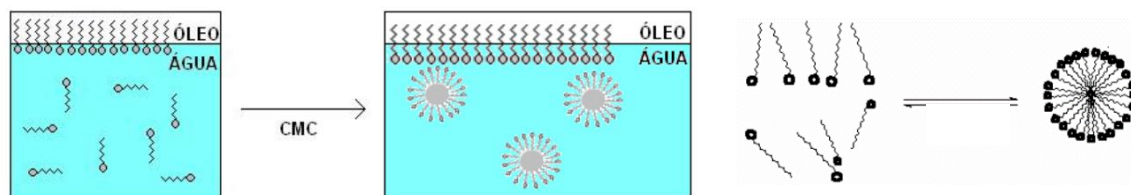


Fonte: DHAYMERS, 2005.

3.7.1 Concentração Micelar Crítica (CMC)

Em soluções com baixas concentrações de tensoativos, estes tendem a ficar separados, como monômeros e migram para as interfaces existentes, como água/óleo, água/ar ou água/solo. Quando ocorre a saturação das interfaces e a concentração de tensoativos continua a ser incrementada, ocorre a formação de micelas (Figura 3). A concentração em que ocorre a formação de micelas é conhecida por Concentração Micelar Crítica (ROSSI et al., 2006). Esse fenômeno demonstra a importância da concentração do tensoativo a ser utilizada na elaboração da solução filmogênica.

Figura 3. Ilustração do processo de micelização do SDS em solução aquosa.



Fonte: MINATTI, 2005; SANTOS, 2013

3.7.2 Balanço Hidrofílico e Lipofílico (BHL)

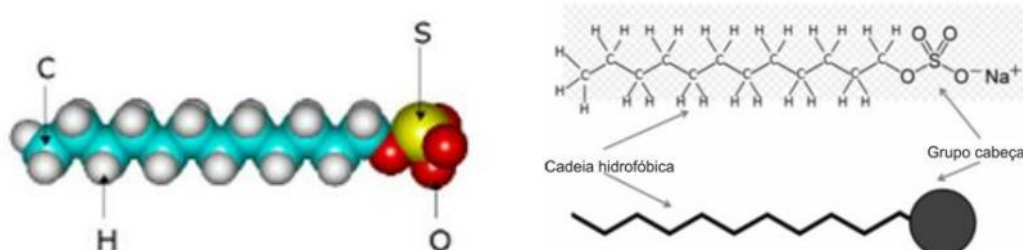
Griffin, em 1954, conceituou o Balanço Hidrofílico-Lipofílico (BHL) como uma metodologia para quantificar os efeitos das contribuições causadas pela parte polar e apolar dos tensoativos. O balanço hidrofílico e lipofílico (BHL) é outra característica importante dos surfactantes. O BHL é descrito pelo número que fornece a relativa afinidade da molécula de surfactante pelo óleo na fase aquosa (DAVIS, 1994).

Os surfactantes podem ser classificados quanto ao balanço hidrofílico-lipofílico (BHL), determinado a partir de sua estrutura molecular, ou melhor, seus grupamentos lipofílicos e hidrofílicos. Os surfactantes mais hidrofóbicos apresentam um baixo valor de BHL, sendo solúveis em óleo, enquanto que os compostos com elevado valor de BHL, como o dodecil sulfato de sódio (SDS), possuem um caráter hidrofílico mais pronunciado, sendo solúveis em água (ARAÚJO, 2001). É importante conhecer o valor do BHL, pois deste deriva sua aplicação e a correta solubilidade na matriz de incorporação.

3.7.3 Dodecil Sulfato de Sódio [SDS (BHL=40)]

O Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) é um subproduto do óleo de palma, produzido principalmente na Malásia e na Indonésia. O SDS é um surfactante aniônico com massa molar 288.4 g.mol⁻¹. Sua fórmula é C₁₂H₂₅SO₄Na. Em temperatura ambiente ele se apresenta como um sólido branco. É uma molécula anfipática, onde uma parte é solúvel em água e a outra não. O grupo sulfato confere à molécula do SDS a classificação de surfactante aniônico e sua ação surfactante se deve às propriedades elétricas e à forma da molécula. O grupo aniônico sulfato possui carga negativa e tem grande afinidade pela água, um solvente polar. O grupo alquila linear de doze carbonos é praticamente apolar, portanto, tem pouca afinidade pela água e grande afinidade por compostos hidrofóbicos. Por conseguinte, as moléculas de SDS recobrem partículas apolares organizando-se de tal forma que os grupos alquil, apolares, permaneçam em contato com as superfícies hidrofóbicas das partículas, e os grupos sulfato, iônicos, permanecem em contato com a fase aquosa (VAN HAMME; SINGH; WARD, 2006; OLIVEIRA, 2011, SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2016). Várias são as aplicações do SDS, como na indústria de detergentes, farmacêutica, petroquímica, laboratorial médica e outras. Na área de ciência e tecnologia de alimentos é utilizado também para facilitar a incorporação de lipídeos em soluções proteicas nos processos de elaboração de filmes. Inúmeras são as pesquisas de filmes emulsionados utilizando SDS como surfactante (FAIRLEY et al., 1997; RHIM et al., 2002; FERREIRA, 2006; DAVANÇO et al., 2007; TONGNUANCHAN et al., 2011; ZÚÑIGA et al., 2012; RUBILAR et al., 2015). A Figura 4 mostra a estrutura química do SDS.

Figura 4. Estrutura química do SDS



Fonte: OLIVEIRA, 2011.

3.8 PROPRIEDADES DOS FILMES

3.8.1 Espessura

O controle da espessura dos filmes é requerido para uniformidade, repetibilidade das medidas e validação das comparações de propriedades entre variados tipos de filmes (GENNADIOS et al., 1993), logo, seu controle é importante, visto que a espessura dos filmes influencia nas suas propriedades, especialmente nas de barreira ao vapor de água e propriedades mecânicas, uma vez que, à medida que se aumenta a espessura, maior é a sua permeabilidade ao vapor de água e mais resistentes são os filmes (CUQ et al., 1996; OLIVEIRA et al., 1996; XIE et al., 2002).

3.8.2 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas permitem avaliar a capacidade da embalagem em manter sua integridade durante a estocagem e assim proteger o alimento embalado. Os filmes devem ser resistentes à ruptura, com o objetivo de reforçar a estrutura dos alimentos embalados e flexíveis para se adaptarem as eventuais deformações dos alimentos sem que ocorra a ruptura (GUILBERT et al., 1996).

Elongação (%) e resistência à tração (MPa) são os principais testes utilizados para medir as propriedades mecânicas de filmes. A elongação é a habilidade do filme em se estender, expresso em porcentagem, antes da quebra sob tensão. Resistência a tração (RT) é a resistência oferecida pelo material à ruptura sob tensão de tração (GONTARD et al., 1994; OLIVEIRA, 1996; SARANTÓPOULOS et al., 2002; CANEIRO-DA-CUNHA et al., 2009).

3.8.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água é considerada uma das propriedades de barreira de materiais e que tem haver com a migração de umidade. Esta propriedade depende da estrutura do polímero, tipo de solvente, aditivos e outros. Pode ser influenciada pela espessura do filme, concentração de plastificante e proteínas. O seu conhecimento é imprescindível para eventuais aplicações dos filmes como embalagens. A migração de vapor de água é um dos principais fatores de alteração da qualidade sensorial e da estabilidade na estocagem (GONTARD et al., 1995).

3.8.4 Solubilidade e intumescimento

A solubilidade e intumescimento em água são propriedades importantes dos filmes no que se refere ao seu emprego, torna-se assim, necessário conhecer a resistência e o comportamento do material à água e o produto no qual será aplicado. A solubilidade é uma medida da resistência à água e fornece informações a respeito da quantidade de material hidrossolúvel presente nos filmes. O índice de intumescimento é a medida da capacidade de retenção de água de um filme/biopolímero (PEREZ-GAGO; KROCHTA, 2001; LEE et al., 2004; RHIM et al., 2009).

3.8.5 Transmissão de luz e transparência

Propriedades ópticas de filmes são um atributo importante que influencia a sua aparência, o valor comercial, e sua adequação para várias aplicações em alimentos. (AHMAD et al., 2012; PEREDA et al., 2012).

A transmissão de luz ou transmitância (%) de um filme é definida como a porcentagem total de luz incidente que é transmitida através do material. Um material transparente é definido como aquele que apresenta transmitância acima de 90%. A transmissão de luz, no entanto, não reflete a qualidade de luz transmitida, pois mesmo para um material com elevada transmissão de luz pode-se observar uma imagem mal definida através do mesmo (SARANTÓPOULOS et al, 2002).

3.8.6 Cor

As propriedades ópticas dos filmes influenciam a apresentação do produto embalado e estão relacionadas à cor, brilho e transparência dos filmes. A cor é um dos principais atributos de qualidade que afeta a percepção do consumidor, sendo normalmente avaliada o parâmetro L^* variando de 0 (preto) a 100 (branco), a^* do verde (-) ao vermelho (+) e b^* do azul (-) ao amarelo (+), h^* ângulo de tonalidade, C^* valor de croma e a diferença total de cor (ΔE).

3.8.7 Análises térmicas

Através das propriedades térmicas pode-se determinar a mobilidade de uma cadeia polimérica, que está diretamente ligada as características físicas do material, tais como a fragilidade e resistência (LUCAS et al. 2001). Dentre as principais técnicas termo-analíticas podem-se destacar a Análise Termogravimétrica (TGA) e a Análise Térmica Diferencial (DTA).

TGA é uma técnica em que a massa de uma amostra é monitorada durante a variação de temperatura (ou do tempo à temperatura constante). Os principais itens medidos nesta técnica incluem: a evaporação, sublimação, decomposição, oxidação, dentre outras. A medida destas variações é realizada por uma termobalança. E DTA é a técnica em que a diferença de temperatura entre a amostra e a referência é medida enquanto ambas estão sujeitas a um programa de temperatura controlada (LUCAS et al., 2001; KENKEL, 2003).

A análise de TGA e DTA são análises importantes na caracterização de filmes biodegradáveis, pois fornecem informações a respeito da estabilidade térmica e da degradação dos filmes.

3.8.8 Difração de Raio-X (DRX)

DRX é a variação da intensidade dos raios-x espalhada e difratada com o ângulo, fornecendo informações sobre a distribuição da densidade eletrônica e, portanto, das posições atômicas dentro do material, caracterizando se o mesmo é amorfo ou cristalino (BEZERRA, 2014). A análise de difração de raios-X é muito utilizada no estudo da estrutura dos polímeros, tendo em vista que presença de material cristalino em polímeros influencia fortemente suas propriedades. (FARAGO et al., 2008; FAKHOURI, 2009; ROSTAMZAD et al., 2016). A presença de picos difusos e largos caracteriza a presença de material amorfo, cujas moléculas são desordenadas e com bandas dispersas (alargadas) em virtude do estado amorfo. Ao passo que materiais cristalinos por estarem em um estado altamente ordenado produzem picos afiados e definidos.

3.8.9 Caracterização microscópica da superfície do filme

Muitos dos componentes estruturais em filmes são de tamanho na gama de micron e, portanto, não podem ser observado diretamente a olho nú (por exemplo, as micelas do surfactante, os cristais de gordura e de agregados de proteína). Assim, o estudo da microestrutura dos filmes é crucial para compreender e conceber as suas propriedades físicas e/ou químicas (ZÚÑIGA et al., 2012; McCLEMENTS, 2016).

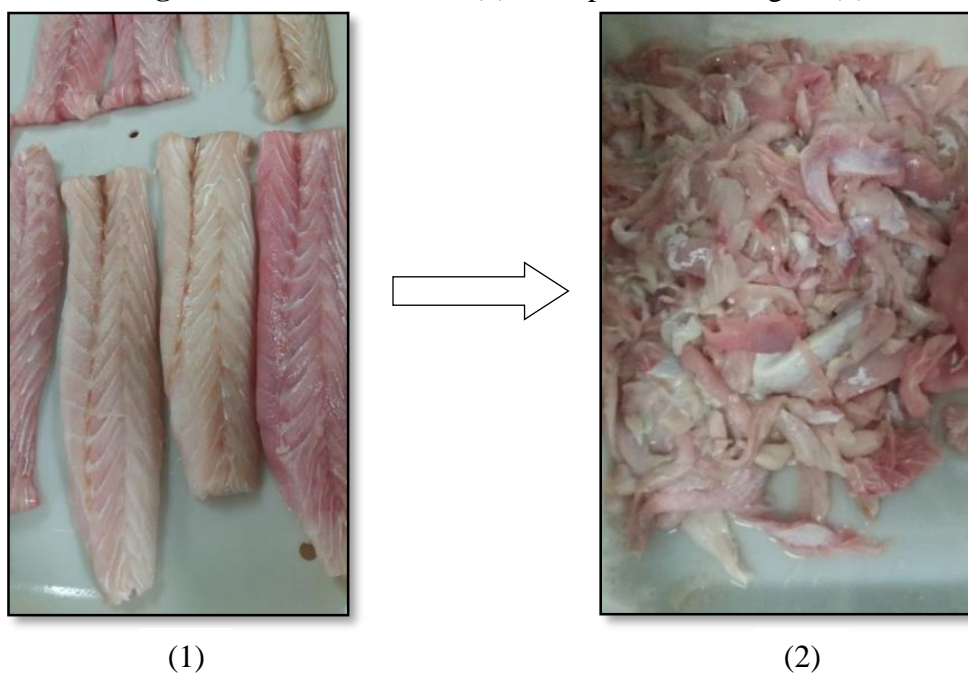
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Matéria-prima

Foram utilizados subprodutos, aparas de filetagem (Figura 5) do processamento de corvina (*Micropogonias furnieri*) doados pela indústria *G-Pesca* localizada no município de Bragança-PA. As aparas foram acondicionadas em embalagens de polietileno, armazenadas em caixa isotérmica com gelo em escama e transportadas para o Laboratório de Produtos de Origem Animal (LAPOA) da Universidade Federal do Pará.

Figura 5. Filés de corvina (1) e as aparas da filetagem (2)



Fonte: imagens cedidas pela indústria *G-Pesca*

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Pré-tratamento da matéria-prima

No laboratório as aparas foram higienizadas por imersão em água clorada a 5 ppm (mg/L) durante 5 minutos e lavadas com água destilada. Foram removidas as espinhas e os resíduos de pele das aparas, posteriormente foram prensadas manualmente para retirada do excesso de água. Em seguida foram trituradas em processador cutter, por 60 segundos, acondicionadas em sacos de polietileno, embaladas a vácuo e congeladas a -18°C .

4.2.2 Obtenção das proteínas miofibrilares

Para obter as proteínas miofibrilares de peixe foi utilizada metodologia proposta por Zavareze et al. (2012). O músculo foi descongelado sob refrigeração e misturado com 5 volumes de solução de cloreto de sódio 50 Mm a 7°C por 5 minutos e centrifugado a 10.000 rpm durante 3 minutos a 4°C em centrifuga refrigerada (Thermo Fisher, Multifuge X1R). O processo de lavagem com solução salina foi realizado três vezes.

Após essa etapa, a proteínas miofibrilares obtidas foram colocadas em bandejas de aço inoxidável, congeladas a -18°C e submetidas à liofilização (Liotop, L101) a -60°C por 48 horas. Posteriormente as proteínas liofilizadas (Figura 6) foram peneiradas (Tyler 20 de 0,84 mm), pesadas, embaladas a vácuo e mantidas a -18°C até a produção dos filmes.

Figura 6. Proteínas miofibrilares liofilizadas de corvina.



Fonte: o autor

Após a etapa de extração e liofilização, o rendimento das proteínas miofibrilares foi calculado pela relação entre a proteína final liofilizada e a quantidade inicial de matéria-prima (obtida após higienização e remoção de espinhas e peles) (Equação 1) e expresso em g de proteínas miofibrilares liofilizadas/100g de músculo (KAEWRUANG et al., 2013).

$$R (\%) = \frac{\text{massa final}}{\text{massa inicial}} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Onde, massa final = proteína final liofilizada; massa inicial = resíduo úmido.

4.2.3 Caracterização da matéria prima *in natura* e proteínas miofibrilares liofilizadas

- **Umidade:** realizada pelo método gravimétrico de acordo com a metodologia 932.12 da AOAC (1997), por secagem em estufa a 105°C até peso constante;
- **Proteína bruta:** determinação do nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, multiplicando o valor obtido pelo fator 6,25 de acordo com a metodologia 940.25 da AOAC (1997);
- **Lipídeos:** determinados pelo método Soxhlet, usando éter de petróleo como extrator de acordo com a metodologia 922.06 da AOAC (1997);
- **Cinzas:** determinado através do método gravimétrico, por calcinação em mufla a 550°C; de acordo com a metodologia 938.08 da AOAC (1997);

4.2.4 Definição das condições ótimas no processo de obtenção do filme

Para estabelecer as concentrações de proteínas miofibrilares, ácido graxo (esteárico) e surfactante (SDS) para a obtenção do filme, foi utilizado um planejamento fatorial completo 2^3 , constituído por ensaios lineares nos níveis -1 e $+1$, pontos axiais α e $-\alpha$, definidos em 1,68 e -1,68, respectivamente, e repetições no ponto central (nível 0). Os pontos centrais servem para estimar o erro experimental e determinar a precisão da equação polinomial. Os pontos axiais ($\pm\alpha$) são utilizados para a ampliação do modelo linear, tornando-o quadrático. O valor de α é função do número de variáveis independentes (k) (Equação 2) (BARROS NETO et al.; 2001).

$$\alpha = (2^k)^{\frac{1}{4}} \quad \text{Equação (2)}$$

Onde: K = variáveis independentes. Como são três variáveis independentes, o valor de α é 1,6818.

A definição dos níveis das variáveis estudadas descritas na Tabela 3 foi baseado na literatura (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000; KARNNET et al., 2005; DAVANÇO et al., 2007; LIMPAN et al., 2010).

Foram realizados 17 experimentos (Tabela 3), sendo 8 ensaios fatoriais (combinação entre os níveis ± 1), 3 ensaios no ponto central (três variáveis no nível 0) e 6 ensaios nos níveis axiais $\pm \alpha$. Tendo como variáveis de entrada (independentes): as concentrações de proteínas miofibrilares liofilizadas (PM), ácido esteárico (AE) e dodecil sulfato de sódio (SDS).

As variáveis dependentes estudadas foram: permeabilidade ao vapor de água, resistência à tração e porcentagem de alongação, avaliadas conforme o item 6.2.

