UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ANA MÔNICA QUINTA BARBOSA BITTANTE

**Filmes biodegradáveis à base de proteína da torta de mamona:
efeito do pH de extração das proteínas e do reforço com fibras de
sisal e/ou glioxal**

ANA MÔNICA QUINTA BARBOSA BITTANTE

**Filmes biodegradáveis à base de proteína da torta de mamona:
efeito do pH de extração das proteínas e do reforço com fibras de
sisal e/ou glioxal**

“Versão corrigida”

Tese apresentada à Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo como
parte dos requisitos para a obtenção
do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da
Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Paulo José do
Amaral Sobral

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo

B624f

Bittante, Ana Mônica Quinta Barbosa
Filmes biodegradáveis à base de proteína da torta de
mamona: efeito do pH de extração das proteínas e do
reforço com fibras de sisal e/ou glioxal / Ana Mônica
Quinta Barbosa Bittante. -- Pirassununga, 2015.

136 f.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de
Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral.

1. Biopolímeros 2. Material biodegradável
3. Propriedade mecânica 4. Solubilidade 5. Umidade.
I. Título.

Dedico aos amores da minha vida,

Nei, João Victor e Livia.

Pelo carinho, compreensão, apoio e paciência.

A meus pais que se foram tão cedo...

Saudade tem nome...

”Se não puder voar, corra.

Se não puder correr, ande.

Se não puder andar, rasteje,

mas continue em frente de qualquer jeito.”

Martin Luther King

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos e pelas portas que Ele tem aberto em todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador, Professor Dr. Paulo José do Amaral Sobral, pela paciência, pelos ensinamentos e apoio nessa jornada. Que me fez sair da zona de conforto e ir além, contribuindo com o enriquecimento da minha vida da pessoal e minha formação profissional.

À Professora Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho, pelo apoio, contribuições e incentivo nesta caminhada.

Às Professoras Dras. Catarina Abdalla Gomide e Izabel Cristina Freitas de Moraes pelo incentivo durante todo este trabalho.

Aos Chefes do Departamento de Engenharia de Alimentos (ZEA/FZEA) pela autorização de ausência no trabalho.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP) e à Comissão de Pós-Graduação da FZEA pela oportunidade de realização desta tese.

À FAPESP, pelo financiamento do projeto: Desenvolvimento de materiais biodegradáveis à base de proteína da torta de mamona, subproduto da cadeia agroindustrial do biodiesel (Proc. FAPESP 2008/11341-5).

A empresa A. Azevedo Ind. Com. de Óleos Ltda, por ter gentilmente cedido a torta de mamona.

Ao Prof. Dr. Holmer Savastano Jr, por ter cedido a fibra de sisal, e a sua equipe de trabalho, aqui representada pela Mariana, pelo Diego e Sérgio.

À minha fiel e grande amiga Roseli, que me acompanha desde sempre, pelos momentos de descontração e crise, pela dedicação e disponibilidade, pelo incentivo e apoio. “A amizade desenvolve a felicidade e reduz o sofrimento, duplicando a nossa alegria e dividindo a nossa dor.” (Leon Tolstói)

Aos amigos das Secretarias do ZAZ, e do ZEA, Estela, Delaine, Paulo, Reginaldo, Paula, Henrique, Tadeu, Rafael e Alessandra pela colaboração, incentivo e amizade.

Ao amigo Paulo Toneti pelo auxílio e ao Prof. Valdo Herling por autorizar a utilização da estufa de germinação.

Aos funcionários da pós-graduação pelo bom trabalho e disponibilidade em ajudar.

Aos funcionários da Biblioteca, em especial ao Girleí, pela atenção e disponibilidade.

A toda equipe do Laboratório de Tecnologia de Alimentos pela compreensão e apoio.

Às estagiárias Patrícia Costa, Alessandra Amorim, Heloísa Moreira, Líliam Oliveira, Fernanda Braz, Nathalia Almeida e Roberta Kuniyoshi pelos momentos de descontração, pela amizade e pelo valioso auxílio nas análises laboratoriais. Agradeço de coração a cada um de vocês

Ao amigo Rodrigo Lourenço pelo trabalho, pela disponibilidade, incentivo e apoio.

Aos amigos de laboratório Cunha, Roberta, Raphael pelas análises realizadas e pela colaboração.

Aos amigos Rosilda, Vanessa, Fábio, Carla e Keila pelos momentos de descontração, incentivo e pela amizade.

Aos amigos Noemi Chambi, Gisele Makishi, Flávia Vargas, Carla Luciano e Lucas Arantes que muito me ajudaram para que este trabalho se concretizasse, sem a ajuda de vocês o meu caminho seria muito mais árduo. Agradeço imensamente a cada um de vocês.

