



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A BASE DE ISOLADO
PROTÉICO DE RESÍDUOS DE CORVINA (*Micropogonias furnieri*) E ÓLEO DE
PALMA**

**SHANISE LISIE MELLO EL HALAL
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**Prof. Dr. Carlos Prentice-Hernández
Orientador**

RIO GRANDE-RS

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A BASE DE ISOLADO
PROTÉICO DE RESÍDUOS DE CORVINA (*Micropogonias furnieri*) E ÓLEO DE
PALMA**

**SHANISE LISIE MELLO EL HALAL
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos.

**Prof. Dr. Carlos Prentice-Hernández
Orientador**

**Prof^a. Dr^a. Márcia de Mello Luvielmo
Co-orientadora**

**RIO GRANDE/RS
2012**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela presença constante em minha vida e pelo amor incondicional. Sobretudo por agora me dar a alegria de ser mãe.

À minha amada mãe Marisa, por me dar a base para alcançar meus objetivos e me incentivar sempre. Mãe seu exemplo de vida é minha constante motivação. A minha irmã Nani pela união e incentivo.

Ao amor da vida, Emerson, pelo amor e apoio em cada etapa do nosso caminho juntos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Carlos Prentice-Hernández, pela orientação e pela boa disposição em todos os momentos que precisei e por ter contribuído na minha formação.

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Márcia de Mello Luvielmo agradeço pelos ensinamentos transmitidos e exigência, para que sempre o melhor fosse realizado.

Aos meus colegas, do Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA): Sabrine, Gabi, Annie, Dennis, Beto, Renata, Ina, Nina, Ariane, Janise, Ana Paula e Márcia pelos momentos de alegria e agradável companhia. Em especial, minhas amigas e companheiras Meritane e Priscila, que sentirei muita saudade.

À minha amiga Elessandra, pessoa admirável e dedicada, que sempre esteve comigo, incentivando-me e auxiliando-me pela busca dos meus ideais.

Ao Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias e à Vânia Zanella Pinto, do Laboratório de Pós-Colheita de Industrialização de Grãos (Labgrãos) da UFPEL, que contribuíram para a realização da pesquisa.

À universidade Federal de Rio Grande (FURG), pela formação profissional. Ao CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

E a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|---|-------------|
| LISTA DE FIGURAS | V |
| LISTA DE TABELAS | VI |
| RESUMO GERAL | VII |
| GENERAL ABSTRACT | VIII |
| CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 2 |
| 2 OBJETIVOS | 4 |
| 2.1 Objetivo geral..... | 4 |
| 2.2 Objetivos específicos..... | 4 |
| CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 5 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 6 |
| 3.1 Produção brasileira de pescado..... | 6 |
| 3.2 Corvina (<i>Micropogonias furnieri</i>)..... | 7 |
| 3.3 Resíduos de pescado..... | 8 |
| 3.4 Proteínas do pescado..... | 9 |
| 3.5 Isolado protéico de pescado..... | 11 |
| 3.6 Filmes Biodegradáveis..... | 13 |
| 3.7 Constituintes da formulação dos filmes..... | 14 |
| 3.7.1 Agentes formadores dos filmes..... | 14 |
| 3.7.2 Plastificantes..... | 15 |
| 3.7.3 Solventes e ajustadores de pH..... | 15 |
| 3.8 Filmes protéicos..... | 16 |
| 3.9 Filmes emulsificados..... | 17 |
| 3.10 Métodos de avaliação das propriedades dos filmes..... | 19 |
| 3.10.1 Aspecto visual..... | 19 |
| 3.10.2 Espessura..... | 19 |
| 3.10.3 Cor e opacidade..... | 20 |
| 3.10.4 Solubilidade em água..... | 20 |
| 3.10.5 Propriedades de barreira..... | 21 |
| 3.10.6 Propriedades mecânicas..... | 22 |
| 3.10.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 22 |
| 3.10.8 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)..... | 23 |
| CAPÍTULO III - DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO | 24 |
| ARTIGO 1 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA, PLASTIFICANTE E PH SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES DE ISOLADO PROTÉICO DE RESÍDUOS DE CORVINA (<i>Micropogonias furnieri</i>) | 25 |
| RESUMO | 26 |
| ABSTRACT | 26 |
| 1 INTRODUÇÃO | 27 |
| 2 Material e métodos..... | 29 |
| 2.1 Material..... | 29 |
| 2.2 Obtenção do isolado protéico de resíduo de corvina (IPC)..... | 29 |
| 2.2.1 Composição proximal do resíduo de corvina e do IPC..... | 30 |
| 2.2.2 Análises microbiológicas do IPC..... | 30 |
| 2.2.3 Eletroforese do IPC..... | 30 |
| 2.3 Preparação dos filmes de IPC..... | 30 |
| 2.3.1 Espessura e solubilidade em água dos filmes..... | 31 |
| 2.3.2 Cor e opacidade dos filmes..... | 31 |
| 2.3.3 Propriedades mecânicas dos filmes..... | 32 |
| 2.3.5 Microestrutura dos filmes..... | 33 |

| | |
|---|-----|
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 35 |
| 3.1 Composição proximal do resíduo de corvina (RC) e do isolado protéico de resíduos de corvina (IPC) | 35 |
| 3.2 Análise microbiológica do IPC | 36 |
| 3.3 Eletroforese do IPC | 36 |
| 3.4 Aspecto visual dos filmes | 38 |
| 3.5 Cor e opacidade dos filmes | 38 |
| 3.6 Propriedades mecânicas dos filmes | 42 |
| 3.7 Espessura, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes | 47 |
| 3.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) | 49 |
| 4 CONCLUSÃO | 51 |
| 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 52 |
| ARTIGO 2 - EFEITO DO ÓLEO DE PALMA SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES A BASE DE ISOLADO PROTÉICO DE CORVINA | 57 |
| RESUMO | 58 |
| ABSTRACT | 58 |
| 1 INTRODUÇÃO | 59 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS | 61 |
| 2.1 Materia-prima | 61 |
| 2.2 Obtenção do isolado protéico de resíduo de corvina (IPC) | 61 |
| 2.3 Composição proximal do IPC | 612 |
| 2.4 Aminograma do IPC | 62 |
| 2.5 Preparação de filmes de IPC | 62 |
| 2.6 Espessura e solubilidade em água dos filmes | 62 |
| 2.7 Opacidade dos filmes | 63 |
| 2.8 Propriedades mecânicas dos filmes | 63 |
| 2.9 Permeabilidade ao vapor de água dos filmes | 64 |
| 2.10 Propriedades Térmicas dos filmes | 64 |
| 2.11 Microestrutura dos filmes | 65 |
| 2.12 Análise estatística | 65 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 66 |
| 3.1 Composição proximal e composição de aminoácidos do isolado protéico de corvina | 66 |
| 3.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes | 67 |
| 3.3 Espessura e solubilidade em água dos filmes | 69 |
| 3.4 Opacidade dos filmes | 71 |
| 3.5 Propriedades mecânicas dos filmes | 72 |
| 3.6 Propriedades térmicas dos filmes | 74 |
| 3.6.1 Calorimetria diferencial de varredura | 74 |
| 3.7.2 Termogravimetria | 76 |
| 3.8 Microscopia eletrônica de varredura | 78 |
| 4. CONCLUSÃO | 81 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 82 |
| CAPÍTULO IV - CONCLUSÕES GERAIS | 88 |
| 4 CONCLUSÕES GERAIS | 89 |
| 4.1 Contribuições e perspectivas | 90 |
| CAPÍTULO V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 91 |
| 5 REFERÊNCIAS BIOBLOGRÁFICAS | 92 |
| CAPÍTULO VI - APÊNDICES E ANEXOS | 112 |
| APÊNDICE 1 | 113 |
| APÊNDICE 2 | 114 |
| APÊNDICE 3 | 115 |
| APÊNDICE 4 | 116 |

| | |
|------------------|-----|
| APÊNDICE 5..... | 117 |
| APÊNDICE 6..... | 118 |
| APÊNDICE 7..... | 119 |
| APÊNDICE 8..... | 120 |
| APÊNDICE 9..... | 121 |
| APÊNDICE 10..... | 122 |
| APÊNDICE 11..... | 123 |
| APÊNDICE 12..... | 124 |
| APÊNDICE 13..... | 125 |
| ANEXO 1 | 126 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

| | |
|---|----|
| Figura 1: Produção da pesca e aqüicultura no Brasil..... | 6 |
| Figura 2: Corvina (<i>Micropogonias furnieri</i>)..... | 7 |
| Figura 3: Fluxograma geral do beneficiamento do pescado com a indicação do processamento e dos resíduos gerados..... | 9 |
| Figura 4: Processo de obtenção de cobertura comestível em fruta..... | 13 |
| Figura 5: Filme de quitosana..... | 13 |

CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

ARTIGO 1 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA, PLASTIFICANTE E pH SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES DE ISOLADO PROTÉICO DE RESÍDUOS DE CORVINA (*Micropogonias furnieri*)

| | |
|---|----|
| Figura 1: Perfil eletroforético dos marcadores padrão de peso molecular (a) e do isolado protéico de resíduos de corvina obtidos por SDS-PAGE (b)..... | 36 |
| Figura 2: Filme elaborado a partir de isolado protéico de corvina..... | 38 |
| Figura 3: Curvas de contorno para as respostas resistência à tração (a,b,c), alongação (d,e,f) e solubilidade em água (g,h,i) dos filmes de isolado protéico de resíduo de corvina..... | 46 |
| Figura 4: Micrografias das superfícies do filme (à esquerda) e fraturas (direita); (a) e (b) filmes com 3,16 g de isolado protéico / 100g de solução, 35,0 g de glicerol/100 g de isolado protéico e pH 11; (c) e (d) filmes com 4,00 g isolado protéico/100 g de solução, 35,0 g de glicerol/100 g de isolado protéico e pH 11; (e) e (f) filmes com 4,83 g de isolado protéico/100g de solução, 35,0 g de glicerol/100g de isolado protéico e pH 11..... | 49 |

ARTIGO 2 - EFEITO DO ÓLEO DE PALMA SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES A BASE DE ISOLADO PROTÉICO DE CORVINA

| | |
|--|----|
| Figura 1: Permeabilidade ao vapor de água dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de resíduo de corvina (IPC) e óleo de palma (OP)..... | 68 |
| Figura 2: Opacidade dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina (IPC) e óleo de palma (OP)..... | 71 |
| Figura 3: Termogramas de DSC dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina (2%, 3% e 4%) e óleo de palma (0%, 10% e 20%) . IPC=isolado protéico de resíduo de corvina; OP= óleo de palma..... | 75 |
| Figura 4: Termograma de TGA dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina (2%, 3% e 4%) e óleo de palma (0%, 10% e 20%). IPC=isolado protéico de resíduo de corvina; OP= óleo de palma..... | 77 |
| Figura 5: Micrografias das superfícies do filme (a) filme com 2% de IPC e 10% de OP; (b) filme com 2% de IPC e 20% de OP; (c) filme com 3% de IPC e 10% de OP; (d) filme com 3% de IPC e 20% de OP; (e) filme com 4% de IPC e 10% de OP; (f) filme com 4% de IPC e 20% de OP..... | 79 |

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Proteínas do músculo de pescado..... | 10 |
|---|----|

CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

ARTIGO 1 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA, PLASTIFICANTE E pH SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES DE ISOLADO PROTÉICO DE RESÍDUOS DE CORVINA (*Micropogonias furnieri*)

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Valores das variáveis em seus níveis codificados para a formulação dos filmes de IPC..... | 34 |
| Tabela 2. Composição proximal do RC e do IPC..... | 35 |
| Tabela 3. Cor e opacidade de filmes obtidos em função da concentração de IPC (%), concentração de glicerol (%) e pH..... | 39 |
| Tabela 4. Modelos de regressão de superfície de resposta para os parâmetros de chroma a*, chroma b*, diferença de cor (ΔE^*), resistência à tração, alongação e solubilidade dos filmes de IPC..... | 41 |
| Tabela 5. Resistência à tração, alongação, espessura, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes obtidos em função da concentração de IPC (%), concentração de glicerol (%) e pH..... | 43 |

ARTIGO 2 - EFEITO DO ÓLEO DE PALMA SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES A BASE DE ISOLADO PROTÉICO DE CORVINA

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Composição de aminoácidos do isolado protéico de corvina (IPC)..... | 66 |
| Tabela 2. Espessura e solubilidade em água dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina e óleo de palma..... | 70 |
| Tabela 3. Resistência à tração e percentagem de alongação dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina e óleo de palma..... | 73 |

RESUMO GERAL

Nas últimas duas décadas, o descarte e o acúmulo de embalagens não biodegradáveis têm agravado os problemas ambientais. Uma das soluções encontradas, particularmente na área de embalagens de alimentos, é o desenvolvimento de filmes a partir de polímeros que possam substituir os materiais sintéticos. Fontes alternativas de proteína, como os resíduos de pescados, tornam-se importante, pois estes representam de 60 a 70% da matéria-prima e são descartados pelas indústrias de filetagem contribuindo com os danos ao meio ambiente. As propriedades funcionais dos filmes biodegradáveis são resultantes das características das macromoléculas utilizadas, das interações entre os constituintes envolvidos na formulação (macromolécula, solvente, plastificante e outros aditivos), dos parâmetros de fabricação (temperatura, tipo de solvente, pH, entre outras), do processo de dispersão da solução filmogênica (pulverização, espalhamento, etc.) e das condições de secagem. Um problema limitante no uso de filmes biodegradáveis a base de proteínas de pescado é a sua susceptibilidade à umidade, devido à hidrofiliabilidade dos aminoácidos das moléculas de proteína. O objetivo geral do trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes a base de isolado proteico de resíduos de corvina (IPC) e óleo de palma (OP). O desenvolvimento dos filmes foi estudado em duas etapas. Neste estudo utilizou-se resíduos de corvina (*Micropogonias furnieri*) para a obtenção do isolado protéico, glicerol como plastificante e óleo de palma para conferir hidrofobicidade ao filme. Na primeira etapa, o objetivo foi investigar o efeito das concentrações de IPC, de glicerol e do pH sobre as propriedades dos filmes de proteína de resíduos de corvina (*Micropogonias furnieri*). Os filmes foram avaliados quanto aos parâmetros de cor, opacidade, propriedades mecânicas, espessura, solubilidade em água, permeabilidade de vapor de água (PVA) e propriedades morfológicas. Como resultado foi observado que a opacidade e a luminosidade dos filmes não foram afetados pelas variáveis do processo. Os filmes de IPC ficaram amarelados e opacos. Apresentaram-se mais claros quando elaborados com baixas concentrações de IPC e altas concentrações de glicerol nas soluções filmogênicas. A menor solubilidade em água ocorreu nos filmes com pH baixo e menores concentrações de glicerol. Com relação as propriedades mecânicas, os filmes apresentaram alta alongação e sua resistência à tração aumentou quando utilizadas maiores concentrações de IPC, menores concentrações de glicerol e pHs mais baixos. Os filmes apresentaram superfícies ásperas e irregulares. Na segunda etapa foram elaborados filmes biodegradáveis de IPC contendo diferentes concentrações de óleo de palma (OP) (10 e 20 g de OP /100g de IPC) e suas propriedades de barreira, mecânicas, físico-químicas, térmicas e morfológicas foram estudadas. A adição de OP aumentou as espessuras dos filmes com 2 e 4% de IPC, no entanto a solubilidade não foi afetada pela adição do OP. Os filmes com 3 e 4% de IPC ficaram menos permeáveis a água quando incorporado 20% de OP nos mesmos. A opacidade dos filmes aumentou com a adição do OP. A incorporação do OP nos filmes resultou em uma diminuição da resistência à tração e no aumento da alongação dos filmes. Nos filmes com 2% de IPC o aumento na alongação foi significativo apenas quando adicionado 20% de OP. O aparecimento de apenas uma temperatura de fusão nos filmes sugeriu uma homogeneidade dos mesmos. A decomposição térmica dos filmes iniciou em torno de 120 -173°C. Os filmes apresentaram uma superfície descontínua.

Palavras-chave: pescado, filmes, isolado protéico, óleo de palma, PVA.

GENERAL ABSTRACT

In the last two decades, the disposal and accumulation of non-biodegradable packaging has aggravated environmental problems. One of the solutions, particularly in the field of food packaging, is the development of films from polymers that can replace the synthetics. Alternative sources of protein such as fish waste, become important, since they constitute 60-70% of the raw material and are discarded by the industries of threading cooperating with the environmental harm. The functional properties of the biodegradable films are the result of the characteristics of the macromolecules used, the interactions between the components involved in formulating (macromolecule, solvent, plasticizer and other additives), the fabrication parameters (temperature, solvent, pH, etc.), of the dispersion process of the film solution (spraying, spreading, etc.) and drying conditions. A problem limiting the use of the biodegradable films based on fish proteins is their susceptibility to humidity because of the hydrophilicity of amino acids of protein molecules. The aim of this work was to develop and characterize films based on isolated protein croaker residue (IPC) and palm oil (OP). The development of the films was examined in two steps. In this study we used croaker residues (*Micropogonias furnieri*) to obtain a protein isolate, glycerol as plasticizer and palm oil to impart hydrophobicity to the film. In the first stage, the objective was to investigate the effect of concentrations of IPC, glycerol and pH on the film properties. The parameters of color, opacity, mechanical properties, thickness, water solubility, water vapor permeability (PVA) and morphological properties of the films were evaluated. As a result it was observed that the opacity and brightness of the films were not affected by process variables. The IPC films were yellowish and opaque. They were more translucent when prepared with low concentrations of IPC and high concentrations of glycerol in the filmogenic solution. The lowest solubility in water occurred on the films at low pH and low concentrations of glycerol. Regarding the mechanical properties, the films showed high elongation and its tensile strength increased when were used higher concentrations of IPC, lower concentrations of glycerol and lower pHs. Os more films had rough and irregular surfaces. In the second stage were prepared biodegradable films of IPC containing different concentrations of palm oil (OP) (10 and 20 g OP / 100g IPC) and its barrier properties, mechanical, physical, chemical, thermal and morphological characteristics were studied. The addition of OP increased thickness of the films with 2 and 4% of IPC, but the solubility was not affected by the addition of OP. The films with 3 and 4% of IPC were less permeable to water when incorporated 20% OP in the same. The opacity of the films increased with the addition of OP. The incorporation of OP in the films resulted in a decrease in tensile strength and increased elongation. In the films with the IPC 2% increase in elongation was significant only when added 20% OP. The appearance of only a melting temperature in the films proposed homogeneity thereof. Thermal decomposition of the film began around 120 -173 ° C. The films had a discontinuous surface.

Keywords: fish, films, protein isolate, palm oil, WVP.

CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os plásticos são materiais que possuem alta durabilidade, são funcionalmente adequados para uso cotidiano e atendem às exigências do mercado, pois além de suas propriedades físicas e mecânicas, possuem alta versatilidade de uso e preço. No entanto, estima-se que mais de 100 milhões de toneladas de plásticos sejam produzidos por ano acarretando grande quantidade de resíduos descartados na natureza (ROSA et al., 2004). Esse descarte contribui com uma parte considerável dos resíduos globais nos aterros sanitários municipais que representam um sério problema ambiental, uma vez que os plásticos sintéticos são polímeros resistentes à degradação natural (CHIELLINI et al., 2001; LEE e CHO, 1998).

Visando contribuir para a diminuição deste problema, têm-se desenvolvido filmes biodegradáveis, os quais são definidos como uma fina camada contínua formada ou depositada no alimento, preparada a partir de polímeros naturais, que pode agir como barreira a elementos externos (umidade, óleos, gases), protegendo o alimento e podendo aumentar sua vida útil (HENRIQUE et al., 2008). Independente do tipo de processamento que se busca na elaboração dos filmes, um aspecto sempre levado em consideração é que os filmes formados sejam flexíveis, resistentes e apresentem boas propriedades de barreira ao vapor de água. Estas características estão intimamente ligadas às propriedades dos polímeros usados (conformação, massa molar, distribuição de cargas e polaridade) e às condições de fabricação do filme (concentração do polímero na solução filmogênica, pH, tratamento térmico da solução, temperatura e umidade relativa durante a secagem, tipo e concentração de aditivos empregados (GONTARD et al., 1994).

Os polímeros naturais mais utilizados na elaboração dos filmes são as proteínas, os polissacarídeos e os lipídeos, sendo as características do material formado dependentes do tipo e teor do polímero utilizado (PAIVA et al., 2006). Para a formação desta matriz, as proteínas apresentam a característica de possuírem em sua estrutura até 20 monômeros diferentes (aminoácidos), com um alto potencial de ligações intermoleculares. Além disso, as proteínas são capazes de formar estruturas tridimensionais amorfas, estabilizadas principalmente por interações não covalentes (CUQ et al., 1998).

As proteínas de pescado, entre elas as proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas têm sido utilizadas como material para formação de filme. Cuq et al. (1995), trabalhando com sardinhas, demonstraram que as proteínas miofibrilares possuem a capacidade de formar filmes. Desde então, várias pesquisas foram

realizadas com proteínas miofibrilares de músculos de pescado como as da sardinha do Atlântico (*Sardina pilchardus*) (CUQ et al., 1996, 1997), e as da tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) (PASCHOALICK et al., 2003; SOBRAL et al., 2002; SOBRAL, 2000; CHANDRA e SOBRAL, 2000; MONTERREY-QUINTERO e SOBRAL, 1999). Iwata et al. (2000) e Tanaka et al. (2001) desenvolveram e caracterizaram filmes à base de proteínas sarcoplasmáticas extraídas do músculo de merlin azul (*Makaira mazara*). Paschoalick et al. (2003) desenvolveram filmes flexíveis à base de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas do músculo de tilápia-do-nylo. Mais recentemente, outros estudos sobre filmes biodegradáveis a partir de proteínas de pescado têm sido realizados (LIMPAN et al., 2010; ARTHARN et al., 2008; BENJAKUL et al., 2008; CHINABHARK et al., 2007; PAIVA et al., 2006). No entanto, são poucos os relatos sobre a elaboração de filmes biodegradáveis a partir de proteínas de resíduos de pescado têm sido relatados.

Os filmes à base de proteínas de pescado possuem habilidade para formar redes, apresentando geralmente boas propriedades mecânicas e boa barreira ao oxigênio, porém absorvem muita água, devido à hidrofiliçidade dos aminoácidos das moléculas de proteína e do plastificante, favorecendo a ligação com moléculas de água, o que resulta numa alta permeabilidade ao vapor de água, evidenciando a importância do controle de suas concentrações na obtenção de filmes (PAIVA et al., 2006, PÉROVAL, 2002; GALLO, 2000; YANG e PAULSON, 2000). Para melhorar as propriedades de barreira destes filmes biodegradáveis, a incorporação de lipídeos, como o óleo de palma, surge como alternativa interessante, pois além de diminuir a permeabilidade ao vapor de água dos filmes, os lipídeos podem prevenir a migração de água entre os componentes do alimento (ANKER et al., 2002).

A captura marinha de pescado contribui com mais de 50% do total da produção mundial de pescado e mais de 70% dessa produção tem sido utilizada para processamento. Como resultado, anualmente uma quantidade considerável do total capturado é descartado como sobras do processamento, incluindo cabeças, barbatanas, pele, espinhos, vísceras, além de carapaças de crustáceos e mariscos (CENTENARO, 2011) que podem contribuir uma excelente fonte de proteínas filmogênicas.

De acordo com o exposto, esse trabalho propõe o desenvolvimento e a caracterização de filmes a base de isolado protéico de resíduos de corvina (*Micropogonias furnieri*) incorporados de óleo de palma.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver filmes a base de isolado protéico de resíduos de corvina (*Micropogonias furnieri*) (IPC) incorporados de óleo de palma (OP).

2.2 Objetivos específicos

- Obter e avaliar o isolado protéico proveniente de resíduos de corvina (IPC) quanto a suas propriedades físico-químicas e verificar sua condição microbiológica;
- Avaliar o efeito dos parâmetros de processo (concentração do IPC, concentração de plastificante e faixa de pH) na obtenção dos filmes de IPC;
- Avaliar o efeito do óleo de palma nas propriedades do filme à base de IPC;
- Caracterizar os filmes obtidos quanto às propriedades mecânicas, de barreira, ópticas e solubilidade;
- Avaliar as propriedades térmicas por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA) dos filmes adicionados de óleo de palma.

CAPÍTULO II
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produção brasileira de pescado

A produção brasileira de pescado aumentou 25% nos últimos oito anos passando de 990.899 toneladas anuais para 1.240.813 em 2009, como mostram os dados na Figura 1 (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2010). Somente nos últimos dois anos, houve um crescimento de 15,7%, conforme os dados estatísticos de 2008 e 2009, sendo que a aqüicultura apresentou uma elevação 43,8%, passando de 289.050 toneladas/ano para 415.649 toneladas/ano. A produção da pesca extrativa, tanto marítima quanto continental (rios, lagos, etc) passou no mesmo período de 783.176 toneladas para 825.164 toneladas/ano no mesmo período, um aumento em torno de 5,4% (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2010).

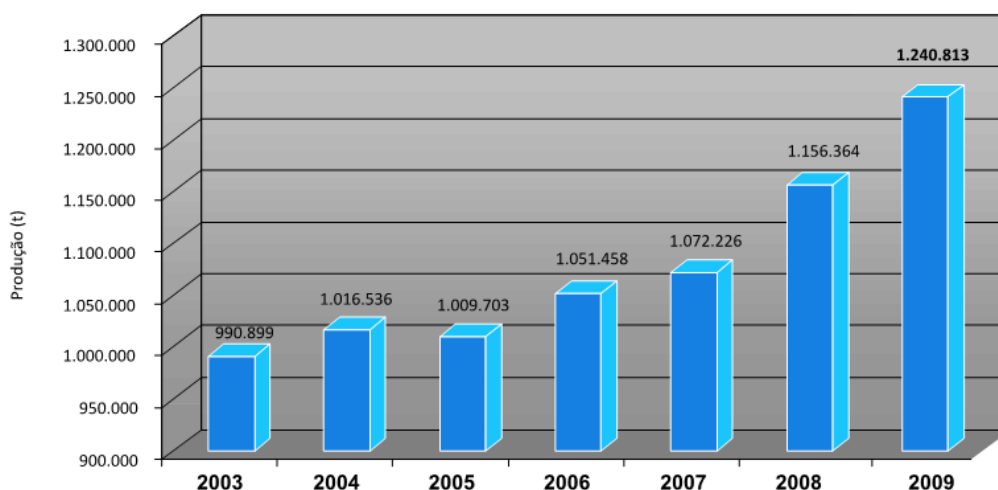


Figura 1: Produção da pesca e aqüicultura no Brasil

Fonte: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2010.

Na produção de pescado nacional, o estado de Santa Catarina foi o maior produtor de pescado em 2009 com uma produção de 207.505 toneladas, seguido pelo Paraná e Bahia. O estado do Rio Grande do Sul representou um total de 54.989 toneladas em 2008 e 68.975 toneladas em 2009.

O Brasil possui 55.457 km² de águas interiores e 7.408 km de costa marítima. Ao longo da costa há uma grande variedade de peixes que se encontram no litoral na faixa do Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul. E nesta região estão localizadas as grandes fábricas de enlatados e, conseqüentemente, onde são gerados os maiores volumes de resíduos (ALFARO, 2004).

3.2 Corvina (*Micropogonias furnieri*)

A corvina (*Micropogonias furnieri*) é considerada, devido sua abundância, uma das mais tradicionais e importantes espécies encontradas na costa brasileira, argentina e uruguaia. É encontrada desde a Península de Yucatán, na costa mexicana do Mar do Caribe, até o Golfo de San Matias, na Argentina. As maiores concentrações ocorrem em regiões costeiras que apresentam desembocaduras de grandes rios, estuários e manguezais. Em mar aberto, pode ser encontrada em profundidades de até 80 metros, em locais com fundos de lama, areia ou cascalho (WAHRLICH, 2009).

A corvina tem o corpo alongado e levemente comprimido (Figura 2), coloração prateada, com o ventre branco ou amarelado e estrias escuras e oblíquas no dorso e nas laterais (WAHRLICH, 2009).



Figura 2: Corvina (*Micropogonias furnieri*)

Fonte: PESCA, 2010.

Possui grande tolerância as variações de salinidade, o que facilita a alimentação e melhores condições para proteger-se de predadores (CASTELLO, 1986), e pode viver em temperaturas de água variando entre 10°C e 30°C (ampla faixa) (WAHRLICH, 2009).

A composição proximal da corvina varia em função das estações do ano, estas variações podem ocorrer devido a fatores como sexo, tamanho, ciclo reprodutor e alimentação (BADOLATO et al., 1994; CENTENARO, 2007). Bonacina e Queiroz (2007), avaliando a composição química da corvina encontraram valores médios de 78,50% de umidade, 18,80% de proteína, 1,20% de cinzas e 1,10% de lipídeos.

3.3 Resíduos de pescado

O pescado pode ser comercializado, seja *in natura* ou industrializado, para a obtenção de pescado congelado, enlatado, salgado, semi conservado e na forma de outros produtos (ARRUDA et al., 2006). Os resíduos gerados no beneficiamento (Figura 3) do pescado, constituídos da composição de diferentes proporções de cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne pode representar até 70% da matéria-prima utilizada, variando conforme as espécies e processamento (NUNES, 2001). Ainda, durante a produção, em razão da heterogeneidade do tamanho do pescado, no momento da classificação, por não atingirem o peso comercial, podem ser descartados, gerando ainda mais resíduos de pescado (VIDOTTI e GONÇALVES, 2006).

Como o resíduo de pescado é fonte de proteínas e lipídeos, estão sendo realizados estudos para recuperar estas biomoléculas. Martins et al. (2009) produziram e avaliaram as propriedades funcionais de hidrolisados protéicos de resíduos de corvina e, constataram que os hidrolisados apresentaram resultados satisfatórios em todas as propriedades funcionais avaliadas. Godoy et al. (2010) avaliaram a aceitação de caldos e canjas elaborados com farinhas aromatizadas desenvolvidas a partir de carcaças de pescados, os quais foram bem aceitas pelos consumidores.

Atualmente os resíduos do beneficiamento do pescado são valorizados mediante a hidrólise da biomassa para a obtenção de silagem de peixe (ARRUDA et al., 2006), com grande potencial para utilização como fonte protéica em rações (FERNANDES et al., 2007).

Os resíduos gerados no processamento também podem ser aproveitados na produção de gelatina, óleo bruto e farinha de pescado para alimentação animal. A figura 3 mostra o beneficiamento do pescado com a indicação do processamento e dos resíduos gerados.