Tabela 3. Planejamento fatorial completo composto central rotacional (2^3) com valores reais e codificados

Ensaio	PM	AE	SDS
1	1,5 (-1)	10 (-1)	60 (-1)
2	1,5 (-1)	10 (-1)	80 (+1)
3	1,5 (-1)	30 (+1)	60 (-1)
4	1,5 (-1)	30 (+1)	80 (+1)
5	2,5 (+1)	10 (-1)	60 (-1)
6	2,5 (+1)	10 (-1)	80 (+1)
7	2,5 (+1)	30 (+1)	60 (-1)
8	2,5 (+1)	30 (+1)	80 (+1)
9	1,15 (-1,68)	20 (0)	70 (0)
10	2,84 (1,68)	20 (0)	70 (0)
11	2 (0)	3,18 (-1,68)	70 (0)
12	2 (0)	36,82 (1,68)	70 (0)
13	2 (0)	20 (0)	53,18 (-1,68)
14	2 (0)	20 (0)	86,82 (1,68)
15 (C)	2 (0)	20 (0)	70 (0)
16 (C)	2 (0)	20 (0)	70 (0)
17 (C)	2 (0)	20 (0)	70 (0)

* PM: concentração de proteínas miofibrilares liofilizadas; AE: concentração de ácido esteárico; SDS: concentração de dodecil sulfato de sódio .

Para a análise dos resultados experimentais, foi utilizada a Metodologia de Superfície de Resposta para verificar o comportamento do sistema, no qual estarão combinadas as variáveis independentes e as variáveis dependentes (respostas). Para cada resposta foi verificada a significância das variáveis ou interações na equação polinomial descrita na Equação 3. Após a exclusão dos efeitos não significativos, obtiveram-se as equações e gráficos de influência, das variáveis proteínas miofibrilares/ácido esteárico/SDS, sobre as variações de PVA, resistência à tração e porcentagem de alongação. Com os dados, foram estabelecidas as concentrações de proteínas miofibrilares, ácido graxo e surfactante no processo de obtenção do filme, ou seja, uma região que apresentasse condições compatíveis entre as respostas, como baixos valores de PVA e altos de RT e E.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 (PM) + \beta_{11} (PM)^2 + \beta_2 (AE) + \beta_{22} (AE)^2 + \beta_3 (SDS) + \beta_{33} (SDS)^2 + \beta_{12} (PM \times AE) + \beta_{23} (AE \times SDS) + \beta_{13} (PM \times SDS)$$

Equação (3)

4.2.5 Elaboração dos filmes

Os filmes foram obtidos de acordo com Davanço et al. (2007) com adaptações. A produção iniciou com o preparo da solução filmogênica (SF) onde as proteínas miofibrilares em diferentes concentrações foram misturadas com água destilada (peso/volume). Foi adicionado 30% de glicerol, em seguida diferentes concentrações de ácido esteárico e SDS, conforme planejamento fatorial completo (Tabela 3). O pH da solução foi ajustado para 12 com hidróxido de sódio 2M.

A solução final foi homogeneizada a 10.000 rpm por 5 minutos com homogeneizador Turrtec (Tecnal, TE-102), em seguida colocada em banho-maria a 70°C durante 30 minutos, obtendo-se a solução filmogênica.

Através do método *casting*, 130 mL da solução filmogênica foi adicionada em suporte de silicone no formato circular de 22 cm de diâmetro por 3 cm de altura e seca em estufa incubadora (Quimis, Q315M) por cerca de 16h a 30°C. Após a secagem, os filmes foram acondicionados em sacos de polietileno à temperatura ambiente.

4.2.6 Caracterização do filme

4.2.6.1 Espessura

As espessuras dos filmes foram medidas utilizando-se um micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (Insize, modelo IP54). Foram selecionados oito locais aleatórios em torno de cada filme obedecendo a um afastamento da borda de 60 mm (ZAVAREZE, 2012).

4.2.6.2 Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e porcentagem de alongamento na ruptura (E) dos filmes foram determinadas empregando-se metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) em texturômetro (QTS, Brookfield). As medidas foram conduzidas em temperatura ambiente. A separação inicial das garras e a velocidade da probe foram de 50 mm e 1 mm.s⁻¹, respectivamente, de acordo com metodologia descrita por Zavareze (2012). As amostras foram cortadas em tiras de 100 mm de comprimento e 25 mm de largura. A resistência à tração (RT) e a porcentagem de alongação (E) foram calculadas pelas Equações 4 e 5, respectivamente.

$$RT = \frac{Fm}{A} \quad \text{Equação (4)}$$

Onde: RT: resistência à tração (MPa); Fm: força máxima no momento da ruptura do filme (N); A: área da secção transversal do filme (m²).

$$E = \frac{d_T}{d_{inicial}} \times 100 \quad \text{Equação (5)}$$

Onde: E: alongação (%); d_T: distância total no momento da ruptura (mm); d_{inicial}: distância inicial de separação das garras (50 mm).

4.2.6.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água do filme foi determinada utilizando-se o método modificado ASTM D882-95 descrito por Arfat et al. (2014). A amostra do filme foi selada com adesivo de silicone na abertura circular de um recipiente de vidro de 4,5 cm de diâmetro e 7,0 cm de altura contendo 10 g de sílica gel a 0% UR; 0 Pa de pressão de vapor de água a

30°C. Estes recipientes de permeação foram colocados em dessecadores contendo água destilada a 30°C a 99% UR; 4244,9 Pa de pressão de vapor de água a 30°C e pesados em intervalos de 1h por um período de 10 horas. A PVA será calculada através da Equação 6.

$$PVA = \frac{W \cdot X}{A \cdot t \cdot \Delta P} \quad \text{Equação (6)}$$

Onde: PVA: permeabilidade ao vapor de água ($\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$); W: ganho de peso pelo dessecante (g); X: espessura do filme (mm); A: área da superfície do filme exposto (m^2); t: tempo de incubação (horas); ΔP : diferença de pressão parcial (Pa). Três corpos de provas foram usados para testes de PVA.

4.2.6.4 Solubilidade e intumescimento

Para determinação da solubilidade, os filmes foram recortados em discos de 2 cm de diâmetro e determinada sua matéria seca inicial em estufa a 105 °C por 24 horas. Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em recipientes contendo 50 mL de água. Este sistema foi agitado em incubadora *shaker* refrigerada com velocidade de 150 rpm por um período de 24 horas, a 25°C. Após este período, as amostras foram removidas e secas (105°C por 24 horas) para determinar a matéria seca não dissolvida em água (GONTARD et al., 1994).

Na determinação do intumescimento do filme utilizou-se a metodologia de Lee et al. (2004), onde uma amostra de 2cm de diâmetro foi pesada e imersa em 75 mL de água destilada e em seguida colocada em estufa incubadora (Quimis, Q315M) a 25°C por 6 h. Após este procedimento, o excesso de água dos filmes foi removido com papel filtro e o filme foi pesado novamente para calcular a quantidade de água que foi absorvida durante as 6 h de análise. Desta forma, o intumescimento foi determinado como o ganho de peso da amostra inchada dividido pelo peso inicial de sólidos secos.

4.2.6.5 Transmissão de luz e transparência

A transmitância de luz dos filmes foi medida na faixa do ultravioleta e do visível (200 e 800 nm). Os corpos de prova foram cortados em retângulos e colocados no lado interno da cubeta. A transparência foi determinada a 600 nm por meio da Equação 7, de acordo com o método ASTM D1746 descrito por Arfat et al. (2014). Os dois parâmetros foram quantificados usando um espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22).

$$\text{Transparência} = \frac{-\log T}{e} \quad \text{Equação (7)}$$

Onde: T: transmitância a 600 nm; e: espessura do filme (mm).

4.2.6.6 Cor

Determinada em colorímetro MINOLTA modelo CR 310, obtendo-se parâmetros de L* (luminosidade), a* (intensidade do vermelho), b* (intensidade de amarelo), C* (valor do cromia), h* (ângulo de tonalidade) e a diferença total de cor (ΔE^*) calculado de acordo com a Equação 8.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{Equação (8)}$$

Onde: Δ é a diferença dos parâmetros de cor da amostra do filme em relação ao padrão branco (L: 95,59; a: -5,56; b: 8,16)

4.2.6.7 Análises térmicas: Análise Térmica Diferencial e Termogravimétrica (DTA/TGA)

A Análise Térmica Diferencial e Termogravimétrica (DTA/TGA) foram efetuadas em equipamento modelo DTG-60AH, da SHIMADZU, utilizando faixa de temperatura de 25 a 600°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min e fluxo de Nitrogênio de 40 ml/min, em cadinho de alumina. A aquisição de dados dos registros e o tratamento destes foram obtidos com o software TA60, versão 2.21, também da SHIMADZU. As análises foram realizadas no Laboratório de Cromatografia do Programa de Pós-Graduação em Geologia e Geoquímica (PPGG) do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Pará.

4.2.6.8 Difração de Raio-X (DRX)

As amostras foram analisadas no Laboratório de Difração de Raio-X do Programa de Pós Graduação de Física da Universidade Federal do Pará (PPGF/ UFPA). Cada amostra foi depositada sobre um suporte de vidro próprio do equipamento e exposta à radiação Cu ($K\alpha_1=1,540598 \text{ \AA}$) submetida à 40 kV de voltagem e uma corrente de 40 mA de $l = 1,78897 \times 10^{-1} \text{ nm}$, no difratômetro: D8 Advance da Bruker com geometria Bragg-Brentano e detector LynxEye, a um tempo de varredura de 0.4s na geometria Bragg-Brentano de $5 < \theta < 60$. Fenda divergente 0,6mm. Fenda Soller: 2,5°. Filtro $K\beta$ de Ni. A coleta dos difratogramas foi realizada com passo angular de 0,02° e o tempo por passo 0.4s

4.2.6.9 Caracterização microscópica da superfície do filme

A microestrutura da superfície superior do filme foi determinada utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Tescan, VEGA3). Utilizando as condições de análise: tensão de aceleração de 5 kV, corrente do feixe de elétrons de 85-90 μA e distância de trabalho de 15 mm para as imagens de elétrons secundários durante a obtenção das micrografias. Antes da visualização, a amostra foi fixada sobre um porta-amostra com o auxílio de fita adesiva dupla face de carbono. As amostras foram metalizadas com ouro/paládio para permitir condutividade elétrica necessária no processo de formação das imagens, na metalizadora QUORUM TECHNOLOGIES, SC7620. A metalização foi realizada com uma corrente de 5 mA com o tempo de 120 segundos, duas vezes recoberta. A análise foi realizada no Laboratório de Nanomanipulação do Programa de Pós Graduação de Física da Universidade Federal do Pará (PPGF/ UFPA).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi realizada por meio do software Statistica® versão 10 (STATSOFT Inc., 2011) através da hierarquização dos efeitos, análise de variância, análise de superfície de resposta do modelo proposto ($p < 0,05$) e função desejabilidade.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PROTEICA

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados do rendimento e da composição físico química da matéria prima *in natura* e das proteínas miofibrilares liofilizadas (PM) da corvina (*Micropogonias furnieri*).

Tabela 4. Composição físico química da matéria prima *in natura* e das proteínas miofibrilares liofilizadas da corvina (*Micropogonias furnieri*)*

Determinações (%)	Matéria prima <i>in natura</i>		Proteínas miofibrilares liofilizadas	
	Base úmida	Base seca	Base úmida	Base seca
Umidade	82,14±0,11	4,60±0,11	7,21±0,27	0,07±0,03
Lipídeos totais	0,87±0,23	2,66±0,09	0,47±0,02	0,94±0,02
Proteína total	15,38±0,13	88,54±0,8	89,94±0,51	96,03±0,55
Cinzas (RMF)	0,51±0,01	2,88±0,1	2,05±0,08	2,21± 0,09
Rendimento	-	-	13,25	

*Valores representam a média das triplicatas ± desvio-padrão.

Observa-se um decréscimo de umidade da matéria prima *in natura* para as proteínas miofibrilares liofilizadas, causado pelo processo liofilização. O menor teor de lipídeos da PM é em função das sucessivas lavagens do processo de extração e centrifugação, onde quantidades consideráveis de gordura são removidas. Segundo Synowiecki; Al-Khateeb (2000), a diminuição do conteúdo de lipídios reduz a possibilidade de ocorrência de oxidação lipídica, aumentando a estabilidade do produto.

Apesar das lavagens e remoção de água do material proteico, a concentração de cinzas não diminuiu muito com a liofilização, talvez devido à presença de resíduos de sais do processo de extração das proteínas miofibrilares por solução salina.

Os resultados obtidos para a matéria prima *in natura* (Tabela 4) estão próximos aos encontrados por Fontana et al. (2009) quanto a umidade (80,1% b.u.), lipídeos (1,0% b.u.), proteínas (15,16% b.u.) e cinzas (0,8% b.u.) em corvina. Araújo (2015) encontraram valores aproximados de umidade (0,06% b.s.), proteínas (96,03% b.s.), cinzas (2,86% b.s.) e menores de lipídeos (0,74% b.s.) em proteínas miofibrilares liofilizadas de dourada. Os resultados de PM também se aproximaram aos 94,92% b.s. e 93,22% b.s. de proteínas obtidos por Batista (2016) em dourada e Monterrey-Quintero; Sobral (2000) em tilápia-do-nilo, respectivamente.

O resultado encontrado neste estudo indica que a corvina apresenta elevada concentração de proteínas miofibrilares (96,03%), importante para a formação da matriz biopolimérica.

O rendimento é altamente influenciado pelo processo de extração das proteínas miofibrilares, onde são eliminados lipídeos, minerais, sangue, proteínas sarcoplásticas e estromáticas, permanecendo uma concentração considerável das proteínas miofibrilares. O rendimento obtido neste trabalho foi de 13,25%. Araújo (2015), Pereira (2015) e Batista (2016) obtiveram rendimentos de 24,44%, 14,10% e 16,8%, respectivamente.

6.2 CONDIÇÕES PARA OTIMIZAÇÃO DO FILME

Os resultados do planejamento experimental 2^3 estão mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Matriz codificada do planejamento fatorial completo 2^3 para a otimização do filme de proteínas miofibrilares de corvina.

Ensaio	Variáveis independentes			Variáveis dependentes (respostas)		
	PM	AE	SDS	PVA (g m m ⁻² s ⁻¹ Pa ⁻¹)	RT (MPa)	E (%)
1	1,5 (-1)	10 (-1)	60 (-1)	7,67E-11	2,06	215,76
2	1,5 (-1)	10 (-1)	80 (+1)	7,52E-11	2,44	217,66
3	1,5 (-1)	30 (+1)	60 (-1)	5,02E-11	4,41	219,32
4	1,5 (-1)	30 (+1)	80 (+1)	6,98E-11	3,69	218,53
5	2,5 (+1)	10 (-1)	60 (-1)	1,15E-10	3,64	248,16
6	2,5 (+1)	10 (-1)	80 (+1)	8,26E-11	5,01	239,06
7	2,5 (+1)	30 (+1)	60 (-1)	1,20E-10	3,89	237,45
8	2,5 (+1)	30 (+1)	80 (+1)	7,55E-11	3,71	227,89
9	1,15 (-1,68)	20 (0)	70 (0)	4,84E-11	2,77	221,84
10	2,84 (1,68)	20 (0)	70 (0)	7,23E-11	4,27	240,51
11	2 (0)	3,18 (-1,68)	70 (0)	6,40E-11	3,38	245,05
12	2 (0)	36,82 (1,68)	70 (0)	6,97E-11	4,21	233,08
13	2 (0)	20 (0)	53,18 (1,68)	1,22E-10	3,49	233,03
14	2 (0)	20 (0)	86,82 (1,68)	9,22E-11	3,80	227,65
15	2 (0)	20 (0)	70 (0)	9,31E-11	3,16	236,51
16	2 (0)	20 (0)	70 (0)	9,13E-11	3,46	238,22
17	2 (0)	20 (0)	70 (0)	8,63E-11	3,12	240,20

PM: Proteínas miofibrilares Miofibrilar Liofilizada; AE: Ácido Esteárico; SDS: Dodecil Sulfato de Sódio
PVA: Permeabilidade ao vapor de água; RT: Resistência à tração; E: Elongação

6.3 ESTIMATIVA DOS COEFICIENTES DOS MODELOS

As estimativas dos efeitos das variáveis para cada modelo matemático de cada resposta avaliada foram determinadas através do erro puro e estão apresentadas na Tabela 6. Os efeitos destacados em negrito indicam que a variável apresentou efeito significativo ($p \leq 0,05$).

Tabela 6. Estimativa dos efeitos das variáveis associada à significância para cada resposta estudada

Variáveis independentes	PVA (g m m ² s ⁻¹ Pa ⁻¹)		Resistência à tração (RT) (MPa)		Elongação (E) (%)	
	Efeito	p - valor	Efeito	p - valor	Efeito	p - valor
Constante	8,99E-11	0,00	3,25	0,00	238,65	0,00
PM	2,37E-11	0,01	0,90	0,01	16,50	0,00
PM²	-1,85E-11	0,01	0,16	0,29	-7,38	0,02
AE	-3,54E-12	0,21	0,58	0,03	-5,50	0,03
AE²	-1,40E-11	0,02	0,36	0,09	-1,80	0,24
SDS	-1,59E-11	0,01	0,20	0,19	-3,89	0,06
SDS²	1,44E-11	0,02	0,25	0,15	-7,97	0,02
PM x AE	7,52E-12	0,10	-1,17	0,01	-6,58	0,04
PM x SDS	-2,38E-11	0,01	0,38	0,10	-4,95	0,06
AE x SDS	2,17E-12	0,48	-0,66	0,04	-0,79	0,61

PM: Proteínas miofibrilares liofilizada; AE: Ácido esteárico; SDS: Dodecil Sulfato de Sódio

A Tabela 7 mostra o modelo reduzido, os coeficientes de regressão, os valores de F calculado, F tabelado, R² e módulo do desvio relativo médio (P) para as variáveis dependentes: permeabilidade ao vapor de água, resistência à tração e elongação.

Tabela 7. Modelo reduzido para PVA, resistência à tração e elongação, em função das variáveis independentes, teste F, R² e P

Resposta	Modelo	F _{Calculado}		R ²	P (%)
		Regressão	F.A.		
PVA	8,99E-11 + 1,18E-11 (PM) - 0,92E-12 (PM ²) - 6,98E-12 (AE ²) - 7,96E-12 (SDS) + 7,19E-12 (SDS ²) - 1,19E-11 (PM SDS)	79,27	7,45	0,895	3,47
RT	3,26 + 0,45 (PM) + 0,29 (AE) - 0,59 (PM AE) - 0,28 (AE SDS)	30,70	3,10	0,976	5,22
E	238,65 + 8,25 (PM) - 3,69 (PM ²) - 2,75(AE) - 3,99 (SDS ²) - 3,29 (PM AE)	84,10	3,62	0,829	0,34

Regressão: F_{TAB} = 19,33 (PVA); F_{TAB} = 19,25 (RT); F_{TAB} = 19,29 (E)

Falta de ajuste: F_{TAB} = 19,37 (PVA); F_{TAB} = 19,396 (RT); F_{TAB} = 19,385 (E)

O efeito estimado demonstra o quanto cada fator influi nas respostas estudadas, portanto quanto maior o seu valor, maior é a influência. O valor do coeficiente p indica o nível de significância da variável independente sobre a resposta em estudo (BARROS NETO et al., 2001). Neste estudo foi escolhido o valor de 95% como intervalo de confiança.