À amiga Edneli pela paciência.

À minha família, por estarem tão perto e presentes, independentemente da distância física que nos separa.

Aos amores de minha vida Néi, João Victor e Lívía. Vocês são o melhor presente que Deus me deu! Sem vocês eu não seria quem sou. Amo vocês!

Por fim agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento e conclusão desta tese.

Muito obrigada a todos!!!!!!!!!!

RESUMO

BITTANTE, A.M.Q.B. **Filmes biodegradáveis à base de proteína da torta de mamona: efeito do pH de extração das proteínas e do reforço com fibras de sisal e/ou glioxal.** 2015. Tese (Doutorado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

O Brasil é o terceiro maior produtor de mamona do mundo e o maior produtor da América do Sul. O óleo da mamona tem grande potencial na cadeia de produção de biodiesel, sendo interessante a geração de recursos dos subprodutos, como a torta de mamona. Apesar de ser rica em proteínas, a torta de mamona tem limitada aplicação em virtude da presença da ricina, que apresenta elevada toxidez. Assim, esperando-se valorizar esse subproduto com novas aplicações tecnológicas, o objetivo desta tese foi o desenvolvimento de filme biodegradável a partir da proteína extraída da torta de mamona. Especificamente, estudou-se o efeito do pH (10, 11 e 12) de extração das proteínas sobre algumas propriedades físicas (espessura, propriedades mecânicas, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água e umidade) dos filmes produzidos. A partir da avaliação destes resultados, foi então definido o pH de extração da proteína da torta de mamona para o segundo estudo que envolveu a produção de filmes à base da proteína extraída da torta de mamona, reforçados com fibra de sisal e/ou glioxal. Primeiramente, as proteínas foram extraídas em um reator, adicionando-se 20% de torta de mamona na solução de NaOH (pH= 10, 11 e 12), com velocidade de agitação de 400 rpm e a 50°C. A separação do extrato proteico do resíduo insolúvel foi feita por centrifugação (4.000 rpm). Os extratos foram liofilizados e submetidos a análises para determinação da composição centesimal e dos aminoácidos. Isotermas de sorção dessas proteínas foram determinadas a 25°C. Os filmes foram produzidos por “casting”, ou seja, pela desidratação de soluções filmogênicas com concentração constante de proteínas. No primeiro estudo, utilizou-se 7,5g de proteína/100g de solução filmogênica, agente reticulante glutaraldeído (0,8g de glutaraldeído/100g de proteína) e plastificante glicerol (25g de glicerol/100g de proteína). No segundo estudo, utilizou-se 6g de proteína/100g de solução filmogênica, agente reticulante glioxal (0,5g de glioxal/100g de proteína), fibra de sisal (20g de fibra/100g de proteína) e plastificante glicerol (25g de glicerol/100g de proteína). Os filmes foram avaliados subjetiva e objetivamente, através da determinação da espessura, do brilho, dos parâmetros de cor e opacidade, da microestrutura, das propriedades mecânicas por testes de tração e perfuração, da umidade, da solubilidade em água, da calorimetria diferencial de varredura, das isotermas de sorção e da espectroscopia por transformada de Fourier. Os extratos de proteínas liofilizadas foram ricos em proteínas (66-69%), em todos os pH estudados, sendo rico também em sais minerais (12-24%), possivelmente devido ao emprego de NaOH. Não se observou diferenças na composição de aminoácidos em função do pH de extração. No primeiro estudo, os filmes produzidos apresentaram-se com coloração amarronzada e com aspecto visual homogêneo, independentemente do pH de extração das proteínas. Observou-se que o pH de extração das proteínas influenciou as propriedades mecânicas dos filmes. O aumento do pH implicou em filmes mais resistentes à tração e à perfuração, cuja tensão na ruptura e a força na perfuração