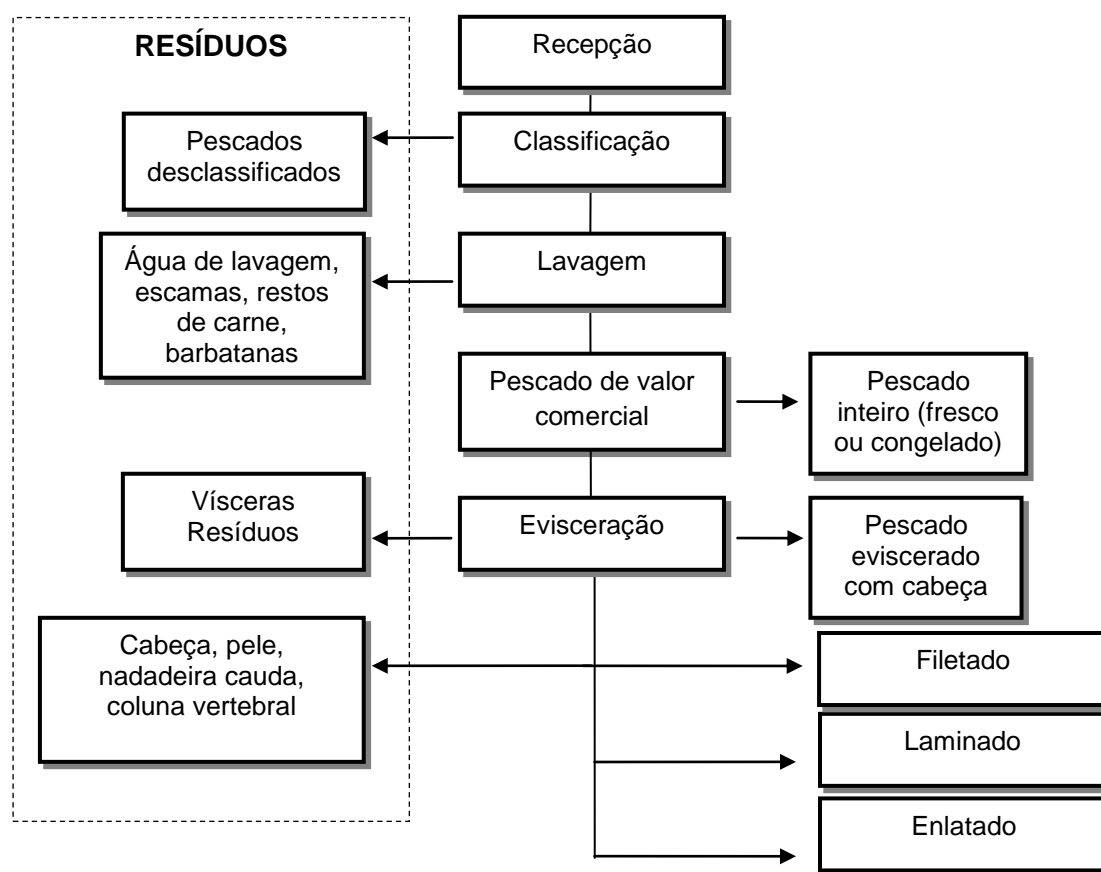


Figura 3: Fluxograma geral do beneficiamento do pescado com a indicação do processamento e dos resíduos gerados.

Fonte: NUNES (2001).

3.4 Proteínas do pescado

As proteínas musculares podem ser classificadas em três grandes grupos: miofibrilares (proteínas contrácteis), proteínas sarcoplasmáticas (proteínas metabólicas) e estroma (proteínas do tecido conectivo) como mostrado na Tabela 1, e estas três frações de proteínas podem ser diferenciadas pela sua solubilidade (SALAS, 2001).

As proteínas miofibrilares representam de 66 a 77 % do total de proteínas do músculo do pescado, sendo que, neste grupo, as principais são a miosina e a actina (GUND et al., 2005). Estas possuem importância principalmente por suas propriedades funcionais, sendo a miosina responsável pelas propriedades de gelificação, retenção de água e de emulsificação (AYALA, 2001).

As proteínas sarcoplasmáticas representam aproximadamente 20 a 25 % das proteínas do músculo, são solúveis em água e como principais características estão a sua capacidade de adesão às proteínas miofibrilares impedindo a formação de gel de alta elasticidade, baixa viscosidade, baixa capacidade de retenção de água e baixa capacidade de absorção de sabores e corantes (GUND et al., 2005).

As proteínas do estroma são formadas principalmente por colágeno e elastina. Estas são insolúveis em água, soluções salinas ou alcalinas. Constituem o tecido conectivo e mantêm unidos os miótomos dando firmeza à carne. Por aquecimento o colágeno se solubiliza e forma gel ao esfriar-se (SALAS, 2001).

Tabela 1: Principais proteínas do músculo de peixe

| Proteínas | | Quantidade de proteína (g / 100g de músculo) |
|-------------------------|---|---|
| Miofibrilares | Miosina | 5,0 |
| | Proteína C | 0,2 |
| | Proteína M | 0,3 |
| | Actina | 2,5 |
| | Tropomiosina | 0,8 |
| | Troponina | 0,8 |
| | β -actinina | 0,1 |
| | α - actinina | 0,2 |
| | Desmina | 0,1 |
| Sarcoplasmáticas | Enzimas sarcoplasmáticas e mitocondriais | 6,0 |
| | Mioglobina | 0,6 |
| | Hemoglobina | 0,2 |
| | Citocromo e flavoproteínas | 0,2 |
| Estroma | Colágeno e reticulina | 1,5 |
| | Elastina | 0,1 |
| | Outras proteínas insolúveis | 1,4 |

Fonte: FLORES e BERMEL, 1984 *apud* PROTEÍNAS DO PEIXE, 2009.

3.5 Isolado protéico de pescado

O isolado protéico de pescado é um produto obtido através da hidrólise química da proteína. O isolamento de proteínas é basicamente um processo de extração o qual visa obter um produto livre de interferentes (MARTINS, 2009). As proteínas de origem animal apresentam a vantagem de possuírem um elevado valor biológico, devido à sua alta sensibilidade à hidrólise e à sua composição balanceada de aminoácidos, particularmente daqueles que costumam ser os limitantes em proteínas de origem vegetal (FONTANA et al., 2009).

Não existe um método único ou um conjunto de métodos aplicáveis ao isolamento de todas as proteínas indistintamente; porém, para qualquer proteína é possível, geralmente, escolher uma seqüência de etapas de separação que irão resultar em um grau elevado de purificação e um alto rendimento (FREITAS, 2011). O objetivo geral é aumentar a pureza da proteína desejada por unidade de massa, pela eliminação das proteínas inativas ou indesejáveis, enquanto, ao mesmo tempo, eleva-se o rendimento ao máximo (NOLSOE e UNDELAND, 2009).

Fundamental para que uma extração de proteína seja possível e bastante completa é que a proteína seja dispersável, isto é, solúvel como colóide. O dispersante pode ser água, uma solução de sal neutro fraca, uma solução ácida ou alcalina, ou um solvente orgânico. Depois da dispersão, precipita-se a proteína, a fim de separá-la de seu meio. Agente dispersante ideal é aquele que pode dispersar todas as proteínas sem mudar a sua estrutura natural, isto é, sem desnaturá-las.

Para o isolamento das proteínas, primeiramente os tecidos do pescado são homogeneizados com água, onde geralmente é usado 9 partes de solvente. Após o pH da solução é ajustado para a solubilização protéica, depois é realizada a etapa de centrifugação em alta velocidade, onde as proteínas solubilizadas são separada da fração insolúvel (peles, ossos, tecido conjuntivo, membrana celular) e dos lipídeos. Com o ajuste do pH (5,2 – 5,5) a proteína solubilizada é precipitada, e após segue a etapa de centrifugação com posterior secagem (NOLSOE e UNDELAND, 2009; HULTIN et al., 2005).

Muitos fatores interferem na extração da proteína, como: qualidade da matéria-prima, relação sólido/líquido, pH, temperatura, velocidade de centrifugação e força iônica, contudo a máxima recuperação durante o processo de extração é de vital importância para determinar a quantidade de proteína no isolado (KAIN et al., 2009).

O isolado protéico a partir de um processo de solubilização ácida difere daquele de uma proteína isolada com o processo de solubilização alcalina

(KRISTINSSON et al., 2005) . Nas condições extremas ácidas ou alcalinas, ocorrem excessos de cargas positivas ou negativas, respectivamente, sobre as proteínas que conduz à repulsão, e a interação com a água ocorrendo à solubilização (NOLSOE e UNDELAND, 2009). Há várias pesquisas com desenvolvimento de isolados protéico de pescado, por solubilização protéica via ácida ou alcalina.

Kristinsson (2003) usou um processo alcalino para a obtenção de isolado protéico de pescado. O pH usado pelo autor foi entre 10,5 e 11,5 para solubilização protéica, seguida de redução de pH até 4,5 para precipitação isoelétrica das proteínas. O mesmo autor realizou um estudo para obtenção de isolado protéico de pescado utilizando um processo ácido, no qual a matéria-prima foi submetida primeiro a redução de pH até 2 e após aumento de pH até 4,5 no ponto isoelétrico das proteínas.

Costa (2003), desenvolveu um isolado protéico da matriz dos exoesqueletos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*) empregando processo de extração alcalina, utilizando NaOH como agente de solubilização. Foi obtido um produto final com 89,02% de proteínas, 82,5% de digestibilidade *in vitro*, e rendimento de 69%.

Yongsawatdigul e Park (2004) empregaram HCl e NaOH para solubilização ácida e alcalina das proteínas de músculo de pescado, respectivamente. Os maiores percentuais de solubilidade (aproximadamente 60%) foram obtidos nos pHs 2 a 3 e nos pHs 11 a 12 e valores mínimos de solubilidade no pH 5.

Lopes (2005) obteve isolados protéicos de cabrinha (*Prionotus punctatus*) pelo processo ácido e alcalino e verificou que quando utilizado o HCl como agente acidificante o isolado protéico ficou com 89,25% de proteína, 2,02% de lipídeos , digestibilidade *in vitro* de 98,96% e rendimento de processo de 76%. E quando foi utilizado o NaOH como agente alcalinizante, resultou um isolado protéico com 92,85% de proteína, 1,01% de gordura, 99,53% digestibilidade *in vitro* e 82% de rendimento.

Fontana (2007) desenvolveu isolados protéicos de corvina (*Micropogonias furnieri*), sendo empregada a solubilização ácida e alcalina, e constatou que o rendimento do processo alcalino (55,35%) foi maior que do processo ácido (46,6%).

Freitas (2011) produziu isolados protéicos de resíduos de corvina (*Micropogonias furnieri*) empregando os dois processos (alcalino e ácido) e obteve um maior teor protéico (93,11%) quando utilizado o processo alcalino.

3.6 Filmes Biodegradáveis

Os filmes biodegradáveis são materiais de espessura fina, preparados a partir de macromoléculas, que agem como barreira a elementos externos e conseqüentemente protegem o produto e aumentam a sua vida de útil (HENRIQUE et al., 2008; KROCHTA e MULDER-JOHNSTON, 1997). Estes filmes biodegradáveis podem ser utilizados como coberturas comestíveis, quando são aplicados diretamente na superfície de alimentos (Figura 4), e como filmes (Figura 5), quando possuem estrutura própria independente (PRATES, 2010).



Figura 4: Processo de obtenção de cobertura comestível em maçãs
Fonte: ASSIS E LEONI, 2003.



Figura 5: Filme de quitosana
Fonte: CIÊNCIA HOJE, 2010.

Duas técnicas podem ser usadas para a produção de filmes: o processo de extrusão e o processo “*casting*”. O “*casting*” envolve a dispersão do polímero em um solvente ou mistura de solventes adequados, formando um sistema relativamente viscoso. A dispersão então é vertida sobre um suporte e levada para a estufa, em condições controladas, para a desidratação da solução filmogênica. Depois que todo o solvente for evaporado, o filme seco pode ser retirado do suporte (THARANATHAN, 2003).

A formação do filme envolve ligações inter e intramoleculares, ou a reticulação das cadeias dos polímeros, formando assim uma rede tridimensional semi-rígida que retém e imobiliza o solvente. O grau de coesão depende da estrutura do polímero, do solvente usado, da temperatura e a presença de outras moléculas, como os plastificantes (THARANATHAN, 2003).

As propriedades funcionais dos filmes comestíveis e/ou biodegradáveis são resultantes das características das macromoléculas utilizadas, das interações entre os constituintes envolvidos na formulação (macromolécula, solvente, plastificante

e outros aditivos), dos parâmetros de fabricação (temperatura, tipo de solvente, pH, entre outras), do processo de dispersão da solução filmogênica (pulverização, espalhamento, etc.) e das condições de secagem (GONTARD e GUILBERT et al., 1996).

Os filmes são classificados em simples e compostos. Se compostos podem ser produzidos utilizando dois métodos, ou seja, por bicamada ou emulsionado. No método bicamada, a proteína é dispersa em um solvente; aquecida e espalhada sobre um suporte plano para a evaporação do solvente; o lipídeo é aplicado sobre a camada protéica, formando uma bicamada. No método emulsionado os glóbulos de lipídeos são incorporados na solução protéica dissolvida em um solvente, formando uma emulsão onde esta é aquecida e espalhada sobre um suporte plano para a evaporação do solvente (FERREIRA, 2006).

3.7 Constituintes da formulação dos filmes

3.7.1 Agentes formadores dos filmes

Os principais agentes formadores de filmes são as proteínas, os polissacarídeos e os lipídeos. Entre as proteínas, as principais para a elaboração de filmes são as do soro do leite (isolados e concentrados protéicos de soro), do milho (zeína), do trigo (glúten), da soja, do ovo (albumina), da gelatina (colágeno), e do pescado (proteínas miofibrilares) (THARANATHAN, 2003). Os filmes de proteínas apresentam boas propriedades de barreiras ao O₂ e CO₂, mecânicas (resistência à ruptura e deformação) e óticas, entretanto, são altamente permeáveis ao vapor de água devido ao seu caráter hidrofílico.

Os filmes a base de lipídios (monoglicerídeos, ácidos graxos, ceras naturais, etc) são efetivos como barreira à umidade e troca de gases, devido à hidrofobicidade. Outros à base de polissacarídeos (celulose, pectina, amido, alginatos, quitosana e gomas), possuem boa barreira a gases (O₂ e CO₂), mas não à água, provavelmente relacionada à alta polaridade dos compostos (THARANATHAN, 2003).

Como as diferentes macromoléculas atribuem propriedades funcionais distintas aos filmes, surge atualmente à produção destes através da combinação de proteínas, de polissacarídeos e de lipídeos.

3.7.2 Plastificantes

Os plastificantes são substâncias com alto ponto de fusão, com baixa volatilidade e quando adicionados a outros materiais provocam mudanças nas propriedades físicas, químicas e mecânicas dos mesmos (McHUGH & KROCHTA, 1994). Além disso, em sua maioria, apresentam caráter hidrofílico, e, por serem normalmente moléculas pequenas, são facilmente acoplados entre as cadeias poliméricas devido à sua habilidade em reduzir a formação de pontes de hidrogênio entre estas, causando um aumento no volume livre ou na mobilidade molecular do polímero (SOTHORNVI e KROCHTA, 2000).

Os plastificantes mais utilizados na elaboração de filmes a partir de proteínas ou polissacarídeos são os polióis como o glicerol, o sorbitol ou uma mistura destes nas blendas das soluções filmogênicas (McHUGH e KROCHTA, 1994). Podem ser usados também monossacarídeos (principalmente frutose), dissacarídeos, lipídios e derivados (ácidos graxos, monoglicerídeos, derivados de éster, entre outros) (FERREIRA, 2006).

A incorporação de um plastificante em biopolímeros modifica a organização molecular tridimensional, diminuindo as forças de atração intermoleculares e aumentando o volume livre do sistema. Conseqüentemente, a rede torna-se menos densa, melhorando a flexibilidade e extensibilidade dos filmes (SOTHORNVI e KROCHTA, 2000). A habilidade dos plastificantes em mudar as propriedades físicas e de permeabilidade à água do filme depende de sua estrutura química (massa molar, configuração e o número total de grupos hidroxil funcional) e compatibilidade com o polímero(s) e com o solvente (FERREIRA, 2006).

3.7.3 Solventes e ajustadores de pH

Os solventes mais utilizados na elaboração de filmes comestíveis são água, etanol, ou a combinação de ambos (KESTER e FENNEMA, 1986). Um aspecto determinante na elaboração de filmes é a solubilidade de proteínas e a capacidade das mesmas em interagir com o solvente utilizado, uma vez que a solubilização total da proteína é necessária para o processo de formação destes filmes.

A dispersão da molécula de proteína em água é possível devido ao grande número de resíduos de aminoácidos polares e apolares, que interagem com o solvente. Essas interações podem ser melhoradas em função da constante dielétrica do solvente, uma vez que essa constante é inversamente proporcional à força de atração intermolecular. Solventes com alta constante dielétrica favorecem a

solubilidade de proteínas, diminuindo a força de atração entre as moléculas (GONTARD e SGARBIERI, 1996).

Outro composto adicionado na formulação de filmes é o ajustador de pH, o qual deve ser utilizado, principalmente, em filmes a base de proteínas, por atuar diretamente na solubilidade das mesmas. O ajustador de pH faz com que as proteínas permaneçam solúveis (distantes de seus pontos isoelétricos), permitindo, portanto, sua geleificação (WOLF, 2007), visto que o ponto isoelétrico (pI) da proteína (quando uma molécula apresenta igual número de cargas positivas e negativas) corresponde ao pH de menor solubilidade protéica. Dentre os ajustadores de pH, os mais utilizados encontrados na literatura estão o ácido acético glacial e o hidróxido de sódio, sendo utilizado também os ácidos hidrolórico, láctico e ascórbico; o hidróxido de amônia (KESTER e FENNEMA, 1986).

3.8 Filmes protéicos

Um número grande de pesquisas está voltado para a melhoria das propriedades dos filmes, principalmente no aumento da resistência à tensão e diminuição da permeabilidade ao vapor de água.

Dentre as proteínas utilizadas como agente formador de filmes, destacam-se as de origem animal, como gelatina (CARVALHO, 1997; SAMENTO, 1999), proteínas miofibrilares de peixe (CUQ, 1996; MONTERREY et al., 2000; ARTHARN et al., 2008), proteínas miofibrilares de carne bovino (SOUZA, 2001), proteínas do soro de leite (McHUGH et al., 1994) e as de origem vegetal, como o glúten, a zeína e as proteínas de soja.

Segundo Kinsela (1984) a formação de filmes à base de proteínas deve-se à interação entre moléculas por via eletrostática, interações hidrofóbicas, interações de Van de Waals, por pontes de hidrogênio e por ligações dissulfídicas. Considera-se ainda a influência direta das mesmas nas propriedades dos filmes, sendo que estas variam com o tipo de proteína e com as condições ambientais. As etapas de formação são influenciadas pelas características das proteínas, como composição, conformação, flexibilidade molecular e fatores externos, tais como pH, temperatura, concentração de proteína, tipo de espécie iônica e outros (KINSELA, 1984; ARTHARN et al., 2008).

Lee et al. (2004) estudaram a influência de raios gama em filmes de glúten, obtendo aumento nos valores de tensão e diminuição na permeabilidade ao vapor de água, em relação aos filmes sem o tratamento radioativo. Wolf (2007) adicionou

colágeno em filmes de gelatina e observou que o aumento na concentração de colágeno nos filmes resultou na elevação da resistência à ruptura e opacidade, e na diminuição da elongação e da solubilidade.

Segundo Artharn et al. (2008), o tipo e a proporção de proteínas usado na elaboração dos filmes influenciam nas propriedades destes. Estes autores estudaram as propriedades de filmes elaborados com as proteínas musculares de pescado (miofibrilares e sarcoplasmáticas), e observaram que a resistência à tração dos filmes diminuiu com o aumento do teor de proteínas sarcoplasmáticas (PS), e o alongamento à ruptura dos filmes diminuiu quando apresentavam um teor de PS maior que 30%. Estes resultados sugeriram que as propriedades mecânicas dos filmes melhoram quando a concentração de proteínas sarcoplasmáticas diminui.

Benjakul, Artharn e Prodpran (2008) avaliaram filmes preparados a partir de proteínas provenientes de pescados armazenados em diferentes tempos. Os autores constataram que independentemente da época de armazenamento do produto, não houve alterações na resistência à tração e alongamento na ruptura dos filmes a partir de pescado.

Os isolados proteicos também podem ser usados para elaboração de filmes biodegradáveis. Guerrero et al. (2009) adicionaram diferentes proporções de plastificante na elaboração de filmes de isolado protéico de soja, e observaram que o glicerol atribuiu melhor resistência mecânica aos filmes quando adicionado nas proporções de 30-40%. Kim e Ustunol (2001) obtiveram bons resultados com filmes à base de isolado protéico de soro de leite, resultando a formação filmes transparentes, o que favoreceu sua aplicação. Maté e Krochta (1996) concluíram que coberturas de isolado protéico de soro de leite diminuíram a concentração de oxigênio em amendoins, retardando o processo de rancidez.

3.9 Filmes emulsificados

Os filmes protéicos melhoram as propriedades mecânicas dos alimentos e minimizam a perda de aromas voláteis (LEE et al., 2004). No entanto, de acordo com Bertan et al. (2005), os filmes preparados com proteínas são sensíveis ao vapor de água. Desta forma, inúmeros estudos têm sido conduzidos com a intenção de melhorar o desempenho desses filmes. Um método extensivamente utilizado para aumentar a barreira ao vapor de água dos filmes tem sido a incorporação de compostos hidrofóbicos, como lipídeos, na solução formadora de filmes (CHAMBI e GROSSO, 2005).

Os filmes emulsificados são caracterizados pela presença de lipídios na matriz contínua e são obtidos através de uma homogeneização do lipídio na solução protéica, formando uma emulsão. O grau de eficiência na interação da partícula lipídica com os outros componentes do filme, como proteínas, e polissacarídeos dependerá da estrutura química, do grau de saturação, do estado físico (sólido ou líquido), do tamanho da cadeia e da dimensão dos cristais (GALLO et al., 2000; GONTARD et al., 1994).

As características dos lipídeos exercem forte influência sobre as propriedades de barreira dos filmes. Em geral, a permeabilidade ao vapor de água de uma camada lipídica aumenta com o aumento da polaridade, com a diminuição do comprimento de cadeia carbônica e com o aumento do grau de insaturação e o número de ramificações, como conseqüência da maior mobilidade da cadeia carbônica (GARCIA et al., 2000). A adição de lipídios a composição de filmes, resulta na diminuição da permeabilidade ao vapor de água (GARCIA et al., 2000), desde que o teor de lipídios não ultrapasse 20% (GALLO et al., 2000). Entretanto, podem causar redução nas propriedades ópticas e mecânicas dos filmes (YANG e PAULSON, 2000).

Liu et al. (2006), em filmes elaborados pelo método de “*casting*”, utilizando blendas de gelatina/caseinato de sódio e pectina adicionados de 2,5% de óleo de milho ou azeite de oliva, mostraram diferenças significativas nas propriedades mecânicas (resistência a tração, alongação no ponto de ruptura). Filmes compostos por pectina e óleo de milho (2,5%) apresentaram o valor mais alto de resistência na tração (7,26 MPa), e o mais baixo de 1,03 MPa foi para os filmes de gelatina/caseinato e 2,5% de azeite de oliva.

Wang e Pádua (2005) incorporaram óleo de linhaça em filmes de zeína e observaram a diminuição da permeabilidade ao vapor de água destes. Ozdemir e Floros (2008) observaram um aumento na opacidade de filmes protéicos de soro de leite com adição de cera de abelha.

Perez-Gago e Krotcha (2000) no estudo dos efeitos de condições de secagem em filmes de soro de leite adicionados de lipídeos, tais como gordura anidra de leite bovino, cera de abelha e cera de carnaúba, observaram uma significativa diminuição da permeabilidade ao vapor de água (PVA), quando comparados com filmes elaborados somente com o soro.

O óleo de palma é o óleo vegetal de maior utilização mundial na indústria de alimentos, devido a sua característica única e diferenciada de plasticidade e de composição em ácidos, pois possuem aproximadamente iguais quantidades de ácidos

graxos saturados e insaturados: insaturados incluem 39% de ácido oléico e 10% de ácido linoléico; saturados incluem 44,3% de ácido palmítico, 4,6% de ácido esteárico, 1,0% de ácido mirístico, 0,1% de ácido láurico e 0,1% de ácido palmitoléico (SANTOS et al., 1998).

Prondpran et al. (2007) produziram filmes emulsionados de quitosana com óleo de palma em substituição ao glicerol obtendo aumento da resistência à tração e redução na permeabilidade ao vapor de água. Bourtoom e Chinnan (2009) analisaram a influência da adição de óleo de palma, em diferentes concentrações nos filmes de quitosana e amido de arroz, nas propriedades mecânicas e de permeabilidade destes filmes e observaram a redução da permeabilidade ao vapor de água e da solubilidade em água.

3.10 Métodos de avaliação das propriedades dos filmes

Os métodos usados para avaliação dos filmes são derivados dos métodos clássicos aplicado aos materiais sintéticos. Entretanto, estes métodos foram adaptados as características dos filmes, devido à sua grande sensibilidade à umidade relativa e à temperatura.

3.10.1 Aspecto visual

De forma geral, está relacionada com a aparência do filme e pode ser avaliado por observações visuais e tácteis. O filme deve apresentar uma superfície contínua e homogênea, ou seja, não deve apresentar fissuras após o processo de secagem, nem partículas insolúveis ou poros abertos (CARVALHO, 1997).

3.10.2 Espessura

Nos filmes podem ocorrer defeitos devido ao processo de fabricação utilizado, o que, conseqüentemente, pode afetar a embalagem confeccionada com este material (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A espessura é definida como a distância entre as duas superfícies principais do material, é um parâmetro importante para filmes plásticos mono ou multicamadas. A heterogeneidade de espessura é um dos defeitos mais graves de fabricação dos filmes biodegradáveis. Quando há variações na espessura do material, este pode ter suas propriedades mecânicas e de barreira afetadas, comprometendo o desempenho da embalagem (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Cuq et al. (1996) observaram que a força na ruptura e a permeabilidade ao vapor de água aumentaram

linearmente com a espessura entre 0,010 e 0,055 mm nos filmes de proteínas miofibrilares de sardinha do Atlântico.

O controle da espessura é difícil, sobretudo nos processos de produção do tipo *casting*. Quando se controla a espessura, seja fixando-se a gramatura ou a alíquota da solução no suporte, deve-se levar em consideração as características das formulações. Quando utilizado uma alta concentração de proteína na solução formadora de filme, tal solução se torna muito viscosa, dificultando seu espalhamento e, conseqüentemente, o controle da espessura, além de possibilitar a formação de bolhas na solução, em razão da propriedade de formação de espuma presente nas proteínas (SOBRAL, 1999).

3.10.3 Cor e opacidade

Os filmes devem apresentar opacidade e coloração atrativas, e não devem sofrer alteração de cor com o tempo de armazenamento, para não prejudicar a aceitação do produto acondicionado. A transparência dos filmes pode ser avaliada pela opacidade que influencia o potencial de aplicação dos filmes, uma vez que está relacionada com a aceitabilidade (GONTARD et al., 1994). Um objeto é dito transparente quando a luz incidente o atravessa com o mínimo de absorção ou reflexão. Por outro lado, um objeto opaco, absorve e/ou reflete toda a luz incidente nele, sem que ocorra alguma transmissão (VICENTINI, 2003)

O grau de opacidade depende do conteúdo e do tamanho das partículas de lipídeo. PÉREZ-GAGO e KROCHTA (2001) observaram que filmes a base de isolado protéico do soro do leite com baixo conteúdo de lipídeo, de tamanho reduzido, foram translúcidos. Entretanto, conforme o tamanho e o conteúdo lipídico aumentaram, os filmes tornaram-se mais opacos.

3.10.4 Solubilidade em água

A solubilidade em água é uma propriedade importante dos filmes biodegradáveis no que se refere ao seu emprego, pois algumas aplicações requerem insolubilidade em água para manter a integridade do produto (PEREZ-GAGO e KROCHTA, 2001). Por outro lado, filmes com alta solubilidade podem ser interessantes para embalagens de alimentos desidratadas que devam sofrer uma hidratação prévia ao consumo.

A obtenção de filmes com boas propriedades de barreiras ao vapor de água, isto é, com baixa permeabilidade dentro de uma grande faixa de umidade

relativa, implica na utilização do material insolúvel ou de pouca solubilidade em água (CARVALHO, 1997).

De acordo com Muller, Yamashita e Laurindo (2008) a solubilidade pode ser influenciada pelo tipo e pela concentração de plastificante. Os autores constataram que o glicerol aumentou a solubilidade em água dos filmes de amido de mandioca.

Kowalczyk e Baraniak (2011) produziram filmes de isolado protéico de ervilha plastificados com glicerol ou sorbitol e, observaram uma solubilidade menor nos filmes com glicerol (19,7-31,3%) quando comparados aos filmes com sorbitol (36,1-54,9%).

Kim e Ustunol (2001) em filmes de isolado protéico de soro observaram total solubilidade dos filmes plastificados com sorbitol (100%), no entanto, os filmes com glicerol foram parcialmente solúveis (31,6%). Monterrey-Quintero (1998) elaborou filmes com proteínas miofibrilares de pescado e relatou que parte do filme permaneceu insolúvel em água, sugerindo a ocorrência de interações entre a proteína e o glicerol.

3.10.5 Propriedades de barreira

Uma das mais importantes propriedades de barreira de um filme é a sua permeabilidade ao vapor de água, que é definida pelo "Annual Book of Standards" (ASTM E96-80) como a taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área de um material delgado, de espessura conhecida, induzida por uma diferença de pressão entre duas superfícies específicas, sob condições de temperatura e umidade relativa especificadas (ASTM, 1989).

O conhecimento da permeabilidade ao vapor de água é imprescindível para se definir as possíveis aplicações dos filmes em embalagens. Um material muito permeável ao vapor de água, por exemplo, poderá ser indicado para embalagens de vegetais frescos, enquanto um filme pouco permeável poderá ser indicado para produtos desidratados (MULLER, 2008). A migração de vapor de água é um dos principais fatores de alteração das características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais bem como a estabilidade da estocagem (BERTUZZI, 2007).

A permeabilidade de filmes depende de vários fatores, tais como: a integridade do filme, a relação entre as zonas cristalinas e amorfas, a quantidade de material hidrofílico-hidrofóbico e a mobilidade da cadeia polimérica. A interação entre os polímeros formadores do filme, o plastificante ou outros aditivos é um fator igualmente importante na permeabilidade do filme (MULLER, 2008; BERTUZZI, 2007; GARCIA et al., 2000).

Kowalczyk e Baraniak (2011) produziram filmes de isolado protéico de ervilha plastificados com glicerol e observaram uma maior permeabilidade ao vapor de água dos filmes quando a concentração do plastificante aumentava na formulação destes. Wang et al. (2009) concluíram que o uso de óleo de milho em filmes a base de gelatina foi um fator importante no controle da permeabilidade ao vapor de água, onde o menor valor obtido foi de 50.55 gmm/m².dia. KPa quando utilizado 55,2% de óleo de milho na formulação.

3.10.6 Propriedades mecânicas

Para que o alimento acondicionado em embalagens do tipo filmes não perca sua proteção pelo manuseio, distribuição e armazenamento é necessário que os filmes apresentem certa resistência à ruptura e à abrasão e também certa flexibilidade, que permita a deformação do filme sem a sua ruptura (VICENTINI, 2003).

A resistência à tração e alongação são propriedades mecânicas apresentadas por um filme. A resistência à tração é a máxima tensão suportada pelo filme até o momento de sua ruptura. A alongação é a medida de maleabilidade do filme e pode ser considerada como uma característica que define a habilidade do filme em deformar antes de ocorrer sua ruptura. Baixos valores de alongação implicam em filmes quebradiços (MACLEOD et al., 1997).