Na Tabela 6 é possível verificar que os efeitos significativos para a permeabilidade ao vapor de água (PVA), foram: PM linear (PM), PM quadrático (PM^2), ácido esteárico quadrático (AE^2), dodecil sulfato de sódio linear (SDS), dodecil sulfato de sódio quadrático (SDS^2) e a interação PM x SDS. Os efeitos apresentaram significância negativa para a PVA, com exceção de PM e SDS^2 que demonstraram significância positiva em relação a esta resposta, onde um aumento dessas variáveis provoca um aumento na PVA, mas de forma quadrática, respeitando a interação PM x SDS tendo em vista a significância negativa apresentada por ela.

Uma regressão, embora significativa do ponto de vista do teste F, pode não ser útil para realizar previsões por cobrir uma faixa de variação pequena dos fatores estudados (BARROS NETO et al., 2001). Para uma regressão ser significativa não apenas estatisticamente, mas também ser útil para fins preditivos, o valor do teste F para a regressão deve ser no mínimo de quatro a cinco vezes maior que o valor de F tabelado (BOX; WETZ, 1973).

Analisando os dados da Tabela 7, observa-se que o modelo obtido para a permeabilidade ao vapor de água apresentou regressão significativa ($F_{cal.} > F_{tab.}$) e preditiva, pois o F-valor da regressão foi quatro vezes maior que o F tabelado. Através da análise de variância (ANOVA), o valor de R^2 foi de 0,895, indicando que o modelo definiu o comportamento do processo de forma aceitável, explicando mais de 89% da variação dos dados experimentais. Outro fator positivo foi o valor de 3,47% para o desvio relativo médio (P), valor este dentro do padrão sugerido por Lomauro et al. (1985), que é de no máximo 10%.

Com relação à resistência a tração (Tabela 6) verifica-se que os efeitos significativos foram: PM linear (PM), ácido esteárico linear (AE) e as interações PM x AE e AE x SDS. Sendo que estas duas últimas interações apresentaram significância negativa, onde o aumento de PM e diminuição de AE permite maiores valores de RT, bem como o contrário. O mesmo processo verifica-se para a interação AE x SDS, onde as maiores concentrações de AE combinadas às menores de SDS, também fornecem maiores resultados de RT (que é o esperado neste trabalho).

Analisando os dados da Tabela 7, observa-se que o modelo obtido para RT apresentou regressão também significativa ($F_{cal.} > F_{tab.}$). O valor de R^2 para RT foi de 0,976, indicando que o modelo descreveu adequadamente o comportamento do processo, explicando mais de 97% da variação dos dados experimentais. E o valor de 5,22% para o desvio relativo médio (P) está dentro do padrão sugerido por Lomauro et al. (1985).

Para a variável alongação (Tabela 6) os efeitos que apresentaram significância foram: PM linear (PM), PM quadrático (PM^2), ácido esteárico linear (AE), dodecil sulfato de sódio linear (SDS), dodecil sulfato de sódio quadrático (SDS^2), interação PM x AE e PM x SDS. Sendo que somente o efeito PM linear apresentou significância positiva. Na Tabela 7, observa-se que o modelo obtido para a alongação apresentou regressão significativa ($F_{cal.} > F_{tab.}$) e preditiva. O valor de R^2 indicou que o modelo definiu o comportamento do processo de forma aceitável, explicando mais de 82% da variação dos dados experimentais. Outro fator positivo foi o valor de 0,34% para o desvio relativo médio (P) entre os valores experimentais e os valores preditos, portanto dentro do padrão sugerido por Lomauro et al. (1985).

As variáveis independentes PM^2 , SDS e AE^2 apresentaram efeito negativo no comportamento da PVA, onde seus incrementos de acordo com as interações entre as variáveis provocam a redução da resposta (PVA). A diminuição de PVA influenciada pelo ácido esteárico pode ser em decorrência do tamanho de sua cadeia (18C) (DAVANÇO et al., 2007). Com o aumento das cadeias de ácidos graxos a porção apolar de cada molécula também aumenta, resultando em menor permeabilidade ao vapor de água dos filmes emulsionados (McHUGH; KROCHTA, 1994; BAE et al., 2009). As gotículas de óleo podem dificultar a migração de vapor de água na matriz do filme (TONGNUANCHAN et al., 2015), o que favorece a barreira a umidade. Além do que, a condição de pH alcalino na qual foram elaboradas as soluções filmogênica, pode provocar uma saponificação dos ácidos graxos, melhorando a incorporação destes e conseqüentemente a redução da permeabilidade ao vapor de água no filme.

Davanço et al. (2007) obteve comportamento semelhantes ao deste trabalho para formulações de filmes a base de gelatina com 70% de SDS, alcançando valores mais baixos de permeabilidade. Rhim et al. (2002) em filmes de isolado proteico de soja e 10% SDS, atribuíram o comportamento às porções hidrofóbicas das moléculas de SDS, que diminuiram a taxa de sorção e difusão das moléculas de água através das estruturas do filme. Tongnuanchan et al. (2014) relataram que o filme emulsionado de gelatina e lipídios utilizando lecitina de soja como surfactante teve menor PVA.

Segundo Davanço et al. (2007), os filmes de gelatina compostos com ácido esteárico e surfactantes apresentaram significativamente menor resistência mecânica e maior alongação, quando comparado aos filmes adicionados de outros lipídeos, como o ácido capróico. Tongnuanchan et al. (2015) relatou resistência a tração e alongação mais baixas em filme emulsionado quando comparado ao controle, a medida que o nível de óleo aumentava.

Zúñiga et al. (2012) estudaram o efeito da microestrutura (distribuição de tamanhos) e estabilidade (com ou sem agente tensoativo) de filmes emulsionados, e os resultados mostraram que a adição de óleo e dodecil sulfato de sódio (SDS) têm efeito sobre a microestrutura e propriedades físicas de emulsões, que levam a diferentes microestruturas durante a formação da película, tais autores perceberam que a forma como gotículas de óleo foram estruturadas para o filme tinha uma enorme influência sobre as propriedades físicas dos filmes de proteína do soro do leite adicionados de SDS. Estas considerações podem justificar o comportamento de baixos valores de resistência à tração e alongação, obtidos neste trabalho.

Alterações na resistência a tração e nas propriedades de barreira ao vapor de água de filmes devido à adição de SDS, foram largamente atribuídas a modificações nas associações hidrofóbicas entre moléculas vizinhas de proteínas, como as porções não polares das moléculas de SDS fixas sobre os resíduos de aminoácidos hidrófobos no interior da estrutura do filme. Segundo Rhim et al. (2002) a adição de surfactante aniônico (SDS) antes da secagem, pode modificar significativamente as propriedades de formação dos filmes.

Ainda com relação à adição de surfactantes no biofilme, Davanço et al. (2007) verificaram também que o aumento na concentração do surfactante reduziu significativamente ($p \leq 0,05$) a resistência mecânica dos filmes emulsionados. Yang; Paulson (2000) também encontraram reduzidos valores de resistência à tração em filmes de gelatina adicionados de ácido esteárico e palmítico. Segundo Bae et al. (2009), o aumento da resistência à tração e a redução na porcentagem de alongação são devidos à diminuição da mobilidade molecular, que eleva a rigidez de moléculas de polímero e também aumenta o peso molecular.

6.4 GRÁFICOS DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

6.4.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Na Figura 7 encontram-se os gráficos de superfície de resposta e curva de nível para permeabilidade ao vapor de água, gerados através dos modelos propostos (Tabela 7), considerando os pontos médios dos efeitos PM, AE e SDS. Estas superfícies confirmam a análise dos efeitos realizados anteriormente e permitem visualizar as variações das respostas para cada parâmetro estudado. Ressalta-se que nesse trabalho são esperados menores resultados de permeabilidade ao vapor de água (PVA).

Na Figura 7, verifica-se que menores valores de PVA ($<7,52E-11 \text{ g m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) são obtidos nas concentrações de 60 a 80% de SDS, 3,18 a 10% de AE (ou acima de 30%) combinadas a valores de 1,5% de PM. O menor de valor de PVA (Tabela 5) foi de $4,84E-11 \text{ g m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$.

De acordo com a Figura 7, fica evidenciada a influência do efeito negativo SDS, uma vez que conforme aumenta a concentração deste fator ocorre diminuição da permeabilidade ao vapor de água. Observa-se também, a influência do efeito positivo de PM sobre PVA, onde maior a concentração de proteína, maior essa resposta.

Os parâmetros quadráticos PM^2 e AE^2 (Figura 7c) apresentaram valores negativos, indicando a existência de uma região de máxima e a superfície de resposta formando uma parábola negativa, ou seja, com curvatura voltada para baixo. Isto explica que existe um limite destes fatores para se atingir um ponto máximo, ou seja, menores concentrações de PVA.

Observa-se que o SDS melhorou a capacidade de barreira ao vapor de água nos filmes deste trabalho, o que segundo Rhim et al. (2002), para filmes emulsionados, é um atributo desejável para aplicações como embalagem. Comportamento semelhante também observaram Davanço et al. (2007), onde a adição de surfactantes também influenciou no PVA, obtendo um dos valores mais baixos de permeabilidade ao vapor de água no filme com ácido esteárico e 70% SDS, observando-se assim, que o surfactante SDS foi efetivo no aumento da barreira ao vapor de água do filme.

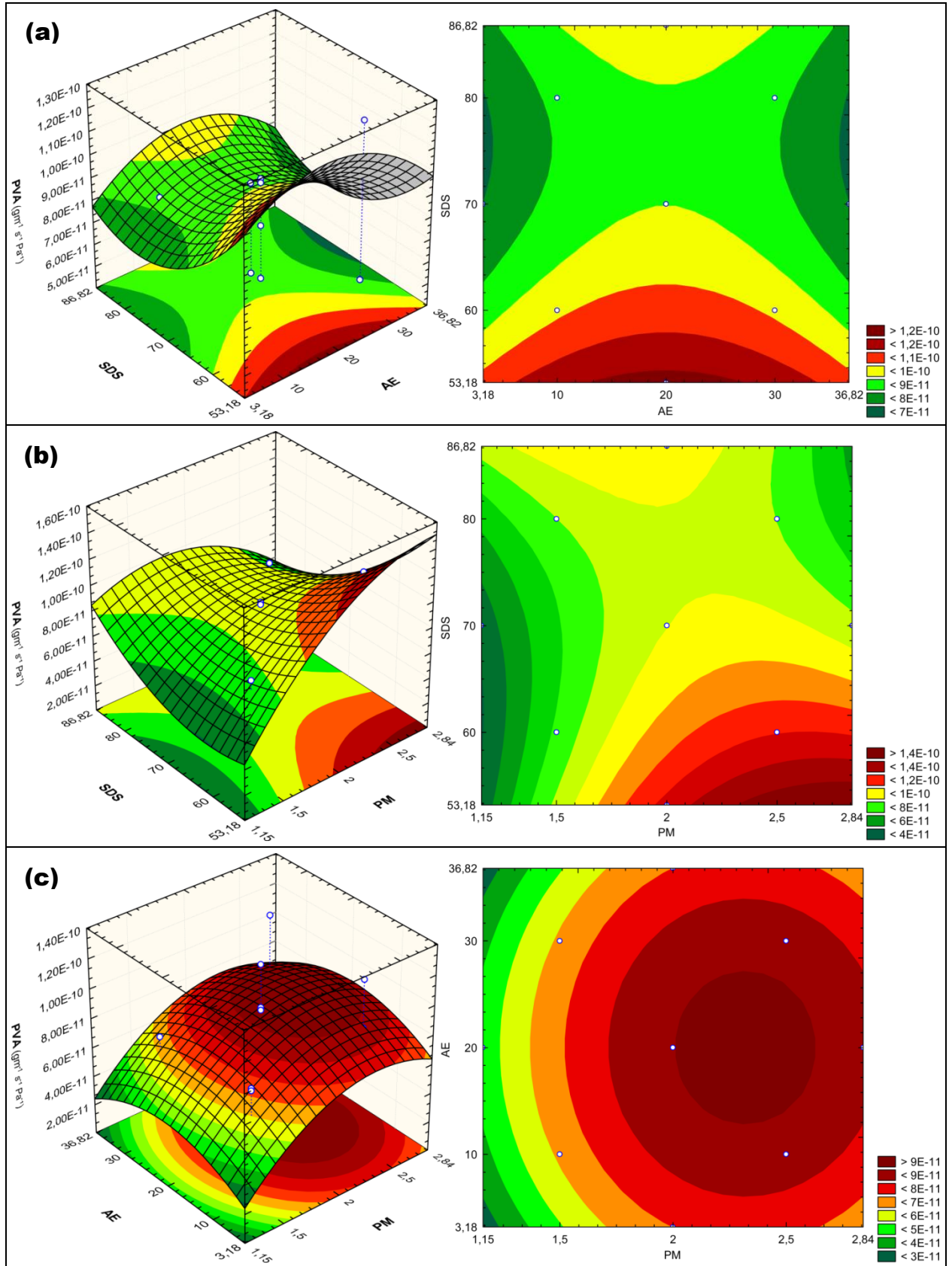


Figura 7. Superfície de resposta e curva de nível mostrando o efeito do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Ácido Esteárico (AE) (a); do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (b) e do Ácido Esteárico (AE) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (c), na permeabilidade ao vapor de água ($\text{g m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) do filme de proteínas miofibrilares de corvina.

6.4.2 Resistência à tração (RT)

Na Figura 8 observa-se os gráficos de superfície de resposta e curva de nível para resistência a tração, gerados através dos modelos propostos (Tabela 7), considerando os pontos médios dos efeitos PM, AE e SDS.

Na Figura 8a verifica-se a influência da interação negativa AE x SDS, onde maiores valores de resistência a tração (RT) são obtidos na região de nível alto de SDS e baixo de AE, ou, de forma contrária, na região de nível alto de AE combinada ao nível baixo de SDS. Comportamento semelhante foi observado para a interação PM x AE (Figura 8c).

Na Figura 8b, a interação PM x SDS indica que a região dos maiores níveis (+1) em ambos os efeitos, favorecem máximo valor de RT. Cuq et al. (1996) e Kaewprachu et al. (2016) justificaram esse comportamento ao afirmarem que a resistência a tração seria elevada com o incremento de proteínas, uma vez que o aumento do número de cadeias de proteínas por unidade de superfície, geralmente conduz a elevação no número de potenciais interações intermoleculares.

As regiões que atendam a combinação dos três efeitos para um melhor resultado de RT, considerando que para essa resposta esperam-se valores maiores, são de 60 a 80% de SDS, 25% a 36,82% de AE (ou de 3,18 a 20%) e de 2% a 2,84% de PM. O melhor valor encontrado para resistência a tração nesse trabalho foi de 5,01 MPa (Tabela 5).

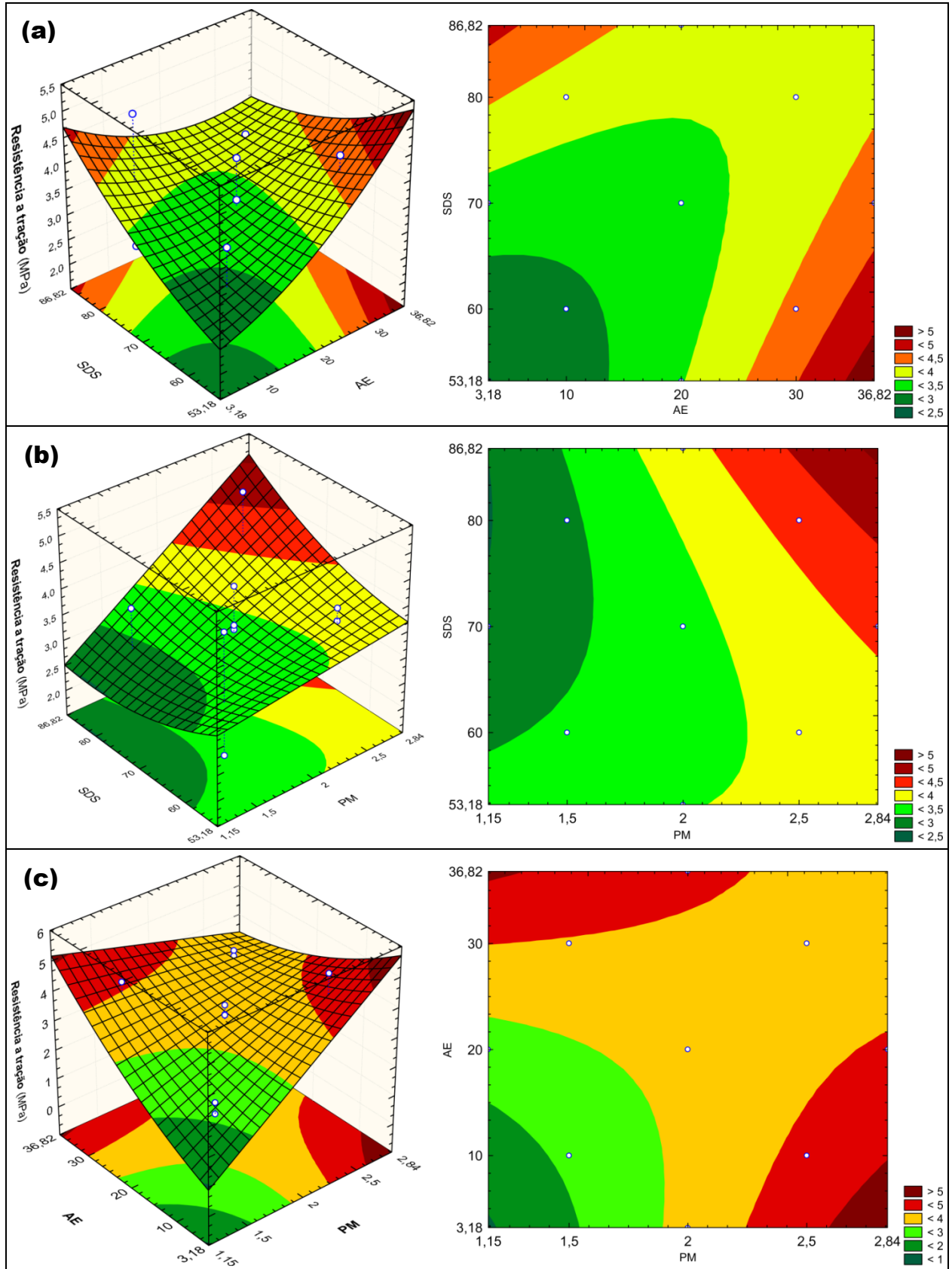


Figura 8. Superfície de resposta e curva de nível mostrando os efeitos do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Ácido Esteárico (AE) (a); Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (b) e do Ácido Esteárico (AE) e Proteínas Miofibrilares Liofilizada (PM) (c), na resistência a tração (Mpa) do filme de proteínas miofibrilares de corvina.

6.4.3 Elongação (E)

Na Figura 9 encontram-se os gráficos de superfície de resposta e curva de nível para elongação, geradas através dos modelos propostos (Tabela 7), considerando os pontos médios dos efeitos PM, AE e SDS. Neste trabalho espera-se que os filmes tenham altas porcentagens de elongação.