foram 4,5 MPa e 6,5 N, respectivamente, para os filmes produzidos com proteínas extraídas no pH=12. Entretanto, independentemente das diferenças obtidas, esses filmes se mostraram pouco deformáveis, com elongação na ruptura e deformação na perfuração cerca de 1,5 e 3,2%, respectivamente. A solubilidade em água também foi afetada pelo pH de extração das proteínas da torta de mamona. Enquanto o filme produzido com proteínas extraídas em pH=10 foi completamente solúvel em água, os filmes de proteínas extraídas em pH=12 apresentaram solubilidade de 58,5%. A umidade dos filmes não dependeu do pH, ficando em torno de 13%. No segundo estudo, a adição da fibra de sisal na solução filmogênica tornou os filmes mais rugosos, sem mudanças visuais perceptíveis em função da presença de glioxal. A adição da fibra de sisal na formulação aumentou a espessura dos filmes de 0,11 para 0,16mm e diminuiu o brilho medido no ângulo de 60°, a força na perfuração de 11,2 para 9,1N, a deformação na perfuração de 5,7 para 2,4%, a tensão na ruptura de 10,3 para 5,1 MPa, a elongação na ruptura de 78,5 para 24,2% sem contudo alterar o módulo elástico dos filmes, que permaneceu em torno de 1,1-1,5 MPa. A solubilidade em água dos filmes diminuiu de 42,8 para 36,8%, porém a umidade dos filmes não foi afetada, permanecendo em torno de 14%. A permeabilidade ao vapor de água aumentou em cerca de 50%, passando de 0,6 para 1,2 g.mm/h.m².kPa. Quanto aos parâmetros de cor, de modo geral, a adição das fibras causou um aumento da luminosidade (L^*) e da opacidade, e diminuição dos cromas a^* e b^* e da diferença total de cor (ΔE^*). Na calorimetria diferencial de varredura, a adição da fibra aumentou a temperatura de transição vítrea da fração rica em glicerol. Avaliando as isotermas de sorção, pode-se sugerir que a fibra influenciou na capacidade de absorção de água dos filmes. Não foi possível detectar alterações nos espectros de FTIR em nenhuma das formulações produzidas, provocadas pela reticulação da proteína liofilizada de torta de mamona dos filmes produzidos, nem pela fibra de sisal nos espectros gerados. Em conclusão, o pH 12 de extração das proteínas da torta da mamona proporcionou melhores filmes produzidos com essas proteínas, e a adição de fibras de sisal não implicou em melhoras nas propriedades dos filmes, contrariamente ao glioxal.

Palavras chave: biopolímeros, material biodegradável, propriedade mecânica, solubilidade, umidade.

ABSTRACT

BITTANTE, A.M.Q.B. **Biodegradable films made with proteins from castor bean cake: effect of protein extraction pH and sisal fiber and/or glyoxal reinforcement.** 2015. Thesis (PhD) – Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2015.

Brazil is the world's third largest castor bean producer and the largest producer in South America. The castor bean oil has great potential in the biodiesel production chain, with interesting resource generation of its by-products such as the castor bean cake. Despite being rich in proteins, castor bean cake has limited application due to the presence of ricin, which presents high toxicity. Thus, hoping to enhance this by-product with new technological applications, the aim of this thesis was the development of biodegradable film with the protein extracted from castor bean cake. Specifically, the effect of protein extraction pH (10, 11, 12) on some physical properties (thickness, mechanical properties, water solubility, permeability to water vapor and moisture) of the films was studied. From the evaluation of these results, it was then defined pH extraction of castor bean cake protein for the second study, which involved the production of films made of protein extracted from castor bean, reinforced with sisal fiber and/or glyoxal. Firstly, proteins were extracted in a reactor, by adding 20% of castor bean cake in a NaOH solution (pH = 10, 11 and 12), with 400 rpm stirring speed and 50°C. Separation of the protein extract from the insoluble residue was made by centrifugation (4,000 rpm). Extracts were freeze-dried and had their chemical composition and amino acids determined. Sorption isotherms of these proteins were determined at 25°C. The films were produced by casting, i.e., by dehydration of film-forming solutions prepared with constant protein concentration. In the first study, we used 7.5g protein/100g film-forming solution, crosslinking agent (0.8g glutaraldehyde/100g protein), and plasticizer (25g glycerol/100g protein). In the second study, it was used 6g protein/100g film-forming solution, crosslinking agent (0.5g glyoxal/100g protein), sisal fiber (20g fiber/100g protein) and plasticizer (25g glycerol/100g protein). The films were evaluated subjectively and objectively, by the assessment of the following determinations: thickness, gloss, color and opacity parameters, microstructure, mechanical properties for tensile and puncture force tests, moisture, film solubility in water, differential scanning calorimetry, sorption isotherms and Fourier transform spectroscopy. The freeze-dried proteins were rich in proteins (66-69%) for every studied pH, the mineral salts content was high (12-24%) as well, possibly due to the use of NaOH. No significant difference in the amino acid composition was observed for the tested extraction pH values. In the first study, the films presented brownish color and homogeneous visual appearance irrespective of the protein extraction pH. It was observed that the protein extraction pH influenced mechanical properties of the films. The increase in pH resulted in films more resistant to tensile and puncture, with tensile strength and puncture force values of 4.5MPa and 6.5N, respectively, to the films produced with proteins extracted in pH 12. However, regardless of the differences obtained, these films showed to be little extensible, with elongation at break and puncture deformation around 1.5% and 3.2%, respectively. The film solubility in water was also affected by the extraction pH of the castor bean cake proteins. While the film produced with proteins extracted at