Em filmes flexíveis de monocamada, as propriedades mecânicas dependem da espessura, dos constituintes presentes nos filmes e do processo de fabricação (SARANTÓPOULOS et al., 2002). YANG e PAULSON (2000) constataram que o aumento da concentração da mistura de ácidos esteárico e palmítico em filmes a base de gelatina promoveu uma diminuição na força tensora e alongação dos filmes.

3.10.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é a análise de microscopia mais utilizada para avaliar a microestrutura de filmes. A caracterização microscópica dos filmes é importante quando se deseja uma melhor compreensão do seu comportamento (SANTOS, 2004).

A visualização a partir da microscopia eletrônica de varredura permite a identificação da incorporação dos materiais formando uma estrutura homogênea ou, ainda, a separação dos mesmos originando uma estrutura heterogênea.

Kowalczyk e Baraniak (2011) produziram filmes de isolado protéico de ervilha, e não detectaram diferenças entre as microestruturas superficiais dos filmes

plastificados com glicerol e sorbitol. Os autores também observaram uma microestrutura homogênea e compacta.

Yang e Paulson (2000) verificaram um aumento da irregularidade da superfície dos filmes de gelatina com a adição da mistura de ácidos esteárico e palmítico. Por outro lado, Wang et al., 2009 produziram filmes de gelatina e óleo de milho, e constataram superfícies mais regulares à medida que aumentava a concentração de óleo nos filmes.

3.10.8 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é a técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à amostra em relação a um material de referência, enquanto ambos são submetidos a uma programação controlada de variação de temperatura (SANTOS, 2004).

A medida de temperatura é feita por meio de termopares fixados à base do suporte da amostra e da referência. Alterações de temperatura da amostra são devidas a variações de entalpia endotérmicas ou exotérmicas, decorrentes de transições físicas ou de reações químicas (SANTOS, 2004).

A temperatura de fusão ou “melting” (T_m) refere-se à temperatura na qual ocorre uma mudança de fase de primeira ordem nos materiais amorfos. Em materiais parcialmente cristalinos, o aquecimento acima da temperatura de transição vítrea (T_g) resulta no surgimento de um pico endotérmico na curva de fluxo de calor, correspondendo à T_m . As mudanças no estado físico são freqüentemente observadas analisando-se as mudanças termodinâmicas, que podem ser medidas com técnicas calorimétricas (GARCIA et al., 2000).

A T_m juntamente pode ser determinada por calorimetria diferencial de varredura (DSC), e este parâmetro é utilizado em filmes para determinar o quanto os componentes do filme interagiram ou não com a matriz filmogênica.

3.10.9 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica é uma técnica que mede a variação de massa da amostra em relação à temperatura e/ou tempo enquanto é submetido a uma programação controlada. Esta técnica possibilita conhecer a faixa de temperatura em que a amostra adquire uma composição química fixa, a temperatura em que se decompõe (SANTOS, 2004).

CAPÍTULO III
DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

ARTIGO 1
EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA, PLASTIFICANTE E pH
SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES DE ISOLADO PROTÉICO DE RESÍDUOS
DE CORVINA (*Micropogonias furnieri*)

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA, PLASTIFICANTE E pH SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES DE ISOLADO PROTÉICO DE RESÍDUOS DE CORVINA (*Micropogonias furnieri*)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar o efeito das concentrações de isolado protéico de corvina (IPC), de glicerol e do pH sobre as propriedades dos filmes obtidos. Os filmes foram avaliados quanto aos parâmetros de cor, opacidade, propriedades mecânicas, espessura, solubilidade em água, permeabilidade de vapor de água (PVA) e a microestrutura. A opacidade e a luminosidade dos filmes não foram afetadas pelas variáveis do processo. Na avaliação da cor os filmes ficaram amarelados e apresentaram-se mais claros quando utilizadas baixas concentrações de IPC e altas concentrações de glicerol nas soluções filmogênicas. A menor solubilidade em água ocorreu nos filmes com pH baixo e menores concentrações de glicerol. Os filmes tiveram alta elongação. A resistência à tração dos filmes aumentou quando preparados com maiores concentrações de IPC, menores concentrações de glicerol e pHs mais baixos. A PVA e a espessura dos filmes apresentaram baixos coeficientes de correlação. Os filmes apresentaram superfícies ásperas e irregulares.

Palavras-chave: filme, pescado, resíduos, solubilidade, MEV.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effect of croaker protein isolate (IPC) and glycerol concentrations and pH on the properties of the films obtained. The films were evaluated as to color parameters, opacity, mechanical properties, thickness, water solubility, water vapor permeability (WVP) and microstructure. The opacity and brightness of the films were not affected by process variables. In evaluation of color the films were yellowish and clearer when used low concentrations of IPC and high concentrations of glycerol in filmogenic solutions. The lowest solubility in water occurred in films with low pH and lower concentration of glycerol. The films had high elongation. The tensile strength increased when the films were prepared with higher concentrations of IPC, lower concentrations of glycerol and lower pHs. The WVP and the thickness of the films had low correlation coefficients. The films were rough and irregular surfaces.

Keywords: film, fish, waste, solubility, SEM.

1 INTRODUÇÃO

O crescimento exponencial da população, principalmente urbana, juntamente com o desenvolvimento industrial e novos padrões de consumo tem ocasionado o aumento da geração de embalagens plásticas, causando problemas ambientais. Uma das soluções encontradas é o desenvolvimento de filmes, em substituição ao uso de polímeros sintéticos (HAMAGUCHI et al., 2007). Os filmes são definidos como uma fina camada contínua, preparada a partir de macromoléculas biológicas, que agem como barreira a elementos externos, protegendo o alimento e aumentando sua vida útil (HENRIQUE et al., 2008). Os polímeros mais utilizados na elaboração das soluções filmogênicas são as proteínas, os polissacarídeos e os lipídeos, sendo as características do material formado dependentes do tipo e teor do polímero utilizado.

Dentre os polímeros naturais, as proteínas têm sido amplamente estudadas devido a sua abundância e boa capacidade de formação de filmes, no entanto, diferentes tipos de proteínas possuem propriedades distintas devido às diferenças na estrutura molecular e composição (PIRES et al., 2011). Proteínas de pescado, incluindo miofibrilares e sarcoplasmáticas, tem sido utilizadas como material para formação do filme (LIMPAN et al., 2010; CHINABHARK et al., 2007), pois apresentam propriedades vantajosas no preparo destes, como habilidade para formar redes, plasticidade e elasticidade, boa barreira ao oxigênio e boas propriedades mecânicas, no entanto, sua barreira ao vapor de água é baixa devido à natureza hidrofílica destas moléculas (RHIM e NG, 2007).

As propriedades dos filmes à base de proteína dependem de vários fatores, tais como o pH da solução filmogênica, o plastificante, as condições de preparo e as substâncias incorporadas às soluções formadoras dos filmes (CHINABHARK et al., 2007). Independente da proteína utilizada, a produção de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis requer o uso de um plastificante para aumentar a flexibilidade e a extensibilidade dos filmes, e além disso, reduz a temperatura de transição vítrea do sistema. Em termos estruturais, a incorporação de um plastificante em polímeros modifica a organização molecular tridimensional, diminuindo as forças de atração intermoleculares e aumentando o volume livre do sistema (RODRIGUEZ et al., 2006). A solubilidade da proteína é um aspecto muito importante para a formação de um filme homogêneo. Para tal fim, é necessário ajustar o pH da solução para que assim uma matriz homogênea possa vir a ser constituída, ou seja obter uma maior solubilidade da macromolécula. Estas proteínas são esticadas e fortemente

associadas entre si em estruturas paralelas, sendo capazes de formar uma matriz contínua após a secagem (SHIKU et al., 2004).

Dentre as possíveis fontes de matéria protéica está a corvina (*Micropogonias furnieri*) considerada, por sua abundância, uma das espécies mais importantes da pesca tradicional do Brasil, da Argentina e do Uruguai. Geralmente é capturada ao longo de todo ano, mas com maior intensidade nos meses de outubro a janeiro. Apesar de sua grande disponibilidade, atinge no mercado menores preços em relação a outras espécies regionais. Comercialmente no pescado, o filé é o item de maior valor econômico, e seu rendimento varia de acordo com o tamanho do pescado e com o domínio tecnológico das empresas processadoras. Seu rendimento pode atingir de 30 a 40% do peso do animal sendo o restante considerado resíduo e sem valor comercial (restos de carne, cabeça, pele, ossos, escamas e vísceras). Deste modo, fontes alternativas de proteína, como os subprodutos de pescados, tornam-se importantes, pois estes representam de 60 a 70% da matéria-prima e são descartados pelas indústrias de filetagem ocasionando danos ao meio ambiente (NOLSOE e UNDELAND, 2009).

Vários estudos sobre filmes obtidos a partir de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas de pescados têm sido realizados (LIMPAN et al., 2010; CHINABHARK et al., 2007; BOURTOOM et al., 2006; SHIKU et al., 2004). No entanto, poucos destes estudos são relatados utilizando proteínas obtidas a partir de resíduos de pescado. O objetivo deste trabalho foi obter filmes a partir de IPC, avaliando o efeito da concentração do isolado protéico de resíduo de corvina (IPC), concentração do plastificante e pH, e sobre suas propriedades físico-química, de barreira, mecânicas e microestrutura dos filmes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Corvina capturada na região Sul do Rio Grande do Sul, proveniente de uma indústria da cidade de Rio Grande do RS, Brasil. Os espécimes foram lavados em água clorada (5ppm) à 4°C e logo submetidos às etapas de filetagem e evisceração. Após estas operações, os resíduos (cabeças e carcaças) foram colocados em separador mecânico de carne e ossos (High Tech, modelo HT250, Chapecó, Brasil), sendo reservada a carne mecanicamente separada (CMS), separada dos ossos e da pele. A CMS resultante foi acondicionada em embalagens plásticas e armazenada em freezer a -18 °C. Glicerol da Nuclear (São Paulo, Brasil) foi utilizado como plastificante.

2.2 Obtenção do isolado protéico de resíduo de corvina (IPC)

O IPC foi obtido pelo método descrito por Nolsoe e Undeland (2009) e Freitas 2011. A CMC do resíduo de corvina foi homogeneizada com água destilada na proporção de 1:9 (p/v) em liquidificador por um minuto. A mistura homogeneizada foi colocada em reator de vidro encamisado com condições de temperatura controlada (4°C). Para solubilização da proteína, o pH da solução foi ajustado para 11,2 com NaOH (1mol.L⁻¹) sob agitação contínua em agitador mecânico (Fisatom, 712, São Paulo, Brasil) por 20 min. Depois da solubilização da proteína, a solução foi centrifugada a 9.000 xg por 20 min para separação em 3 fases (lipídeos, proteínas solúveis e insolúveis). O sobrenadante (proteínas solúveis) foi coletado e colocado em reator de vidro encamisado a 4°C e logo o pH da solução foi ajustado para pH 5,4 com HCl (1mol.L⁻¹) para a precipitação das proteínas, com homogeneização em agitador eixo-hélice por 10 min. Foi realizada uma segunda centrifugação a 9.000 xg por 10 min. Após o sobrenadante foi descartado e assim foi obtido o IPC na forma de precipitado. O precipitado foi seco em estufa com circulação de ar (modelo 520, Fanem, São Paulo, Brasil) a 40 ° C por 10h. Finalmente, o IPC foi moído, peneirado e acondicionados em sacos plásticos e armazenadas a -18 ° C.

2.2.1 Composição proximal do resíduo de corvina e do IPC

O conteúdo de proteína, cinzas, umidade e lipídeos da matéria-prima e do IPC foram determinados de acordo com a metodologia AOAC (2000), com nº de 992,15; 923,03; 960,39 e 925,30, respectivamente.

2.2.2 Análises microbiológicas do IPC

Foram realizadas as análises de mesófilos, psicotróficos e bolores e leveduras segundo a método descrito por APHA (2001). Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC.g⁻¹). As análises foram realizadas em triplicata.

2.2.3 Eletroforese do IPC

Foi utilizada a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) numa concentração de 12% de acordo com Laemli (1970). A amostra foi tratada com β-mercaptoetanol 5%. Os géis foram submetidos a uma corrente elétrica de 0.02 A durante 1 h e em seguida, a corrente foi aumentada para 0.04 A por mais 1 h. Após a corrida, os géis foram corados com uma solução contendo metanol 50% (v/v), ácido acético glacial 6.8% (v/v) e Coomassie Brilliant Blue-R (1 mg/mL) por aproximadamente 3 h. Os géis foram descorados em solução contendo ácido acético 7.5% (v/v) e metanol 5% (v/v), removendo a solução até a revelação nítida do gel. A massa molar das bandas foi determinada por comparação com o padrão de massa molar entre 10 a 220 kDa (BenchMark™ Protein Ladder, Invitrogen, SP, Brasil)

2.3 Preparação dos filmes de IPC

Os filmes foram preparados de acordo com Limpan et al. (2010) com algumas modificações. Os filmes foram elaborados pela técnica de *casting*, com diferentes concentrações de IPC (Tabela 1) na solução filmogênica. As soluções filmogênicas foram preparadas pela dissolução do IPC em água, e o pH foi regulamente ajustado (Tabela 1) usando NaOH (1mol.L⁻¹) para a solubilização protéica. O glicerol nas concentrações determinadas (Tabela 1) foi adicionado à solução, com posterior homogeneização em Ultraturrax (IKA, T25 digital, Reino Unido Alemanha) a 10.000 rpm por 10 min. Logo a solução foi colocada no agitador magnético a 90°C/30 min. Foi espalhado 25mL de solução filmogênica em placas de acrílico com 9 cm de diâmetro, sendo direcionadas a secagem em estufa com

circulação de ar (modelo 520, Fanem, São Paulo, Brasil) a 35°C por 16h. Após a secagem, os filmes foram acondicionados a 25°C.

2.3.1 Espessura e solubilidade em água dos filmes

A espessura dos filmes foi determinada através da média de oito medidas aleatórias em torno do filme, obedecendo um afastamento da borda de 10 mm, utilizando-se um micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (Insize, IP54, São Paulo, Brasil).

A solubilidade em água dos filmes foi realizada em triplicata e determinada segundo método proposto por Gontard et al. (1994), com algumas modificações. Três discos de amostras do filme, com 2,5 cm de diâmetro, foram secos em estufa a 105°C, até peso seco constante, para retirada da umidade. Em seguida, foram imersas em 50 mL de água destilada. O sistema foi agitado em Incubadora Shaker refrigerada (Cientec, CT-712RNT, São Paulo, Brasil) com velocidade de 150 rpm por um período de 24 h, a 25°C. Após este período, as amostras que não solubilizaram em água foram retiradas e colocadas em cápsulas de alumínio, sendo estas posteriormente armazenadas em estufa, a 105°C, até peso constante, para se determinar a massa seca final da amostra. A solubilidade foi expressa em termos de massa solubilizada (MS), de acordo com a equação 1 :

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

2.3.2 Cor e opacidade dos filmes

A cor dos filmes foi obtida através da média de 5 determinações, sendo uma no centro e as outras no perímetro (distancia borda), utilizando um colorímetro (Minolta CR 400, Osaka, Japão).

Os filmes foram colocados em uma placa branca definida como padrão e a escala CIE-Lab e luz do dia (D_{65}) foram usadas para medir a cor dos filmes. O L^* indica a claridade e a^* e b^* as coordenadas de cromaticidade, onde L^* , varia de 0 (preto) a 100 (branco), a^* , varia do verde(-) ao vermelho (+) e b^* , varia do azul(-) ao amarelo (+). A diferença da cor total (ΔE) foi calculada através da equação 2 :

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{0,5} \quad (2)$$

Onde: $\Delta L = L_{\text{padrão}} - L_{\text{amostra}}$; $\Delta a = a_{\text{padrão}} - a_{\text{amostra}}$; $\Delta b = b_{\text{padrão}} - b_{\text{amostra}}$.

A opacidade dos filmes foi determinada utilizando-se um colorímetro (Minolta CR 400, Osaka, Japão). As determinações foram realizadas em triplicata. A opacidade dos filmes foi calculada como a relação entre a opacidade do filme sobreposto ao padrão preto (P_{preto}) e ao padrão branco (P_{branco}), segundo a equação 3:

$$\% \text{ Opacidade} = \frac{P_{\text{preto}}}{P_{\text{branco}}} \times 100 \quad (3)$$

2.3.3 Propriedades mecânicas dos filmes

A resistência a tração e porcentagem de alongação foram avaliados em texturômetro (modelo TA.TX, Stable Microsystems SMD, Reino Unido) operando de acordo com o método ATM D 882 -91 (ASTM, 1996). As amostras de filmes foram cortadas, com 85 mm de comprimento x 25 mm de largura. A média das espessuras requeridas para o cálculo da área seccional foi determinada utilizando-se oito medidas obtidas ao longo do filme. Como parâmetros de execução de ensaios adotou-se uma distância inicial entre as garras de 50 mm e uma velocidade de $0.8 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$. A resistência a tração foi calculada dividindo-se a força máxima no rompimento do filme, pela área de secção transversal (equação 4). A alongação foi determinada dividindo-se a distância final de separação da “probe” pela distância inicial de separação (50 mm), multiplicada por 100 (equação 5).

$$RT = \frac{F_m}{A} \quad (4)$$

$$E = \frac{dr}{d_0} \times 100 \quad (5)$$

Onde RT= resistência à tração (MPa), F_m = força máxima (N), A= área da seção transversal dos filmes (espessura x largura) (m^2), E= alongação (%), d_0 = distância início de separação (cm) e d_r = distância no momento da ruptura (cm).

2.3.4 Permeabilidade ao vapor de água dos filmes

A permeabilidade ao vapor de água foi determinada pelo método E-96-95 da ASTM (*American Society for Testing and Materials*) (ASTM, 1995). As amostras

dos filmes foram cortadas na forma de discos e seladas com parafina em células de permeação feitas de alumínio, contendo cloreto de cálcio anidro (0% de UR). Essas células de permeação foram acondicionadas em dessecadores contendo solução salina saturada de cloreto de sódio (75% UR) e mantida a 25 °C. O ganho de massa do sistema foi medido em intervalos de 24h, durante dois dias. As análises foram realizadas em triplicata. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada através da equação 6:

$$PVA = \frac{M_p \times e}{A \times t \times \Delta p} \quad (6)$$

Onde: PVA = Permeabilidade ao vapor de água ($\text{g} \cdot \text{mm} \cdot \text{KPa}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) M_p = diferença de peso (quantidade de permeante que atravessa o filme) (g), e = espessura (mm), t = tempo no qual ocorre ganho de massa (dias), A = área exposta do filme (m^2), e ΔP = diferença de pressão de vapor de água a 75% UR e 0% UR, ambos a 25°C.

2.3.5 Microestrutura dos filmes

A microestrutura (superficial e seção transversal) dos filmes foi analisada na Universidade Federal de Pelotas através de um microscópio eletrônico de varredura (Shimadzu, SSX-550 SUPER SCAN) operando a 10 kV. Para a análise da microestrutura interna, os filmes foram fraturados em nitrogênio líquido. As amostras foram colocadas em suportes de alumínio e cobertas com uma camada de ouro para melhorar a condutividade. As imagens foram selecionadas nas ampliações de 2000x (microestrutura da superfície) e 300x (microestrutura da seção transversal).

2.4 Análise estatística

Realizou-se um planejamento fatorial de delineamento composto central rotacional-DCCR (BARROS NETO et al., 2003) para avaliar os efeitos da concentração de IPC, da concentração de glicerol e pH sobre as propriedades dos filmes (Tabela 3 e 5). Os níveis reais das variáveis independentes foram obtidos com base dos testes preliminares. Todas as combinações são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Valores das variáveis em seus níveis codificados para a formulação dos filmes de IPC.

| Variáveis | Níveis | | | | |
|----------------------------|------------|------|------|------|------------|
| | - α | -1 | 0 | +1 | + α |
| IPC (g/100 g) ^a | 3,16 | 3,50 | 4,00 | 4,50 | 4,83 |
| G (g/100 g) ^b | 26,6 | 30,0 | 35,0 | 40,0 | 43,3 |
| pH | 10,16 | 10,5 | 11,0 | 11,5 | 11,84 |

^a IPC = concentração de isolado protéico (g IPC/100 g de solução).

^b G = concentração de glicerol (g glicerol/100 g de IPC).

A análise estatística dos resultados permitiu determinar os efeitos significativos da concentração de IPC, da concentração de glicerol e do pH, e ajustar empiricamente modelos matemáticos relacionando as variáveis e as respostas (luminosidade, chroma a*, chroma b*, diferença de cor, opacidade, resistência a tração, alongação, espessura, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água). Todos os resultados foram analisados estatisticamente utilizando o programa Statistica V 7.0 (Startsoft).

Nos testes preliminares foram testadas diferentes condições para obtenção de filmes a base de IPC, tais como concentração de IPC, concentração de glicerol e pH. Acima de 5g de IPC/100g de solução o filme resultante apresentou grande incidência de bolhas, além disso, ficou muito espesso. Em relação ao glicerol, observou-se que quando adicionado concentrações de até 25g de glicerol/100g de IPC aos filmes, estes apresentavam-se muito frágeis e rasgavam-se facilmente, necessitando adicionar maior concentração de glicerol à solução filmogênica. Em pH ácido não houve formação de filme, pois a proteína não foi solubilizada no meio aquoso, portanto não ficou homogêneo, ocorrendo uma precipitação da proteína.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição proximal dos resíduos de corvina (RC) e do isolado protéico de resíduos de corvina (IPC).

Os valores médios da composição proximal do RC e do IPC estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2. Composição proximal do RC e do IPC

| Componentes | RC (%) | | IPC (%) | |
|-------------|------------|------------|------------|------------|
| | b.u | b.s | b.u | b.s |
| Umidade | 83,3 ± 2,1 | - | 9,2 ± 0,1 | - |
| Proteínas | 12,5 ± 1,6 | 74,5 ± 2,2 | 81,6 ± 0,6 | 89,8 ± 0,6 |
| Lipídeos | 2,8 ± 0,2 | 16,7 ± 0,9 | 0,7 ± 0,1 | 0,7 ± 0,1 |
| Cinzas | 1,0 ± 0,1 | 6,0 ± 0,2 | 0,7 ± 0,1 | 0,8 ± 0,1 |

*Resultados são médias ± desvio padrão de três determinações. RC =resíduos de corvina; IPC= isolado protéico de corvina; b.u=base úmida; b.s= base seca.

Os valores encontrados para a umidade e proteína do resíduo de corvina (Tabela 2) foram superiores aos resultados obtidos por Freitas (2011) em que o valor de umidade foi de 76,9% e proteína 63,8%. No entanto, este autor encontrou maior conteúdo de lipídeos (27,6%) e de cinzas (6,6%). Segundo Badolato et al. (1994) a composição da corvina varia em função das estações do ano, apresentando oscilações de 77,2 a 83,8% para o conteúdo de umidade, 14,5 a 20,7% para proteína, 0,8 a 1% para os lipídeos e 1 a 1,2% para cinza. Estas variações também podem ocorrer devido a fatores como sexo, tamanho, ciclo reprodutor e alimentação.

O IPC apresentou um baixo teor de umidade, baixa concentração de lipídeos e cinzas (Tabela 2) e o teor de proteína (b.s) encontrado foi superior (89,9%) ao de Martins et al. (2009) que obtiveram isolado protéico de resíduos de corvina com 72,3% (b.s) de proteína, no entanto, foi inferior ao de Freitas (2011) que encontrou um teor protéico de 94,6%(b.s).

O conteúdo de lipídeos do IPC foi inferior a 1%. Freitas 2011 e Martins, et al. (2009) obtiveram teores de lipídeos de 1,5% e 6,6% (b.s), respectivamente, em isolados protéicos de resíduos de corvina. Menores conteúdos de lipídeos no isolado

protéico podem contribuir significativamente para a estabilidade da oxidação lipídica, aumentando a estabilidade do produto.

3.2 Análise microbiológica do IPC

O isolado protéico de resíduos de corvina apresentou ausência de mesófilos, psicrotróficos e bolores e leveduras, apresentando qualidade microbiológica.

3.3 Eletroforese do IPC

A eletroforese em gel de poliacrilamida do IPC é mostrada na Figura 1. A predominância de bandas de proteínas miofibrilares, como a miosina (220 kDa), foi identificada nas diferentes frações de proteínas. O perfil eletroforético também mostrou bandas entre 20 kDa e 50 kDa, representando a tropomiosina e a troponina. As faixas abaixo de 20kDa são representadas por proteínas sarcoplasmáticas, as quais são componentes minoritários no IPC, não sendo identificadas neste (Figura 1).

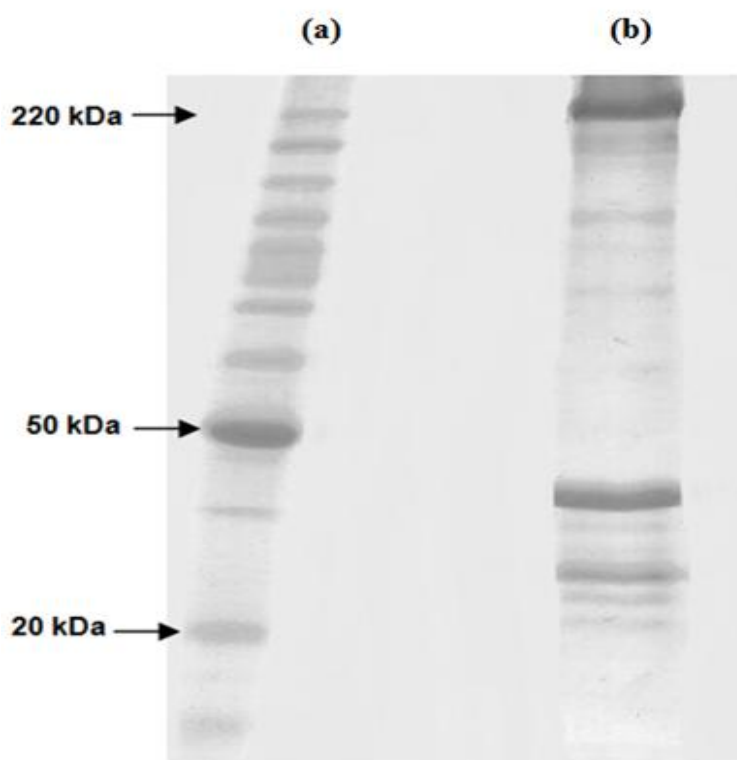


Figura 1: Perfil eletroforético dos marcadores padrão de massa molecular (a) e do isolado protéico de resíduos de corvina obtidos por SDS-PAGE (b).

Estes resultados foram semelhantes aos observados por Tongnuanchan et al. (2011), que encontraram miosina de cadeia pesada e troponina como proteínas dominante no perfil eletroforético de tilápia do Nilo. Monterrey-Quintero e Sobral (2000) também observaram miosina de alta massa molar no perfil eletroforético de proteínas miofibrilares de tilápia do Nilo. Artharn et al. (2008) estudaram o efeito da relação de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas sobre as propriedades de filmes à base de proteínas musculares de cavalinha, e relataram que o aumento da proteína sarcoplasmática reduziu a resistência à tração e aumentou a permeabilidade ao vapor de água. Portanto, uma maior proporção de proteínas miofibrilares (Figura 1) pode fornecer melhores características para os filmes.

3.4 Aspecto visual dos filmes

Todos os filmes, após secagem se mostraram contínuos, sem fraturas ou rupturas. Os filmes apresentaram-se com coloração amarelada e com bom aspecto (Figura 2). Em relação à homogeneidade, em geral não apresentaram partículas insolúveis ou zonas diferenciadas, no entanto, os filmes correspondente ao ensaio 13 (4,83 g de IPC/100 g de solução, 35,0 g de glicerol/100 g de IPC e pH 11) apresentaram bolhas. Nota-se que este ensaio apresentava em sua formulação uma maior concentração de proteína (Tabela 4), o que pode ser atribuído à alta viscosidade da solução. Monterrey e Sobral (1999) também observaram incidência de bolhas nos filmes quando aumentada a concentração de proteína nos filmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia do Nilo.

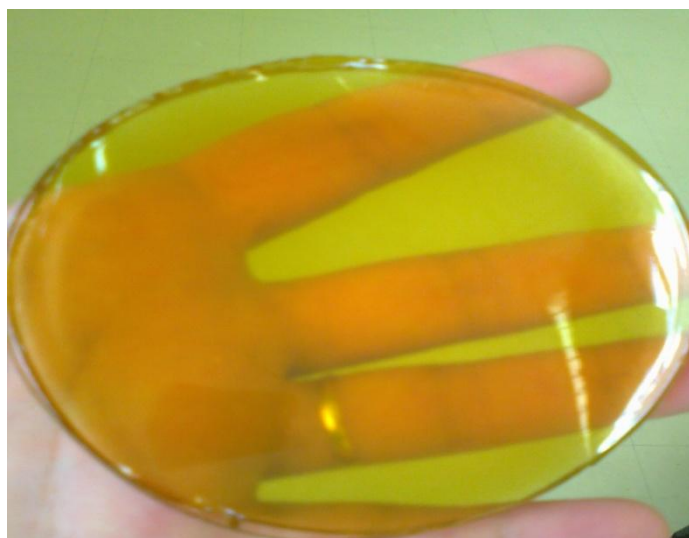


Figura 2 : Filme elaborado a partir de isolado protéico de corvina.