Na Figura 9 é possível verificar que maiores valores de elongação (E) englobam o ponto central de SDS (entre 60% e 80%), associado à região de nível baixo de AE (3,18% a 10%) e nível alto de PM (entre 2% e 2,84%), simultaneamente. O maior valor de elongação encontrado neste trabalho foi de 248,16% (Tabela 5).

Estes resultados demonstram que de todos os efeitos avaliados, o PM foi o que apresentou maior influência sobre a resposta elongação, onde pequenas variações de PM produzem altas variações de elongação (Figura 9c). Esse processo deve-se ao maior teor de proteínas que pode resultar em elevada agregação intermolecular, melhorando a flexibilidade do filme (KAEWPRACHU et al., 2016).

Os parâmetros quadráticos PM^2 e SDS^2 que apresentaram valores negativos, indicados pela parábola na superfície de resposta com a curvatura voltada para baixo, demonstram que existe um limite destes fatores para se atingir um ponto máximo, ou seja, altas porcentagens de elongação.

Em relação à influência do efeito positivo PM, análises das Figuras 8b, 8c, 9b e 9c confirmam que o aumento de proteína no filme eleva as suas propriedades mecânicas (resistência à tração e elongação). Os resultados encontraram-se semelhantes aos relatados no filme de proteína sarcoplasmática de blue marlin (IWATA et al. 2000), filme de proteínas miofibrilares de tilapia (KAEWPRACHU et al., 2016), filme de proteína do soro do leite adicionados de SDS (ZÚÑIGA et al., 2012), filme de gelatina de pele de peixe (JONGJAREONRAK et al., 2006; DAVANÇO et al., 2007) e filme de gelatina de carne bovina, carne de porco e de peixe (NUR HANANI et al., 2012).

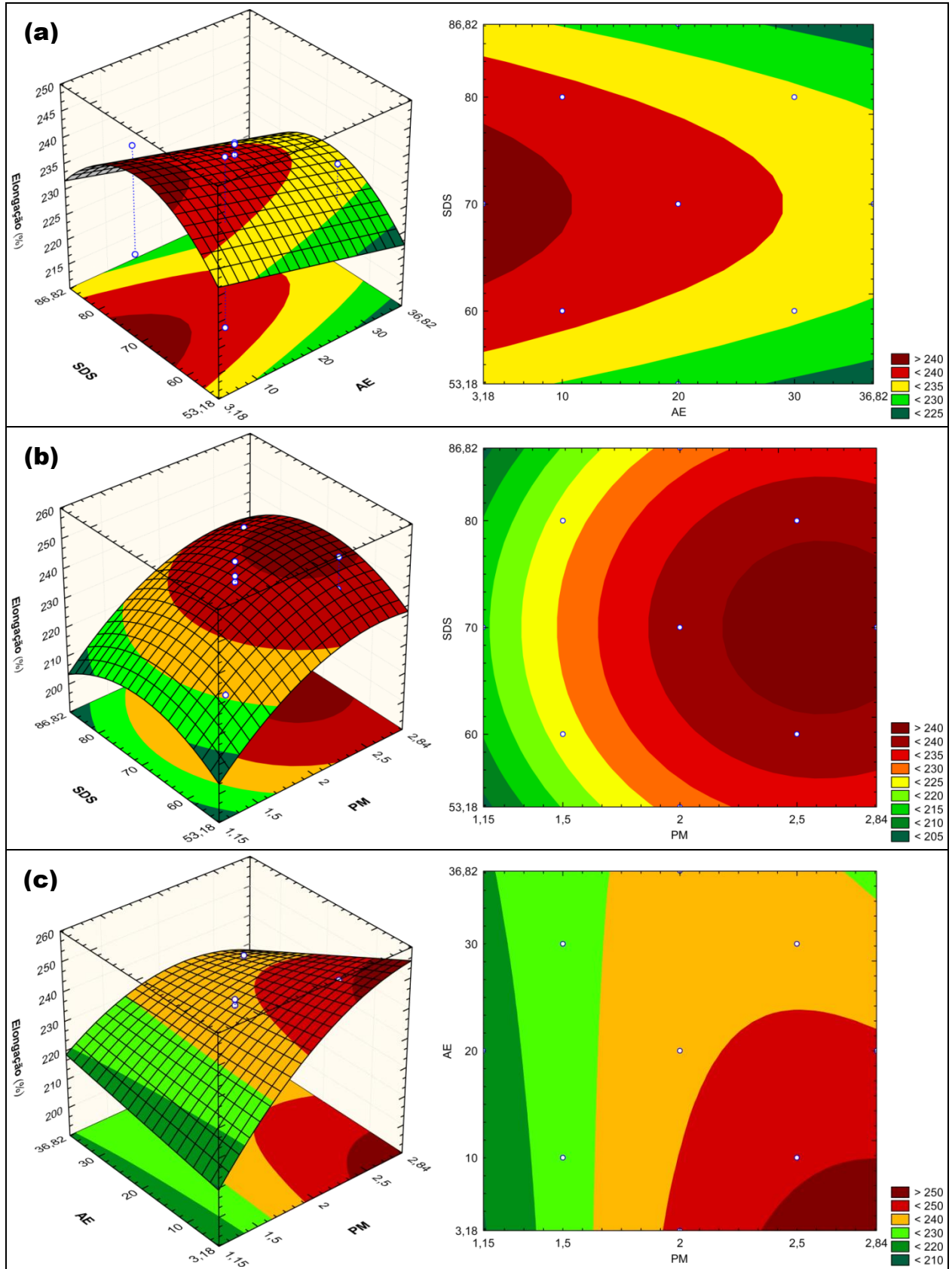


Figura 9. Superfície de resposta e curva de nível mostrando os efeitos do Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Ácido Esteárico (AE) (a); Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (b) e do Ácido Esteárico (AE) e Proteínas Miofibrilares Liofilizadas (PM) (c), na elongação (%) do filme emulsionado.

6.5 DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES ÓTIMAS DE PROCESSO: FUNÇÃO DESEJABILIDADE

Após a análise estatística dos dados e a confirmação de que o modelo proposto está adequado aos resultados torna-se necessário a determinação das condições ótimas. Na otimização do processo de produção dos filmes foram consideradas as seguintes propriedades: permeabilidade ao vapor de água (PVA), resistência a tração (RT) e alongação (E). A baixa PVA e altas RT e E foram as características consideradas desejáveis para a obtenção de um bom filme. As melhores condições foram determinadas através da avaliação da desejabilidade máxima (D) para todas as variáveis de resposta, obtendo-se os valores operacionais ótimos das variáveis independentes (PM, AE e SDS) que maximizassem todas as respostas, conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8. Condições de desejabilidade (d_i) das variáveis respostas durante a otimização da produção dos filmes.

Variável resposta		Mínimo	Médio	Máximo	s	t
PVA	Valor	4,84E-11	8,51E-11	1,22E-10	5	5
	d_i^*	1,00	0,50	0,00		
E	Valor	215,76	231,96	248,16	5	5
	d_i	0,00	0,50	1,00		
RT	Valor	2,06	3,53	5,01	5	5
	d_i	0,00	0,50	1,00		

* Condições de desejabilidade; expoentes s e t; PVA: permeabilidade ao vapor de água; RT: resistência à tração e E: alongação.

Os perfis de desejabilidade representam o diagrama da função desejabilidade para a descrição das condições otimizadas da obtenção do filme emulsionado dentro das faixas de valores estabelecidos nos ensaios experimentais, e estão apresentados na Figura 10.

Nas Figuras 10a, 10b e 10c encontram-se os valores preditos desejáveis para os três fatores de interesse considerando o limite de confiança referente ao valor ótimo para: permeabilidade ao vapor de água (PVA), alongação (E) e resistência a tração (RT), respectivamente.

Os gráficos do quarto grupo (Figura 10d) apresentam as tendências ou projeções matemáticas reveladas pelos fatores, onde a linha horizontal azul tracejada representa o valor ótimo de resposta e a linha vertical vermelha tracejada indica em quais concentrações de proteínas miofibrilares (PM), ácido esteárico (AE) e Dodecil Sulfato de Sódio (SDS) se obtém

a melhor resposta. Por fim, os gráficos da última coluna a direita mostram o perfil de desejabilidade das três respostas, PVA, RT e E, definidas de acordo com os valores escolhidos para os limites e expoentes na Tabela 8.

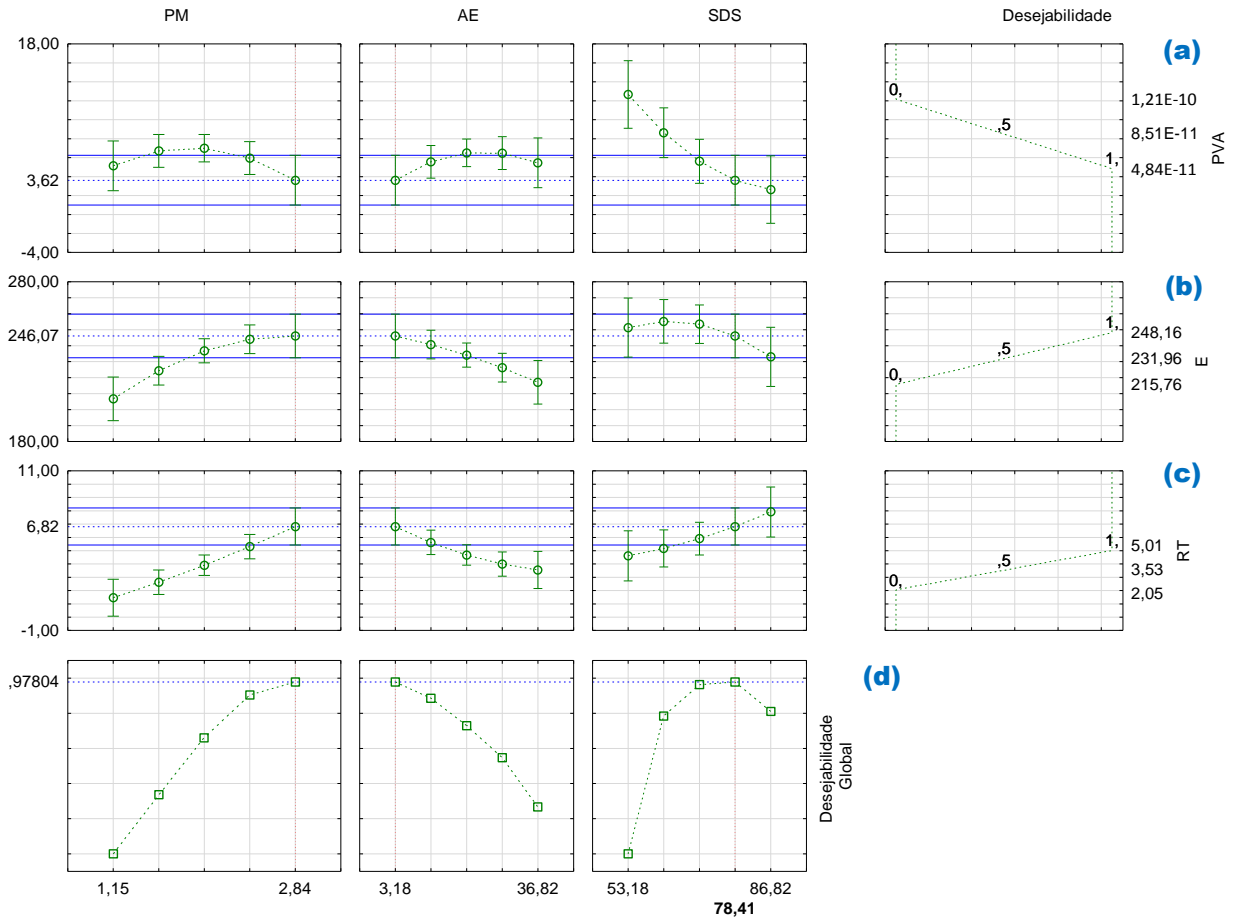


Figura 10. Perfis de valores preditos e desejabilidade para as respostas PVA, RT e E.

A análise dos resultados da função de desejabilidade evidenciou que a PVA, E e RT foram maximizadas, função global igual a 0,978, o que corresponde a 98% de confiança, utilizando os fatores PVA, E e RT em 2,84% PM, 3,18% AE e 78,41% SDS.

Na Tabela 9 observamos os valores preditos e experimentais para as respostas PVA, RT e E, dentro das faixas de valores estabelecidos nos ensaios experimentais. Os valores experimentalmente obtidos se encontraram próximos aos valores desejáveis pela função desejabilidade, ratificando que os modelos representaram de forma adequada as respostas estudadas no processo de obtenção do filme de proteínas miofibrilares de corvina adicionado de ácido esteárico e SDS, apesar do desvio relativo referente ao valor de PVA estar acima de 10% (LOMAURO et al., 1985), tal resultado está compatível com a literatura (BERTAN et al., 2005a; DAVANÇO et al., 2007; ZAVAREZE et al., 2012; PIRES et al., 2013;

PHAKAWAT et al., 2015; BATISTA, 2016; KAEWPRACHU et al., 2016; ROSTAMZAD et al., 2016).

Tabela 9. Valores preditos pela função desejabilidade e verificação experimental.

Desejabilidade			Respostas			
PM	AE	SDS	PVA (g m ⁻¹ s ⁻¹ Pa ⁻¹)	E (%)	RT (MPa)	
2,84%	3,18%	78,41%	Valores preditos	3,62E-11	246,07	6,82
			Valores experimentais	5,87E-11	235,60	6,35
			Desvio relativo (%)	38,33	4,44	7,40

PM: Proteínas Miofibrilares Liofilizadas; AE: Ácido Esteárico; SDS: Dodecil Sulfato de Sódio
PVA: Permeabilidade ao vapor de água; RT: Resistência a tração; E: Elongação

6.6 CARACTERIZAÇÃO DO FILME OTIMIZADO

Os resultados da caracterização mecânica, física, de barreira e cor do filme controle e do filme otimizado estão apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10. Caracterização mecânica, física, de barreira e cor do filme controle e do filme otimizado.

Determinações	Resultados	
	Controle ¹	Otimizado ²
Espessura do filme (mm)	0,147±0,0029 ^a	0,176±0,0181 ^a
Força na ruptura (N)	14,98±1,5628 ^a	17,45±0,9526 ^a
Resistência à tração (MPa)	3,99±0,7608 ^b	6,35±0,8857 ^a
Elongação (%)	364,93±4,3306 ^a	235,60±11,3589 ^b
PVA (g m ⁻² s ⁻¹ Pa ⁻¹)	1,92E-10±1,72E-11 ^a	5,87E-11±6,71E-12 ^b
Solubilidade (%)	34,66±1,1633 ^b	42,24±0,2786 ^a
Intumescimento do filme (m _{água} /m _{sólidos secos})	29,45±3,038 ^a	24,85±0,7093 ^a
Parâmetros de cor		
L*	89,17±0,5290 ^a	87,34±0,4235 ^b
a*	-4,51±0,2014 ^a	-5,71±0,0741 ^b
b*	11,25±0,6106 ^b	19,32±0,8757 ^a
h	111,83±0,4001 ^a	106,48±0,8001 ^b
C*	12,13±0,6390 ^b	20,15±0,8309 ^a
ΔE	7,16±0,6683 ^b	13,86±0,9479 ^a

1 Filme controle com 2,84% de PM e 30% de plastificante; 2 Filme otimizado com 2,84% de PM, 30 % de plastificante, 3,18% de ácido esteárico e 78,41% de SDS. Letras iguais em colunas diferentes não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância (p ≤ 0,05).

6.6.1 Espessura

Na Tabela 10 se observa um ligeiro aumento de espessura ao se comparar o filme controle (0,147 mm) contendo apenas proteínas miofibrilares e glicerol, com o otimizado (0,176 mm) adicionado de ácido esteárico e SDS. Estatisticamente, não houve diferença significativa de espessura entre os filmes controle e otimizado. Prodpran et al. (2007) e Oliveira et al. (2012) obtiveram aumento de espessura em filmes de proteínas miofibrilares de peixe (*Decapterus maruadsi*) adicionados de óleo de palma e filmes de gelatina adicionados de óleo de coco e surfactante (Tween 20), respectivamente. O aumento na espessura pode ser influenciado pela não associação do surfactante com as cadeias proteicas, podendo ocorrer um aumento no volume de espaços vazios na estrutura, e conseqüente aumento na espessura, o que pode influenciar outras propriedades (GONTARD et al., 1994).

Quanto mais elevada for a concentração de proteínas na solução filmogênica, maior será a espessura do filme, onde maiores concentrações de proteínas utilizadas na formulação induz o aumento de sólidos na matriz polimérica formada após a secagem da solução filmogênica e conseqüentemente produzindo filmes mais espessos (GARCIA; SOBRAL, 2005). Este comportamento foi observado por Zavareze et al. (2012) ao determinar espessuras de 0,137 a 0,223 mm em filmes com concentrações de 3, 4 e 5% de proteínas miofibrilares de corvina; bem como verificado também por Batista (2016), que obteve 0,080 mm em filmes com 1,3% de proteínas miofibrilares de dourada adicionado de quitosana. Neste trabalho foram utilizadas concentrações de proteínas maiores (2,84%), o que incorreu em filmes mais espessos (0,147 e 0,176 mm). Cortes (2015) obteve valores maiores de espessura de 0,15 a 0,27 mm em filmes a base de zeína, fibras, ácido oléico e emulsificante; e Davanço et al. (2007) obtiveram 0,095 mm de espessura em filmes de gelatina adicionados de 10% de ácido esteárico e 70% de SDS.

O tipo de aplicação do filme indicará qual a melhor espessura durante sua elaboração. No presente trabalho foram obtidos filmes mais espessos, favorecido pelas soluções filmogênicas mais viscosas devido à alta concentração de proteínas utilizadas; tais características são ideais para aplicação e revestimento de frutos.

6.6.2 Propriedades mecânicas: força na ruptura, resistência à tração e alongação

O filme de proteínas miofibrilares de peixe adicionado de ácido esteárico e SDS (otimizado) obteve aumento na resistência a tração e diminuição na alongação quando comparado ao filme somente de proteínas miofibrilares (controle), apresentando diferença significativa entre os parâmetros RT e alongação (Tabela 10). Prodpran et al. (2007) e Tongnuanchan et al. (2015) relataram RT mais baixa e maior alongação em filme emulsionado a medida que se utilizava maiores concentrações de óleo. Tais comportamentos se devem a depressão da mobilidade molecular, que eleva a rigidez de moléculas de polímero e também aumenta o peso molecular (BAE et al., 2009).

Na formulação com 60% de SDS em filmes de gelatina de peixe e ácido esteárico, na qual foi efetuado o ajuste de pH, observou-se o menor valor de alongação entre todas as formulações estudadas por Davanço et al. (2007) e no mesmo filme os autores obtiveram 12,1 Mpa de RT. No presente trabalho, se obteve 6,35 Mpa de RT e 235,6% de alongação no filme otimizado (Tabela 10).

Zavareze et al. (2012) apresentaram 4,09 Mpa de RT e 193,1 % de alongação em filmes de 0,137 mm de espessura e 3% de proteínas miofibrilares de corvina. Araújo (2015) obteve resistência a tração de 4,915 MPa e alongação de 178,08 %; Batista (2016) encontrou resistência a tração de 5,145 MPa e alongação de 115,437 %, ambos em filmes de proteínas de resíduos da filetagem de peixe. Neste trabalho, o filme controle de proteína miofibrilares de corvina, apresentou RT de 3,99 Mpa e alongação de 364%.

Quanto ao parâmetro de força necessária para ruptura dos filmes, os valores de 14,98N encontrado para o filme controle e 17,45 N para o otimizado (Tabela 10), não apresentaram diferença significativa. Batista (2016) obteve valores menores de 7,139 N no filme controle e 11, 588 N em filmes de proteínas de peixe adicionado de quitosana. Monterrey-Quintero; Sobral (2000) em filmes de proteínas miofibrilares de Tilápia-do-Nilo obtiveram força de 6,67 N. Em filmes de proteínas miofibrilares de carne bovina, Souza et al. (2012) obtiveram força na ruptura máxima de aproximadamente 2,5 N. Filmes de proteínas de pescada adicionados de óleo de tomilho exibiram força de 3,3 N (PIRES et al., 2013). Sobral (1999) constatou que a força na ruptura dos filmes aumentou linearmente com o aumento da espessura.

6.6.3 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A tabela 10 mostra o resultado de PVA de $1,92E-10 \text{ g m m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ para o filme controle e de $5,87E-11 \text{ g m m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ para o otimizado, indicando uma redução de aproximadamente 31% neste parâmetro, o que mostra que a adição do ácido esteárico e SDS foram efetivos no aumento de barreira ao vapor de água no filme de proteínas miofibrilares de corvina. Kaewprachu et al. (2016) encontraram faixa de 0,80 a $2,81 E-10$ de PVA em filmes de proteínas miofibrilares de tilápia e Rostamzad et al. (2016) obtiveram $3,08E-10 \text{ g m m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ também em filmes de proteínas de peixe (carpa prata). Phakawat et al. (2015) em filmes de gelatina de peixe (tilápia) com óleo de palma obtiveram PVA na faixa de 0,70 a $2,54E-11 \text{ g m m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ e Pires et al (2013) que estudou filmes de proteínas de pescada adicionados de óleos essenciais obteve 3,57 a $4,2E-11 \text{ g m m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$ de PVA. O filme com ácido esteárico e 70% de SDS apresentou um dos valores mais baixos de permeabilidade ($1,9 \text{ g mm m}^{-2}\text{d KPa}$ ou $2,2E-11 \text{ g m m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$) no estudo desenvolvido por Davanço et al. (2007), valor um quarto menor do que o atingido para o filme sem a adição do surfactante, observado-se que o surfactante SDS foi mais efetivo na diminuição da permeabilidade ao vapor de água para esse filme. Rhim et al. (2002) afirmam que a porção hidrofóbica do surfactante auxilia na redução da difusão das moléculas de água pela estrutura dos filmes emulsionados. Péroval et al. (2002) comparando a adição de ácidos graxos em filmes de arabinosilana, constataram que PVA dos filmes com ácido esteárico fora menor que dos filmes com ácido palmítico.

A permeabilidade dos filmes biodegradáveis depende fortemente da estrutura do filme, por exemplo, do tamanho e da homogeneidade da distribuição de glóbulos de gordura no filme (DAVANÇO et al., 2007). Ácidos graxos saturados, como o ácido esteárico, são mais efetivos no controle de migração de umidade que os ácidos graxos insaturados. Estudo feito por Fernández et al. (2007), com adição de ácidos graxos em filmes de proteínas de soro do leite, mostrou que ácidos graxos saturados (esteárico, C18:0) apresentaram maior eficiência na redução da permeabilidade ao vapor de água, que os ácidos graxos insaturados (ácido oléico e linoleico, C18:1 e C18:2), uma vez que as duplas ligações das cadeias destes últimos favorecem a difusividade molecular da água.

Alguns autores também relacionam a diminuição do PVA com o aumento da solubilidade do surfactante no meio (CHEN et al., 2009; ANDREUCETTI et al., 2011), o que favorece as formações de ligações de hidrogênio entre os grupos polares do surfactante e da parte hidrofílica das proteínas e/ou plastificante, o que pode reduzir consideravelmente o número de grupos hidrofílicos disponíveis para se ligar à água (CHEN et al., 2009).

6.6.4 Solubilidade e intumescimento

Após um período de 24 horas em que foram imersos em água e sob agitação de 150 rpm e posteriormente secos, o filme otimizado apresentou um aumento significativo ($p \geq 0,05$) de solubilidade quando comparado ao filme controle (Tabela 10), atingindo valor de 42,24%. De acordo com os resultados obtidos através desta análise, observou-se que o filme otimizado elaborado com 2,84% de PM, 30% de glicerol, 3,18% de ácido esteárico e 78,41% de SDS (otimizado) sofreu um acréscimo de aproximadamente 22% em sua solubilidade à água.

A menor solubilidade dos filmes somente de proteínas, neste caso o do controle, pode resultar de interações proteína-proteína, tais como a agregação de moléculas de proteína por ligações covalentes dissulfeto que desempenham um papel importante na formação de película como mencionado por Hernández-Muñoz et al. (2004).

Estudos anteriores (YOSHIDA, 2002; DAVANÇO, 2006; FERREIRA, 2006; ZAHEDI et al., 2010, BAHRAM et al., 2013) mostraram que a solubilidade à água dos filmes com compostos lipídio-proteína em pH alcalino, tiveram uma redução significativa na solubilidade em água. Porém, semelhante ao deste trabalho, Davanço (2006) obteve aumento da solubilidade, ao incrementar elevadas concentrações de SDS em filmes emulsionados com ácido esteárico. Outros trabalhos (RHIM et al., 2002; BERTAN, 2003; BERTAN et al, 2005a; ARTHARN et al., 2009) obtiveram resultados semelhantes em filmes emulsionados onde a solubilidade dos filmes aumentou conforme a concentração de lipídio era elevada. Pires et al. (2013) também verificaram em filmes a base de proteínas de pescada, que adição dos óleos de citronela, coentro e tomilho resultou em significativo ($p < 0,05$) aumento da solubilidade. Enquanto que Halal et al. (2015) perceberam que incorporação de óleo de palma não afetou significativamente a solubilidade em água dos filmes obtidos a partir de proteínas de corvina em pH alcalino.

Neste estudo era esperado uma redução na solubilidade do filme otimizado devido à adição de ácido esteárico e SDS, uma vez que a solubilidade em água dos filmes esta relacionada diretamente com as interações intermoleculares entre seus componentes, de acordo com sua estrutura e suas características químicas (hidrofilicidade e hidrofobicidade) entre outras. Entretanto, observou-se que a adição das substâncias hidrofóbicas causou um aumento significativo da solubilidade dos filmes estudados. Outra explicação para a alta solubilidade do filme otimizado estaria na elevada concentração de proteínas, que favorece o aumento na disponibilidade de grupos polares e por consequência, filmes com uma maior solubilidade em água. Outra justificativa também estaria na propriedade desnaturante que o

SDS apresenta, provavelmente devido ao enfraquecimento das forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas, desestabilizando assim a estrutura do filme (DAVANÇO, 2006; FERREIRA, 2006). Vários outros fatores também podem ser responsáveis pelas diferenças de solubilidade em água do filme além da desnaturação de proteínas, como a percentagem de plastificante e método utilizado para a determinação da solubilidade em água. A solubilidade do filme também é bastante dependente de fatores como a espécie de peixe, tipo de músculo usado e preparação de formação do filme (PIRES et al., 2013).

A avaliação do índice de intumescimento em filmes permite verificar por antecipação a perspectiva de degradação, que está relacionada ao grau de hidratação do sistema. Na Tabela 10 verifica-se que após 6 h de imersão em água, o filme otimizado teve sua integridade reduzida em aproximadamente 16%, sem diferença significativa quando comparado ao controle. Carulo (2005) também obteve menor grau de intumescimento em filmes de alginato de cálcio com lipídeos. Valores de intumescimento obtidos por Galus; Kadzińska (2016) em filmes de proteínas do soro de leite com óleo de amêndoas ou nozes foram menores em comparação ao controle, mas apenas a incorporação de óleo de amêndoa apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$).

A diminuição do intumescimento é consequência da maior hidrofobicidade do filme com ácido esteárico e SDS, favorecido provavelmente por uma matriz com maior densidade e conseqüentemente, menor difusividade molecular da água e menor capacidade de intumescimento, fatores confirmados pelo reduzido valor de permeabilidade ao vapor de água encontrado neste trabalho para o filme otimizado, bem como pelos resultados da análise mecânica.

Alimentos com alta atividade de água requerem embalagens com baixa solubilidade em meio aquoso, a fim de manter a integridade da embalagem e conseqüentemente a qualidade do produto armazenado (PÉREZ-GAGO, NADAUD e KROCHTA, 1999). Por outro lado, filmes biodegradáveis com alta solubilidade como o deste trabalho, podem ser utilizados para armazenar porções individuais de alimentos que serão dissolvidos em água quente ou durante o seu preparo, bem como películas absorventes de exsudados de retalhos de aves, carnes e peixes em bandejas, e pode também ser utilizado para a embalagem de frutas frescas e vegetais. Assim, o filme adicionado de lipídeo oferece boas oportunidades de emprego e com potencial de aplicação no setor de embalagens de alimentos. (GONTARD et al., 1992; RHIM, 2012).

6.6.5 Transmissão de luz e transparência

Na Tabela 11, pode-se verificar o efeito da incorporação do SDS e ácido esteárico no filme otimizado à base de proteínas miofibrilares de corvina, sobre as propriedades de barreira à radiação na região UV/Vis em função da transmitância em diferentes comprimentos de onda (200-800 nm) e transparência a T600/mm.

Tabela 11. Transmissão de luz e transparência do filme controle e otimizado.

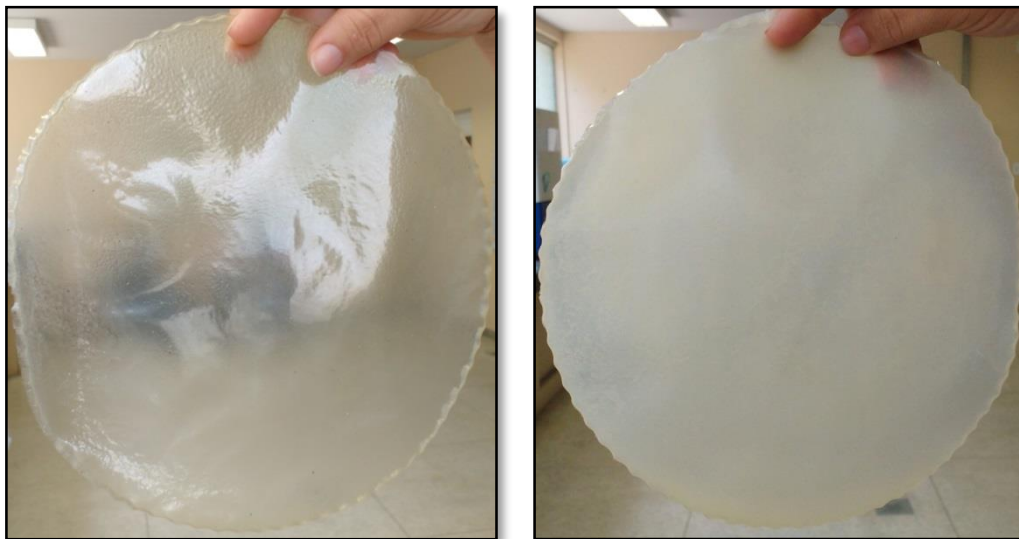
Filme	Transmissão de luz (%)								Transparência (T ₆₀₀)
	Comprimento de onda (nm)								
	200	280	350	400	500	600	700	800	
Controle ¹	59,23 ^a	27,30 ^a	53,80 ^a	63,47 ^a	75,67 ^a	77,47 ^a	81,73 ^a	81,50 ^a	0,76 ± 0,019 ^a
Otimizado ²	0,00 ^b	0,00 ^b	4,73 ^b	8,20 ^b	15,03 ^b	19,47 ^b	26,30 ^b	30,47 ^b	4,07 ± 0,319 ^b

¹ Filme controle com 2,8% de PM e 30% de plastificante; ² Filme otimizado com 2,8% de PM, 30 % de plastificante, 3,18% de AE e 78,40% de SDS. Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$).

De um modo geral, na faixa de comprimento avaliado, as transmitâncias obtidas para o filme otimizado foram significativamente menores às do filme controle (Tabela 11), indicando assim, filmes não transparentes (transmitância muito abaixo de 90%) e com a propriedade de barreira na região do UV/Vis, fator este, considerado importante na área de embalagens alimentícias, uma vez que a luz UV causa a deterioração oxidativa de alimentos embalados, levando a perdas de nutrientes, descoloração e off flavors (MARTINS et al., 2012).

O filme controle apresentou menor barreira à luz, com valores de 53,80 a 81,50% de transmitância na faixa correspondente ao espectro da luz visível. Araújo (2015) e Batista (2016) em filmes de proteínas miofibrilares de peixes encontraram na mesma faixa de comprimento de onda, transmitância de 78,73 a 87,97% e 75,2 a 87,6%, respectivamente, indicando filmes ligeiramente mais transparentes aos resgistrados neste trabalho.

Figura 11. Filme controle com 2,84% PM e 30% glicerol (1) e filme otimizado com 2,84% PM, 30% glicerol, 3,18% AE e 78,41% SDS (2).



(1)

(2)

O filme otimizado apresentou valor de transparência de 4,07 e o controle de 0,76. Quanto menor o valor maior é a transparência, assim sendo, o filme adicionado de ácido esteárico e SDS se mostrou menos transparente ($p < 0,05$) que o filme somente de proteína miofibrilar (Figura 11). Pires et al. (2013) também verificaram que os filmes de proteínas de pescada com óleo adicionado eram menos transparentes que o filme controle. Davanço et al. (2007) em filmes de gelatina de peixe relataram que a adição do surfactante SDS provocou aumento na opacidade, tanto nos filmes com ácido esteárico, como também nos filmes com ácido capróico. Rhim et al. (2002) obtiveram menor transparência em filmes de isolado proteico de soja contendo variadas quantidades de SDS (10, 20 e 40%) do que nos filmes sintéticos. Segundo Halal et al. (2015), filmes de proteína isolada de corvina, incorporados de óleo de palma tiveram taxa de opacidade aumentada quando comparados aos filmes sem óleo e afirmam que isso tem consequência direta da presença de gotículas lipídicas dispersas na película e também do estado físico do lípidio (sólido) à temperatura ambiente. Comportamento contrário obtiveram Ahmad et al. (2012) onde os filmes de gelatina de peixe incorporados de óleos de erva cidreira se apresentaram mais transparentes que o controle. Prodpran, Benjakul e Artharn (2007) relataram que a transparência dos filmes de proteínas de músculo de peixe adicionado de surfactante Tween 20 e quitosana, não foi significativamente afetada pela adição de óleo de palma. Isto pode ser devido ao efeito de dispersão da luz através dos espaços vazios presentes na superfície da película (HALAL et al., 2015). Yang e Paulson (2000) relataram que as diferenças de opacidade da película foram determinadas pelas propriedades ópticas de lípidios incorporados. Rubilar et al. (2015) percebeu a

diminuição da transparência em 3,89% em filmes a base metilcelulose e soro do leite adicionados de óleo de girassol e SDS. Assim, a incorporação de ácido esteárico e surfactante SDS nos filmes tiveram direta influência sobre os resultados de transmissão de luz e transparência nos filmes.

6.6.6 Cor

Os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* , H, C^* e ΔE^*) para o filme otimizado e controle são apresentados na Tabela 10. Os efeitos da adição de ácido esteárico e SDS sobre a luminosidade (L^*) dos filmes foram praticamente irrelevantes. O filme otimizado apresentou elevado valor de L^* (87,34%), ligeiramente menor ($P < 0,05$) que o do controle (89,34%). Comportamento semelhante observou Phakawat et al. (2015) em filmes de gelatina de peixe (tilápia) com óleo de palma, obtendo faixa de 90,36 a 90,89% de luminosidade e 91,32% no controle. Pires et al. (2013) em filmes de proteínas de pescada adicionados de óleo de tomilho obtiveram também alta luminosidade (92,45 a 93,72%).

Os demais parâmetros de cor a^* , b^* , H, C^* e ΔE^* sofreram influência da adição do ácido esteárico e SDS no filme, apresentando diferença significativa entre os filmes controle e otimizado. O filme otimizado apresentou coloração amarelada, como indicado pelo valor de b^* (19,32) e falta de tendência ao avermelhado ($+a^*$), apresentou também valor de croma (C^*) de 20,15, valor bem maior que o do controle (12,13). Quanto mais alto é o croma (C^*), mais intensa ou saturada é a cor. O ângulo de tonalidade h^* indicou uma coloração também mais intensa para o filme otimizado. A diferença de cor (ΔE^*) do filme otimizado (13,86) foi bem maior que o do controle (7,16), indicando filme menos claro.

Comportamentos semelhantes ao deste estudo obtiveram alguns autores. Em filmes de isolado protéico de soja, Rhim et al. (2002) atribuíram o aumento do tom amarelado, indicados por maiores valores de b^* , às elevadas quantidades de SDS. Tongnuanchan et al. (2011b) e Tongnuanchan et al. (2015), relataram que filmes de tilápia tornaram-se amarelados em comparação ao filme controle como evidenciado pelos aumentos de valores de b^* e ΔE^* . Artharn et al. (2009) também relataram que o filme de músculo scad redondo foi mais amarelado como indicado pelo aumento no valor de b^* . O valor de $-a^*$ (intensidade de verde) encontrado neste trabalho foi maior que os encontrados por Arfat et al. (2014).

Devido à grande superfície de película, os ácidos graxos podem sofrer oxidação com facilidade e este pode causar a coloração amarelada do filme a base de proteínas de peixe. Outro fator estaria no pH alcalino, do processo de ajuste da solução filmogênica, que teria

ativado as proteases e por consequência, as hidrolises das proteínas, proporcionando grupo amino livre para a reação de Maillard. Adicionalmente, o pH pode determinar a taxa de descoloração amarela do filme à base de proteína de peixe (TONGNUANCHAN et al., 2011; TONGNUANCHAN et al., 2011b).

Em geral, os filmes biodegradáveis devem ser tão próximos quanto possível do incolor para simular a aparência de filmes poliméricos comuns. No entanto, o aumento do tom amarelado do filme otimizado, não foi considerado visualmente prejudicial, pelo contrário, tais características podem vir a favorecer a proteção dos alimentos embalados da deterioração oxidativa causada pela luz (RIGO, 2006; MARTINS et al., 2012).

6.6.7 Análises térmicas: termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA)

O comportamento térmico do filme controle e do filme otimizado estão ilustrados na Figura 12 e os eventos e suas respectivas perdas de massa descritas na Tabela 12.