3.5 Cor e opacidade dos filmes

A cor e a opacidade do filme dependem da morfologia e da estrutura química relacionada com a massa molar do material e essas características são extremamente importantes em filmes para aplicação em alimentos, em que uma maior transparência é desejável. Os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^* e ΔE^*) e opacidade de filmes de IPC são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros de cor e opacidade de filmes obtidos em função da concentração de IPC (%), concentração de glicerol (%) e pH.

| Ensaio | IPC (g/100 g) ^a | G (g/100 g) ^b | pH | Luminosidade L* | Chroma a* | Chroma b* | Diferença de cor (ΔE^*) | Opacidade (%) |
|--------|----------------------------|--------------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------|---|------------------|
| 1 | 3,50 (-1) | 30,0(-1) | 10,50(-1) | 78,2 ± 0,2 | 4,7 ± 0,1 | 47,9 ± 0,1 | 50,0 ± 0,1 | 16,8 ± 0,3 |
| 2 | 4,50 (+1) | 30,0(-1) | 10,50(-1) | 75,3 ± 0,3 | 7,9 ± 0,3 | 53,4 ± 0,3 | 56,5 ± 0,4 | 18,0 ± 0,1 |
| 3 | 3,50 (-1) | 40,0(+1) | 10,50(-1) | 79,1 ± 0,1 | 4,9 ± 0,1 | 50,1 ± 0,1 | 51,7 ± 0,1 | 15,4 ± 0,3 |
| 4 | 4,50 (+1) | 40,0(+1) | 10,50(-1) | 74,5 ± 0,2 | 7,3 ± 0,1 | 54,2 ± 0,4 | 50,8 ± 0,4 | 18,2 ± 0,5 |
| 5 | 3,50 (-1) | 30,0(-1) | 11,50(+1) | 76,8 ± 0,1 | 5,0 ± 0,1 | 48,3 ± 0,1 | 51,0 ± 0,1 | 18,0 ± 0,5 |
| 6 | 4,50 (+1) | 30,0(-1) | 11,50(+1) | 70,1 ± 0,2 | 8,6 ± 0,1 | 51,5 ± 0,1 | 57,2 ± 0,2 | 16,0 ± 0,3 |
| 7 | 3,50 (-1) | 40,0(+1) | 11,50(+1) | 75,8 ± 0,1 | 4,1 ± 0,1 | 47,1 ± 0,1 | 49,8 ± 0,2 | 20,8 ± 0,2 |
| 8 | 4,50 (+1) | 40,0(+1) | 11,50(+1) | 75,9 ± 0,3 | 5,9 ± 0,4 | 51,5 ± 0,5 | 54,4 ± 0,5 | 17,1 ± 0,2 |
| 9 | 4,00 (0) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 72,3 ± 0,3 | 7,5 ± 0,1 | 51,7 ± 0,5 | 56,2 ± 0,2 | 22,1 ± 0,1 |
| 10 | 4,00 (0) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 75,1 ± 0,3 | 5,8 ± 0,4 | 50,3 ± 0,3 | 53,5 ± 0,3 | 20,0 ± 0,2 |
| 11 | 4,00 (0) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 75,5 ± 0,1 | 6,3 ± 0,2 | 49,5 ± 0,1 | 52,8 ± 0,1 | 19,3 ± 0,3 |
| 12 | 3,16 (-1,68) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 75,6 ± 0,3 | 5,0 ± 0,2 | 48,3 ± 0,3 | 51,4 ± 0,4 | 20,7 ± 0,4 |
| 13 | 4,83 (+1,68) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 70,2 ± 0,1 | 11,2 ± 0,1 | 56,0 ± 0,1 | 61,5 ± 0,1 | 21,7 ± 0,1 |
| 14 | 4,00(0) | 26,6 (-1,68) | 11,00(0) | 62,4 ± 0,1 | 12,5 ± 0,1 | 52,8 ± 0,1 | 63,0 ± 0,1 | 22,3 ± 0,1 |
| 15 | 4,00(0) | 43,3(+1,68) | 11,00(0) | 69,6 ± 0,4 | 9,4 ± 0,1 | 55,2 ± 0,1 | 61,4 ± 0,6 | 21,4 ± 0,6 |
| 16 | 4,00(0) | 35,0(0) | 10,16(-1,68) | 75,7 ± 0,2 | 5,6 ± 0,3 | 50,1 ± 0,4 | 53,0 ± 0,5 | 15,3 ± 0,4 |
| 17 | 4,00(0) | 35,0(0) | 11,83(+1,68) | 76,1 ± 0,2 | 5,8 ± 0,1 | 47,6 ± 0,3 | 50,7 ± 0,3 | 16,3 ± 0,2 |

^a IPC= concentração do isolado protéico de corvina (g de IPC/100 g de solução).

^b G= concentração de glicerol (g de glicerol/100 g de IPC).

A luminosidade (L^*) dos filmes variou de 62,4 (ensaio 14) a 79,1 (ensaio 3) (Tabela 3), mas não houve modelo estatisticamente significativo ($R^2 = 0,67$). No entanto, o valor de chroma a^* aumentou quando utilizado nos filmes maior concentração de isolado protéico e menor concentração de glicerol (Apêndice 3), indicando um aumento na intensidade da cor vermelha. A concentração de IPC teve um efeito positivo significativo ($p \leq 0,1$) sobre o valor do chroma b^* , que variou 47,1 (ensaio 7) a 56,0 (ensaio 13) (Tabela 3). O valor do chroma b^* foi maior quando a concentração de isolado protéico nos filmes aumentou, dando uma maior intensidade de cor amarela (Apêndice 3), o que pode ser atribuído à cor acastanhada do isolado protéico. No entanto, o glicerol e o pH não influenciaram no chroma b^* .

A diferença de cor (ΔE^*) dos filmes diminuiu com o aumento concentração de plastificante, provavelmente devido ao efeito de diluição, pois o glicerol é uma substância transparente. Os filmes com menores concentrações de isolado protéico ficaram mais claros (menor ΔE^*) variando 49,8 (ensaio 7) a 63,0 (ensaio 14) (Tabela 3). Os filmes obtidos neste trabalho mostraram valores mais elevados de ΔE^* do que aqueles encontrados por Sobral (2000), que estudou filmes de proteínas miofibrilares de tilápia do Nilo e reportaram valores de ΔE^* de 7,0 a 8,0. Os coeficientes de correlação (R^2) para a^* , b^* e ΔE^* foram 0,8, 0,7 e 0,8, respectivamente, e a razão $F_{\text{calculado}}$ sobre F_{tabelado} foi de 3,04 para chroma a^* , 6,50 para chroma b^* e 3,20 para ΔE^* tornando o modelo preditivo e significativo, com confiança de 90% (as equações dos modelos estão apresentadas na Tabela 4).

Tabela 4. Modelos de regressão de superfície de resposta para os parâmetros de chroma a*, chroma b*, diferença de cor (ΔE^*), resistência à tração, alongação e solubilidade dos filmes de IPC.

| Parâmetros | Equação | R ² |
|-----------------------------|---|----------------|
| Chroma a* | $y_i = 6,63 + 1,57 X_1 - 1,29 X_2 + 0,01 X_2^2$ | 0,80 |
| Chroma b* | $y_i = 50,91 + 2,21 X_1$ | 0,75 |
| Diferença de cor | $y_i = 53,73 + 2,43 X_1 - 2,17 X_2 + 0,02 X_2^2$ | 0,80 |
| Resistência à tração | $y_i = 3,10 + 0,45 X_1 - 0,66 X_2 + 0,01 X_2^2 - 0,82 X_3 + 0,01 X_3^2 + 0,16 X_1 X_2$ | 0,85 |
| Elongação | $y_i = 196,10 - 4,25 X_1 + 9,46 X_1^2 + 6,78 X_2 - 0,06 X_2^2 - 6,93 X_3 + 0,06 X_3^2 + 4,09 X_1 X_2 - 23,94 X_1 X_3$ | 0,88 |
| Solubilidade | $y_i = 32,61 + 1,45 X_2 - 0,01 X_2^2 + 1,62 X_3 - 0,02 X_3^2 + 1,31 X_1 X_2$ | 0,77 |

y_i = Resposta da função; X_1 = concentração de isolado protéico (g/100g); X_2 =concentração de glicerol (g/100g); X_3 = pH; R²=coeficiente de determinação; ($p \leq 0,10$).

Filmes transparentes são caracterizados por baixos valores de opacidade. A opacidade dos filmes é uma propriedade crítica quando estes são utilizados como filmes ou revestimento para alimentos. Os filmes de isolado protéico apresentaram opacidade de 15,3 a 22,3% (Tabela 3). Estes valores foram semelhantes aos filmes obtidos de proteínas de pescada (*Merluccius capensis*) (PIRES et al., 2011), mas foram superiores aos relatados por Paschoalick et al. (2003), que produziram filmes de proteínas do músculo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com uma opacidade de 4,7%. Resultados observados na análise de efeitos principais (Apêndice 4) mostram que as variáveis independentes estudadas na formulação dos filmes não afetaram significativamente ($p \leq 0,10$) a resposta opacidade. Por outro lado, Farah et al. (2005) estudaram a influência de diferentes concentrações de glicerol e de proteína muscular de tilápia do nilo em filmes e observaram a maior opacidade nos filmes quando utilizada menor concentração de glicerol (15g/100 de proteína) e maior concentração de proteína (2g/100g de solução).

3.6 Propriedades mecânicas dos filmes

Os resultados dos testes de resistência à tração e alongação são apresentados na Tabela 5. Comparando os filmes, os valores de resistência à tração e a alongação apresentaram grande variação, tendo como valores 1,8 Mpa (ensaio 7) a 5,0 Mpa (ensaio 16), e 127,4% (ensaio 17) a 262,3% (ensaio 15), respectivamente. Os coeficientes de correlação de resistência à tração e alongação foram 0,85 e 0,88, respectivamente, e a razão $F_{\text{calculado}}$ sobre F_{tabelado} foi 1,89 para resistência à tração e 1,29 para a alongação tornando o modelo preditivo e significativo, com confiança de 90% (as equações dos modelos são apresentadas na Tabela 4). De acordo com Gontard et al. (1994) para a maioria das aplicações é exigida uma elevada resistência à tração, enquanto o valor de alongação depende da aplicação do filme.

Tabela 5. Resistência à tração, alongação, espessura, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes obtidos em função da concentração de IPC (%), concentração de glicerol (%) e pH.

| Ensaio | IPC (g/100 g) ^a | G (g/100 g) ^b | pH | Resistência a tração (MPa) | Elongação (%) | Espessura (mm) | Solubilidade (%) | PVA ^c (g.mm/m ² .di a.kPa) |
|--------|----------------------------|--------------------------|--------------|----------------------------|---------------|----------------|------------------|--|
| 1 | 3,50 (-1) | 30,0(-1) | 10,50(-1) | 4,7 ± 0,2 | 161,0 ± 1,4 | 0,172 ± 0,003 | 28,7 ± 0,4 | 12,3 ± 1,2 |
| 2 | 4,50 (+1) | 30,0(-1) | 10,50(-1) | 4,7 ± 0,5 | 236,1 ± 2,9 | 0,227 ± 0,001 | 30,8 ± 0,3 | 12,2 ± 1,0 |
| 3 | 3,50 (-1) | 40,0(+1) | 10,50(-1) | 3,0 ± 0,2 | 207,9 ± 3,5 | 0,172 ± 0,010 | 35,0 ± 0,4 | 9,6 ± 0,9 |
| 4 | 4,50 (+1) | 40,0(+1) | 10,50(-1) | 4,4 ± 0,2 | 236,2 ± 4,2 | 0,235 ± 0,005 | 31,7 ± 0,3 | 13,5 ± 1,5 |
| 5 | 3,50 (-1) | 30,0(-1) | 11,50(+1) | 2,8 ± 0,3 | 215,8 ± 2,2 | 0,180 ± 0,007 | 37,2 ± 0,1 | 7,2 ± 0,4 |
| 6 | 4,50 (+1) | 30,0(-1) | 11,50(+1) | 3,8 ± 0,1 | 132,0 ± 5,7 | 0,212 ± 0,008 | 29,1 ± 0,1 | 10,6 ± 0,1 |
| 7 | 3,50 (-1) | 40,0(+1) | 11,50(+1) | 1,8 ± 0,2 | 201,7 ± 2,5 | 0,205 ± 0,009 | 30,0 ± 0,1 | 12,3 ± 1,1 |
| 8 | 4,50 (+1) | 40,0(+1) | 11,50(+1) | 2,6 ± 0,2 | 197,4 ± 7,6 | 0,182 ± 0,007 | 37,6 ± 0,4 | 12,4 ± 0,4 |
| 9 | 4,00 (0) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 1,8 ± 0,1 | 209,8 ± 0,3 | 0,216 ± 0,018 | 35,9 ± 0,4 | 12,2 ± 1,9 |
| 10 | 4,00 (0) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 2,0 ± 0,2 | 203,9 ± 1,6 | 0,215 ± 0,008 | 36,2 ± 0,3 | 12,4 ± 0,8 |
| 11 | 4,00 (0) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 2,1 ± 0,3 | 207,3 ± 0,9 | 0,217 ± 0,009 | 34,1 ± 0,2 | 12,6 ± 0,4 |
| 12 | 3,16 (-1,68) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 2,0 ± 0,2 | 254,6 ± 9,3 | 0,210 ± 0,009 | 32,0 ± 0,6 | 12,6 ± 0,3 |
| 13 | 4,83 (+1,68) | 35,0 (0) | 11,00(0) | 3,7 ± 0,3 | 211,0 ± 2,5 | 0,278 ± 0,014 | 30,2 ± 0,5 | 10,3 ± 0,6 |
| 14 | 4,00(0) | 26,6 (-1,68) | 11,00(0) | 4,8 ± 0,5 | 210,7 ± 3,8 | 0,204 ± 0,007 | 28,3 ± 0,3 | 8,4 ± 0,5 |
| 15 | 4,00(0) | 43,3(+1,68) | 11,00(0) | 2,3 ± 0,1 | 262,3 ± 11,6 | 0,234 ± 0,007 | 33,8 ± 0,2 | 14,3 ± 0,7 |
| 16 | 4,00(0) | 35,0(0) | 10,16(-1,68) | 5,0 ± 0,1 | 185,5 ± 6,4 | 0,223 ± 0,004 | 26,7 ± 0,2 | 11,0 ± 0,1 |
| 17 | 4,00(0) | 35,0(0) | 11,83(+1,68) | 2,1 ± 0,2 | 127,4 ± 1,1 | 0,223 ± 0,004 | 22,3 ± 0,6 | 12,1 ± 0,7 |

^a IPC = concentração de isolado protéico (g de IPC/100 g de solução).

^b G = concentração de glicerol (g de glicerol/100 g de IPC).

^c PVA = permeabilidade ao vapor de água.

Os maiores valores de resistência à tração dos filmes foram obtidos nos ensaios 14 e 16, os quais foram utilizados 26,6 e 35,0 g de IPC/100 g de glicerol e pHs 11,00 e 10,16, respectivamente (Tabela 5). A curva de contorno para a resistência à tração dos filmes, em função da concentração de glicerol e do pH, mostra que os maiores valores de resistência à tração ocorreram em pHs mais baixos e menores concentrações de glicerol (Figura 3c). A presença de plastificante diminui a quantidade de interações proteína-proteína, aumentando a mobilidade das cadeias polipeptídicas e conseqüentemente, tornando os filmes menos resistentes. No entanto, a resistência à tração dos filmes depende também da natureza do material filmogênico, da coesão da estrutura da matriz polimérica e da espessura do filme (GONTARD et al., 1994).

Jongjareonk et al. (2006) observaram uma diminuição na resistência à tração do filme de gelatina de pele de lubina amarela (*Priacanthus macracanthus*) e de lubina vermelha (*Lutjanus vitta*), quando o conteúdo de glicerol aumentou de 25 para 75% (à base de proteína). Guerrero et al. (2010) estudaram a resistência à tração dos filmes de proteína de soja com diferentes concentrações de glicerol e observaram uma redução de 112,4 para 12,4 MPa nos filmes com 30% e 50% de glicerol/100g de proteína, respectivamente. Tanadu-Palmu e Grosso (2002) estudaram filmes de proteína de trigo plastificados com diferentes concentrações de glicerol e também observaram uma maior resistência à tração quando uma menor concentração de glicerol foi utilizada.

De acordo com Rhim et al. (2002), as soluções filmogênicas protéicas com pH superior a 10 resultam em filmes com menor resistência à tração, devido à grande força repulsiva que ocorre entre as cargas negativas (pH extremo) ao longo das cadeias de proteínas, reduzindo a ocorrência de associações moleculares dentro da matriz protéica. Os filmes com baixa concentração de glicerol e alta concentração de isolado protéico apresentaram maior resistência à tração (Figura 3a). Este comportamento também foi observado por Farah et al. (2005), que encontraram maior resistência à tração (11MPa) nos filmes de proteína muscular de tilápia de nilo quando utilizada menor concentração de glicerol e maior concentração de proteína. Segundo Perez-Gago e Krochta (2001) quando adicionada uma maior concentração de proteína nos filmes, maior será a quantidade de grupos sulfídricos, promovendo um maior número de ligações covalentes S-S na matriz filmogênica, e conseqüentemente formando filmes mais resistentes.

A elongação dos filmes foi afetada por todas as variáveis do processo (exceto a interação entre a concentração de glicerol e pH) (Apêndice 7). O filme mais

flexível (ensaio15) foi obtido com uma concentração de IPC de 4,00 g /100 g solução, 43,3 g de glicerol/100 g de IPC e pH 11,00 (Tabela 5). A elongação dos filmes foi mais afetada pela concentração de IPC e por sua interação com o pH, o que pode ser comprovado pelo modelo matemático (Tabela 4 e apêndice 7). O aumento simultâneo da concentração de IPC e do pH na solução filmogênica atribuiu menor elongação aos filmes (Figura 3e).

A interação entre as concentrações de plastificante e de IPC mostrou um efeito positivo sobre a elongação dos filmes. Altas concentrações de glicerol e de proteínas nas soluções filmogênicas resultou em filmes com maior elongação (Figura 3d). Isto concordou com Thomazine et al. (2005) que observaram que o acréscimo da concentração de plastificante de 25% para 55% em filmes de gelatina de suíno causou um aumento em sua flexibilidade. Jongjareonrak et al. (2006) também encontraram um maior valor de elongação em filmes de gelatina de peixe de pele de lubina amarela (*Priacanthus macracanthus*) e lubina vermelha (*Lutjanus Vitta*), quando uma alta concentração de glicerol foi usada (75 g de glicerol/100 g de proteína). Segundo esses autores, o glicerol é uma molécula de cadeia pequena, altamente higroscópico, sendo facilmente inserido entre as cadeias de proteínas, assim atraindo mais água para estrutura do filme, tornando-o mais flexível.

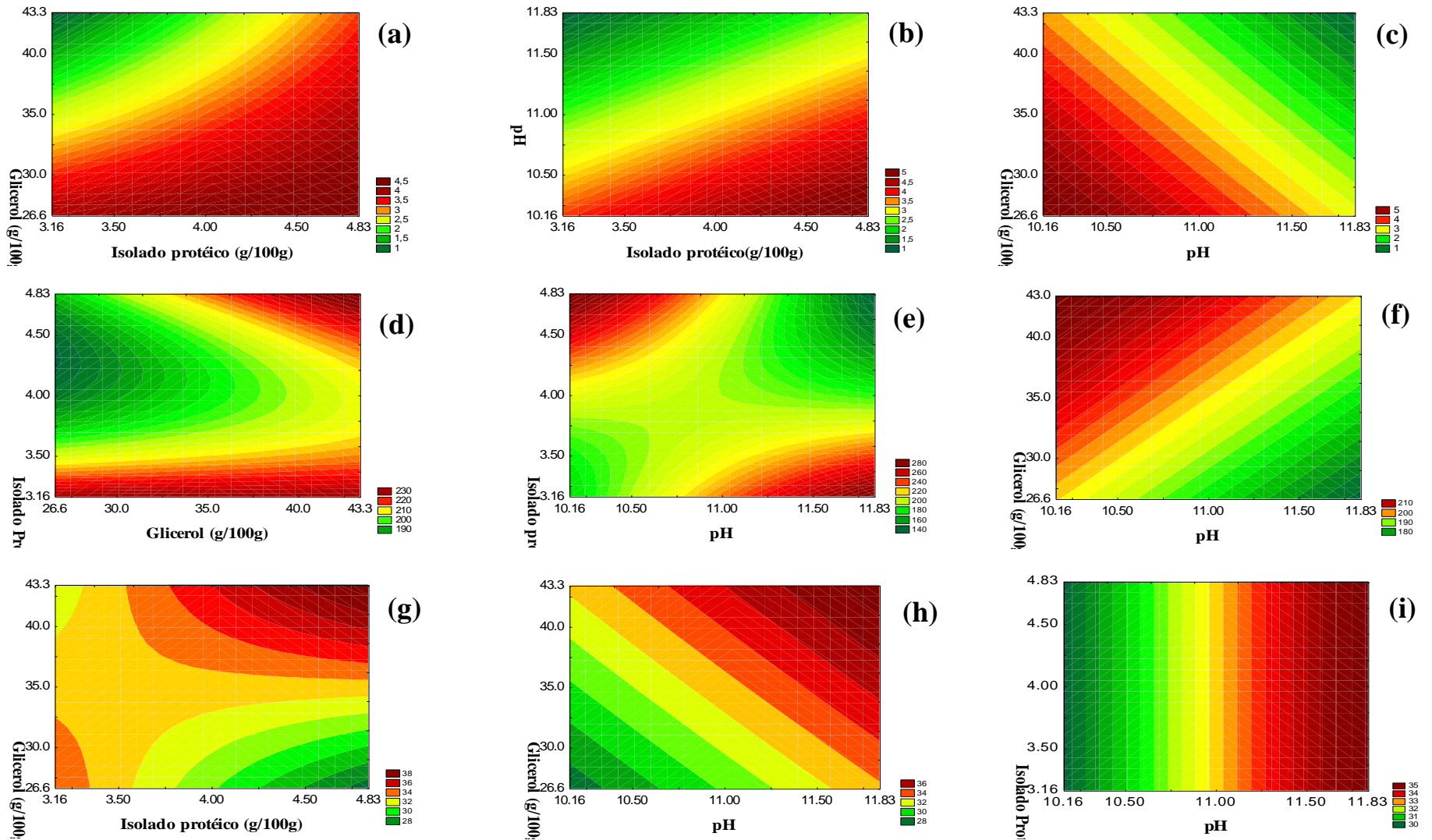


Figura 3. Curvas de contorno para as respostas resistência à tração (a,b,c), alongação (d,e,f) e solubilidade em água (g,h,i) dos filmes de isolado protéico de resíduo de corvina.

3.7 Espessura, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água dos filmes

Os resultados obtidos de espessura, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água são apresentados na Tabela 5. Uma vasta gama de valores de espessura para filmes tem sido relatado na literatura (JONGJAREONRAK et al., 2006, BOURTOOM et al., 2006), indicando sua dependência à composição e aos parâmetros de processamento dos filmes (GARCIA et al., 2009). Neste trabalho, os filmes apresentaram espessuras que variaram de 0,172 mm (ensaio 1) a 0,278 mm (ensaio 13) (Tabela 5), porém, não houve modelo estatisticamente significativo ($R^2 = 0,65$). Os filmes elaborados com IPC apresentaram maior espessura do que os produzidos com proteínas de outros pescados, como proteínas de dourado (*Nemipterus hexodon*) (BOURTOOM et al., 2006), e de gelatina de pele de lubina amarela (*Priacanthus macracanthus*) e gelatina de pele de lubina vermelha (*Lutjanus vitta*) (JONGJAREONRAK et al., 2006). No entanto, neste estudo, foram utilizados maiores concentrações de proteína na formulação dos filmes, induzindo um aumento de sólidos na matriz após a secagem das soluções filmogênicas, portanto, o aumento da espessura dos filmes. Sobral (1999) estudou as propriedades funcionais de filmes de gelatina e concluiu que a força na ruptura, a permeabilidade ao vapor de água e a cor dos filmes foram influenciados positivamente e linearmente com o aumento da espessura dos filmes.

Os filmes de IPC mantiveram a sua integridade após a imersão em água por 24 h sob agitação constante, o que indica que a rede de proteínas permaneceu intacta. De acordo com Turhan e Ahbaz (2004), a dissolução de um polímero hidrofílico envolve a penetração ou difusão da água em seu interior e inchaço devido à ruptura das cadeias e relaxamento do polímero. Assim, a baixa taxa de dissolução destes filmes mostra uma alta coesão da matriz. O coeficiente de determinação da solubilidade foi 0,77 e a razão $F_{\text{calculado}}$ sobre F_{tabelado} foi 1,31, tornando o modelo preditivo e significativo a confiança de 90% e o modelo quadrático matemático que descreve a curva de contorno para a solubilidade é mostrada na Tabela 4. A solubilidade dos filmes variou de 22,3% (ensaio 17) a 37,6% (ensaio 8) (Tabela 5) e estes foram menos solúveis do que os filmes de proteínas de dourado (*Nemipterus hexodon*), que apresentaram solubilidades de 55,6 a 79,2% (BOURTOOM et al., 2006). Os filmes também apresentaram menor solubilidade em água do que os filmes de glúten de trigo (46 e 70%) (TROPINA et al., 2004).

A solubilidade dos filmes não foi influenciada pela concentração de IPC, o qual pode ser comprovado no modelo matemático (Tabela 4). No entanto, houve uma interação significativa e positiva entre as concentrações de IPC e glicerol, resultando em filmes mais solúveis (Figura 3g) quando utilizadas maiores concentrações destas variáveis. A solubilidade em água dos filmes aumentou com a concentração de glicerol e pH (Figura 3h). A hidrofiliabilidade do plastificante contribuiu para um aumento na solubilidade dos filmes com maiores concentrações de glicerol. Bourtoom et al. (2006) estudaram o efeito do pH sobre a solubilidade em água de filmes de proteína de dourado (*Nemipterus hexodon*) e relataram uma maior solubilidade quando utilizados pHs acima de 10. As soluções de filmes com pHs elevados conduzem à solubilização da proteína e sua capacidade de dispersão em água torna-se melhor, resultando no afrouxamento da estrutura do filme e conseqüentemente a dissolução dos materiais não proteicos.

Os filmes de proteínas de pescado geralmente possuem alta permeabilidade ao vapor de água (PVA) devido à hidrofiliabilidade dos aminoácidos das moléculas de proteína e quantidades significativas de plastificantes hidrofílicos, como o glicerol e sorbitol, que são usados para proporcionar flexibilidade aos filmes (LIMPAN et al., 2010). Os coeficientes de correlação de PVA foi de 0,75, no entanto, o $F_{\text{calculado}}$ foi menor que F_{tabelado} , tornando o modelo não preditivo (Apêndice 12). Os filmes de IPC apresentaram PVA de 7,2 g.mm/m².dia.kPa (ensaio 5) a 14,3 g.mm/m².dia.kPa (ensaio 15) (Tabela 5), que é semelhante aos resultados de filmes de gelatina de lubina amarela (*Priacanthus macracanthus*) e gelatina de lubina vermelha (*Lutjanus vitta*) (10,5 a 29,5 g.mm/m².dia.kPa) relatado por Jongjareonrak et al. (2006). No entanto, foram inferiores aos observados para os filmes de proteínas de dourado (*Nemipterus hexodon*), que mostraram altas PVA, de até 138,4 g.mm/m².dia.kPa (BOURTOOM et al., 2006). Estas diferenças na permeabilidade ao vapor de água dos filmes podem estarem relacionadas com possíveis diferenças das concentrações de aminoácidos hidrofílicos presentes nas proteínas utilizadas nas soluções filmogênicas. Outra possibilidade está na diferença das espessuras dos filmes, uma vez que o filme de proteínas de dourado, produzidos por Bourtoom et al., (2006) apresentavam menor espessura, o que contribui para uma maior PVA.

3.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para analisar possíveis rugosidades e imperfeições dos filmes de IPC, foi realizada a microscopia eletrônica de varredura. As micrografias das superfícies e das seções transversais dos filmes com diferentes concentrações de isolado protéico (3,16, 4,00 e 4,83 g de IPC/100g de solução), 35,0 g de glicerol/100g de IPC e pH 11 são mostrados na Figura 4.

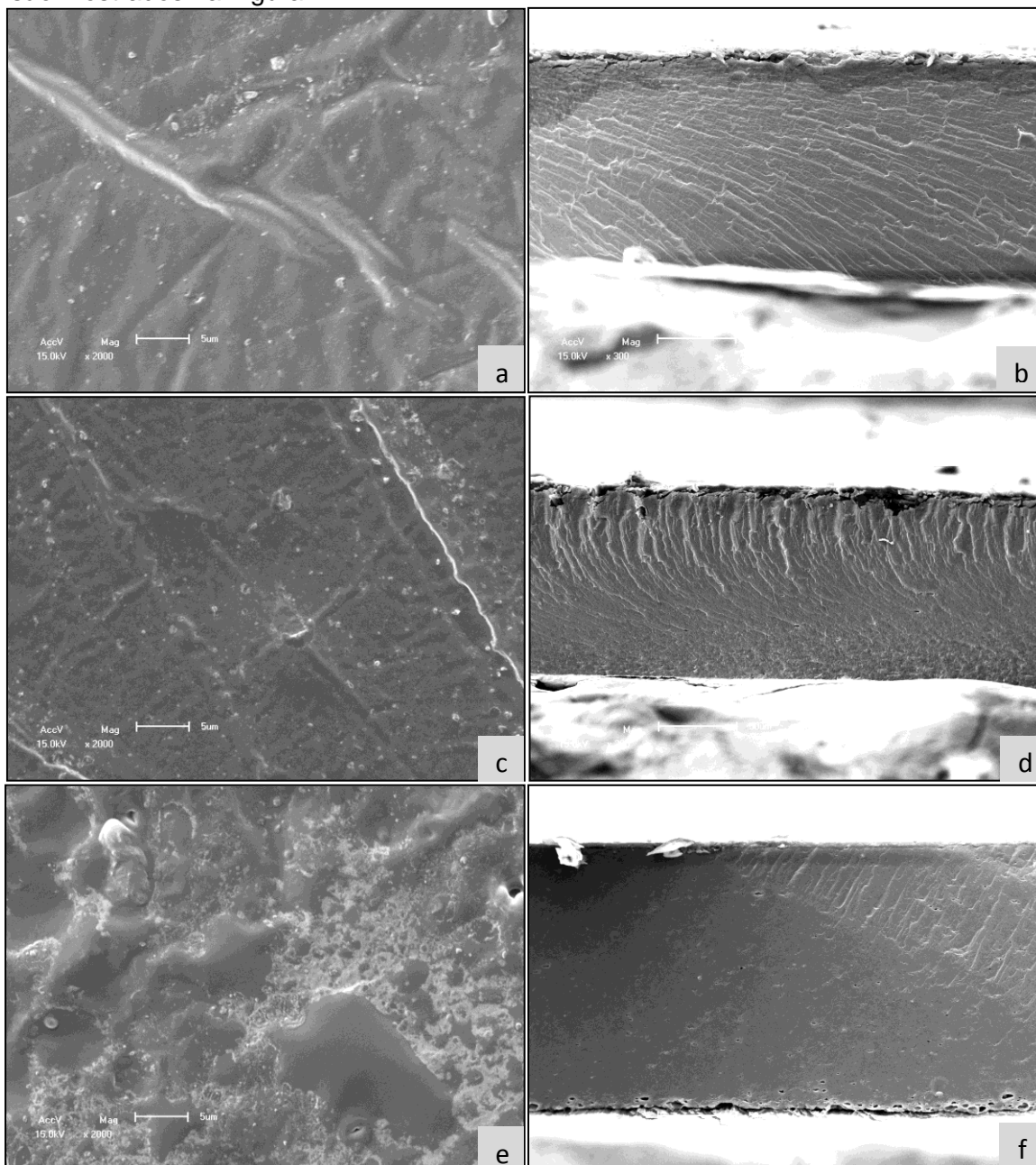


Figura 4. Micrografias das superfícies do filme (à esquerda) e fraturas (direita); (a) e (b) filmes com 3,16 g de isolado protéico / 100g de solução, 35,0 g de glicerol/100 g de isolado protéico e pH 11; (c) e (d) filmes com 4,00 g isolado protéico/100 g de solução, 35,0 g de glicerol/100 g de isolado protéico e pH 11; (e) e (f) filmes com 4,83 g de isolado protéico/100g de solução, 35,0 g de glicerol/100g de isolado protéico e pH 11.

Em geral, pode-se observar que os filmes têm superfícies ásperas e irregulares (Figuras 4a, 4c e 4e), no entanto a superfície do filme com 4,00 g de proteína/100g de solução apresentou uma superfície mais homogênea (Figura 4c), ou seja, menos áspera quando comparada com as outras (Figuras 4a e 4e). A maior homogeneidade pode estar relacionada com uma melhor interação entre o IPC e o glicerol no pH utilizado (pH 11,0). O aumento da concentração de IPC nos filmes levou à formação de protuberâncias na superfície do filme (Figura 4e), possivelmente devido a um menor grau de interação entre a proteína e o plastificante, causando um fenômeno de separação das frações “ricas” em plastificante e proteína. De acordo com Sobral, Menegalli, Hubinguer e Roques (2001) a separação de fases pode causar perda de elasticidade, ou regiões ricas em plastificante podem levar à formação de caminhos preferenciais ou zonas de descontinuidades durante o processo de secagem, aumentando assim a difusão e a permeabilidade ao vapor de água do filme.

As seções transversais dos filmes com 3,16, 4,00 e 4,83 g de isolado protéico/100 g de solução são mostrados nas Figuras 4b, 4d e 4f, respectivamente. As seções transversais dos filmes com menores concentrações de isolado protéico ficaram menos homogêneas (Figura 4b e 4d) em comparação com o filme com maior concentração de proteína.

4 CONCLUSÃO

Foi possível desenvolver filmes utilizando isolado protéico obtido de resíduos de corvina. Os filmes mostraram propriedades diferentes, dependendo da concentração de proteína, concentração de glicerol e pH. Os filmes de IPC são opacos e tornaram-se mais escuros e mais amarelados com a adição de uma maior concentração de IPC. A solubilidade em água não foi afetada pela concentração de IPC, no entanto, pHs baixos e menores concentrações de glicerol resultaram em filmes menos solúveis em água. Os filmes em geral mostraram-se bastante alongáveis, e quando elaborados com alta concentração de isolado protéico, baixa concentração de glicerol e pH menor foram mais resistentes a tração. As superfícies dos filmes foram ásperas e irregulares. Em geral, os resultados indicam que os filmes de IPC podem ser uma alternativa de uso como embalagem. No entanto, mais estudos são necessários para melhorar sua resistência à tração e diminuir sua taxa de permeabilidade ao vapor de água, assim como avaliar sua permeabilidade a gases, os comportamentos térmico e seu desempenho em diferentes tipos de embalagens.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - **Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis.** 17ª edição. Maryland: Arlington: AOAC, 2000.

ARTHARN, A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. The effect of myofibrillar/sarcoplasmic protein ratios on the properties of round scad muscle protein based film. **Eur Food Res Technol**, v. 227, p. 215-222, 2008.

ASTM (1995). Designation E96-95: Standard method for water vapor transmission of materials. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

ASTM. (1996). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-91. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

BADOLATO, E. S. G.; CARVALHO, J. B.; MELLO, M. R. P. A.; TAVARES, M.; CAMPOS, N. C.; AUED-PIMENTEL, S.; MORAIS, C. Composição centesimal de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 54, n. 1, p. 27-35, 1994.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos**, Ed. UNICAMP: São Paulo, 2003.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S.; JANTAWAT, P., SANGUANDEEKUL R. Effect of select parameters on the properties of edible film from water-soluble fish proteins in surimi wash-water. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v.39, p.405-418, 2006.

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

FARAH, T., GARCIA, 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 proteins of two varieties of tilápia. **LWT**, v.38, p. 289-296, 2005.

FREITAS, I.R. **Recuperação das proteínas provenientes de pescado utilizando o processo de variação de pH**. 109f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos), Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2011.

GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E.Characterization of starch and composite edible films and coatings. In: Embuscado, M.E., Huber, K.C. (Eds.), **Edible Films and Coatings for Food Applications**. Springer, New York, 169-210, 2009.

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.

GUERRERO, P.; RETEGI, A.; GABILONDO, N.; CABA, K. Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 145-151, 2010.

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

JONGJAREONRAK A; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W; PRODPRAN, T; TANAKA, M. Characterization of edible films from skin gelatin of browns tripe red snapper and bigeye snapper. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 492–501, 2006.

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.

KOWALCZYK D.; BARANIAK, B. Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. **Journal of Food Engineering**, v.105, p. 295–305, 2011.

LAEMMLI, U. K. Cheavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p.680-685, 1970.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 85-92, 2010.

MONTERREY-QUINTERO. E. S.; SOBRAL, A. P. J. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de Tilapia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de biofilmes. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.35, p.179-189, 2000.

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

MONTERREY, E. S.; SOBRAL, P. J. A. Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia do Nilo usando uma metodologia de superfície-resposta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 19, n. 2, p. 294-301, 1999.

NOLSOE, H.; UNDELAND, I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the art. **Food Bioprocess and Technology**, v. 2, p.1-27, 2009.

PASCHOALICK, T.; GARCIA F. T., SOBRAL P. J. 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, p. 419-427, 2003.

PEREZ-GAGO, M. B., & KROCHTA, J. M. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. **Journal of Food Science**, v. 66, p. 705-710, 2001.

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

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

RODRIGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATE, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. **Food Research International**,v.39, p. 840–846, 2006.

SHIKU, Y.; HAMAGUCHI, P. Y.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Effect of surimi quality on properties of edible films based on Alaska pollock. **Food Chemistry**,v.86, p. 493-499, 2004.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteína miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Pirassununga, v.35, p. 1251-1259, 2000.

SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; HUBINGUER, M. D.; ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 423-432, 2001.

TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Edible wheat gluten films: development, mechanical and barrier properties and application to strawberries (*Fragaria ananassa*), **Boletim CEPPA**, v. 20, p. 291-308, 2002.

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A. Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. **Journal of Food Science**, v.70, p. 172-176, 2005.

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, p. 426-433, 2011.

TROPINI, V.; LENS, J.P.; MULDER, W.J.; SILVESTRE, F. Wheat gluten films cross-linked with 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and n-hydroxysuccinimide. **Industrial Crops and Products**, v. 20, p. 281-289, 2004.

TURHAN, K. N.; AHBAZ, F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methycellulose-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 61, 459-466, 2004.

ARTIGO 2
EFEITO DO ÓLEO DE PALMA SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES A
BASE DE ISOLADO PROTÉICO DE CORVINA

EFEITO DO ÓLEO DE PALMA SOBRE AS PROPRIEDADES DE FILMES A BASE DE ISOLADO PROTÉICO DE CORVINA

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi elaborar filmes a base de isolado protéico de resíduo de corvina (IPC) contendo diferentes concentrações de óleo de palma (OP) (10 e 20 g de OP /100g de IPC) e analisar suas propriedades de barreira, mecânicas, físico-químicas, térmicas e microestrutura. Os filmes com 3% e 4% de IPC apresentaram uma barreira ao vapor de água mais eficiente quando incorporado 20% de OP. A adição de OP aumentou a espessura dos filmes com 2% e 4% de IPC, no entanto a solubilidade não foi afetada pela adição do OP. A opacidade dos filmes aumentou com a adição do OP. A incorporação do OP resultou na diminuição da resistência à tração e no aumento da elongação dos filmes. Nos filmes com 2% de IPC o aumento na elongação foi significativo apenas quando adicionado 20% de OP. O aparecimento de apenas uma temperatura de fusão nos filmes sugeriu uma homogeneidade dos mesmos. A decomposição térmica dos filmes inicia em torno de 120 -173°C. Os filmes apresentaram uma superfície descontínua quando avaliados por MEV.

Palavras-chave: filmes, isolado protéico, óleo de palma, permabilidade ao vapor de água.

ABSTRACT

The objective of this study was to develop films based protein isolate residue croaker (IPC) containing different concentrations of palm oil (OP) (10 and 20 g OP / 100g IPC) and analyze their barrier properties, mechanical, physical, chemical, thermal and microstructure. Movies with 3% and 4% IPC presented a barrier to water vapor more efficient when incorporated 20% of OP ourselves. The addition of OP increased the thickness of the films with 2% and 4% IPC, however the solubility was not affected by addition of OP. The opacity of the films increased with the addition of OP. The incorporation of OP resulted in a decrease in tensile strength and increased elongation of the films. In the films with 2% IPC the increase in elongation was significant only when added 20% of OPs. The appearance of only one melting temperature in the films suggested a homogeneity of them. The thermal decomposition of the films starts around 120 -173 ° C. The films showed a discontinuous surface.

Keywords: films, protein isolate, palm oil, water vapor permeability.

1 INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas mundiais da atualidade é a poluição do ambiente devido ao uso e descarte, sem nenhum controle, de plásticos produzidos a partir de polímeros sintéticos derivados do petróleo (AVELLA et al., 2005). As embalagens produzidas a partir destes polímeros são altamente resistentes ao ataque imediato de microorganismos. Essa característica faz com que esses materiais apresentem um longo tempo de vida útil e, conseqüentemente, provoquem sérios problemas ambientais, visto que, após o seu descarte, levam em média cem anos para se decomporem totalmente (ROSA et al., 2001). Diante desta realidade, o desenvolvimento de embalagens a partir de polímeros naturais vem crescendo cada vez mais.

Polímeros, como as proteínas têm sido utilizados na elaboração de filmes, pois possuem a capacidade de formar estruturas tridimensionais amorfas, estabilizadas principalmente por interações não covalentes, além disso, apresentam grande variedade de fonte e baixo custo de produção (VANIN et al., 2005). As proteínas de pescado, incluindo miofibrilares e sarcoplasmáticas, têm sido estudadas como material para formação de filme (LIMPAN et al, 2010; CHINABHARK et al, 2007; BOURTOOM et al, 2006; SHIKU et al, 2004), no entanto, estes apresentam uma alta permeabilidade ao vapor de água (PVA), devido à hidrofiliçidade dos aminoácidos que compõe as moléculas de proteína e do plastificante.

A propriedade de barreira ao vapor de água é considerada uma das mais importantes para a aplicação dos filmes em alimentos, pois dependendo da taxa de permeabilidade do vapor de água, podem ser iniciados processos de deterioração nos alimentos embalados. Por exemplo, se a pressão diferencial de vapor de água na superfície do alimento é maior que a umidade relativa do ambiente circundante, ocorre uma desidratação que será responsável por perdas nas características sensoriais do alimento. Por outro lado, numa situação inversa, a transferência das moléculas de vapor de água do ambiente para o alimento pode criar condições favoráveis de crescimento microbiano e também proporcionar danos na textura (MARTÍN-POLO et al., 1992; LABUZA, 1982). Dessa forma, a adição de substâncias hidrofóbicas na estrutura polimérica, de forma a reduzir à susceptibilidade do material à umidade ambiente, é uma alternativa a ser investigada.

Os lipídeos têm sido freqüentemente incorporados aos filmes para prover características desejadas de barreira ao vapor de água (CHEN et al., 2010 e 2009, WANG et al., 2009 ; VARGAS et al., 2009; FABRA et al., 2008; BRAVIN et al., 2004;

BERTAN et al., 2005; POMMET et al., 2003). A diminuição da PVA pela incorporação de lipídeos na formulação filmogênica deve-se ao fato de que as proteínas apresentam-se parcialmente imobilizadas na interface da matriz pelas partículas lipídicas emulsionadas, o que diminui a mobilidade polimérica e reduz a difusividade da água através da proteína interfacial (MCHUGH e KROCHTA, 1994). A eficiência dos lipídeos em atuarem como barreira ao vapor de água depende da estrutura química, grau de saturação, estado físico, assim como também da sua distribuição homogênea no filme (MARTIN - POLO et al., 1992).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi diminuir a taxa de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de isolado protéico de corvina, através da inclusão do óleo de palma. Além disso, foram avaliadas as propriedades físico-química (espessura e solubilidade), óptica (opacidade), mecânicas (resistência à tração, alongação), térmicas (calorimetria diferencial de varredura, termogravimetria) e microestrutura (microscopia eletrônica de varredura) dos filmes elaborados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materia-prima

Corvina capturada na região Sul do Rio Grande do Sul, proveniente de uma indústria do complexo pesqueiro da cidade de Rio Grande do RS, Brasil. Os espécimes foram lavados em água clorada (5 ppm) à 4°C e logo submetidos às etapas de filetagem e evisceração. Após estas operações, os resíduos (cabeças e carcaças) foram colocados em separador mecânico de carne e ossos (High Tech, modelo HT250, Chapecó, Brasil), onde foi reservada a carne mecanicamente separada (CMS), separada dos ossos e da pele. A CMS resultante foi acondicionada em embalagens plásticas e armazenada em freezer a -18 °C. Glicerol da nuclear (São Paulo, Brasil) foi utilizado como plastificante. Foi utilizado o óleo de palma, doado pela indústria Agropalma S/A, localizada em Belém, Pará, Brasil. O laudo contendo o perfil de ácido graxo (%) presentes no óleo de palma fornecido pela indústria Agropalma S/A apresenta-se no Anexo 1.

2.2 Obtenção do isolado protéico de resíduo de corvina (IPC)

O IPC foi obtido pelo método descrito por Nolsoe e Undeland (2009) e Freitas (2011). A CMS de corvina foi homogeneizada com água destilada na proporção de 1:9 (p/v) em liquidificador por um minuto. A mistura homogeneizada foi colocada em reator de vidro encamisado com condições de temperatura controlada (4°C). Para solubilização da proteína, o pH da solução foi ajustado para 11,2 com NaOH (1 mol.L⁻¹) sob agitação contínua em agitador mecânico (Fisatom, 712, São Paulo, Brasil) por 20 min. Depois da solubilização da proteína, a solução foi centrifugada a 9.000 xg por 20 min para separação em 3 fases (lipídeos, proteínas solúveis e insolúveis). O sobrenadante (proteínas solúveis) foi coletado e colocado em reator de vidro encamisado a 4°C e logo o pH da solução foi ajustado para pH 5,4 com HCl (1 mol.L⁻¹) para a precipitação das proteínas, com homogeneização em agitador eixo-hélice por 10 min. Foi realizada uma segunda centrifugação a 9.000 xg por 10 min. Após o sobrenadante foi descartado e assim foi obtido o IPC na forma de precipitado. O precipitado foi seco em estufa com circulação de ar (modelo 520, Fanem, São Paulo, Brasil) a 40 ° C por 10h. Finalmente, o IPC foi moído, peneirado e acondicionados em sacos plásticos e armazenadas a -18 ° C.

2.3 Composição proximal do IPC

O conteúdo de proteína, cinzas, umidade e lipídeos da matéria-prima e do IPC foram determinados de acordo com a metodologia AOAC (2000), com nº de 992,15; 923,03; 960,39 e 925,30, respectivamente.

2.4 Aminograma do IPC

A determinação da composição de aminoácidos das amostras de isolado protéico de corvina foi realizada pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil). Os aminoácidos foram obtidos por hidrólise dos peptídeos com HCl 6 mol/L durante 22 h à 110°C conforme Spackman et al. (1958).

2.5 Preparação de filmes de IPC

A elaboração dos filmes foi adaptada da metodologia de Pires et al., 2011. Realizaram-se também ensaios preliminares, para definir a concentração limite de óleo de palma adicionada aos filmes. Os filmes foram elaborados pela técnica de *casting*. As soluções filmogênicas foram preparadas pela dissolução, à temperatura ambiente, de 2, 3 e 4% de IPC em água e o pH foi ajustado para 11 usando NaOH (1mol L⁻¹) para a solubilização protéica. Foi adicionado 35g de glicerol/100 g de isolado protéico à solução. Para a incorporação do óleo de palma, este foi dissolvido através de aquecimento em chapa quente e logo foi adicionado à solução, nas concentrações de 10 e 20%. Logo a solução foi homogeneizada em homogeneizador do tipo ultra-turrax (IKA, T25 digital, Alemanha) a 10.000 rpm por 20 min e submetida a um reator de vidro em condições de temperatura controlada (90°C) por 30min. Foram elaborados também filmes controle (sem adição de lipídeos para cada concentração testada de IPC). Foi espalhado 25 mL de solução filmogênica em placas de acrílico com 9 cm de diâmetro, sendo direcionadas a secagem em estufa com circulação forçada de ar (Fanem, modelo 520, São Paulo, Brasil) a 35°C por 16h. Após a secagem, os filmes foram acondicionados a 25°C.

2.6 Espessura e solubilidade em água dos filmes

A espessura dos filmes foi determinada através da média de oito medidas aleatórias em torno do filme, obedecendo um afastamento da borda de 10 mm, utilizando-se um micrômetro externo digital com resolução de 0,001 mm (Insize, IP54, São Paulo, Brasil).

A solubilidade em água dos filmes foi realizada em triplicata e determinada segundo método proposto por Gontard et al. (1994), com algumas modificações. Três

discos de amostras do filme, com 2,5 cm de diâmetro, foram secos em estufa a 105° C, até peso constante, para retirada da umidade. Em seguida, foram imersas em 50 mL de água destilada. O sistema foi agitado em Incubadora Shaker refrigerada (Cientec, CT-712RNT, São Paulo, Brasil) com velocidade de 150 rpm por um período de 24 horas, a 25°C. Após este período, as amostras que não solubilizaram em água foram retiradas e colocadas em cápsulas de alumínio, sendo estas posteriormente armazenadas em estufa, a 105°C, até peso constante, para se determinar a massa seca final da amostra. A solubilidade foi expressa em termos de massa solubilizada (MS), de acordo com a equação 1 :

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

2.7 Opacidade dos filmes

A opacidade dos filmes foi determinada utilizando-se um colorímetro (Minolta CR 400, Osaka, Japão). As determinações foram realizadas em triplicata. A opacidade dos filmes foi calculada como a relação entre a opacidade do filme sobreposto ao padrão preto (P_{preto}) e ao padrão branco (P_{branco}), segundo a equação 2:

$$\% \text{ Opacidade} = \frac{P_{\text{preto}}}{P_{\text{branco}}} \times 100 \quad (2)$$

2.8 Propriedades mecânicas dos filmes

A resistência à tração e a porcentagem de alongação foram avaliados utilizando um texturômetro (Stable Microsystems SMD ,modelo TA.TX, , Reino Unido) operando de acordo com o método ATM D 882 -91 (ASTM, 1996). As amostras de filme foram cortadas, com 85 mm de comprimento x 25 mm de largura. A média da espessura requerida para o cálculo da área seccional foi determinada utilizando-se oito medidas obtidas ao longo do filme. Como parâmetros de execução de ensaios, adotou-se uma distância inicial entre as garras de 50 mm e uma velocidade de 0.8 mm.s⁻¹. A resistência à tração foi calculada dividindo-se a força máxima no rompimento do filme, pela área de secção transversal (equação 3). A alongação foi determinada dividindo-se a distância final de separação da garra pela distância inicial de separação (50 mm), multiplicada por 100 (equação 4).

$$RT = \frac{F_m}{A} \quad (3)$$

$$E = \frac{dr}{d_0} \times 100 \quad (4)$$

Onde RT= resistência à tração (MPa), F_m = força máxima (N), A= área da seção transversal dos filmes (espessura x largura) (m^2), E= alongação (%), d_0 = distância início de separação (cm) e d_r = distância no momento da ruptura (cm).

2.9 Permeabilidade ao vapor de água dos filmes

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi determinada pelo método E-96-95 da ASTM (ASTM, 1995). As amostras dos filmes foram cortadas em forma de discos e seladas com parafina em células de permeação feitas de alumínio, contendo cloreto de cálcio anidro (0% de UR). Essas células de permeação foram acondicionadas em dessecadores contendo solução salina saturada de cloreto de sódio (75% UR) e mantida a 25 °C. O ganho de massa do sistema foi medido em intervalos de 24h, durante 2 dias. As análises foram realizadas em triplicata. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada através da equação 5:

$$PVA = \frac{M_p \times e}{A \times t \times \Delta p} \quad (5)$$

Onde: PVA = Permeabilidade ao vapor de água ($g \cdot mm \cdot KPa^{-1} \cdot dia^{-1} \cdot m^{-2}$) M_p = diferença de peso (quantidade de permeante que atravessa o filme) (g), e = espessura (mm), t = tempo no qual ocorre ganho de massa (dias), A = área exposta do filme (m^2), e ΔP = diferença de pressão de vapor de água a 75% UR e 0% UR, ambos a 25°C.

2.10 Propriedades Térmicas dos filmes

A determinação da temperatura de fusão e da entalpia de calor dos filmes foram determinadas em calorímetro diferencial de varredura (Shimadzu, modelo DSC 60, Osaka, Japão). As amostras de filmes com cerca de 6-10 mg foram hermeticamente seladas em cápsulas de alumínio. A varredura foi realizada de 40 a 200 °C, com uma taxa de 10 °C/min e 50 mL/min de N_2 . Como referência foi utilizada uma panela vazia.

A análise termogravimétrica dos filmes foi realizada em analisador termogravimétrico (Shimadzu, modelo DTG 60, Osaka, Japão). Cada amostra com cerca de 6-10 mg foi aquecida em cápsulas de alumínio a uma taxa entre 30 e 600 °C, com um fluxo de nitrogênio de 50 mL/min de N₂. Como referência foi utilizada uma panela vazia.

2.11 Microestrutura dos filmes

A microestrutura superficial dos filmes foi realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil). A visualização foi em microscópio eletrônico de varredura (Jeol, JSM-6060) operando a 10 kV. As amostras foram colocadas em suportes de alumínio e cobertas com uma camada de ouro para melhorar a condutividade. As imagens foram selecionadas na ampliação de 2000x.

2.12 Análise estatística

As análises de variância (ANOVA) foram realizadas utilizando-se o programa Statistica V 7.0 (Startsoft). As diferenças significativas entre as médias foram identificadas através do teste de Tukey ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição proximal e composição de aminoácidos do isolado protéico de resíduos de corvina (IPC)

O IPC apresentou 89,8% de proteína, 9,2 % de umidade, 0,7 % de lipídeos 0,8% de cinzas.

A composição de aminoácidos do IPC está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição de aminoácidos do IPC.

| Aminoácido | g de aminoácido/100g de IPC |
|-------------------------------|------------------------------------|
| Ácido aspártico (Hidrofílico) | 9,4 ± 0,0 |
| Ácido glutâmico (Hidrofílico) | 15,9 ± 0,1 |
| Serina (Hidrofóbico) | 3,5 ± 0,1 |
| Glicina (Hidrofóbico) | 4,0 ± 0,0 |
| Histidina (Hidrofílico) | 2,6 ± 0,0 |
| Arginina (Hidrofílico) | 4,4 ± 0,1 |
| Treonina (Hidrofóbico) | 4,3 ± 0,1 |
| Alanina (Hidrofóbico) | 5,5 ± 0,0 |
| Prolina (Hidrofóbico) | 4,4 ± 0,0 |
| Tirosina (Hidrofóbico) | 3,9 ± 0,1 |
| Valina (Hidrofóbico) | 5,8 ± 0,0 |
| Metionina (Hidrofóbico) | 4,2 ± 0,1 |
| Cisteína (Hidrofílico) | nd |
| Isoleucina (Hidrofóbico) | 5,8 ± 0,1 |
| Leucina (Hidrofóbico) | 9,7 ± 0,1 |
| Fenilalanina (Hidrofóbico) | 4,6 ± 0,1 |
| Lisina (Hidrofílico) | 11,9 ± 0,5 |
| Total | 99,9 |

nd não determinado. Valores correspondentes a média ± desvio padrão de três determinações.

Pela análise da Tabela 1 verificou-se que 44,3% da quantidade de aminoácidos presentes no IPC são hidrofílicos, sendo o ácido glutâmico e a lisina presentes em maiores quantidades (Tabela 1). No entanto, 55,7% dos aminoácidos presentes são hidrofóbicos. Na composição do IPC apenas o aminoácido metionina possui enxofre, que está ligado a uma metila, o que vai dificultar a formação de ligações dissulfídicas. A não determinação de cisteína no IPC (Tabela 1) pode estar relacionada com a baixa concentração deste aminoácido presente nas proteínas de pescado, como observado por Monterrey e Sobral (2000) em proteínas miofibrilares de tilápia de nilo, onde encontraram 0,67% de cisteína.

Segundo Cuq et al. (1995) a composição de aminoácidos das proteínas, determina os tipos e quantidades de interações entre as cadeias laterais e, entre essas e a água. Algumas dessas interações são produzidas pelos aminoácidos com grupos polares ionizáveis e polares não ionizáveis, que se ligam à água, via pontes de hidrogênio. Outras interações, as hidrofóbicas, podem ser formadas pela aproximação de cadeias laterais constituídas de aminoácidos com grupos hidrofóbicos.

Tanto a presença de grupos hidrofóbicos, quanto às ligações dissulfídicas (S-S) são importantes na formação dos filmes, uma vez que, a formação dos filmes de IPC envolve a desnaturação térmica das proteínas em solução aquosa, a qual provoca alterações da estrutura tridimensional da proteína, causando por consequência a exposição dos grupos hidrofóbicos e SH que estavam no interior da molécula, fato que promove o estabelecimento de ligações S-S e interações hidrofóbicas durante a secagem, o que contribui para a formação do filme com propriedades mecânicas aceitáveis (Gontard et al., 1994).

3.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes

A incorporação de 20% de óleo de palma (OP) nos filmes de 3 e 4% de isolado protéico de corvina (IPC) reduziu a PVA quando comparado com os filmes não adicionados de OP (Figura 1), sendo a redução da PVA para o filme com 3% de IPC significativamente maior ($p \leq 0,05$). Os resultados indicam que estes filmes com 20% de lipídios podem exibir melhor propriedade de barreira ao vapor de água. A presença de lipídeos altera as propriedades dos filmes, diminuindo a afinidade com a água. A diminuição dos valores de PVA com a adição de óleo pode ser explicado pela diminuição da parte hidrofílica dos filmes (HERNANDEZ-MUNOZ et al., 2004), que reduz a sua afinidade por moléculas de água e conseqüentemente diminui a PVA.

Rhim et al. (1999) relataram que a PVA dos filmes de proteína de soja diminuiu exponencialmente à medida que a concentração de ácidos graxos aumentou. Wang et al. (2009) também encontraram menor PVA em filmes de gelatina quando estes foram adicionados de óleo de milho. Zahedi et al. (2010) na elaboração de filmes protéicos a base da globulina de pistache, reduziram entre 37,0% e 43,0% a PVA a partir da adição de ácidos graxos palmítico e esteárico. Este comportamento era esperado, uma vez que, segundo Sánches-Gonzáles et al. (2010) um aumento na fração hidrofóbica usualmente permite uma melhora na propriedade de barreira dos filmes.

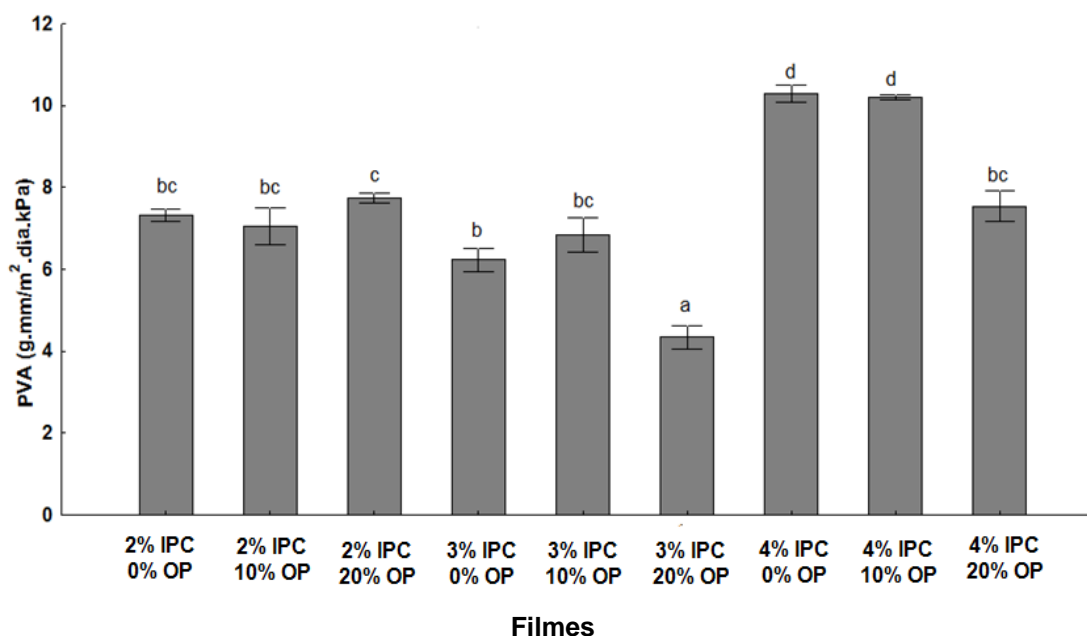


Figura 1: Permeabilidade ao vapor de água dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de resíduo de corvina (IPC) e óleo de palma (OP). Letras iguais que não há diferença significativa ($p \leq 0,05$) na PVA dos filmes.

Bourtoom e Chinnan (2009) analisaram a influência da adição de óleo de palma, em diferentes concentrações nos filmes de quitosana e amido de arroz, e também observaram a redução da PVA. A menor PVA dos filmes adicionados de óleo de palma encontrados no presente trabalho e por Bourtoom e Chinnan (2009) está relacionada, além da capacidade hidrofóbica do lipídeo, com o considerável conteúdo de ácido oléico presente no OP (Anexo1), uma vez que, este ácido apresenta um certo grau de mobilidade devido a sua insaturação, que pode ter resultado na redução do PVA (FABRA et al., 2008). Por outro lado, Chen et al. (2008) estudaram a

incorporação de óleo de palma em filmes de glucomanana e carboximetilcelulose e observaram que a adição deste na solução formadora de filme não reduziu o valor de PVA.

A adição do OP nos filmes com 2% de IPC não influenciou significativamente na PVA, no entanto, o filme com 3% de IPC e 20% de OP foi menos permeável á água, comparado com os demais (Figura 1). Isto sugere que houve uma organização do complexo proteína-lipídio deste filme, atribuindo a ele uma menor PVA, pois segundo Gontard et al. (1994) a interação entre esses dois componentes é um fator crítico na permeabilidade dos filmes.

Os filmes com 4% de IPC sem OP e com 10% de OP apresentaram, em geral, maior PVA (Figura 1). Este aumento pode estar relacionado com a maior concentração de IPC nos filmes, pois segundo Di Pierro et al. (2006) a PVA dos filmes aumenta com quantidades crescentes de proteína, estando diretamente relacionado com o número de grupos polares (grupos laterais dos aminoácidos polares) disponíveis nas cadeias protéicas (-OH, -COOH e -NH₂). No entanto, a adição de 20% de OP nos filmes com 4% de IPC reduziu aproximadamente 27% da PVA destes.

3.3 Espessura e solubilidade em água dos filmes

Os filmes apresentaram espessuras variando de 0,125 a 0,267 mm (Tabela 2). A adição do óleo de palma (OP) nos filmes com 2 e 4 % de IPC provocou um aumento na espessura dos mesmos (Tabela 2). Comportamento semelhante foi observado por Rhim et al. (1999), quando foram adicionados ácidos graxos aos filmes de proteína de soja. O aumento da espessura do filme após a adição do OP possivelmente foi devido ao aumento da massa total quando o solvente foi eliminado durante o processo de secagem.