Ambos os filmes apresentaram quatro estágios de perda de massa. O primeiro estágio, correspondendo a picos endotérmicos (61,78 e 89,36°C), foi verificado nas temperaturas de 60,8°C (com perda de massa $P_1 = 4,77\%$) para o filme controle e 87,19°C (com perda de massa $P_1 = 3,44\%$) para o filme otimizado. A perda de massa verificada nessa temperatura pode ser atribuída à perda de água livre e água fracamente ligada nas moléculas dos componentes, característico da umidade presente na amostra (LIU et al., 2009; MARTINS et al., 2012).

No primeiro evento de decomposição, o filme controle indicou uma maior perda de massa e menor temperatura de decomposição que o filme otimizado. A maior perda de massa do filme controle pode ser atribuída ao maior conteúdo de umidade deste filme quando comparado ao filme otimizado. O que indica possivelmente que houve uma maior evaporação de água da estrutura do filme controle, como também verificado por Tongnuanchan et al., (2014), Carpiné (2015) e Batista (2016). Dessa forma, acredita-se que uma menor quantidade de energia foi necessária para evaporar a água do filme controle, devido a esta se encontrar mais disponível ou mais fracamente ligada que a água presente no filme otimizado. Este fato sugeriu que havia menos absorção de água da matriz do filme otimizado devido à sua maior hidrofobicidade, como também verificou Halal et al. (2015).

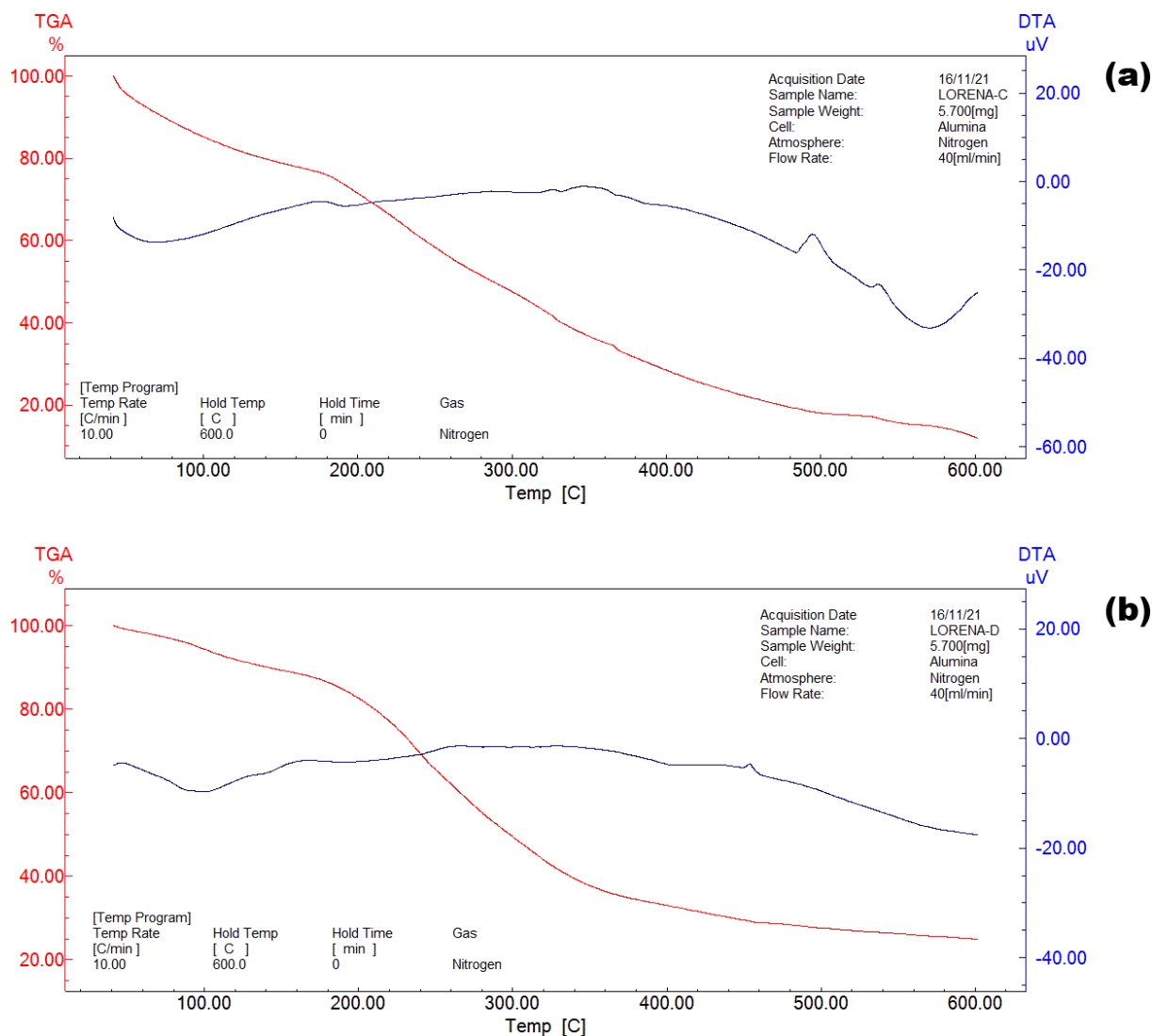


Figura 12. Curvas de TG e TDA para o filme controle (a) e para o filme otimizado (b).

O segundo estágio que correspondeu a picos exotérmicos foi observado nas temperaturas de pico de 169,42 ($P_2 = 15,73\%$) e 159,16°C ($P_2 = 9,84\%$) para os filmes controle e otimizado, respectivamente, e está relacionado com a degradação de frações das proteínas atribuída à oxidação e combustão dessa matéria orgânica.

O terceiro evento ($Tp_3 = 427,42^\circ\text{C} / P_3 = 54,92\%$ para o filme controle e $Tp_3 = 402,93^\circ\text{C} / P_3 = 58,37\%$ para o otimizado) e o quarto ($Tp_4 = 555,57^\circ\text{C} / P_4 = 58,15\%$ para o filme controle e $Tp_4 = 449,90^\circ\text{C} / P_4 = 61,22\%$ para o otimizado) estão associados à decomposição da maior fração das proteínas miofibrilares de peso molecular mais elevado e a decomposição glicerol, uma vez que este plastificante possui ponto de ebulição a cerca de 182,0°C (HALAL et al., 2015). O terceiro evento também está associado à decomposição térmica do ácido esteárico, presente no filme otimizado, que possui temperatura de pico média de decomposição de 236,33°C para taxa de aquecimento de 10°C/minuto (MATOS, 2012) e

também deve-se a decomposição térmica do SDS, que Yu; Zhu. (2011) avaliaram ser de 213 °C. Nestas etapas se observa eventos endotérmicos em 383,61, 481,72, 528,39 e 566, 61°C no filme controle e um pico de 396,91°C no otimizado, ambos devido a processos de desidratação. E ainda nesses eventos se observou também picos exotérmicos em ambos os filmes, para o controle nas temperaturas de 492,91 e 533,54°C e para o otimizado em 452,15°C. Tais anomalias de picos observadas nas curvas TG-DTA se deveram à combustão de matéria orgânica, em que a temperatura da amostra excede a do forno (de referência). Além disso, os dois filmes apresentaram massa residual (que representa o conteúdo de carvão animal a 600 ° C) na gama de 34,80 - 39,38%.

No geral, a adição do ácido esteárico e SDS no filme aumentou ligeiramente a perda de massa, mas permitiu uma maior estabilidade na temperatura de degradação do filme.

Tabela 12. Eventos térmicos relacionados à análise termogravimétrica do filme controle e otimizado.

Filme	Evento 1		Evento 2		Evento 3		Evento 4		Res (%)
	Tp ₁ (°C)	P ₁ (%)	Tp ₂ (°C)	P ₂ (%)	Tp ₃ (°C)	P ₃ (%)	Tp ₄ (°C)	P ₄ (%)	
Controle	60,81	4,77	169,42	15,73	472,42	54,92	555,57	58,15	39,38
Otimizado	87,19	3,44	159,16	9,84	402,93	58,37	449,90	61,22	34,80

T_p: Temperatura de pico de degradação em cada evento; *P*(%): perda de massa observada a cada evento térmico; *Res* (%): resíduo final dos filmes a 600 °C.

6.6.8 Difração de Raio-X (DRX)

Pode-se observar na Figura 13 que para o filme controle predomina estrutura do tipo polimérica, predominando uma matriz praticamente com ausência de picos, ainda sendo possível identificar um, mesmo que alargado, no ângulo 9,36° (espaçamento $d = 9,45 \text{ \AA}$), indicando a formação de uma estrutura bastante amorfizada, ou seja, desordenada e pouco detectável por difração de raio-x, com baixíssimo grau de cristalinidade. Comportamento semelhante encontrou Cortez-Vega (2011) em filmes a base de proteínas de corvina. E segundo Chivrac et al., (2010), a presença de glicerol pode favorecer a formação de estruturas intercaladas como demonstra o DRX.

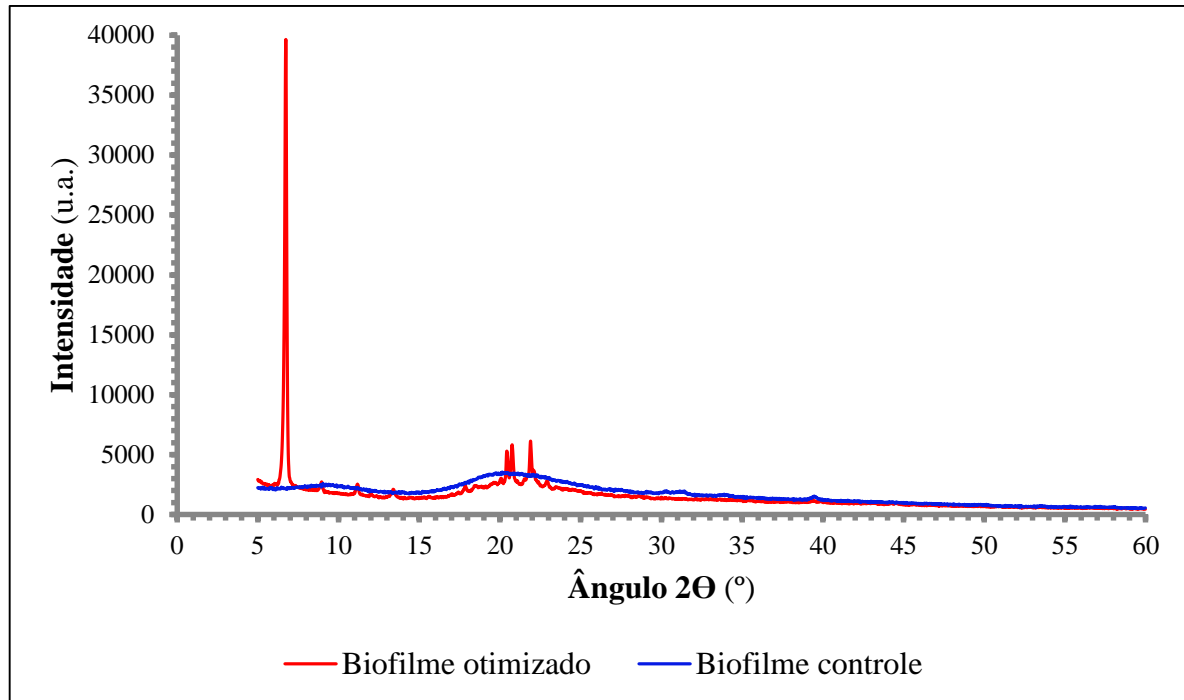


Figura 13. Difratograma do filme de proteínas miofibrilares de corvina, onde:
 — Filme otimizado com 2,84% PM, 30% glicerol, 3,18% AE e 78,41% SDS e
 — Filme controle com 2,84% PM e 30% glicerol.

De acordo com Fakhouri (2009) a presença de picos acentuados, em difratogramas de altos ângulos (WAXS), indica regiões cristalinas. No filme otimizado (Figura 13) tais regiões cristalinas são claramente observadas no pico de maior intensidade de $2\theta = 6,73^\circ$ (espaçamento $d = 13,13 \text{ \AA}$), evidenciando o deslocamento do pico d001 com a presença do SDS na estrutura, bem como nos quatro picos menos expressivos (2θ) de difração referente ao ácido esteárico nos ângulos de $20,42^\circ$, $20,77^\circ$, $21,9^\circ$ e $22,21^\circ$ ($4,34$, $4,28$, $4,06$ e $4,00 \text{ \AA}$ de espaçamento d , respectivamente). Para o ácido esteárico Akanda et al. (2015) encontraram pico $2\theta = 21,55^\circ$ e Almeida et al. (2012) $2\theta = 20,60$, $21,71$ e $24,05^\circ$. E para o SDS Elsayed et al. (2014) detectaram pico $2\theta = 5,27^\circ$ e Yu; Zhu. (2011) pico $2\theta = 6,5^\circ$.

Cortez-Vega (2011) em filmes a base de proteínas de corvina com argila obteve picos menores e alargados na região entre $2\theta = 26,9^\circ$ e $2\theta = 50,4^\circ$ e outro pico $2\theta = 8,05^\circ$, com espaçamento interplanar entre $D001 = 10,38 \text{ \AA}$ e $D001 = 1,67 \text{ \AA}$, o que sugeriu baixo grau de cristalinidade. Neste trabalho, de modo geral, a variação do espaçamento interplanar no filme otimizado foi entre $D001 = 13,13 \text{ \AA}$ e $D001 = 2,28 \text{ \AA}$, indicando cristalinidade conforme verificado pela presença de picos bem definidos no difratograma (Figura 13). As observações indicam que a influência do SDS na cristalinidade do filme otimizado foi maior que a do ácido esteárico, sugerindo que houve mudança na conformação da matriz proteica.

6.6.9 Caracterização microscópica da superfície do filme

As micrografias da superfície do filme controle e otimizado estão representados na Figura 14 e 15, respectivamente.

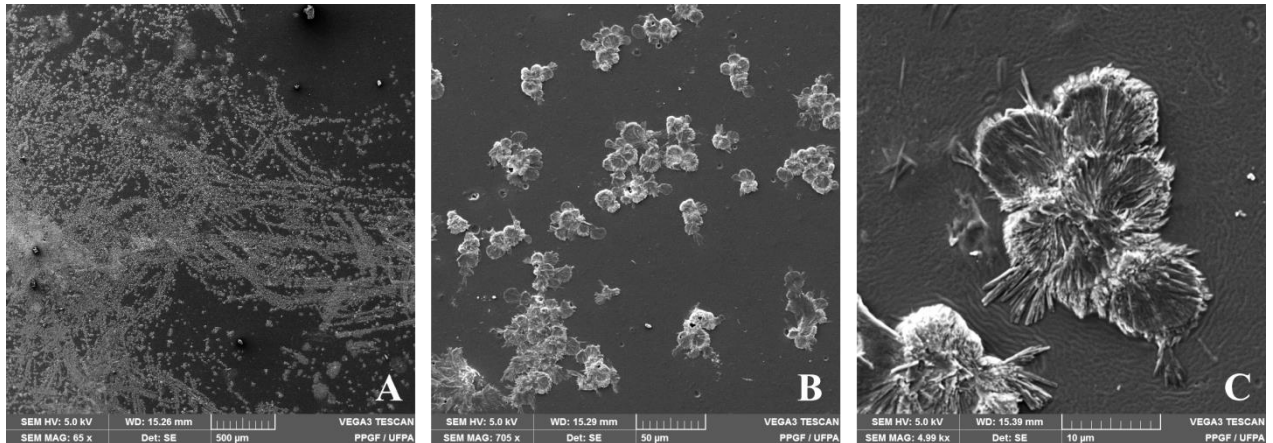


Figura 14. Microfotografias da superfície do filme controle: A: 65x, B: 705x e C \cong 5.000x, respectivamente.

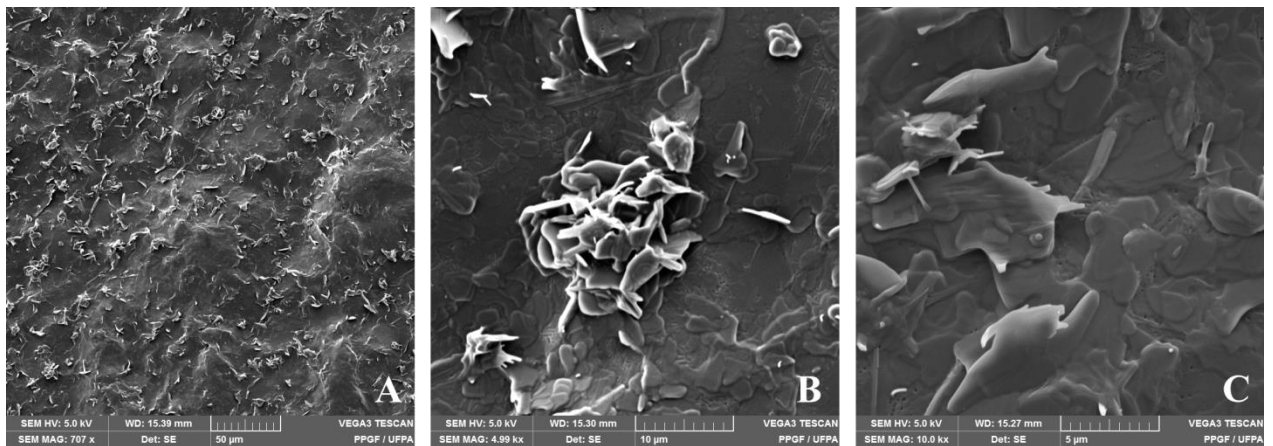


Figura 15. Microfotografias da superfície do filme otimizado: A: 707x, B \cong 5.000x e C: 10.000x, respectivamente.

Visualmente, o filme controle (Figura 14) apresentou aspecto homogêneo, transparente, flexível, sem evidência de bolhas de ar ou aglomerados de proteínas. No entanto, a análise microscópica revelou uma estrutura heterogênea, a presença de espaços vazios, bolhas e de agregados ou aglomeração e dispersão de partículas, provavelmente daquelas insolúveis em solução salina de baixa concentração (0,05M). Comportamento semelhante obtiveram Rostamzad et al. (2016) em filmes de proteínas de peixe (carpa prata) e Araújo (2015) em filmes a base de proteínas miofibrilares de dourada (*Brachyplatystoma roussauxii*).

A Figura 15 mostra a influência da adição do ácido esteárico e SDS na estrutura do filme otimizado, sendo possível observar uma mudança estrutural na matriz filmogênica, em relação ao controle (sem a adição dos tensoativos). A matriz filmogênica não apresentou as pequenas estruturas arredondadas que remetem as gotículas de substâncias hidrofóbicas, sendo possível observar, que a concentração do surfactante SDS melhorou a incorporação do ácido esteárico e a homogeneidade da matriz filmogênica, o que é compatível com a baixa permeabilidade ao vapor de água encontrada para este filme, porém a superfície apresentou-se ainda irregular indicando a presença de ranhuras e protuberâncias (Figura 15A). O mesmo comportamento na superfície dos filmes encontrou Davanço et al. (2007) ao verificarem a eficiência de 60% de SDS na incorporação de ácido esteárico na matriz filmogênica e no mesmo estudo observaram gotas de gordura na microscopia dos filmes sem a adição deste surfactante. Em filmes de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) emulsionados, Zúñiga et al. (2012) observaram que, através da utilização de SDS as distribuições de tamanho de gotas de óleo observadas nas imagens de microscopia foram menores e atribuíram este comportamento a diminuição da tensão interfacial entre óleo e HPMC causada pelo SDS.