Tabela 2. Espessura e solubilidade em água dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina e óleo de palma.

| Filmes | | Propriedades | |
|---------|--------|-------------------------------|--------------------------|
| IPC (%) | OP (%) | Espessura (mm) | Solubilidade em água (%) |
| 2,0 | 0,00 | 0,125 ± 0,008 ^e | 30,1 ± 1,7 ^b |
| | 10,0 | 0,164 ± 0,010 ^d | 28,3 ± 0,9 ^b |
| | 20,0 | 0,206 ± 0,005 ^{b, c} | 28,9 ± 0,6 ^b |
| 3,0 | 0,00 | 0,200 ± 0,007 ^c | 30,2 ± 1,2 ^b |
| | 10,0 | 0,204 ± 0,008 ^c | 30,0 ± 0,7 ^b |
| | 20,0 | 0,200 ± 0,010 ^c | 30,3 ± 1,1 ^b |
| 4,0 | 0,00 | 0,224 ± 0,008 ^b | 47,2 ± 1,7 ^a |
| | 10,0 | 0,255 ± 0,004 ^a | 45,9 ± 2,9 ^a |
| | 20,0 | 0,267 ± 0,004 ^a | 45,6 ± 1,5 ^a |

Valores correspondentes a média ± desvio padrão de três determinações. Valores médios com letras diferentes em cada coluna diferem significativamente ($p \leq 0,05$). IPC= isolado protéico de corvina; OP= óleo de palma.

Em geral, os filmes mais espessos foram os com 4% de IPC adicionados de 10 e 20 % de OP (Tabela 2), o que pode ser atribuído também ao maior teor de sólidos secos presentes neste filme após a secagem, uma vez que estes filmes apresentavam em sua formulação, além do OP, uma maior concentração de IPC. Apesar de utilizar as mesmas condições na elaboração em todos os filmes, estes com 3% de IPC, independentemente da concentração de OP, não apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) em sua espessura quando adicionado o lipídeo (Tabela 2).

Os filmes mantiveram sua integridade em água durante 24h. A incorporação do OP não alterou significativamente ($p \leq 0,05$) a solubilidade em água dos filmes (Tabela 2). No entanto, os filmes com maiores concentrações de IPC (4%) tiveram maior solubilidade em água quando comparado com os demais (Tabela 2). Neste estudo, 44,3% da quantidade de aminoácidos presentes no IPC são polares (Tabela 1) e quando aumentada a concentração deste nas formulações dos filmes possivelmente há um incremento na disponibilidade dos grupos polares nas cadeias protéicas, atribuindo aos filmes uma maior solubilidade em água. Este resultado também pode ser devido à menor interação entre lipídeo-proteína, pois se os

componentes lipídicos não forem capazes de se associar com a cadeia de proteína, a estrutura da matriz de proteína pode ser rompida, conferindo ao filme uma estrutura frágil e heterogênea, resultando em uma instabilidade estrutural e assim mais suscetível à dissolução (Gontard et al., 1994).

3.4 Opacidade dos filmes

Segundo Chen (1995), a opacidade do filme é consequência da morfologia ou da estrutura química relacionada à massa do material. Os valores de opacidade dos filmes de IPC adicionados são apresentados na Figura 2.

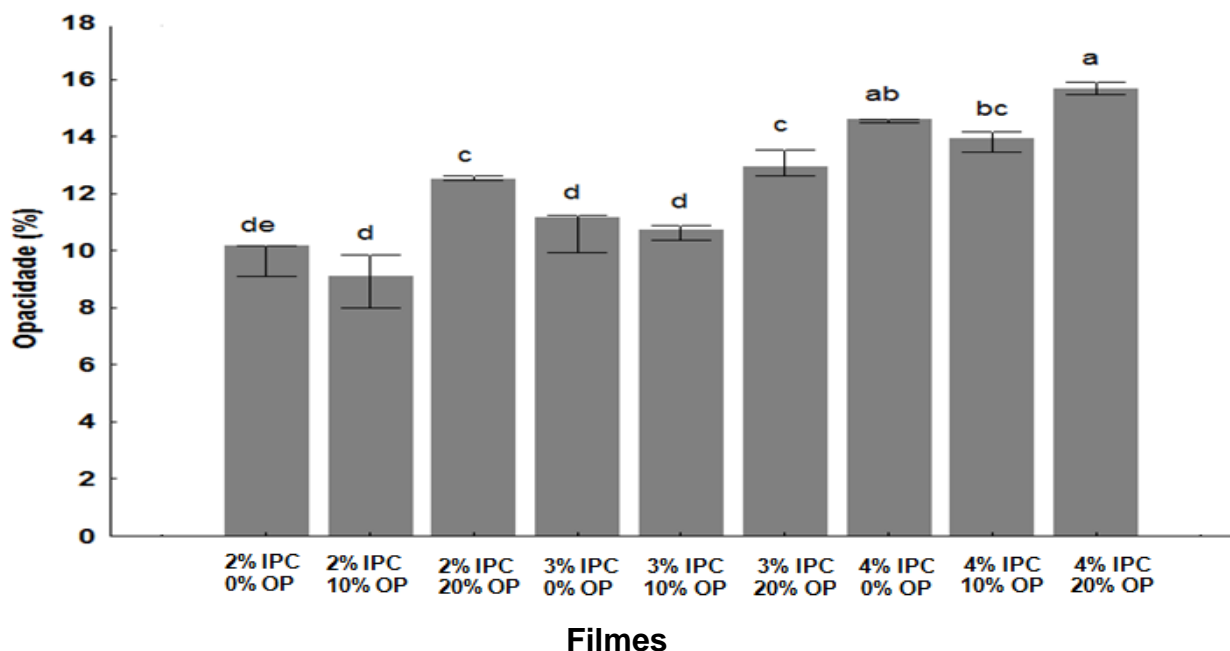


Figura 2: Opacidade dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina (IPC) e óleo de palma (OP). Letras iguais que não há diferença significativa ($p \leq 0,05$) na PVA dos filmes.

Geralmente, a presença de lipídeos aumenta os valores de opacidade dos filmes, no entanto no presente trabalho esta diferença foi estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) apenas para concentrações de 20% de OP para os filmes com 2 e 3 % de IPC (Figura 2). Ambos tiveram sua opacidade elevada, quando comparados aos filmes sem a adição e com 10% de OP (Figura 2). O aumento da opacidade quando o OP foi adicionado, é uma consequência direta da presença de gotículas lipídicas dispersas no filme. Outros autores, também observaram uma maior opacidade em filmes de

proteína adicionados de lipídeos, como Rhim et al. (2002), em filmes de isolado protéico de soja incorporados de ácidos graxos e Ozdemir e Floros (2008) em filmes protéicos de soro de leite com adição de cera de abelha.

As diferenças de opacidades provenientes do OP são mais evidentes nos filmes com menores concentrações de IPC, pois este interfere na opacidade, como pode ser observado para a concentração de 4% de IPC sem OP quando comparado a 2% e 3% de IPC sem OP (Figura 2).

3.5 Propriedades mecânicas dos filmes

A adição do OP afetou as propriedades mecânicas dos filmes de IPC (Tabela 3). Os filmes adicionados de OP, em geral, apresentaram significativamente ($p \leq 0,05$) menor resistência mecânica quando comparados com os filmes não adicionados de OP (Tabela 3). Segundo Chen (1995), a adição de lipídeos promove modificação na matriz filmogênica, o que resulta na diminuição da resistência à tração do filme. Assim, muitos trabalhos têm relatado a diminuição da resistência à tração dos filmes quando adicionado lipídeo em sua formulação. Pires et al. (2011) elaboram filmes de proteínas de pescada (*Merluccius capensis*) e também observaram uma diminuição na resistência à tração quando adicionado óleo de tomilho na solução filmogênica. No entanto, estes filmes apresentaram maior resistência à tração, variando de 4,13 MPa a 6,16 MPa, quando comparados com os filmes do presente trabalho. As propriedades mecânicas dos filmes dependem das interações entre os componentes, ou seja, da formação de ligações moleculares fortes ou numerosas entre as cadeias (CALLEGARIN et al., 1997). A homogeneização do lipídio na solução protéica também é uma etapa muito importante, pois o diâmetro dos glóbulos lipídicos e sua distribuição homogênea na matriz polimérica estão diretamente relacionados com a resistência à tração e com a porcentagem de alongamento, sendo que quanto menor o diâmetro mais homogênea a distribuição, formando-se filmes com uma matriz mais contínua, regular e estável (DEBEAUFORT e VOILLEY, 1997).

Tabela 3. Resistência à tração e percentagem de alongação dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina e óleo de palma.

| Filmes | | Propriedades | |
|---------|--------|----------------------------|----------------------------|
| IPC (%) | OP (%) | Resistência à tração (MPa) | Elongação na ruptura (%) |
| 2,0 | 0,0 | 1,32 ± 0,07 ^{bc} | 165,9 ± 8,8 ^d |
| | 10,0 | 0,72 ± 0,16 ^d | 182,0 ± 4,3 ^d |
| | 20,0 | 0,55 ± 0,08 ^d | 224,7 ± 14,0 ^c |
| 3,0 | 0,0 | 1,31 ± 0,11 ^c | 247,7 ± 12,4 ^{bc} |
| | 10,0 | 1,47 ± 0,11 ^b | 172,6 ± 3,1 ^d |
| | 20,0 | 0,73 ± 0,02 ^d | 91,0 ± 6,8 ^f |
| 4,0 | 0,0 | 2,32 ± 0,18 ^a | 290,9 ± 9,7 ^a |
| | 10,0 | 1,67 ± 0,09 ^{bc} | 263,6 ± 5,4 ^b |
| | 20,0 | 1,58 ± 0,23 ^{bc} | 228,8 ± 2,9 ^c |

Valores correspondentes a média ± desvio padrão de três determinações. Valores médios com letras diferentes em cada coluna diferem significativamente ($P \leq 0,05$). IPC= isolado protéico de corvina; OP= óleo de palma.

Zahedi et al. (2010) produziram filmes protéicos a base da globulina adicionados de ácidos graxos palmítico e esteárico e mostraram que incremento destes compostos lipídicos à formulação filmogênica também resultou em filmes mais fracos. De acordo com os autores, a incorporação dos ácidos graxos criou uma matriz filmogênica heterogênea provavelmente devido ao enfraquecimento das interações intermoleculares com conseqüente redução nos valores de resistência à tração dos filmes emulsionados.

Por outro lado, alguns autores encontraram maior resistência à tração dos filmes quando estes foram adicionados de lipídeos, como Wang et al. (2009) em filmes de gelatina de suíno adicionados de óleo de milho, Fabra et al. (2009) em filmes a base de caseinato de sódio com adição de ácidos saturados, ácido oléico e cera de abelha e Atarés et al. (2010) em filmes de isolado protéico de soja acrescentados de óleo de canela. Os resultados encontrados por estes autores podem estar relacionados com as características dos lipídeos utilizados, assim como a capacidade de interagir com a matriz protéica (Gontard et al., 1994).

Para a concentração de OP de 20%, a resistência à tração dos filmes foi maior quando houve o aumento IPC, o que pode estar atribuído com a sua maior

espessura (Tabela 3), uma vez que a resistência à tração dos filmes depende também desta variável.

Os valores de alongação variaram de 91,0 a 290,9% e a adição do OP nos filmes de 3 e 4% de IPC provocaram uma perda significativa ($p \leq 0,05$) na alongação dos mesmos (Tabela 3). Os filmes protéicos a base de globulina de pistache emulsionado com ácido graxos palmítico e esteárico, produzidos por Zahedi et al. (2010), também apresentaram menor flexibilidade com relação ao filme controle (sem a adição dos ácidos graxos); o alongamento passou de aproximadamente 100% (filme controle) para a média de 50% devido à adição dos lipídios, possivelmente porque filmes emulsionados possuem baixo conteúdo de água, contribuindo para a diminuição da mobilidade entre as cadeias protéicas (Quezada-Gallo et al., 2000). Peroval et al., (2002) também observaram uma diminuição da alongação dos filmes de arabinosilana ao incorporar ácidos graxos nestes. Os mesmos autores relataram que alguns lipídios são incapazes de formar uma matriz contínua e coesa, causando assim, uma menor alongação.

Observa-se na Tabela 3 que no filme com 2 % de IPC ocorreu um aumento na alongação quando incorporado 20% de OP. Este comportamento pode estar relacionado ao efeito plastificante do lipídeo, uma vez que, quando a plastificação ocorre, a resistência à tração diminui, ao mesmo tempo em que a alongação do filme aumenta (SOUZA, 2011), como observado na Tabela 3. Bertan et al. (2005) produziram filmes de gelatina e quando adicionaram ácidos graxos nestes, também observaram o aumento da alongação dos mesmos.

3.6 Propriedades térmicas dos filmes

3.6.1 Calorimetria diferencial de varredura

A análise de calorimetria diferencial de varredura fornece informações para a compreensão de possíveis interações na matriz estudada, permitindo analisar características como estabilidade do biopolímero. No presente estudo foram obtidos os termogramas dos filmes de IPC e OP mostrados na Figura 3.

Nota-se em geral que os filmes apresentaram apenas um pico de fusão (Figura 3a, 3b e 3c). Um valor único de um pico de fusão obtido é característico de matrizes poliméricas que não apresentaram separação de fases, indicando uma mistura homogênea entre os compostos presentes (BILIADERIS et al., 1999).

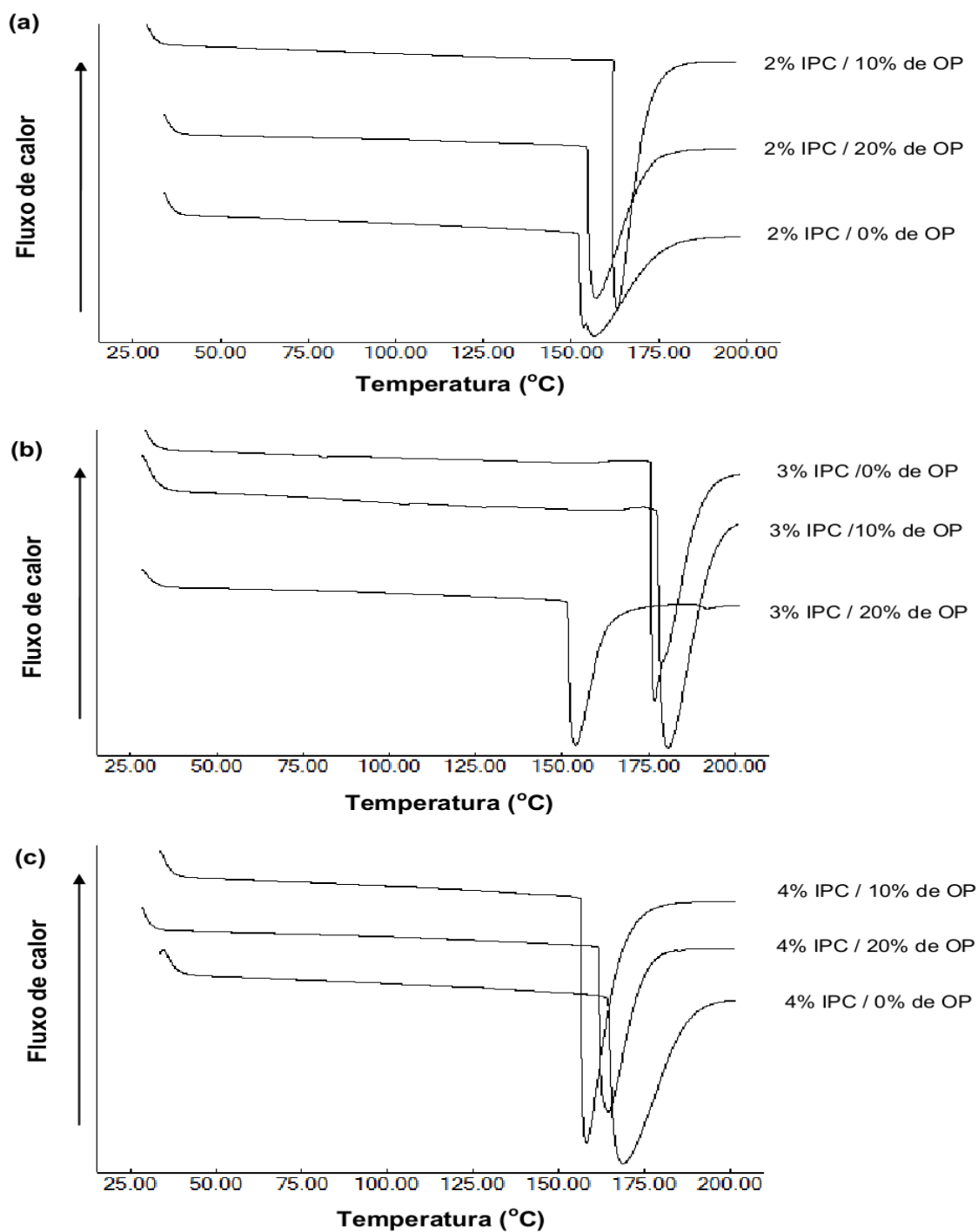


Figura 3: Termogramas de DSC dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina (2%, 3% e 4%) e óleo de palma (0%, 10% e 20%) . IPC=isolado protéico de resíduo de corvina; OP= óleo de palma.

Zahedi et al. (2010) elaboraram filmes de globulina de pistache com adição de ácidos graxos saturados e encontraram também apenas uma temperatura de fusão. Pommet et al. (2003) estudaram o efeito de plastificação de ácidos graxos sobre filmes de glúten. Eles observaram que os filmes plastificados com ácidos graxos de 6 a 10 carbonos apresentaram apenas uma temperatura de fusão. Por outro lado, para os filmes contendo ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) foram encontradas duas temperaturas de fusão, indicando uma distribuição heterogênea de ácidos graxos na matriz polimérica.

Nos filmes com 2% de IPC, os valores de temperatura de fusão (T_m) variaram de 156,54 a 163,04 °C, sendo este maior valor obtido no filme adicionado de 10% de óleo de palma (Figura 3a).

Nos filmes com 3% de IPC, observou-se uma diminuição de temperatura de fusão à medida que foi aumentada a concentração de OP nos filmes, os filmes não adicionados de OP apresentaram uma T_m de 180,7 °C, enquanto os com 20% de OP apresentaram uma T_m de 153,79 °C (Figura 3b). As T_m encontradas no presente trabalho foram superiores às de filmes de glúten contendo ácido palmítico (61,02 °C) apresentadas por Pommet et al. (2003) e de filmes de gelatina adicionados de 10% de glicerol, que apresentaram uma T_m em torno de 125 °C (VANIN et al., 2005).

3.7.2 Termogravimetria

Os polímeros, quando submetidos a tratamento térmico, podem apresentar mudanças estruturais caracterizadas pela ruptura de ligações químicas das cadeias principais e laterais. Essas modificações são evidenciadas pela diminuição da massa molar com evaporação de produtos voláteis.

A Figura 4 apresenta as curvas de degradação térmica dos filmes. Os filmes com 2% de IPC apresentam uma temperatura de decomposição bem próxima, o que indica que a incorporação de óleo de palma nos filmes não alterou as propriedades térmicas destes (Figura 4a). Estes filmes tiveram uma perda de massa entre as temperaturas 80 a 110°C, referente à perda de moléculas de água da amostra de filme. O início da decomposição dos materiais aparentemente ocorreu em uma única etapa, iniciando ao redor de 140 °C e se estabilizando em 450°C, com redução de massa de aproximadamente 77,7% (Figura 4a).

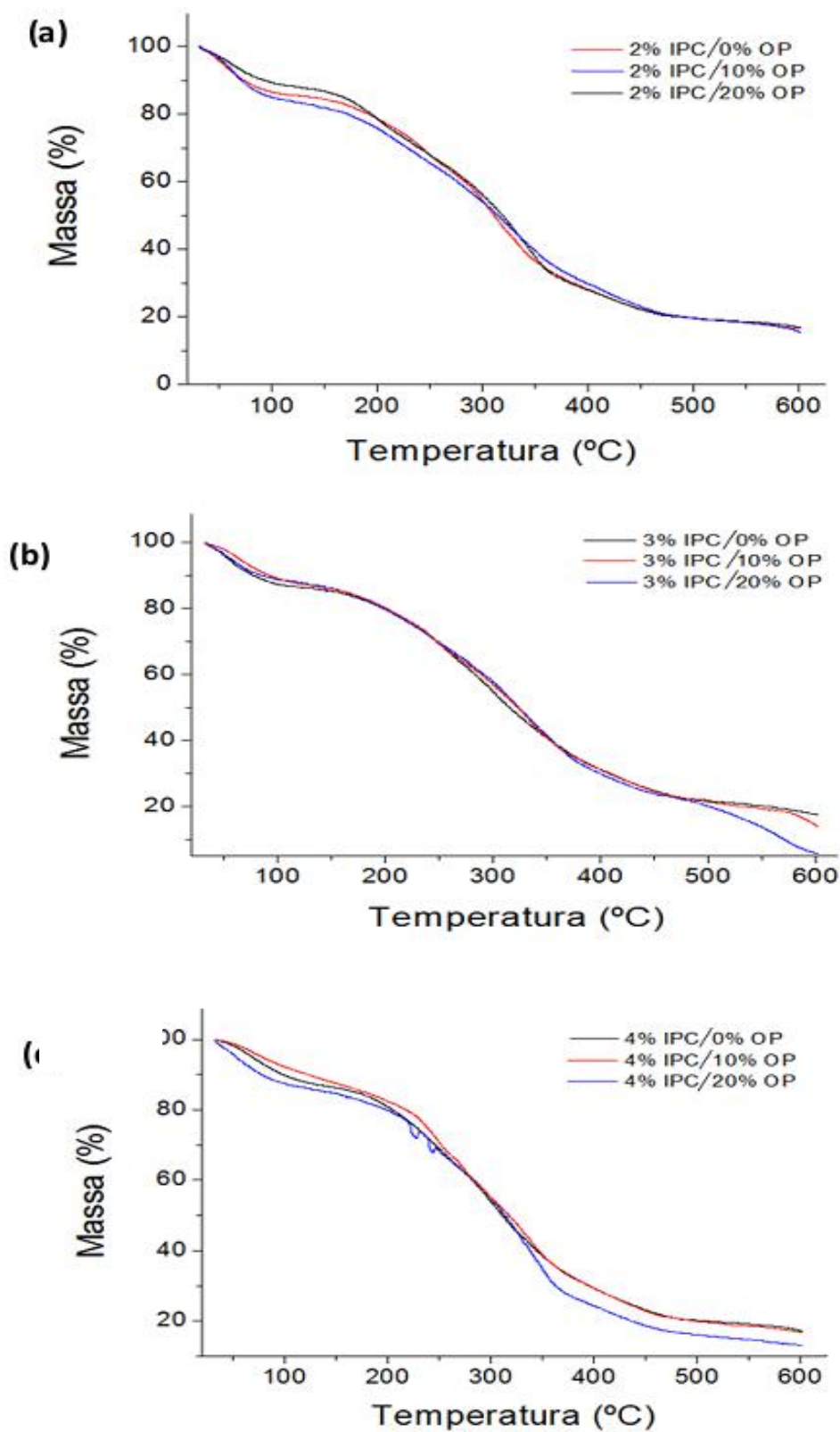


Figura 4: Termograma de TGA dos filmes obtidos a partir de isolado protéico de corvina (2%, 3% e 4%) e óleo de palma (0%, 10% e 20%). IPC=isolado protéico de resíduo de corvina; OP= óleo de palma.

Os filmes com 3% de IPC perderam água entre as temperaturas de 70 a 110°C, Nota-se que os filmes sem e com 10% óleo de palma mostraram apenas uma etapa de decomposição dos materiais, a qual iniciou em 173°C, terminando em 450°C, com uma redução de massa de 75,2%, apresentando uma massa residual de 24,8% (Figura 4b). No entanto, no filme com 3% de IPC e 20% de OP, a decomposição parece não ter sido concluída quando chegou à temperatura de 600°C (Figura 4b).

Em relação aos filmes que apresentavam 4% de IPC em sua formulação a desidratação ocorreu entre 60 a 110°C. Estes quando não adicionados de OP e com 10% de OP apresentaram também apenas uma faixa de decomposição, porém em um maior intervalo, em torno de 120 a 450°C, mostrando uma perda de massa de 76,0% (Figura 4c). Por outro lado, o filme com 4% de IPC e 20% de OP apresentou maior decomposição nessa temperatura, mostrando uma perda de massa de 82,0 (Figura 4c). Guerrero et al. (2010) estudaram filmes de isolado protéico de soja sem e com a adição de plastificante e observaram uma etapa de decomposição para ambos os filmes, no entanto, os não adicionados de plastificante apresentaram temperatura inicial de decomposição a partir de 225°C, enquanto os plastificados a partir de 200°C.

Em geral, o aparecimento de apenas uma etapa de decomposição presente nas curvas pode indicar uma boa homogeneidade do material. Notou-se também que, os filmes com 2% de IPC, independentemente da adição de OP, praticamente não apresentaram diferenças nas temperaturas de decomposição. No entanto, foi possível observar que os filmes com 3 e 4% de IPC quando adicionados de 20% de OP mostraram pequenas diferenças na estabilidade térmica em função da formulação.

3.8 Microscopia eletrônica de varredura

As micrografias das superfícies dos filmes com diferentes concentrações de isolado protéico de corvina (2, 3 e 4%) e de óleo de palma (10 e 20%) são mostrados na Figura 5.

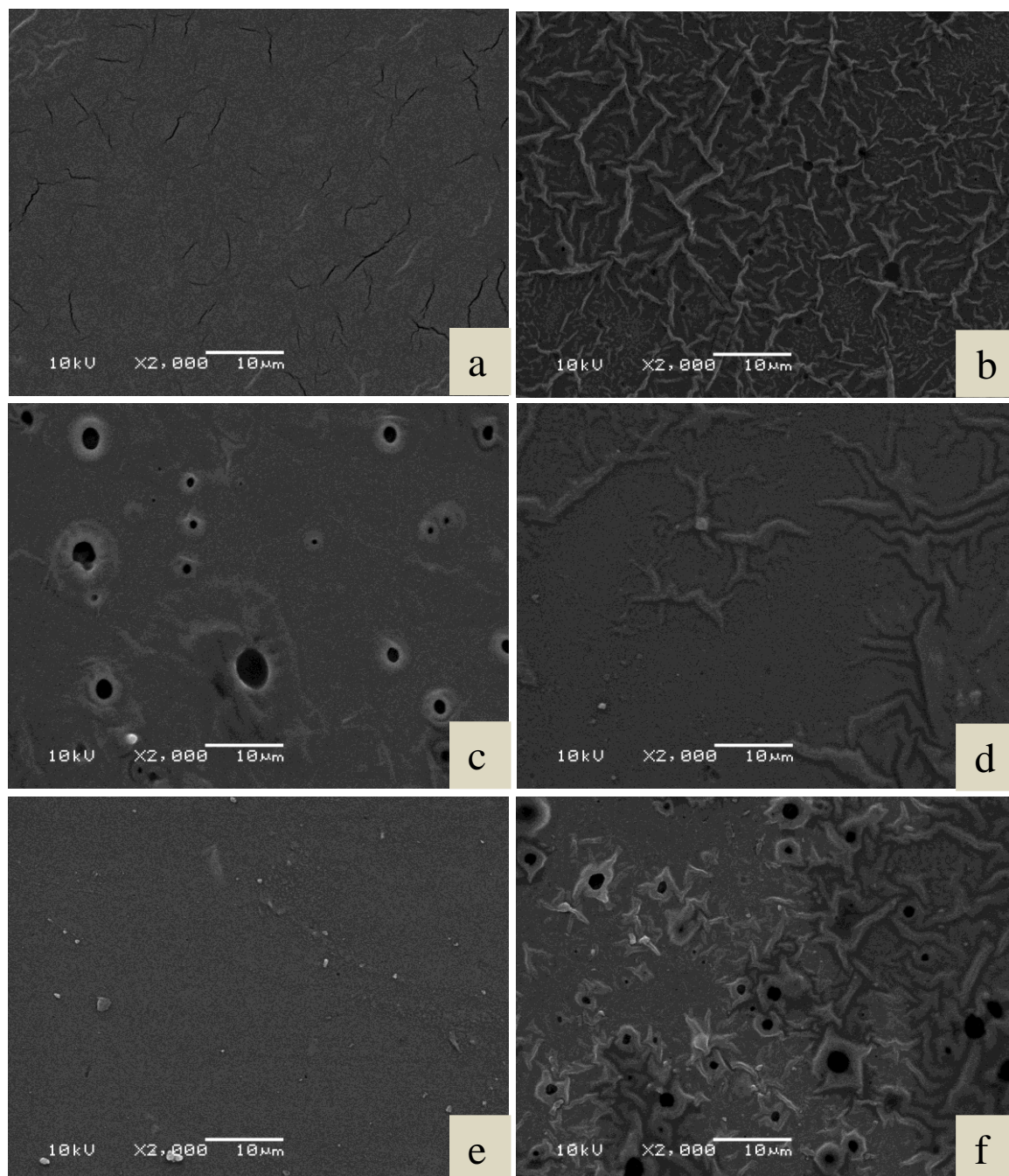


Figura 5. Micrografias das superfícies do filme (a) filme com 2% de IPC e 10% de OP; (b) filme com 2% de IPC e 20% de OP; (c) filme com 3% de IPC e 10% de OP; (d) filme com 3% de IPC e 20% de OP; (e) filme com 4% de IPC e 10% de OP; (f) filme com 4% de IPC e 20% de OP.

Em geral, nota-se que as microestruturas das superfícies dos filmes de IPC adicionados de OP não apresentaram gotículas lipídicas dispersas na matriz filmogênicas, no entanto, foi observada uma descontinuidade estrutural (superfície menos lisa e com imperfeições). O filme com 3% de IPC e 20% de OP apresentou rugosidades em sua superfície (Figura 5d), no entanto, esta irregularidade não foi o suficiente para facilitar a difusão de vapor de água nos filmes, uma vez que este filme foi o menos permeável ao vapor de água quando comparado com os demais (Figura 1). Nos filmes com 3 e 4% de IPC adicionados de 10 e 20% de OP, respectivamente, nota-se a presença de micro orifícios nas superfícies destes (Figura 5c e 5f), o que pode implicar maior fragilidade com relação às suas propriedades mecânicas e maior permeabilidade ao vapor de água. O filme com 4% de IPC e 10% de OP (Figura 5e) apresentou uma superfície mais homogênea, o que pode ter contribuído a maior resistência e a maior alongação deste filme, quando comparado aos outros filmes incorporados de OP (Tabela 3).

As características dos filmes incorporados de componentes hidrofóbicos são influenciadas por vários fatores, tais como, tipo e tamanho da molécula, além da interação com a macromolécula. Com isso, estudos relacionados à avaliação da microestrutura de filmes biodegradáveis em função da incorporação de componentes hidrofóbicos apresentam diferentes resultados. Altiok et al., (2010) produziram filmes de quitosana adicionados de óleo de tomilho e observaram o aumento de rugosidade e presença de bolhas nos filmes. Estes autores atribuíram a formação de bolhas à rápida evaporação de óleo de tomilho, sendo que o tamanho e o número de bolhas também aumentaram com o aumento da concentração do composto hidrofóbico. Atarés et al., (2010) em filmes de caseinato de sódio contendo óleo de canela notaram a homogeneidade nos filmes, e atribuíram esta característica à uma boa distribuição do óleo na matriz protéica. Por outro lado, os filmes adicionados de óleo de gengibre apresentaram gotículas de óleo em sua estrutura.

4. CONCLUSÃO

O estudo mostrou que foi possível reduzir a PVA a partir da inclusão do óleo de palma, onde a menor PVA foi obtida no filme com 3% de IPC e 20% de OP (4,84 g.mm/m².dia. kPa). A incorporação de 20% de OP nos filmes com 2 e 3% de IPC levou a um aumento da opacidade dos filmes. A adição do OP em todos os filmes testados causou redução significativa nos valores de resistência à tração. A elongação dos filmes com 2% de IPC sofreu acréscimo com o aumento da concentração de OP, no entanto, os filmes com 3 e 4% de IPC e adicionados de OP tornaram-se menos alongáveis. Na análise térmica de DSC dos filmes foi observado apenas um pico endotérmico de fusão, sugerindo uma boa interação entre os compostos, caracterizando filmes homogêneos. A decomposição térmica dos filmes inicia em torno de 120-173°C. A análise microscópica dos filmes mostrou que os filmes apresentaram uma descontinuidade estrutural em sua superfície. A partir dos resultados obtidos nota-se que a incorporação do óleo de palma nos filmes de IPC pode ser uma alternativa para diminuição da permeabilidade ao vapor de água deste, no entanto, são necessários mais estudos para melhorar o desempenho dos filmes, principalmente a sua resistência à tração.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - **Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis.** 17ª edição. Maryland: Arlington: AOAC, 2000.

ASTM (1995). Designation E96-95: Standard method for water vapor transmission of materials, In Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia: American Society for Testing and Materials,

ASTM (1996). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. D882-91. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

ALTIOK, D.; ALTIOK, E.; TIHMINLIOGLU F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. **Journal of Materials Science: Materials in medicine**, v.21, p. 2227-2236, 2010.

ATARÉS, L.; DE JESÚS, C.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Characterization of spi-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **J. Food Eng.** doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.03.004, 2010.

AVELLA, M.; VLIENER, J. J.; ERRICO, M. E.; FISCHER, S.; VACCA, P.; VOLPE, M. G. Biodegradable starch/Clay nanocomposite films for food packaging applications. **Food Chemistry**, v. 93, p. 467-474, 2005.

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, 2005.

BILIADERIS, C. G.; LAZARIDOU, A.; ARVANITOYANNIS, I. Glass transition and physical properties of polyol plasticised pullulan, starch blends at low moisture. **Carbohydrate polymers**, v.40, p. 29-47, 1999.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S. Improvement of Water Barrier Property of Rice

Starch-chitosan Composite Film Incorporated with lipids. **Food Science and Technology International**, v.15, n.149, p. 234-239, 2009.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S.; JANTAWAT, P.; SANGUANDEEKUL, R. Effect of select parameters on the properties of edible film from water-soluble fish proteins in surimi wash-water. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v.39, p.405-418, 2006,

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, p. 6448-6455, 2004.

CALLEGARIN, F.; GALLO, J.A.Z.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipids and Biopackaging. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 74, n. 10, p. 1183-1192, 1997.

CHEN, C. H.; KUO, W. S.; LAI, L. S. Water barrier and physical properties of starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films: impact of surfactant lamination. **Food Hydrocolloids**, v.24, p. 200-207, 2010.

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

CHENG, L. H.; KARIM, A.; SEOW, C. C. Characterization of composite film made of konjak glucomannan(KGM), carboxymethyl cellulose (CMC) and lipid, **Food Chemistry**, v.107, p.411-418, 2008.

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

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

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible Packaging Films Based on Fish Myofibrillar Proteins: Formulation and Functional Properties. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1369-1374, 1995.

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

DI PIERRO, P.; CHICO, B.; VILLALONGA, R.; MARINIELLO, L.; DAMAIO, A. E.; MASI, P.; PORTA, R. Chitosan-Whey Protein Edible Films Produced in the Absence or Presence of Transglutaminase: Analysis of Their Mechanical and Barrier Properties. **Biomacromolecules**, v. 7, p.744-749, 2006.

FABRA, M. J.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. **Journal of Food Engineering**, v. 85. p. 393-400. 2008.

FABRA, M. J.; JIMENEZ, 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.

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.

GUERRERO, P.; RETEGI, A.; GABILONDO, N.;CABA, K. Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 145-151, 2010.

HERNANDEZ - MUNÓZ. P.; LÓPEZ- RUBIO. A.; DEL - VALLE. V.; ALMENAR. E.; GAVARA. R. Mechanical and water barrier properties of glutenin films influenced by storage time. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p.79 – 83. 2004.

LIMPAN, N.,; PRODPRAN, T.,; BENJAKUL, S.,; PRASARPAN, S, Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as

influenced by blend composition and pH level, **Journal of Food Engineering**, v.100, p. 85-92, 2010.

MARTÍN-POLO, M.; MAUGUIN, C.; VOILLE, Y. A. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer, I, Influence of the film preparation technique. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 407-412, 1992.

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

NOLSOE, H.; UNDELAND, I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the art. **Food Bioprocess and Technology**, v. 2, p.1-27, 2009.

OZDEMIR, M.; FLOROS, J. D. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n.1, p. 116-133, 2008.

PEROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan based films: 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.

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

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

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

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

RHIM, J. W.; WU, Y.; WELLER, C. L.; SCHNEPE, M. Physical characteristics of emulsified soy protein-fatty acid composite filmes. **Sciences des Aliments**, v.19, p. 57-71, 1999.

ROSA, D, S.; FRANCO, B, L, M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades Mecânicas de Novas Misturas Poliméricas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 11, n.2, p. 82-88, 2001.

SÁNCHEZ-GONZÁLES, L.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composit films. **Journal of food Engeneering**, v.98, p.443-452, 2010.

SHIKU, Y.; HAMAGUCHI, P. Y.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Effect of surimi quality on properties of edible films based on Alaska Pollock. **Food Chemistry**,v. 86, p. 493-499, 2004.

SOUZA, V. C. **Produção de filmes biopoliméricos a partir de quitosana com incorporação de fração lipídica**. 97p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos). Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2011.

VANIN, F. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Effect of plasticizers and their concen trations on thermal and functional properties of gelatin based films. **Food Hydrocolloids**, v.19, p. 889-907, 2005.

VARGAS, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.536-547, 2009.

ZAHEDI, Y.; GHANBARZADEH, B.; SEDAGHAT, N. Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. **Journal of food engineering**, (in press), 2010.

WANG, L.; AUTY, M. A. E.; RAU, A.; KERRY, J. F.; KERRY, J.P. Effect of pH and addition of corn oil on the properties of gelatin- based biopolymer films. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 11-19, 2009.

CAPÍTULO IV
CONCLUSÕES GERAIS

4 CONCLUSÕES GERAIS

Foi possível obter filmes, de proteínas recuperadas de resíduos de corvina. As diferentes concentrações de proteína, concentrações de glicerol e pH utilizados na formulação afetam as propriedades dos filmes.

O uso de quantidades decrescentes de glicerol e a diminuição de pH nas formulações causou a menor solubilidade em água dos filmes, no entanto, as concentrações estudadas de IPC nos filmes não afetaram esta propriedade.

Quanto as propriedades mecânicas, os filmes foram bastantes alongáveis, sendo afetados por todas variáveis do processo e a resistência à tração foi maior nos filmes produzidos com maior concentração de IPC, menor concentração de glicerol e baixo pH.

Nos filmes foram observadas morfologias superficiais asperas e irregulares. Estas características foram mais intensas nos filmes com maior concentração de IPC (4,83 g de isolado protéico/100g de solução),

A produção, por *casting*, dos filmes com adição de óleo de palma (OP) foi possível, com incorporação de até 20 g de OP / 100g de IPC, sem que houvesse separação de fases aparente.

O aumento da quantidade de OP, nos filmes de 2 e 4% de IPC, promoveu acréscimo na espessura dos filmes, atingindo valores máximos de 0,255 e 0,267mm, para filmes contendo, respectivamente, 4% de IPC com 10 e 20% de OP.

Não foi observada diferença significativa quanto aos valores de solubilidade em água, independente da concentração de OP utilizada. No entanto, os filmes com maior concentração de IPC foram mais solúveis.

A adição de óleo de palma nas formulações causou redução significativa nos valores de resistência à tração dos filmes. A alongação dos filmes com 2% de IPC sofreu acréscimo com o aumento da concentração de OP, no entanto, os filmes com 3 e 4% de IPC e adicionados de OP tornaram-se menos alongáveis.

O aumento da concentração de 20% de OP promoveu decréscimo na permeabilidade ao vapor de água dos filmes com 3 e 4% de IPC, atingindo valor mínimo de 4,84 g.mm/m².dia. kPa para filmes contendo 3% de IPC e 20% de OP.

Na análise térmica de DSC dos filmes foi observado apenas um pico endotérmico de fusão, sugerindo uma boa interação entre os compostos, caracterizando filmes homogêneos. A análise de TGA dos filmes mostrou que estes se decompõem em uma temperatura inicial de 120-173°C.

Nos filmes de IPC adicionados de OP não foram observadas gotículas lipídicas dispersas na matriz filmogênicas, no entanto, notou-se uma descontinuidade estrutural.

4.1 Contribuições e perspectivas

Este trabalho traz como principal contribuição, a possibilidade de desenvolver filmes, a partir de proteínas de resíduos de corvina.

Prova que é possível reduzir a taxa de permeabilidade ao vapor de água a partir da adição de óleo de palma, uma vez que estes filmes apresentam, devido seu carácter hidrofílico, elevada permeabilidade ao vapor de água, limitando a sua aplicação em produtos. São necessários ainda a realização de estudos complementares, tais como:

- Testar outras fontes lipídicas e outros aditivos, como, por exemplo, surfactantes, na tentativa de aumentar ainda mais a resistência ao vapor d'água dos filmes e não comprometer a resistência à tração dos mesmos.

- Melhorar a resistência à tração dos filmes, adicionando compostos que possam introduzir ligações cruzadas, pois os filmes do presente trabalho apresentaram valores de resistência à tração relativamente baixos.

- Determinar as propriedades de barreira ao oxigênio e a lipídios dos filmes de isolado protéico de corvina.

- Avaliar seu desempenho para a conservação de diferentes sistemas.

CAPÍTULO V
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - **Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis.** 17ª edição. Maryland: Arlington: AOAC, 2000.

ALFARO, Alexandre da Trindade. **Otimização do processo e determinação das propriedades funcionais da gelatina de ossos de peixe.** 103f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, 2004.

ARTHARN, A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. The effect of myofibrillar/sarcoplasmic protein ratios on the properties of round scad muscle protein based film. **Eur Food Res Technol**, v. 227, p. 215-222, 2008.

ASTM (1995). Designation E96-95: Standard method for water vapor transmission of materials. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

ASTM (1996). Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-91. In Annual Book of ASTM Standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials.

ALTIOK, D.; ALTIOK, E.; TIHMINLIOGLU F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. **Journal of Materials Science: Materials in medicine**, v.21, p. 2227-2236, 2010.

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

ARTHARN A.; BENJAKUL S.; PRODPRAN T. The effect of myofibrillar/sarcoplasmic protein ratios on the properties of round scad muscle protein based film. **Eur Food Res Technol**, v. 227, p. 215-222, 2008.

ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M. Filmes comestíveis de quitosana. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 30, jan/junho, p. 33-38, 2003.

ATARÉS, L.; DE JESÚS, C.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Characterization of spi-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **J. Food Eng.** doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.03.004, 2010.

AVELLA, M.; VLIENER, J. J.; ERRICO, M. E.; FISCHER, S.; VACCA, P.; VOLPE, M. G. Biodegradable starch/Clay nanocomposite films for food packaging applications. **Food Chemistry**, v. 93, p. 467-474, 2005.

AYALA, M. E. G. Estrutura y Composición química del pescado. In: CURSO DE CAPACITACIÓN. Surimi. Callão: Instituto Tecnológico Pesqueiro del Peru, 2001.

BADOLATO, E. S. G.; CARVALHO, J. B.; MELLO, M. R. P. A.; TAVARES, M.; CAMPOS, N. C.; AUED-PIMENTEL, S.; MORAIS, C. Composição centesimal de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 54, n. 1, p. 27-35, 1994.

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

BÁRBAZA, E.; GARIBAY-GARCIA, M. Production of fish proteína concentrates in fisheries processing: biotechnological applications. **Chapman & Hall**, p. 206- 222, 1994.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. *Como Fazer Experimentos*, Ed. UNICAMP: São Paulo, 2003.

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, 2005.

BERTUZZI, M.A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J.C.; Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of Food Engineering**, v. 82, n. 1, p. 17-25, 2007.

BHASKAR N; MAHENDRAKAR, N.S. Protein hydrolysate from visceral waste proteins Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. **Bioresource Technology**. 99, 4105–4111, 2008.

BILIADERIS, C. G.; LAZARIDOU, A.; ARVANITOYANNIS, I. Glass transition and physical properties of polyol plasticised pullulan, starch blends at low moisture. **Carbohydrate polymers**, v.40, p. 29-47, 1999.

BOCHI, V. C.; WEBER, J.; RIBEIRO, C. P.; VICTÓRIO, A. M.; EMANUELLI, T. Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting residue. **Bioresource Technology**, v.99, p.8844-8849, 2008.

BOURTOOM T. AND CHINNAN M.S. Improvement of Water Barrier Property of Rice Starch-chitosan Composite Film Incorporated with lipids. **Food Science and Technology International**, v.15; n.149, p. 234-239, 2009.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S.; JANTAWAT, P.; SANGUANDEEKUL, R. Effect of select parameters on the properties of edible film from water-soluble fish proteins in surimi wash-water. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v.39, p.405-418, 2006.

BRASIL. Ministério da pesca e aquicultura. Caderno consolidação dos dados estatísticos. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>>. Acesso em 10 nov. de 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de mai.1997. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 03 nov. de 2009.

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, p. 6448-6455, 2004.

BRENNER, T.; JOHANSSON, R.; NICOLAI, T. Characterisation and thermo-reversible gelation of cod muscle protein isolates. **Food Chemistry**. 115, 26-31, 2009.

CALLEGARIN, F.; GALLO, J.A.Z.; DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. Lipids and Biopackaging. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 74, n. 10, p. 1183-1192, 1997.

CARVALHO, R.A.; GROSSO, C.R.F. Efeito do tratamento térmico e enzimático nas propriedades de filmes de gelatina. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p.495-501, 2006.

CARVALHO R.A. **Desenvolvimento e caracterização de biofilmes a base de gelatina**, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de alimentos, Campinas, 128p., 1997.

CÈSARO, A.; CUPPO, F.; FABRI, D.; SUSSICH, F. Thermodynamic Behavior of mixed biopolymers in solution and in gel phase. **Thermochimica Acta**, v. 388, p. 143-153, 1999.

CHAMBI, H.; GROSSO, C. Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase. **Food Research International**, v. 39, p. 458-466, 2006.

CHEN, C. H.; KUO, W. S.; LAI, L. S. Water barrier and physical properties of starch/decolorized hsian-tsau leaf gum films: impact of surfactant lamination. **Food Hydrocolloids**, v.24, p. 200-207, 2010.

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, p. 714-721, 2009.

CHENG, L. H.; KARIM, A.; SEOW, C. C. Characterization of composite film made of konjak glucomannan(KGM), carboxymethyl cellulose (CMC) and lipid, **Food Chemistry**, v.107, p.411-418, 2008.

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

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

CIENCIA HOJE. Disponível em:< <http://cienciahoje.uol.com.br> >. Acesso em 20 de Nov. de 2010.

CIEŚLA, K.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. γ -Irradiation influence on the structure and properties of calcium caseinate-whey protein isolate based films. Part 2. Influence of polysaccharide addition and radiation treatment on the structure and functional properties of the films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 8899-8908, 2006.

COSTA, P. G. **Processo de extração química e potencial apresentado pela proteína recuperada da matriz dos exoesqueletos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis*)**. Dissertação, Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande. 136p. Rio Grande, 2003.

COUGHLAN, K.; SHAW, N. B.; KERRY, J. F.; KERRY, J. P. Combined effects of proteins and polysaccharides on physical properties of whey protein concentrate-based edible films. **Journal of Food Science**, v. 69, p. E271-E275, 2004.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness. **Journal of Food Science**. Chicago, v.61, n.3, p.580-584. 1996.

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible Packaging Films Based on Fish Myofibrillar Proteins: Formulation and Functional Properties. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1369-1374, 1995.

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

DIPAK, K. D.; KUMAR, D. M.; Functional Properties of Rapeseed Protein Products with Varying Phytic Acid Contents. **J. Agric. Food Chem.**, v. 34, p. 775-780, 1986.

DI PIERRO, P.; CHICO, B.; VILLALONGA, R.; MARINIELLO, L.; DAMAIO, A. E.; MASI, P.; PORTA, R. Chitosan-Whey Protein Edible Films Produced in the Absence or Presence of Transglutaminase: Analysis of Their Mechanical and Barrier Properties. **Biomacromolecules**, v. 7, p.744-749, 2006.

EMBRAPA. Disponível em: < <http://www.cnpso.embrapa.br>>. Acesso em 20 de nov. De 2010.

ERDOHAN, Z. Ö.; TURHAN, K. N. Barrier and mechanical properties of methylcellulose-whey protein films. **Packaging Technology and Science**, v. 18, p. 295-302, 2005.

FABRA. M. J.; TALENS. P.; CHIRALT. A. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid-beeswax mixtures. **Journal of Food Engineering**, v. 85. p. 393-400. 2008.

FABRA. M. J.; JIMENEZ. 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.

FARAH, T., GARCIA, 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 proteins of two varieties of tilápia. **LWT**, v.38, p. 289-296, 2005.

FERNANDES, J. B. K.; BUENO, R. J.; RODRIGUES, L. A.; FABREGAT, T.E. H. P.; SAKOMURA, N. K. Silagem ácida de resíduos de filetagem de tilápias em rações de juvenis de piauçu (*Leporinus macrocephalus*). Acta Scientiarum. **Animal Sciences**, v.29,n.3, p.339-344, 2007.

FERNANDEZ, G.;VENKATRAMMANN, J. Role of omega-3 fatty acids in health and disease. **Nutrition Research**, 1(Suppl. 13), 19–45, 1993.

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. 220p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual de Campinas.

FONKWE, L. G.; SINGH, R. K. Protein recovery from mechanically deboned turkey residue by enzymic hydrolysis. **Process Biochemistry**, v. 31, p. 605, 1996.

FREITAS, I.R. **Recuperação das proteínas provenientes de pescado utilizando o processo de variação de pH.** 109f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos), Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2011.

GALLO, J.A.Q.; DEBEAUFORT, F.; CALLEGARIN, F.; VOILLEY, A. Lipid hydrophobicity, physical state and distribution effects on the properties of emulsion-based edible films. **Journal of Membrane Science**, v. 180, n. 1, p. 37-46, 2000.

GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Characterization of starch and composite edible films and coatings. In: Embuscado, M.E., Huber, K.C. (Eds.), **Edible Films and Coatings for Food Applications**. Springer, New York, 169-210, 2009.

GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKI, N. E. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. **Journal of Food Science**. Chicago, v.65, n.6, p.941-947, 2000.

GODOY, L.C.; FRANCO, M.L.R.S.; FRANCO, N.P.; SILVA, A.F.; ASSIS, M.F.; SOUZA, N.E.; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J.V. Análise sensorial de caldos e canjas elaborados com farinha de carcaças de peixe defumadas: aplicação na merenda escolar. **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, 30(Supl.1), p. 86-89, 2010.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 1, p. 190-199, 1992.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 1, p. 39-50, 1994.

GUERRERO, P.; RETEGI, A.; GABILONDO, N.; CABA, K. Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 145-151, 2010.

GUILHERME, R.F.; CAVALHEIRO, J.M.; SOUZA, P.A.S. Caracterização química e perfil aminoacídico da farinha de cabeça de camarão. **Ciências e Agrotecnologia**. v.31, n.3, p.793-797,2006.

GUND, J. et. al. Avaliação Sensorial do comportamento da proteína do soro de leite bovino, como emulsificante em embutido de pescado. In: 3º Simpósio de Ciência e Tecnologia de Alimentos- Simpocal. Universidade Federal de Santa Catarina. 2005.

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

HERNANDEZ - MUNÓZ. P.; LÓPEZ- RUBIO. A.; DEL - VALLE. V.; ALMENAR. E.; GAVARA. R. Mechanical and water barrier properties of glutenin films influenced by storage time. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p.79 – 83. 2004.

HENRIQUE, C.M.; CEREDA, M.P.; SARMENTO, S.B.S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 231-240, jan./mar., 2008.

HULTIN HO, Kristinsson HG, Lanier Tyre C and Park JW. 2005 . Process for Recovery of Functional Proteins by pH-shifts. In Park, *Surimi and surimi se a food*, Boca Raton; Taylor and Francis Group. 107-139.

HUNTERLAB. The color management company. Universal software, version 3.2. Reston, 1997.

JANGCUHD, A ; CHINNAN, M S Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. *Lebensmittel - Wissenschaft and Technologie*, London, v.32, n.1, p.89-94, 1999

JAYASINGLHE, C. *et al*, Variation in lipid classes and fatty acid composition of salmon shark (*Lamna ditropis*) liver with season and gender. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 134, 287–295, 2003b.

JONGJAREONRAK A; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W; PRODPRAN, T; TANAKA, M. Characterization of edible films from skin gelatin of browns tripe red snapper and bigeye snapper. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 492–501, 2006.

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.

JORGE, S. **Desenvolvimento de macarrão a base de pescado lavado, desodorizado (surimi) destinado à alimentação institucional e avaliação da sua qualidade protéica**. Florianópolis: UFSC, 1997. 94p. Dissertação Mestrado.

KAIN, R.J; CHEN, Z.; SONDA, T.S. ABU-KPAWOH. Study on the effects of control variables on the extraction of peanut protein isolates from peanut meal (*arachies hypogaea L.*). **American Journal of food technology**. 4(1), 47-55, 2009.

KIM, S. J.; USTUNOL, Z. Sensory attributes of whey protein isolate and candellila wax emulsion edible films. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 6, p. 909-911, 2001.

KOWALCZYK D.; BARANIAK, B. Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. **Journal of Food Engineering**, v.105, p. 295–305, 2011.

KUHN, C. R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; VENDRUSCOLO, J. L.; SOARES, G. J. D. Surimi of king weakfish (*Macrodon ancylodon*) wastes: texture gel evaluation with protease inhibitors and trans-glutaminase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.6, p.895-901, 2004.

KRISTINSSON, H. G. Developments with functional fish proteins. Research Aquatic Food Products Program. Laboratory of Aquatic Food Biomolecular. Department of Food Science and Human, 2003.

KRISTINSSON, H.G., *et al.* A comparative study between acid-and alkali-aided processing and surimi processing for the recovery of proteins from channel catfish muscle. **Food Chemistry and Toxicology**. v. 70, n°. 4, p. C298 - C 306, 2005.

KROCHTA, J.M.; MULDER-JOHNSTON, C. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. **Food Technology**, v.51, n.2, p.60-74, 1997.

LAEMMLI, U. K. Cheavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p.680-685, 1970.

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

LEE, C.S.; HAN, S.; BEAG, Y.W.; Improvement of adhesion between polyaniline and ion assisted-reaction-treated polypropylene. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 88, n. 2, p. 258-265, 2003.

LEHNINGER, A. L. Bioquímica. 2ª ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1976.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level, **Journal of Food Engineering**, v.100, p. 85-92, 2010.

LIU L., KERRY J.F., KERRY J.P., Effect of food ingredients and selected lipids on the physical properties of extruded edible films/casting. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, p. 295-302, 2006.

LIU, L.S.; LIU, C.K.; FISHMAN, M.L.; HICKS, K.B. Composite films from pectin and fish skin gelatin or soybean flour protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 2349-2355, 2007.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J.; J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, n.1, p. 265 -275, 1951.

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

MACLEOD, G. S.; FELL, J. T.; COLLETT, J. H. Studies on the physical properties of mixed pectina/methylcellulose films intended for colonic drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. Amsterdam, v.157, p.53-60, 1997.

MAQSOOD, S.; BENJAKUL, S. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. **Food Chemistry**. 119,123 –132, 2010.

MARCHI, J. F. **Desenvolvimento e avaliação de produtos à base de polpa e surimi produzidos a partir de tilápia Nilótica, *Oreochromis niloticus* L.** 1997, 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1997.

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

MARTÍN-POLO, M.; MAUGUIN, C.; VOILLE, Y. A. Hydrophobic films and their efficiency against moisture transfer, I, Influence of the film preparation technique. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, p. 407-412, 1992.

MATÉ, J. I.; KROCHTA, J. M. Whey protein coating effect on oxygen uptake of dry roasted peanuts. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 6, p. 1202-1206, 1996.

MONTERREY-QUINTERO E. S., SOBRAL A. P. J., Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de Tilapia – do- Nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de biofilmes. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.35, n. 1, p. 179-189, 2000.

MORÃES, K. S. **Recuperação e Utilização de Proteína da Carne de Frango Por Processo de Mudança de pH**. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande. 137p. Rio Grande, 2009.

MONTERREY-QUINTERO. E. S.; SOBRAL, A. P. J. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de Tilapia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de biofilmes. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.35, p.179-189, 2000.

MONTERREY, E. S.; SOBRAL, P. J. A. Caracterização de propriedades mecânicas e óticas de biofilmes a base de proteínas miofibrilares de tilápia do Nilo usando uma metodologia de superfície-resposta. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, vol. 19, n. 2, p. 294-301, 1999.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais**. São Paulo: Varela, 1998. 150p.

MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGESTEIN, J.M; VAN BUREN, J. M.; KILARA, A; LEWIS, B.A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a Standardized Food Protein Solubility Procedure. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 6, p. 1715-1718, 1985.

MÜLLER, C.; YAMASHITA, F.; LAURINDO, J. B.; Evaluation of effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. **Carbohydrate Polymer**, v. 72, n. 1, p. 82-87. 2008.

NOLSOE, H.; UNDELAND, I. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the art. **Food Bioprocess and Technology**, v. 2, p.1-27, 2009.

NUNES, S. B. Dissertação Mestrado. **Estabelecimento de um plano de análise de perigo e pontos críticos de controle (APPCC) para Peixe-Sapo (*Lophius piscatorius*) eviscerado e congelado**. Florianópolis: UFSC, 2001. 121p.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. 612 p.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. Manual de pesca - ciência e tecnologia de pescado. São Paulo: Varela, 1999. 1v.

OKESIE, B. O.; BELLO, A. B. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. **Journal of Food Science**, v. 53 (2), p. 540-554, 1988.

ONODO-YAMAMURO.;YAMAMURO,O.; INAMURA,Y.; NOMURA,H. Study on thermal gelation in aqueous solution of methylcellulose. **Phys. B**, v. 393, n. 158, 2007.

OZDEMIR, M.; FLOROS, J. D. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n.1, p. 116-133, 2008.

PAIVA, L.B.; MORALES, A.R.; GUIMARÃES, T.R. Propriedades Mecânicas de Nanocompósitos de Polipropileno e Montmorilonita Organofílica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.16, p. 136-140, 2006.

PASCHOALICK, T.; GARCIA F. T., SOBRAL P. J. 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, p. 419-427, 2003.

PHILLIPS, L.G.; HAQUE, Z.; KINSELLA, J.E.A Method for the Measurement of Foam Formation and Stability. **Journal of Food Science**, v.52, n.4, p.1074-1077, 1987.

PEIXOTO, M. R. S.; SOUSA, C. L.; MOTA, E. S. Utilização de pescada (*Macrodon ancylodon*) de baixo valor comercial para obtenção de surimi empregado na elaboração de salsicha com sabor de camarão. **Higiene Alimentar**, v.16, n.99, p.95-101, 2002.

PEROVAL, C.; DEBEAUFORT, F.; DESPRÉ, D.; VOILLEY, A. Edible arabinoxylan based films: 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.

PEREZ-GAGO, M. B., & KROCHTA, J. M. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. **Journal of Food Science**, v. 66, p. 705-710, 2001.

PEREZ GAGO M.B.; KROCHTA J.M. Drying temperature effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein – lipid emulsions films. **Journal Agriculture of Food Chemistry**, v. 48, p. 2687-2692, 2000

PESCA. Disponível em: < <http://pescaremangola.blogspot.com/p/peixes.html>>. Acesso em 10 de Nov. de 2010.

PINOTTI, A.; GARCÍA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 66-72, 2007.

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

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

PRANOTO, Y.; LEE, C.M.; PARK, H.J. Characterizations of fish gelatin films added with gellan and k-carrageenan. **LWT (Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie-Food Science and Technology)**, v. 40, p. 766-774, 2007.

PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; ARTHARN, A. Properties and microstructure of protein-based film from round scad (*Decapterus maruadi*) muscle as affected by palm oil and chitosan incorporation. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.41, p. 605-614, 2007.

PROTEINAS DO PEIXE. Propriedades funcionais das proteínas do peixe. *Food ingredients Brasil*, n.8, p.22-32, 2009.

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

REGENSTEIN; J.M. *Acquatic Food Products Division Lecture: Total utilization of fin fish*. Nova York: Dept. of Food Science. Ithaca: Cornell University.1984.

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

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

RHIM, J. W.; WU, Y.; WELLER, C. L.; SCHNEPE, M. Physical characteristics of emulsified soy protein-fatty acid composite films. *Sciences des Aliments*, v.19, p. 57-71, 1999.

RODRIGUEZ, M.; OSÉS, J.; ZIANI, K.; MATE, J. I. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food Research International*, v.39, p. 840–846, 2006.

ROSA, D, S.; FRANCO, B, L, M.; CALIL, M. R. Biodegradabilidade e propriedades Mecânicas de Novas Misturas Poliméricas. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 11, n.2, p. 82-88, 2001.

SALAS, A.B. Gelificación de las proteínas do pescado. In: CURSO DE CAPACITACIÓN, surimi. Callão: Instituto Tecnológico de Pesqueiro del Per, 2001.

SÁNCHEZ-GONZÁLES, L.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composit films. **Journal of food Engeneering**, v.98, p.443-452, 2010.

SANTOS, P.V. Elaboração, aditivação e caracterização de biofilmes à base de fécula de mandioca. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, **Faculdade de Engenharia de Alimentos**, 2004.

SANTOS, M.A.S.; D'ÁVILA, J.L. O comportamento do Mercado do Óleo de Palma no Brasil e na Amazônia. Estudos Setoriais 11, Belém – Pará, 1998.

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. 267 p. (2002).

SHIKU, Y.; HAMAGUCHI, P. Y.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Effect of surimi quality on properties of edible films based on Alaska Pollock. **Food Chemistry**,v. 86, p. 493-499, 2004.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 1997, 295p.

SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; HUBINGUER, M. D.; ROQUES, M. A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 423-432, 2001.

SOBRAL, P. J. A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteína miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Pirassununga, v.35, p. 1251-1259, 2000.

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

SOTHORNVIT, R.; KROCHTA, J.M. Plasticizer effect on oxygen permeability of β -lactoglobulina films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 6298-6302, 2000.

SOUZA, V. C. **Produção de filmes biopoliméricos a partir de quitosana com incorporação de fração lipídica**. 97p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos). Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2011.