Ainda sobre a integridade do filme, Souza et al. (2004), indicaram que a presença de fendas e/ou de irregularidades nas estruturas dos filmes podem comprometer sua integridade e estrutura, provocando modificações nas propriedades funcionais do filme, afetando propriedades relacionadas à superfície das películas, como o seu brilho e absorção de água. Esses fatores confirmam a alta solubilidade encontrada neste estudo para o filme otimizado, bem como resultados obtidos para os parâmetros de cor, como o de ΔE^* . No entanto, apesar da presença de ranhuras e protuberâncias neste filme e da sua superfície rugosa e irregular, o mesmo apresentou excelentes características físicas e mecânicas.

Estudos anteriores revelam que a evaporação do solvente pelo calor durante a secagem da emulsão formadora de filme induz alterações nas características do filme, conduzindo ao aumento da rugosidade da superfície do filme, aumentando a heterogeneidade interna e a aspereza da superfície do filme, devido, particularmente, à fenômenos de desestabilização tais como creaming, agregação e/ou coalescência. A intensidade de desestabilização depende da concentração do lipídio, do tamanho de partículas na emulsão inicial, do uso de emulsionantes, da viscosidade da fase contínua, das propriedades de superfície interfacial das gotículas e da temperatura de secagem dos filmes (PHAN THE et al., 2002, VILLALOBOS et al., 2005, FABRA et al., 2009b, ZÚÑIGA et al., 2012).

7 CONCLUSÃO

As proteínas miofibrilares extraídas das aparas de corvina com teor proteico de 96,03% e mostraram-se excelentes matérias-primas para a elaboração de filmes com ácido esteárico e SDS.

A metodologia de superfície de resposta se mostrou uma ótima ferramenta para otimizar os parâmetros do processo de obtenção do filme, aliada à função desejabilidade, de acordo com as concentrações de 2,84% de PM, 3,18% AE, e 78,41% SDS, favorecendo as respostas de permeabilidade ao vapor de água, resistência a tração e alongação.

A concentração de proteínas miofibrilares, ácido esteárico e dodecil sulfato de sódio no filme otimizado provocaram significativa diminuição de permeabilidade ao vapor de água em 31%, aumentando assim, a propriedades de barreira.

O filme apresentou elevados valores de resistência à tração e alongação, produzindo filmes mais fortes e flexíveis.

A análise de cor e transparência indicaram um filme com tendência ao opaco e de tom amarelado, com excelente propriedade de barreira UV podendo ser utilizado em alimentos sensíveis à luz.

O filme otimizado também apresentou boa estabilidade térmica apesar de um aumento na perda de massa.

A microestrutura revelou mudança estrutural na matriz filmogênica, revelando protuberâncias na superfície, confirmados pela difração de raio-x, que indicou a influência do dodecil sulfato de sódio e ácido esteárico na cristalinidade do filme.

Observou-se aumento de 22% na solubilidade e ligeira diminuição do intumescimento do filme otimizado.

Os resultados obtidos neste trabalho representam uma contribuição positiva na área de filmes emulsionados, uma vez que expõem de forma abrangente os efeitos referentes à incorporação de lipídeo e surfactante numa matriz proteica e que a elaboração de filmes a partir do reaproveitamento de subprodutos de peixe viabiliza a aplicação de tecnologias alternativas e sustentáveis de produtos de qualidade, além de minimizar o impacto ambiental.

8 REFERÊNCIAS

ADAMSOM, A. W. Physical Chemistry of surfaces. **John Wiley & Sons**, New York, p. 526–539, 1997.

AHMAD, M; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; AGUSTINI, T.W. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 28, p. 189–199, 2012.

AKANDA, M.H.; RAI, R.; SLIPPER, I.J.; CHOWDHRY, B.Z.; LAMPROU, D.; GETTI, G. DOUROUMIS, D. Delivery of retinoic acid to LNCap human prostate cancer cells using solid lipid nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 493, p. 161–171, 2015.

ALMEIDA, E. D. P.; COSTA, A. A.; SERAFINI, M. R.; ROSSETTI, F. C.; MARCHETTI, J.; SARMENTO, V.; NUNES, R.; VALERIO, E. M. G.; ARAÚJO, A.; LIRA, A. A. Preparation and characterization of chloroaluminum ph thalocyanine-loaded solid lipid nanoparticles by thermal analysis and powder X-ray diffraction techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108 (1), p. 191-196, 2012.

AMARANTE, C.; BANKS, N. H. Postharvest physiology and quality of coated fruits and vegetables. **Journal Horticultural Reviews**, v. 26, p. 161-238, 2001.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM.D882-91: **Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**. Philadelphia (Annual Book of ASTM Standards), 1996.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM.E96-95: **Designation Standard Method for Water Vapor Transmission of Materials**. Philadelphia (Annual Book of ASTM Standards), 1995.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GALICIA-GARCÍA, T.; MARTÍNEZBUSTOS, F.; GROSSO, C. R. F. Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 103, n. 2, p. 129-136, 2011.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R.A.; GROSSO, C.R.F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. **Food Research International**, v. 42, p. 1113-1121, 2009.

ANKER, M.; BERNTSEN, J.; HERMANSSON, A.; STADING, M. Improved water vapor barrier of whey protein films by addition of an acetylated monoglyceride. **Innovation Food Sci Emerging Technol**, v.3, p. 87-92, 2002.

ANKER, M.; STADING, M.; HERMANSSON, A. Aging of whey protein films and the effect on mechanical and barrier properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, n.2, p.989-995, 2001.

ANTONIOU, J.; LIU, F.; MAJEED, H.; QAZI, H. J; ZHONG, F. Physicochemical and thermomechanical characterization of tara gum edible films: Effect of polyols as plasticizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 359-365, 2014.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**: 16.ed. Washington, v.2, 850 p.1997.

ARAÚJO, C. S. **Obtenção e caracterização de filme a partir de proteínas miofibrilares de subproduto de peixe**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Pará. Instituto de Tecnologia, Belém, 2015.

ARAÚJO, J. M. A. Química de alimentos: Teoria e prática. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2ª ed., p. 416, 2001.

ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. Development and characterisation of blen films on fish protein isolate and fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 58-67, ISSN 0268-005X, 2014.

ARRUDA, L. F.; BORGHESI, R.; BRUM, A.; REGITANO D'ARCE, M.; OETTERER, M. Nutricional aspects of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) silage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 749-756, 2006.

ARTHARN, A.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S. Round scad protein-based film: Storage stability and its effectiveness for shelf-life extension of dried fish powder. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42. p. 1238-1244, 2009.

AVENA-BUSTILLOS, R.J.; KROCHTA, J.M. Water vapor permeability of caseinate-based edible films as affected by pH, calcium crosslink and lipid content. **Journal Food Science**. v. 58, 4, p. 904-907, 1993.

AYRANCI, E.; TUNC, S. The effect of fatty acid content on the water vapour and carbon dioxide transmissions of cellulose-based edible films. **Food Chemistry**, v. 72, 231-236, 2001.

BAHRAM, S.; REZAEI, M.; SOLTANI, M.; KAMALI, A.; OJAGH, S. M.; ABDOLLAHI, M. Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 3, p. 1251-1258, 2014.

BALDWIN, E. A.; HAGENMAIER, R. D. **Edible coatings and films to improve food quality**, 2 ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2012.

BALDWIN, E. A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. O.; HAGENMAIER, R. D; BAKER, R. A. Use of lipids in coatings for food products. **Food Technology**, v. 51, n. 6, p. 56-62, 1997.

BAE, H. J.; DUNCAN, A.; DARBY, O.; ROBERT, O.; KIMMEL, M.; HYUN, A.; WHITESIDE, S. Effects of transglutaminase-induced cross-linking on properties of fish gelatin–nanoclay composite film. **Food Chemistry**, v. 114, p. 180–189, 2009.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. Como fazer experimentos, pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 2ª Ed. 401p. Campinas: Editora da UNICAMP, 2001.

BATISTA, Jaira Thayse Souza. **Estudo de filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares extraídas de subprodutos da dourada (*brachyplatystoma roussauxii*) com adição de quitosana**. 2016. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Pará. Instituto de Tecnologia, Belém, 2016.

BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; SANTO, M. L. P. E. Processamento e industrialização de moluscos. In: Seminário e Workshop “tecnologia para aproveitamento integral do pescado”, 2000, Campinas. Resumos. Campinas. ITAL, p. 38-84, 2000.

BELL, S. J.; BRADLEY, D.; FORSE, R. A.; BISTIRIAN, B. R. The new dietary fats in health and disease. **Journal of The American Dietetic Association**, Chicago, v. 97, p. 280-286, 1997.

BOTAN, R.; NOGUEIRA, T. R.; LONA, L. M. F. Síntese e caracterização de nanocompósitos esfoliados de poliestireno: hidróxido duplo lamelar via polimerização in situ. **Polímeros. Ciência e Tecnologia**, v. 21, n 1, p. 34-38, 2011.

BERTAN, L.C., TANADA-PALMU, P.S., SIANI, A.C., GROSSO, C.R.F. Effect of fatty acids and ‘Brazilian elemi’ on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 73–82, 2005b.

BERTAN, L. C.; FAKHOURI, F. M.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Influence of the addition of lauric acid to films made from gelatin, triacetin and a blend of stearic and palmitic acids. **Macromolecular Symposia**. v. 229, n. 1, p. 143–149, 2005a.

BEZERRA, TÂNIA SULAMYTHA. **Caracterização física, química e morfológica de polpa de marolo liofilizada**. 2014. 140 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Programa de PósGraduação em Ciência dos Alimentos, Lavras, 2014.

BINSI, P. K.; RAVISHANKAR, C. N.; GOPAL, S. Development and characterization of and edible composite film based on chitosan and virgin coconut oil with improved moisture sorption properties. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 4, p. E526-E534, 2013.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Lipídios. Introdução à Química de Alimentos. 3º ed. São Paulo: Varela. p.139-176, 2003.

BONACINA, M.; QUEIROZ, M. I. Elaboração de empanado a partir da corvina (*Micropogonias furnieri*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 544-552, Set, 2007.

BORGHESI, R.; LIMA, L. K. F. de; SUCASAS, L. F. DE A.; MARTO, V. C. DE O.; OETTERER, M. Elaboração de silagens ácida e co-seca de vísceras de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Corumbá: **Embrapa Pantanal**. Circular Técnica 106, 6 p, 2013.

BOX, G. E. P.; WETZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by na approximate response function. University of Wisconsin Technical Report, n.9, 1973.

BRAZEIRO, F. S. G.; DUARTE, L. S. MASSUQUINI, C. S.; MOURA, C. M. Filmes de gelatina suína e de pescado com glicerol: avaliação da permeabilidade ao vapor de água. XXVI Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia – CRICTE 2014. 8 a 10 de outubro de 2014 – Alegrete – RS – Brasil

BRAVIN, B.; PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. Influence of emulsifier type and content on functional properties of polysaccharide lipid-based edible films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6448-6455, 2004.

CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; SOUZA, M. P. Physical properties of edible coatings and films made with a polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 3, p. 379-385, 2009.

CARPINÉ, Danielle. **Desenvolvimento e caracterização de filme emulsionado biodegradável produzido a partir de proteína isolada de soja, óleo de coco e surfactantes naturais**. 2015. 116 f. Tese (doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Curitiba, 2015.

CARULO, Marcelle Fernanda. **Desenvolvimento e caracterização de filmes ativos contendo sorbato de potássio, feitos de alginato de cálcio e ácidos graxos**. 2005. 136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. Campinas, 2005.

CENTENARO, G. S. **Efeito do grau de hidrólise nas propriedades funcionais de hidrolisados protéicos de corvina (*Micropogonias furnieri*)**. 98f. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, 2007.

CHEN, C-H.; KUO, W-S.; LAI, L-S. Effect of surfactants on water barrier and physical properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsau leaf gum films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 714–721, 2009.

CHINABHARK, K.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effect of pH on the properties of protein-based film from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) surimi. **Bioresource Tecnologia**, v. 98. p. 221-225. 2007.

CHIUMARELLI, M.; HUBINGER, M. D. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p. 20-27, 2014.

CHO, S. Y.; PARK, J-W.; BATT, H. P.; THOMAS, R. L. Edible films made from membrane processed soy protein concentrates. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 418-423, 2007.

CHO, S. Y.; RHEE, C. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 8, p. 833-839, 2004.

COLLA, E.; SOBRAL, P.J.; MENEGALLI, F.C. Amaranthus cruentus flour edible films: Influence of stearic acid addition, plasticizer concentration and emulsion stirring speed on water vapor permeability and mechanical properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 6645-6653, 2006.

COSTA, M. R.; ARAUJO, F. Use of a tropical bay in southeastern Brazil by juvenile and subadult *Micropogonias furnieri* (Perciformes, Sciaenidae). **Journal of Marine Science**, v. 60, p. 268-277, 2003.

CORTES, M. S. **Características estruturais e físicas de material biodegradável produzido a base de zeína e fibras de milho e bananeira**. 2015. 97 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2015.

CORTEZ-VEGA, W. R.; BAGATINI D. C.; SOUZA.J.T. A.; PRENTICE, C. de Filmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorillonita: avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas. v. 16, n. 2, p. 90-98, abr-jun, 2013.

CHIVRAC, F.; POLLET, E.; DOLE, P.; AVÉROUS, L. Starch-based nanobiocomposites: Plasticizer impact on the montmorillonite exfoliation process. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 941–947, 2010.

CUQ, B.; AYMARD C.; CUQ, JL.; GUILBERT, S. Embalagens de filmes comestíveis à base de proteínas miofibrilares de peixe: formulação e propriedades funcionais. **Journal of Food Science**, v. 60 (6). p. 1369-1374, 1995.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Rheological model for the mechanical properties of myofibrillar protein-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44. p 1116–1122, 1996.

DAVANÇO, Taciana. **Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou caprótico: efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes**. 2006. 130 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, São Paulo, 2006.

DAVANÇO, 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. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p.408-416, 2007.

DAVIS, E. A. Factors determining emulsion type: Hydrophile-lipophile balance and beyond. **Colloids and Surfaces**. v.91, n.9, 1994.

DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Effects of Surfactants and Drying Rate on Barrier Properties of Emulsified Edible Films. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 30, 2, p. 183-190, 1995.

DEBEAUFORT, F.; QUEZADA-GALLOB, J. A.; DELPORTEC, B. B.; VOILLEYB, A. Lipid hydrophobicity and physical state effects on the properties of bilayer edible films. **Journal of Membrane Science**, v. 180 (1), p. 47–55, 2000.

DHAYMERS: Química Fina. www.dhaymers.com.br, 2005.

DIAB, T; BILIADERIS, C. G.; GERASOPOULOS, D.; SFAKIOTAKIS, E. Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 81, p. 988-1000, 2001.

DUTCOSKY, S. D. Análise Sensorial de Alimentos. Curitiba: Champagnat, (Coleção Exatas, 4). p. 109-110, 2007.

ELSAYED, I.; ABDELBARY, A. A.; ELSHAFEEY, A. H. Nanosizing of a Poorly Soluble Drug: Technique Optimization, Factorial Analysis, and Pharmacokinetic Study in Healthy Human Volunteers. **International Journal of Nanomedicine**, v. 9, p. 2943–2953, 2014.

ELSDON, T. S.; GILLANDERS, B. M. Efeitos interativos de temperatura e salinidade na otolíticos química: desafios para a determinação histórias ambientais de peixes. **Jornal de Aquáticos, Pescas e Ciência**, v. 59, p. 1796-1808, 2002.

FABRA, M.J.; JIMÉNEZ, A.; ATARÉS, L.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Effect of fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. **Biomacromolecules**, v. 10, p. 1500–1507, 2009.

FABRA, M.J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 676–683, 2009b.

FAIRLEY, P.; MONAHAN, F.J.; GERMAN, Interfacial interactions in edible emulsion films from whey protein isolate. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 11, n.3, p.245-252, 1997.

FAKHOURI, F. M. **Bioplásticos flexíveis e biodegradáveis à base de amido e gelatina**. 2009. 249 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2009.

FAKHOURI, F. M., GROSSO, C. Efeito de coberturas comestíveis na vida útil de goiabas in natura (*psidium guajava* l.) mantidas sob refrigeração. **Brazilian Journal Food and Technology**, v. 6, 2, p. 203-211, 2003.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. Química de Alimentos de Fennema. Tradução de Adriano Brandelli. 4ª Ed. 900 p. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FARAGO, P. V.; RAFFIN, R. P.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; ZAWADZKI, S. F. Physicochemical Characterization of a Hydrophilic Model Drug-Loaded PHBV Microparticles Obtained by the Double Emulsion/Solvent Evaporation Technique. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 7, p. 1298-1305, 2008.

FERNÁNDEZ, L.; APODACA de, E. D.; CEBRIÁN, M.; VILLARÁN, C., MATÉ, J. I. Effect of the unsaturation degree and concentration of fatty acids on the properties of WPI-based edible films. **European Food Research and Technology**, v. 224, n. 4, p. 415-420, 2007.

FERREIRA, A. H. **Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e ceras de carnaúba e de cana-de-açúcar**. 2006.184f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries and Aquaculture Department. Species Fact Sheets. Disponível em <http://www.fao.org/fishery/species/2351/en> Acesso em: 28 jun 2016.

FAO. Food and Agriculture Organization. The State of World. Fisheries and Aquaculture. Roma, 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>. Acesso em 04 jun 2016.

FONTANA, A.; CENTENARO, G. S.; PALEZI, S.C.; PRENTICE-HERNANDEZ, C. Obtainment and evaluation of protein concentrates of Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) processed by chemical extraction. **Química Nova**, v. 32, p. 1-5, 2009.

GALLO, J. A. Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based films. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, v. 180, p. 37- 46, 2000.

GALUS, S.; KADZIŃSKA, J. Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 78–86, 2016.

GARCIA, M.A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKI, N. E. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coating. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 65, p. 941-947, 2000.

GARCÍA, F. T; SOBRAL, P. J. A. Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle protein of two varieties of Tilapia. **LWT- Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 289-296, 2005.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; TESTIN, R. F. Modification on physical and barrier properties of edible wheat gluten-based films. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 4, p. 426-429, 1993.

GERRARD, J.A. Proteína-proteína de ligação cruzada em alimentos: métodos, consequências, aplicações. **Tendências na Ciência e Tecnologia**, v. 13 Alimentação. p. 391-399, 2002.