SOUZA, S M A. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis biodegradáveis a base de proteínas miofibrilares bovina**. Campinas, 2001, 207p, Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SYRBE, A.; BAUER, W.J.; KLOSTERMEYER, H. Polymer Science Concepts in Dairy Systems – An Overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. **International Dairy Journal**. v. 8, p. 179-193, 1998.

STEVANATO, F.B. et al. Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27. p.567-571, 2007.

VANIN, F. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Effect of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin based films. **Food Hydrocolloids**, v.19, p. 889-907, 2005.

VARGAS, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Characterization of chitosan-oleic acid composite films. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.536-547, 2009.

VANIN, F. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Effect of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin based films. **Food Hydrocolloids**, v.19, p. 889-907, 2005.

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

VIANNA, J. F.; PIRES, D. X.; VIANA, L. H.. Processo químico industrial de extração de óleo vegetal: um experimento de química geral. **Química nova** , vol.22, n.5, p. 765-768,1999.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 198 p. 2003.

VIDOTTI, R.M.; GONÇALVES, G.S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. Instituto de Pesca, 2006. Disponível em:< www.pesca.sp.gov.br>. Acesso em: outubro de 2010.

TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Edible wheat gluten films: development, mechanical and barrier properties and application to strawberries (*Fragaria ananassa*), **Boletim CEPPA**, v. 20, p. 291-308, 2002.

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

THOMAZINE, M.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A. Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. **Journal of Food Science**, v.70, p. 172-176, 2005.

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, p. 426-433, 2011.

TOPPE, J. ALBREKTSEN, S.; HOPE, B.; AKSNES, A. Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. **Comparative Biochemistry and Physiology**. 146, 395–401, 2007.

TROPINI, V.; LENS, J.P.; MULDER, W.J.; SILVESTRE, F. Wheat gluten films cross-linked with 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide and n-hydroxysuccinimide. **Industrial Crops and Products**, v. 20, p. 281-289, 2004.

TURHAN, K. N.; AHBAZ, F. Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methycellulose-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 61, 459-466, 2004.

USYDUS, Z.; SZLINDER-RICHERT, J.; ADAMCZYK, M. Protein quality and amino acid profiles of fish products available in Poland. **Food Chemistry**. 112, 139–145, 2009.

WAHRLICH R. Corvina Um dos peixes mais importantes para a pesca na costa sudeste e sul do Brasil. **Sindipe**, n. 33, Abril/ Maio de 2009.

WANG, Q.; PADUA, G.W. Properties of zein films coated with drying oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 3444-3448, 2005.

WANG, L.; AUTY, M. A. E.; RAU, A.; KERRY, J. F.; KERRY, J.P. Effect of pH and addition of corn oil on the properties of gelatin- based biopolymer films. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 11-19, 2009.

WOLF, K. L. **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno**. Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, SP. 103 p. 2007.

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

YONGSAWATDIGUL, J.; PARK, J. W. Effects of alkali and acid solubilization on gelation characteristics of rockfish muscle proteins. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 7, p. 499-505, 2004.

XIAO, C.; LU, Y.; LIU, H.; ZHANG, L. Preparation and characterization of konjac glucomannan and sodium carboxymethylcellulose blend films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 80, p. 26-31, 2001.

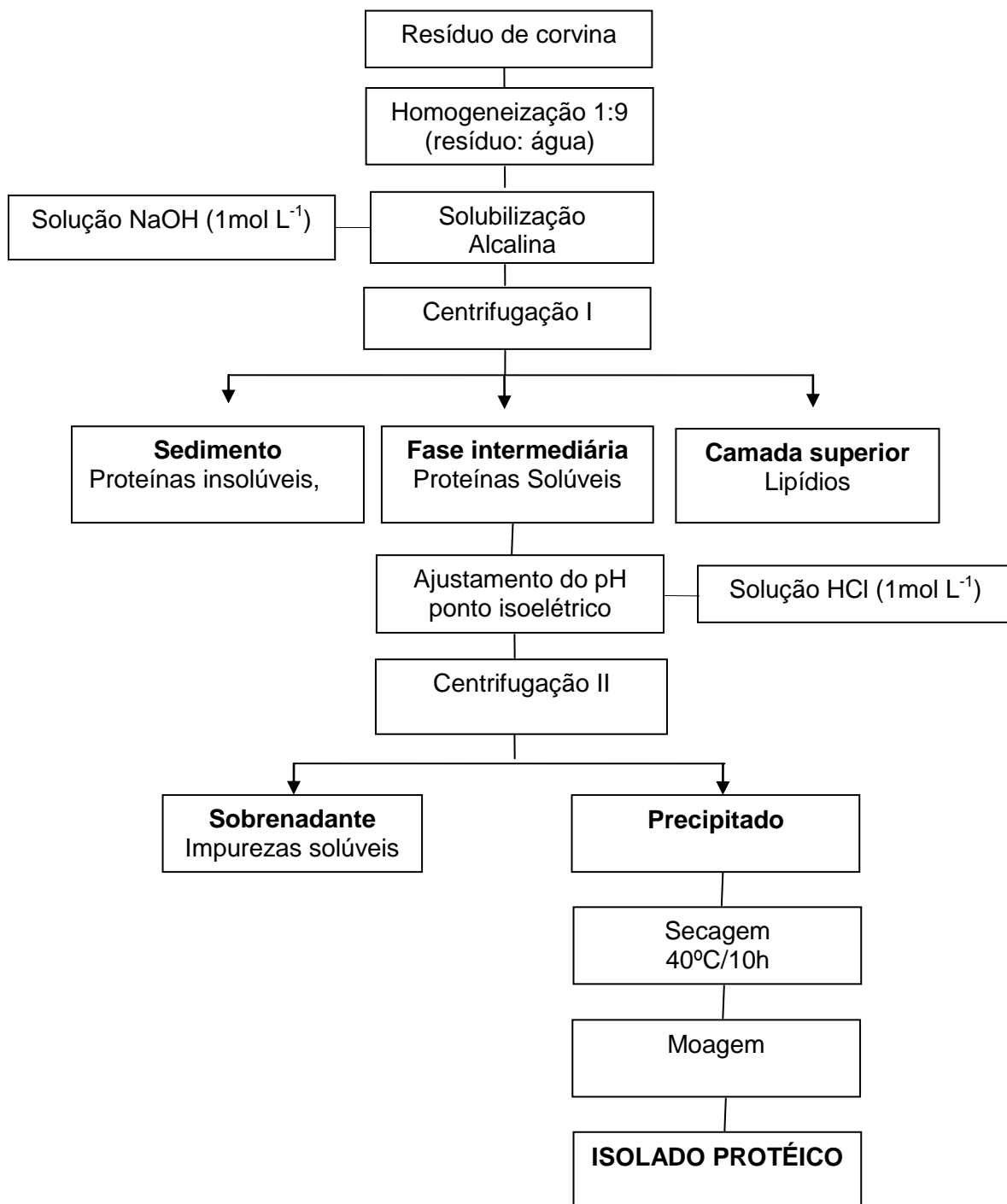
ZAHEDI, Y.; GHANBARZADEH, B.; SEDAGHAT, N. Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids. **Journal of food engineering**, (in press), 2010.

ZECHER, D.; GERRISH, T. Cellulose derivatives. In: A. Imeson (Ed.) **Thickening and Gelling Agents for Food**. London: Blackie Academic & Professional, p. 60-85, 1997.

CAPÍTULO VI
APÊNDICES E ANEXOS

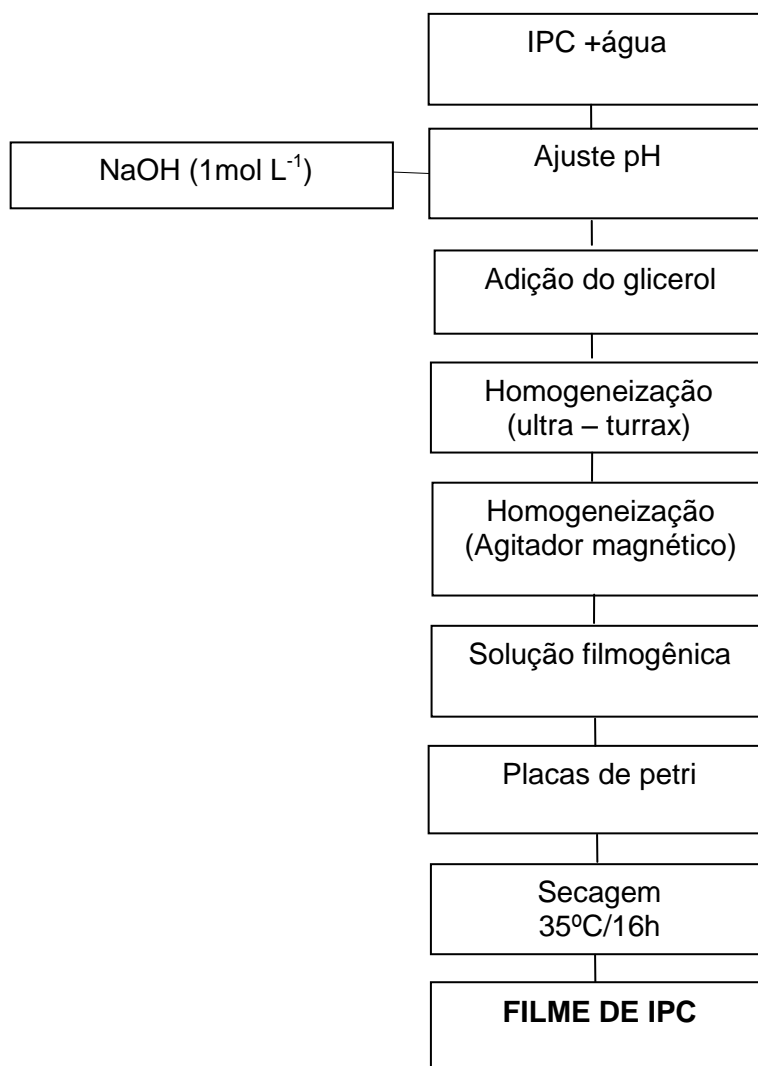
APÊNDICE 1

Fluxograma de obtenção do isolado protéico de resíduo de corvina



APÊNDICE 2

Fluxograma de obtenção do filme de isolado protéico de resíduo de corvina



APÊNDICE 3

Efeitos estimados para as respostas L*, cor a* e cor b* utilizando erro puro

| | <i>Luminosidade</i> | | | | <i>Cor a*</i> | | | | <i>Cor b*</i> | | | | | |
|---------------------------------|---------------------|------|---------|---------|---------------------------------|-------|---------|---------|---------------|---------------------------------|---------|---------|--------|-------|
| | EF | EP | Valor t | Valor p | CR | EP | Valor t | Valor p | EF | EP | Valor t | Valor p | | |
| Média* | 74,07 | 0,68 | 108,50 | <0,01 | Média* | 6,42 | 0,34 | 18,91 | <0,01 | Média* | 50,30 | 0,42 | 119,18 | <0,01 |
| X ₁ (L)* | -3,38 | 0,95 | -3,54 | 0,07 | X ₁ (L)* | 3,13 | 0,47 | 6,60 | 0,02 | X ₁ (L)* | 4,42 | 0,59 | 7,49 | 0,02 |
| X ₁ (Q) | 0,55 | 1,06 | 0,52 | 0,70 | X ₁ (Q) | 0,56 | 0,53 | 1,07 | 0,40 | X ₁ (Q) | 0,99 | 0,66 | 1,52 | 0,27 |
| X ₂ (L)* | 4,51 | 1,09 | 4,15 | 0,05 | X ₂ (L)* | -1,64 | 0,54 | -4,88 | 0,04 | X ₂ (L) | -0,45 | 0,67 | -0,67 | 0,57 |
| X ₂ (Q)* | -0,04 | 0,01 | -4,22 | 0,05 | X ₂ (Q)* | 0,02 | 0,00 | 4,97 | 0,04 | X ₂ (Q) | 0,00 | 0,00 | 0,82 | 0,50 |
| X ₃ (L) | -2,09 | 1,09 | -1,92 | 0,19 | X ₃ (L) | 0,02 | 0,54 | 0,04 | 0,97 | X ₃ (L) | -1,23 | 0,67 | -1,83 | 0,21 |
| X ₃ (Q) | 0,02 | 0,01 | 1,95 | 0,19 | X ₃ (Q) | -0,00 | 0,00 | -0,06 | 0,96 | X ₃ (Q) | 0,01 | 0,01 | -1,74 | 0,22 |
| X ₁ x X ₂ | 1,28 | 1,25 | 1,03 | 0,41 | X ₁ x X ₂ | -0,64 | 0,62 | -1,04 | 0,41 | X ₁ x X ₂ | -0,03 | 0,77 | -0,04 | 0,97 |
| X ₁ x X ₃ | 0,22 | 1,25 | 0,18 | 0,87 | X ₁ x X ₃ | -0,01 | 0,62 | -0,03 | 0,98 | X ₁ x X ₃ | -0,48 | 0,77 | -0,62 | 0,60 |
| X ₂ x X ₃ | 1,15 | 1,25 | 0,93 | 0,45 | X ₂ x X ₃ | -0,77 | 0,62 | -1,24 | 0,34 | X ₂ x X ₃ | 1,04 | 0,77 | -1,35 | 0,31 |

*(p≤0,10), EF: Efeito, EP: Erro padrão, X₁:Proteína, X₂: Glicerol, X₃:pH, (L): Coeficiente linear e (Q):Coeficiente quadrático,

APÊNDICE 4

Efeitos estimados para as respostas diferença de cor e opacidade r utilizando erro puro

| | Diferença de cor (ΔE^*) | | | | Opacidade | | | | |
|---------------------------------|--------------------------------------|------|---------|---------|---------------------------------|-------|---------|---------|-------|
| | EF | EP | Valor t | Valor p | EF | EP | Valor t | Valor p | |
| Média* | 53,71 | 0,70 | 76,24 | <0,01 | Média* | 18,62 | 0,56 | 33,29 | <0,01 |
| X ₁ (L)* | 4,87 | 0,98 | 4,94 | 0,04 | X ₁ (L) | -0,01 | 0,78 | -0,01 | 0,99 |
| X ₁ (Q) | 0,61 | 1,09 | 0,56 | 0,63 | X ₁ (Q) | 0,48 | 0,87 | 0,55 | 0,63 |
| X ₂ (L)* | -4,35 | 1,12 | -3,87 | 0,06 | X ₂ (L) | 0,64 | 0,89 | -0,72 | 0,54 |
| X ₂ (Q)* | 0,04 | 0,01 | 4,00 | 0,06 | X ₂ (Q) | 0,01 | 0,01 | 0,78 | 0,51 |
| X ₃ (L) | 0,87 | 1,12 | 0,77 | 0,52 | X ₃ (L) | 1,70 | 0,89 | 1,91 | 0,19 |
| X ₃ (Q) | -0,00 | 0,01 | -0,82 | 0,50 | X ₃ (Q) | -0,01 | 0,01 | -1,95 | 0,19 |
| X ₁ x X ₂ | -2,28 | 1,29 | -1,77 | 0,22 | X ₁ x X ₂ | -0,04 | 1,02 | -0,03 | 0,97 |
| X ₁ x X ₃ | 1,31 | 1,29 | 1,02 | 0,41 | X ₁ x X ₃ | -2,44 | 1,02 | -2,39 | 0,14 |
| X ₂ x X ₃ | 0,01 | 1,29 | 0,01 | 1,00 | X ₂ x X ₃ | 1,26 | 1,02 | 1,24 | 0,34 |

($p \leq 0,10$), EF: Efeito, EP: Erro padrão, X₁: Proteína, X₂: Glicerol, X₃: pH, (L): Coeficiente linear e (Q): Coeficiente quadrático,

APÊNDICE 5

Coeficientes de regressão para as respostas luminosidade, cor a* e cor b* utilizando erro puro considerando apenas as variáveis significativas

| | Cor a* | | | | Cor b* | | | | Diferença de cor (ΔE*) | | | | | |
|---------------------|---------------|-----------|----------------|----------------|---------------------|-----------|----------------|----------------|-------------------------------|---------------------|----------------|----------------|--------|-------|
| | CR | EP | Valor t | Valor p | CR | EP | Valor t | Valor p | CR | EP | Valor t | Valor p | | |
| Média | 6,42 | 0,34 | 18,91 | <0,01 | Média | 50,92 | 0,26 | 192,72 | <0,01 | Média | 53,73 | 0,46 | 117,11 | <0,01 |
| X ₁ (L)* | 1,56 | 0,47 | 6,60 | 0,02 | X ₁ (L)* | 2,21 | 0,29 | 7,49 | 0,02 | X ₁ (L)* | 2,43 | 0,49 | 4,94 | 0,04 |
| X ₂ (L)* | -1,29 | 0,54 | -4,88 | 0,04 | | | | | | X ₂ (L)* | -2,17 | 0,56 | -3,92 | 0,06 |
| X ₂ (Q)* | 0,01 | 0,00 | 4,97 | 0,04 | | | | | | X ₂ (Q)* | 0,02 | 0,01 | 4,04 | 0,06 |

* ($p \leq 0,10$), CR: Coeficiente de regressão, EP: Erro padrão, X₁: Proteína, X₂: Glicerol, X₃: pH, (L): Coeficiente linear e (Q): Coeficiente quadrático,

APÊNDICE 6

Análise de variância para as respostas luminosidade, cor a*, cor b* e diferença de cor um nível de 90% de confiança,

| Fonte de variação | <i>Soma Quadrática</i> | | | <i>Graus de liberdade</i> | | | <i>Média quadrática</i> | | | <i>F calculado</i> | | |
|-------------------|------------------------|--------|-----------------------------------|---------------------------|--------|-----------------------------------|-------------------------|--------|-----------------------------------|--------------------|--------|-----------------------------------|
| | Cor a* | Cor b* | Diferença de cor (ΔE^*) | Cor a* | Cor b* | Diferença de cor (ΔE^*) | Cor a* | Cor b* | Diferença de cor (ΔE^*) | Cor a* | Cor b* | Diferença de cor (ΔE^*) |
| Regressão | 57,71 | 66,53 | 183,65 | 3 | 1 | 3 | 19,23 | 66,53 | 66,22 | 7,78 | 19,97 | 8,19 |
| Resíduo | 32,18 | 50,93 | 105,10 | 13 | 15 | 13 | 2,47 | 3,33 | 8,08 | | | |
| Falta de ajuste | 30,64 | 48,56 | 98,49 | 11 | 13 | 11 | | | | | | |
| Erro puro | 1,54 | 2,37 | 6,61 | 2 | 2 | 2 | | | | | | |
| Total | 89,90 | 117,46 | 288,75 | 16 | 16 | 16 | | | | | | |

Cor a (R: 0,80, $F_{3;13} 0,90 = 2,56$), Cor b* (R: 0,75, $F_{3;7} 0,90 = 3,07$), ΔE^* (R: 0,80, $F_{3;13} 0,90 = 2,56$)

APÊNDICE 7

Efeitos estimados para as respostas resistência á tração e alongação utilizando erro puro,

| | <i>Resistência á tração</i> | | | | <i>Elongação</i> | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|------|---------|---------|-----------------------------------|--------|---------|---------|-------|
| | EF | EP | Valor t | Valor p | CR | EP | Valor t | Valor p | |
| Média* | 2,98 | 0,06 | 51,87 | <0,01 | Média* | 196,09 | 1,15 | 171,17 | <0,01 |
| X ₁ (L)* | 0,90 | 0,08 | 11,22 | 0,01 | X ₁ (L)* | -8,49 | 1,60 | -5,31 | 0,03 |
| X ₁ (Q) | 0,24 | 0,09 | 2,69 | <0,01 | X ₁ (Q)* | 18,94 | 1,78 | 10,65 | <0,01 |
| X ₂ (L)* | -1,36 | 0,09 | -14,78 | <0,01 | X ₂ (L)* | 13,54 | 1,83 | 7,42 | 0,02 |
| X ₂ (Q)* | 0,01 | 0,00 | 14,59 | <0,01 | X ₂ (Q)* | -0,12 | 0,02 | -6,56 | 0,02 |
| X ₃ (L)* | -1,68 | 0,09 | -18,30 | <0,01 | X ₃ (L)* | -13,87 | 1,83 | -5,60 | 0,02 |
| X ₃ (Q)* | 0,01 | 0,00 | 18,06 | 0,10 | X ₃ (Q)* | 0,12 | 0,02 | 6,83 | 0,02 |
| X ₁ x X ₂ * | 0,31 | 0,10 | 2,98 | 0,10 | X ₁ x X ₂ * | 8,17 | 2,10 | 3,91 | 0,06 |
| X ₁ x X ₃ | 0,09 | 0,10 | 0,88 | 0,47 | X ₁ x X ₃ * | -47,9 | 2,10 | -22,9 | <0,01 |
| X ₂ x X ₃ | -0,08 | 0,10 | -0,74 | 0,53 | X ₂ x X ₃ | 1,07 | 2,10 | 0,51 | 0,66 |

* ($p \leq 0,10$), EF: Efeito, EP: Erro padrão, X₁: Proteína, X₂: Glicerol, X₃: pH, (L): Coeficiente linear e (Q): Coeficiente quadrático,

APÊNDICE 8

Coeficientes de regressão para as respostas resistência a tração e alongação utilizando erro puro considerando apenas as variáveis significativas

| | <i>Resistência á tração</i> | | | | <i>Elongação</i> | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|------|---------|---------|-----------------------------------|--------|---------|---------|-------|
| | CR | EP | Valor t | Valor p | CR | EP | Valor t | Valor p | |
| Média* | 3,09 | 0,04 | 79,19 | <0,01 | Média* | 196,09 | 1,15 | 171,17 | <0,01 |
| X ₁ (L)* | 0,45 | 0,04 | 11,22 | 0,01 | X ₁ (L)* | -4,25 | 0,80 | -5,31 | 0,03 |
| X ₂ (L)* | -0,66 | 0,05 | -14,55 | <0,01 | X ₁ (Q)* | 9,47 | 0,89 | 10,65 | <0,01 |
| X ₂ (Q)* | 0,01 | 0,00 | 14,34 | <0,01 | X ₂ (L)* | 6,77 | 0,91 | 7,42 | 0,02 |
| X ₃ (L)* | -0,82 | 0,04 | -18,10 | <0,01 | X ₂ (Q)* | -0,06 | 0,01 | -6,56 | 0,02 |
| X ₃ (Q)* | 0,01 | 0,00 | 17,86 | <0,01 | X ₃ (L)* | -6,93 | 0,91 | -7,59 | 0,02 |
| X ₁ x X ₂ * | 0,16 | 0,05 | 2,98 | 0,10 | X ₃ (Q)* | 0,06 | 0,01 | 6,83 | 0,02 |
| | | | | | X ₁ x X ₂ * | 4,09 | 1,05 | 3,91 | 0,06 |
| | | | | | X ₁ x X ₃ * | -23,94 | 1,05 | -22,90 | <0,01 |

*(p≤0,10), CR: Coeficiente de regressão, EP: Erro padrão, X1 :Proteína , X2: Glicerol , X3:pH, (L): Coeficiente linear e (Q):Coeficiente quadrático,

APÊNDICE 9

Análise de variância para as respostas resistência á tração e alongação a um nível de 90% de confiança,

| Fonte de variação | <i>Soma Quadrática</i> | | <i>Graus de liberdade</i> | | <i>Média quadrática</i> | | <i>F calculado</i> | |
|-------------------|------------------------|-----------|---------------------------|-----------|-------------------------|-----------|----------------------|-----------|
| | Resistência á tração | Elongação | Resistência á tração | Elongação | Resistência á tração | Elongação | Resistência á tração | Elongação |
| Regressão | 16,73 | 17821,08 | 6 | 8 | 2,79 | 2227,64 | 4,65 | 3,35 |
| Resíduo | 6,17 | 5317,32 | 10 | 8 | 0,6 | 664,66 | | |
| Falta de ajuste | 6,13 | 5299,83 | 8 | 6 | | | | |
| Erro puro | 0,04 | 17,49 | 2 | 2 | | | | |
| Total | 22,90 | 23138,40 | 16 | 16 | | | | |

*Resistência á tração (R: 0,85 $F_{6; 10} 0,90 = 2,46$), Elongação (R: 0,88, $F_{8; 8} 0,90 = 2,59$)

APÊNDICE 10

Efeitos estimados para as respostas espessura, solubilidade e Permeabilidade ao vapor de água (PVA) utilizando erro puro,

| | <i>Espessura</i> | | | | <i>Solubilidade</i> | | | | <i>PVA</i> | | | | | |
|-----------------------------------|------------------|------|---------|---------|-----------------------------------|-------|---------|---------|------------|-----------------------------------|---------|---------|--------|-------|
| | EF | EP | Valor t | Valor p | EF | EP | Valor t | Valor p | EF | EP | Valor t | Valor p | | |
| Média* | 0,20 | 0,00 | 517,81 | <0,01 | Média* | 33,37 | 0,45 | 74,13 | <0,01 | Média* | 11,4 | 0,06 | 177,13 | <0,01 |
| X ₁ (L)* | 0,03 | 0,00 | 65,31 | <0,01 | X ₁ (L) | -0,66 | 0,63 | -1,05 | 0,40 | X ₁ (L)* | 0,5 | 0,09 | 5,74 | 0,03 |
| X ₁ (Q)* | 0,01 | 0,00 | 31,21 | <0,01 | X ₁ (Q) | -1,61 | 0,70 | -2,31 | 0,15 | X ₁ (Q)* | -0,1 | 0,10 | -0,60 | 0,61 |
| X ₂ (L) | -0,00 | 0,00 | -0,55 | 0,64 | X ₂ (L)* | 3,13 | 0,72 | 4,36 | 0,05 | X ₂ (L)* | 1,9 | 0,10 | 18,92 | <0,01 |
| X ₂ (Q) | 0,00 | 0,00 | 1,60 | 0,25 | X ₂ (Q)* | -0,03 | 0,01 | -4,34 | 0,05 | X ₂ (Q)* | -0,0 | 0,00 | -18,31 | <0,01 |
| X ₃ (L)* | 0,01 | 0,00 | -19,07 | <0,01 | X ₃ (L)* | 3,49 | 0,62 | 4,85 | 0,04 | X ₃ (L)* | -0,8 | 0,10 | -7,83 | 0,02 |
| X ₃ (Q)* | 0,00 | 0,00 | 19,72 | <0,01 | X ₃ (Q)* | -0,03 | 0,01 | -5,14 | 0,04 | X ₃ (Q)* | 0,0 | 0,00 | 7,92 | 0,02 |
| X ₁ x X ₂ * | -0,01 | 0,00 | -16,62 | 0,00 | X ₁ x X ₂ * | 2,61 | 0,82 | 3,18 | 0,09 | X ₁ x X ₂ * | 0,2 | 0,12 | 1,44 | 0,29 |
| X ₁ x X ₃ * | -0,03 | 0,00 | 38,57 | 0,00 | X ₁ x X ₃ | 0,16 | 0,82 | 0,19 | 0,86 | X ₁ x X ₃ | -0,1 | 0,12 | -0,64 | 0,59 |
| X ₂ x X ₃ * | -0,00 | 0,00 | 4,60 | 0,04 | X ₂ x X ₃ | -1,44 | 0,82 | 1,76 | 0,22 | X ₂ x X ₃ * | 2,1 | 0,12 | 17,57 | <0,01 |

* ($p \leq 0,10$), EF: Efeito, EP: Erro padrão, X₁: Proteína, X₂: Glicerol, X₃: pH, (L): Coeficiente linear e (Q): Coeficiente quadrático,

APÊNDICE 11

Coeficientes de regressão para as respostas solubilidade e PVA utilizando erro puro considerando apenas as variáveis significativas

| | <i>PVA</i> | | | | <i>Solubilidade</i> | | | | |
|-----------------------------------|------------|------|---------|---------|-----------------------------------|-------|---------|---------|-------|
| | CR | EP | Valor t | Valor p | CR | EP | Valor t | Valor p | |
| Média* | 11,41 | 0,06 | 177,13 | <0,01 | Média* | 32,61 | 0,31 | 106,53 | <0,01 |
| X ₁ (L)* | 0,26 | 0,04 | 5,74 | 0,26 | X ₂ (L)* | 1,45 | 0,36 | 4,07 | 0,05 |
| X ₂ (L)* | 0,97 | 0,05 | 18,92 | <0,01 | X ₂ (Q)* | -0,01 | 0,00 | -4,03 | 0,06 |
| X ₂ (Q)* | -0,01 | 0,00 | -18,31 | <0,01 | X ₃ (L)* | 1,62 | 0,36 | 4,57 | 0,04 |
| X ₃ (L)* | -0,40 | 0,05 | -7,83 | 0,01 | X ₃ (Q)* | -0,02 | 0,00 | -4,84 | 0,04 |
| X ₃ (Q)* | 0,00 | 0,00 | 7,93 | 0,01 | X ₁ x X ₂ * | 1,31 | 0,41 | 3,18 | 0,09 |
| X ₂ x X ₃ * | 1,03 | 0,06 | 17,57 | <0,01 | | | | | |

* ($p \leq 0,10$), CR: Coeficiente de regressão, EP: Erro padrão, X₁: Proteína, X₂: Glicerol, X₃: pH, (L): Coeficiente linear e (Q): Coeficiente quadrático,

APÊNDICE 12

Análise de variância para a resposta solubilidade a um nível de 90% de confiança,

| Fonte de variação | <i>Soma Quadrática</i> | | <i>Graus de liberdade</i> | | <i>Média quadrática</i> | | <i>F calculado</i> | |
|-------------------|------------------------|-------|---------------------------|-----|-------------------------|------|----------------------|------|
| | Solubilidade em água | PVA | Solubilidade em água | PVA | Solubilidade em água | PVA | Solubilidade em água | PVA |
| Regressão | 161,14 | 30,06 | 5 | 6 | 32,23 | 5,01 | 3,20 | 2,17 |
| Resíduo | 110,78 | 23,00 | 11 | 10 | 10,07 | 2,30 | | |
| Falta de ajuste | 108,08 | 22,95 | 9 | 8 | | | | |
| Erro puro | 2,70 | 0,05 | 2 | 2 | | | | |
| Total | 271,92 | 53,06 | 16 | 6 | | | | |

*Solubilidade (R: 0,80, $F_{5; 11; 0,90} = 2,45$), PVA (R: 0,75, $F_{6; 11; 0,90} = 2,46$)

APÊNDICE 13

Filme a base de isolado protéico de corvina incorporado com óleo de palma

ANEXO 1

Perfil de ácidos graxos livres (%) presentes no óleo de palma,

| Ácidos Graxos | (%) |
|-----------------------------|------------|
| Ácido Láurico (C 12:0) | < 0,4 |
| Ácido Mirístico (C 14:0) | 0,5 - 2 |
| Ácido Palmítico (C 16:0) | 35 - 47 |
| Ácido Palmitoleico (C 16:1) | < 0,6 |
| Ácido Esteárico (C 18:0) | 3,5 – 6,5 |
| Ácido Oléico (C 18:1) | 36 - 47 |
| Ácido Linoléico (C 18:2) | 6,5 - 15 |
| Ácido Linolênico (C 18:3) | < 0,5 |
| Ácido Araquídico (C 20:0) | < 1 |
| Ácidos Trans | < 0,5 |