GONÇALVES A. A. Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação. Editora Atheneu. 608 p. São Paulo, 2011.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: Water vapor permeability and other physical properties. **International Journal Food Science Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

GONTARD, N.; GUILBERT, S. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. Food science and technology**. Science et technologie alimentaire, London, v. 29, n. 1/2, p. 10-17, 1995.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 1, p. 206-211, 1992.

GUDMUNDSSON, M. Rheological properties of fish gelatin. **Journal Food Science**, v. 67, p. 2172-2176, 2002.

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

GUNER, F. S.; YAGCI, Y.; ERCIYES, A.T. Polymers from triglyceride oils. **Progress in Polymer Science**, v. 31, p. 633–670, 2006.

HAIMOVICI, M.; IGNÁCIO, J. M. *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). C.L.W. Rossi, M.C. Cergole, A.O. Ávila-da-Silva (Eds.), *Análise das Principais Pescarias Comerciais da Região Sudeste-Sul do Brasil: Dinâmica Populacional das Espécies em Exploração. Série Documentos Revizee Score Sul, IOUSP*, São Paulo, p. 101–107, 2005.

HALAL, S. L. M. E.; ZAVAREZE, E. R.; ROCHA, M.; PINTO, V. Z., NUNES, M. R., LUVIELMO, M. M.; PRENTICE, C. Films based on protein isolated from croaker (*Micropogonias furnieri*) and palm oil. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 96, p. 2478–2485, 2015.

HAMAGUCHI, P. Y.; YIN, W.W.; TANAKA, M. Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins of blue marlin (*Makairamazara*). **Food Chemistry**, v. 100, p. 914-920, ISSN 0308-8146, 2007.

HAN, J. H.; GENNADIOS, A. Edible films and coatings: a review. In: Han JH, Editor. *Innovations in food packaging. Elsevier Academic Press*, London, p. 239–62, 2005.

HASTINGS, R. J.; RODGER, G. W.; PARK, R.; MATTHEWS, Q. D.; ANDERSON, E. M. Differential scanning calorimetry of fish muscle: the effect of processing and species variation. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 503-510, 1985.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; VILLALOBOS, R.; CHIRALT, A. Effect of crosslinking using aldehydes on film properties rich in glutenin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 403-411, 2004.

HOQUE, M. S., BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 96 (1), p. 66–73, 2010.

ILES, A. Making the seafood industry more sustainable: creating production chain transparency and accountability. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 15, n. 6 p. 577–589, 2007.

ISAAC, V. J. Sinopse de dados biológicos sobre a corvina *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823). FAO, Roma, Itália, 1988.

IWATA, K.; ISHIZAKI, S.; HANDA, A.; TANAKA, M. Preparação e caracterização de filmes comestíveis de proteínas solúveis em água de peixes. **Ciências da Pesca**, v. 66, p. 372-378, 2000.

JUN, S.; PARK, P.; JUNG, W. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda áspera*) frame protein. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 219, n. 1, p. 20-26, 2004.

JONGJAREONRAK, A.; BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper. **European Food Research and Technology**, v. 222, p. 229-235, 2006.

KABALNOV, A. S. Can micelles mediate a mass transfer between oil droplets. **ACS Publications**. Langmuir, v. 10, p. 680-684, 2001.

KAEWRUANG, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; NALINANON, S. Physicochemical and functional properties of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as affected by extraction conditions. **Food Bioscience**, v. 2, p. 1-9, 2013.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S., RAWDKUEN, S. Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 2083-2091, 2016.

KAMPER, S L.; FENNEMA, O. Water vapor permeability of an edible, fatty acid, bilayer film. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 49, n. 6, p. 1482-1485, 1984.

KARNNET, S.; POTIYARAJ, P.; PIMPAN, V. Preparation and properties of biodegradable stearic acid-modified gelatin films. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, n 1, p. 106-110, 2005.

KENKEL, J. Analytical Chemistry for Technicians, 3rd edition, Lewis Publishers is an imprint of CRC Press, 2003.

KHWALDIA, K.; ARAB-TEHRANY, E.; DESOBRY, S. Biopolymer coatings on paper packaging materials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 9, n. 1, p. 82-91, 2010.

KIM, S.; WIJESEKARA, I. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. **Journal of Functional Foods**. Netherlands, v. 2, p. 1-9, 2010.

KIRK, OTHMER. Enciclopedia de tecnologia quimica.1997.

KOWALCZYK, D.; BARANIAK, B. Effect of candelilla wax on functional properties of biopolymer emulsion films – A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 195-209, 2014.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature**. v. 227, p. 680-685, 1970.

LARSEN, R; EILERTSEN, K.E; ELVEVOLL, E. O. Health benefits of marine foods and ingredients. **Biotechnology Advances**, v.29, p.508-518, 2011.

LEE, K. Y; SHIM, J; LEE, H.G. Mechanical properties of gellan and gelatin composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 2, n. 56, p.51-54, 2004.

LIMA, L. K. F. de. Reaproveitamento de resíduos sólidos na cadeia agroindustrial do pescado. **Embrapa Pesca e Aquicultura**. ISSN 2318-1400. Palmas- TO. Julho, 2013.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BEMJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films on fish protein and polyvinylalcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 85-92, ISSN 0260-8774, 2010.

LIU, H.; XIE, F.; YU, L.; CHEN, L.; LI, L. Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n. 12, p. 1348-1368, 2009.

LOMAURO, C. J.; BAKSHI, A. S.; LABUZA, T. P. Evaluation of food moisture sorption isotherm equation. Part I: fruit, vegetables and meat products. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 18, p. 111-117, 1985.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. Caracterização de polímeros: determinação de peso molecular e análise térmica. Editora E-papers Serviços Editoriais. Rio de Janeiro – RJ, Brasil, p. 151-323, 2001.

MARTINS, J. T; CERQUEIRA, M. A; VICENTE, A. A. Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 220–227, 2012.

MARTINS, V. G.; COSTA, J. A. V.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Hidrolisado protéico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Química Nova**. São Paulo, v. 32, n. 1, p. 61-66, 2009.

MATOS, FLÁVIO CARDOSO DE. **Estudo da decomposição térmica de ácidos graxos através da calorimetria exploratória diferencial**. 2012. 107 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas - São Paulo, 2006.

MINATTI, E. **Um novo modelo para a interação entre polímeros neutros hidrossolúveis e surfactantes**. 2005. Tese (Doutorado em Ciências Físicas e Matemáticas), Departamento de Química - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

McCLEMENTS, D. J. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. Boca Raton, 3^a ed., CRC Press, 2016.

McHUGH, T. H. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Nahrung*, Berlin, v. 44, n. 3, p. 148-151, 2000.

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

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J.A. Preparo e Caracterização de Proteínas Miofibrilares de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de filmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 179-190, 2000.

MORAES, K. S. **Recuperação e utilização de proteína da carne de frango por processo de mudança de pH**. Dissertação (Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e alimentos. Universidade federal do Rio grande. Rio grande, RS, 2009.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. *Química Orgânica*, Fundação Calouste Gulbenkian, 8^o ed., Lisboa, 1983.

MPA. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura – Brasil 2010. Ministério da Pesca e Aquicultura, Brasília, p. 129, 2010.

NGO, D. H.; VO, T. S.; NGO, D. N.; WIJESKARA, I.; KIM, S. K. Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51 (4), p. 378–383, 2012.

NUR HANANI, Z.A.; ROOS, Y.H.; KERRY, J.P. Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 144–151, 2012.

NUTHONG, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Characterization of porcine plasma protein-based films as affected by pretreatment and cross-linking agents. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 44, p.143-148, 2009.

OETTERER, M; ESPÍNDOLA-FILHO, A.; MORALLES-ULLOA, D. F.; FERRAZ – ARRUDA, L.; BORGHESI, R. Bioconversão de resíduos do pescado para obtenção de subprodutos. **Workshop Brasileiro em Aproveitamento de Subprodutos de Pescado**. WARP. CD-ROM. Itajaí, 2003.

OLIVEIRA, E. G. L. **Processos oxidativos avançados: o papel do surfactante na aceleração da fotodegradação**. 2011. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Juazeiro, Bahia, 2011.

OLIVEIRA, T. A.; LEITE, R. H. L.; AROUCHA, E. M. M.; NOBRE, D. M.; SANTOS, F. K. G. Filmes de gelatina: Efeito da adição de surfactante e ácidos graxos de óleo de coco na permeabilidade ao vapor de água. **Revista Verde**, Mossoró – RN, v. 7, n. 4, p. 76-80, out-dez, 2012.

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓUPOLOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A. B. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem, 1996.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. Manual de pesca. Ciência e Tecnologia do Pescado. São Paulo, Livraria Varela. v. 1. 430 p, 1999.

OXITENO. Boletim técnico. Cs 20. e-mail: gemerc@oxiteno.com.br.

OLICK, T. M.; GARCIA, F. T.; SOBRAL, P. J. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Caracterização de algumas propriedades funcionais de filmes comestíveis com base em proteínas musculares da tilápia do Nilo. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p. 419-427, 2003.

PASCHOALICK, T. M.; GARCIA, F. T.; SOBRAL, P. J. do A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia. **Food Hydrocolloids**. v. 17(4), p. 419-427, 2003.

PAVLATH, A. E.; ORTS, W. Edible Films and Coatings: Why, What, and How? In: EMBUSCADO, M. E.; HUBER, K. C. (Eds). **Edible films and Coatings for Food Applications**, New York: Springer, p. 1-24, 2009.

PEDRAZ, P.; MONTES, F. J.; CERRO, R. L.; DIAZ, M. E. Characterization of Langmuir biofilms built by the biospecific interaction of arachidic acid with bovine serum albumin. **Thin Solid Films**, v. 525, p. 121-131, 2012.

PENG, Y.; YIN, LU.; YUNFEI, L. Combined effects of lemon essential oil and surfactants on physical and structural properties of chitosan films. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 44–50, 2013.

PEREDA, M; AMICA, G; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1318–1325. 2012.

PEREIRA, G. V. S. Otimização do processo de obtenção de filmes biodegradáveis com proteínas miofibrilares a partir de subprodutos de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Pará. Instituto de Tecnologia, Belém, 2015.

PEREZ-GAGO, M. B.; KROCHTA, J. M. Lipid particle size effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein/beeswax emulsion films. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.49, p. 996-1002, 2001.

PEREZ-MATEOS, M.; MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. **Food Hydrocolloids**. v. 23, p. 53-61, 2009.

PÉROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan-based films. 1. Effects of lipids types on water vapor permeability, film structure, and other physical characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3977-3983, 2002.

PHAKAWAT, T.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; NILSUWANA, K. Emulsion film based on fish skin gelatin and palm oil: Physical, structural and thermal properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 248–259, June, 2015.

PHAN THE, D.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A.; LUU, D. Influence of hydrocolloid nature on the structure and functional properties of emulsified edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 691-699, 2009.

PHAN THE, D.; PÉROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; COURTHAUDON, J.L.; VOILLEY, A. Arabinoxylan-lipids-based edible films and coatings. 2. Influence of sucroester nature on the emulsion structure and film properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 266–272, 2002.

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, G.; BATISTA, I.; MENDES, R.; NUNES, L. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 422-428, 2011.

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, B.; BATISTA, I.; NUNES, L. C.; MARQUES, A. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. **Food Hydrocolloids**. v. 30 (1), p. 224-231, 2013.

POMMET, M.; REDL, A.; MOREL, M.H.; GUILBERT, S. Study of wheat gluten plasticization with fatty acids. **Polymer**, v. 44, p. 115-122, 2003.

PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; ARTHAN, A. Properties and microstructure of films based on Protein scad round (*Decapterus maruadsi*) muscle, affected in palm oil and incorporation Chitosan. **Jornal Internacional de Macromoléculas Biológicas**, v. 41, p. 605-61, 2007.

PROUDLOVE, K. Os Alimentos em debate: Uma visão Equilibrada. São Paulo: Varela, 1996.

RAGHAVAN, S.; KRISTINSSON, H. G. Conformational and rheological changes in catfish myosin during alkali-induced unfolding and refolding. **Food Chemistry**, v. 107, p. 385-398, 2008.

REN, J.; ZHAO, M.; SHI, J.; WANG, J.; JIANG, Y.; CUI, C.; KAKUDA, Y.; XUE, S. J. Optimization of antioxidant peptide production from grass carp sarcoplasmic protein using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1624-1632, 2008.

RIGO, L. N. Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões- URI, campus de Erechim, 2006.

RHIM, J.W. Physical-mechanical properties of agar/ κ -carrageenan blend film and derived clay nanocomposite film. **Journal of Food Science**, v. 77 (12), p. N66–N73, 2012.

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

RHIM, J.W., HONG, S.I., HA, C.S. Tensile, water barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. **LWT - Food Science and Technology**. v. 42, p. 612–7, 2009.

RHIM, J. W.; NG, P. K. W. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 47, n. 4, p. 411-433, 2007.

ROSSI, C. G. F. T.; CASTRO, D. T. N. d.; DANTAS NETO, A. A. Tensoativod: uma abordagem básica e perspectivas para a aplicabilidade industrial. **Revista Univesidade Rural**, Série Ciências Exatas e da Terra, Serópedica, RJ: EDUR, v. 25 (1-2), p. 73-85, 2006.

ROSTAMZAD, H.; PAIGHAMBARIB S. Y.; SHABANPOURB, B.; OJAGHB, S. M.; MOUSAVIC, S. M. Improvement of fish protein film with nanoclay and transglutaminase for food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 7, março, p. 1-7, 2016.

RUBILAR, J. F.; ZÚÑIGA, R. N.; OSORIO, F.; PEDRESCHI, F. Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose/whey protein isolate (HPMC/WPI) edible films. **Carbohydrate Polymers**, v. 123(5), p. 27-38, 2015.

SANTOS, G. C. M. N. **Remoção de frações de óleo leve e pesado em rocha calcária através de sistemas microemulsionados**. 2013. 86f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências Exatas e da Terra, Instituto de Química, Natal, 2013.

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, p. 267 2002.

SARTORI, A. G. O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 19, n. 2, p. 83-93, 2012.

SHERWIN, C. P.; SMITH, D. E.; FULCHER, G. Effect of fatty acid type on dispersed phase particle size distribution in emulsion films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 11, p. 4534-4538, 1998.

SHIN, F. F. Edible Films from rice protein concentrate and pullulan. **Cereal Chemistry**, St. Paul. v. 73, n.3, p. 406-409, 1996.

SINGH, A.; HAMME, J. D. V.; WARD, O. P. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application Aspects. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 1, p. 99-121, 2006.

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

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura sobre certas propriedades de filmes à base de proteínas miofibrilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35 (6), p. 1251-1259, 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. Química Nova Interativa. Disponível em: <http://qnint.sbq.org.br/qni> Acesso em: 06 jun 2016.

SOUZA, S. M. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Extração de proteínas miofibrilares de carne bovina para elaboração de filmes comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, Dec, 2004.

SOUZA, S. M. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Propriedades físicas de filmes comestíveis a base de proteínas miofibrilares de carne bovina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 283-296, jan./mar. 2012.

SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEEB, N. The Protein hydrolyzate Recovery During Enzymatic Isolation of chitin shrimp From Cragon crangon processing returns. **Food Chemistry**, v. 68, p. 147-152, 2000.

STATSOFT. **Statistica for Windows**, versão 10 (Software estatístico), 2011.

TAO, Z.; WENG, W. Y.; CAO, M. J.; LIU, G. M.; SU, W. J.; OSAKO, K. Effect of blend ratio and pH on the physical properties of edible composite films prepared from silver carp

surimi and skin gelatin. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52 (3), p. 1618-1625, 2015.

THIRÉ, R. M. S. M.; SIMÃO, R. A.; ARAÚJO, P. J. G.; ACHETE, C. A. Redução da hidrofobicidade de filmes biodegradáveis à base de amido por meio de polimerização por plasma. **Polymers**, v. 14, p. 57-62, 2004.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; Characteristics and antioxidant activity of leaf essential oil-incorporated fish gelatin films as affected by surfactants. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48 (10), p. 2143-2149, 2013.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Structural, morphological and thermal behavior characterisations of fish gelatin film incorporated with basil and citronella essential oils as affected by surfactants. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 33- 43, 2014.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Roles of lipid oxidation and pH on properties and yellow discolouration during storage of film from red tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle protein. **Food Hydrocolloids**, v. 25 (3), p. 426-433, 2011 (b).

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; NILSUWAN, K. Emulsion film based on fish skin gelatin and palm oil: physical, structural and thermal properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 248-259, 2015.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SONGTIPYA, P. Characteristics of film based on protein isolate from red tilapia muscle with negligible yellow discoloration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48 (5) p. 758 - 767, 2011.

UNICHEMA INTERNATIONAL. Fatty Acid Data Book. 2. ed. p. 6-7, Federal Republic of Germany, October 1987.

VAN HAMME, J. D.; SINGH, A.; WARD, O. P. Physiological aspects. Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 24 (6), p. 604-620, 2006.

VASCONCELLOS, M.; HAIMOVICI, M. Status of white croaker *Micropogonias furnieri* exploited in southern Brazil according to alternative hypotheses of stock discreteness. **Fisheries Research**, v. 80, p. 196-202, 2006.

VILLALOBOS, R.; CHANONA, J.; HERNÁNDEZ, P.; GUTIÉRREZ, G.; CHIRALT, A. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 53–61, 2005.

WALSTRA, P. Physical chemistry of foods. New York: Marcel Dekker, 807 p. **Food Science and Technology**, v. 121, 2003.

WELLER, C. L.; GENNADIOS, A.; SARAIVA, R. A. Edible bilayer films from zein and grain sorghum wax or carnauba wax. **LWT - Food Science and Technology**, v. 31, p. 279-285, 1998.

WENG, W.; ZHENG, H. Effect of transglutaminase on properties of tilapia scale gelatin films incorporated with soy protein isolate. **Food Chemistry**, v. 169, p. 255–260, 2015.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of Automatic Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170-177, jan, 1986.

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**, Chicago, v.67, n.1, p.280-284, 2002.

ZAHEDI, Y.; GHANBARZADEH, B.; SEDAGHAT, N. Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 1, p. 102-108, 2010.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S. L. M. E.; MARQUES e SILVA, R.; ARG, D.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Mechanical, barrier and morphological properties of biodegradable films based on muscle and waste proteins from the whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, p. 1973-1981, 2014.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S. L. M.; TELLES, A. C.; HERNANDES, P. Biodegradable films based on myofibrillar proteins of fish. **Brazilian Journal of Food Technology**, IV SSA. p. 53-57, 2012.

ZÚÑIGA, R. N.; SKURTYS, O.; OSORIO, F.; AGUILERA, J.M.; PEDRESCHI, F. Physical properties of emulsion-based hydroxypropyl methylcellulose films: Effect of their microstructure. **Carbohydrate Polymers**, v. 90 (2), p. 1147-1158, 2012.

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

YU, D.G.; ZHU, L.M.; BRANFORD-WHITE, C.; YANG, J.H.; WANG, X.; LI, Y.; QIAN, W. Solid dispersions in the form of electrospun core–sheath nanofibers. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 3271–3280, 2011.