pH 10 was completely soluble in water, films made with proteins extracted at pH 12 showed solubility of 58.5%. The moisture of the films did not depend on pH and remained around 13%. In the second study, the addition of sisal fiber in the film-forming solution made the films rougher, without noticeable visual changes due to the presence of glyoxal. The addition of sisal fiber in the formulation increased film thickness from 0.11 to 0.16mm and reduced gloss measured at 60° angle, puncture force from 11.2 to 9.1N, the puncture deformation from 5.7 to 2.4%, the tensile strength from 10.3 to 5.1MPa, and the elongation at break from 78.5 to 24.2% without altering the elastic modulus of the films, which remained around 1.1-1.5MPa. The film solubility in water decreased from 42.8 to 36.8%, but the moisture of the films was not affected, which was remaining around 14%. The water vapor permeability increased about 50%, from 0.6 to 1.2 g.mm/h.m².kPa. As for the color parameters, in general, the addition of the fibers caused an increase in lightness (L*) and opacity, and decreased the monochromatic a* and b*, and the total color difference (ΔE^*). In the differential scanning calorimetry assay, the addition of fiber increased the glass transition temperature of the glycerol-rich fraction. Evaluating the sorption isotherms, it can be suggested that the fiber influenced the water absorption capacity of the films. It was not possible to detect changes in FTIR spectra produced by the crosslinking of castor bean cake freeze-dried protein of films, as well by the sisal fiber. In conclusion, the extraction at pH 12 of the castor bean cake proteins provided the best films produced, and the addition of sisal fibers did not result in improvements in film properties, contrary to glyoxal.

Keywords: biopolymers, biodegradable material, mechanical property, solubility, moisture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fluxograma do processo de extração e processamento do óleo de mamona.....	28
Figura 2 Estrutura química de alguns agentes reticulantes.....	35
Figura 3 Torta de mamona original (A) e após moagem (B).....	41
Figura 4 Moinho de rotor termostatizado.....	42
Figura 5 Fibra de sisal original (A) e após moagem (B).....	43
Figura 6 Reator com controles digitais de agitação, temperatura e Ph.....	44
Figura 7 Centrifuga refrigerada, extrato proteico centrifugado e congelado em nitrogênio líquido.....	45
Figura 8 Liofilizador contendo extrato proteico previamente congelado em nitrogênio líquido.....	45
Figura 9 Equipamento DSC equipado com acessório para resfriamento.....	48
Figura 10 Microscópio de eletrônico de varredura.....	51
Figura 11 Estéreo microscópio Cover-015 SZX7, com lente DF PL 2x e câmera Q Color 3 acopladas.....	52
Figura 12 Micrômetro digital.....	57
Figura 13 Glossímetro utilizado na análise de brilho.....	58
Figura 14: Texturômetro equipado com sonda de perfuração.....	61
Figura 15 Texturômetro equipado com sonda de tração.....	62
Figura 16 Espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), munido de acessório UATR.....	66
Figura 17 Curvas de DSC das PLTM extraídas em pH = 10, 11 e 12.....	72

Figura 18 Isotermas de sorção das PLTM mamona obtidas em pH 10, em pH 11 e em pH 12.....	73
Figura 19 Micrografias da fibra de sisal inteira (A e B) e EDS dos cristais de impureza (C).....	77
Figura 20 Micrografias da fibra de sisal após a moagem. A=aumento de 50x; B=aumento de 100x e C= aumento de 500x.....	78
Figura 21 Distribuição das medidas de largura (A) e comprimento (B) das fibras de sisal utilizadas na produção de filmes à base de proteína de torta de mamona. Micrografias ópticas das fibras de sisal (C).....	79
Figura 22 Filmes produzidos com PLTM extraídas em pH 10 (esquerda), 11 (centro) e 12 (direita).....	81
Figura 23 Exemplos de curvas do teste de perfuração dos filmes elaborados com PLTM em pH 10, pH 11 e pH 12.	82
Figura 24 Exemplos de curvas do teste de tração dos filmes produzidos com PLTM em pH 10, pH 11 e pH 12.	84
Figura 25 Filmes produzidos à base de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.....	89
Figura 26 Micrografias da superfície de secagem (em contato com o ar) (esquerda) e da superfície em contato com o suporte (placa) (direita) dos filmes á base de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.....	99

Figura 27 Exemplo de imagem (esquerda) e gráfico gerado (direita) por espectroscopia dispersiva de raio X – EDS realizada nas partículas presentes nos filmes de PLTM.....	100
Figura 28 Micrografias das superfícies criofraturadas dos filmes à base de PLTM. Aumento de 500x (esquerda) e 2.000x (direita). F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.....	102
Figura 29 Exemplos de curvas de perfuração dos filmes produzidos à base de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.....	104
Figura 30 Exemplos de curvas de tração dos filmes produzidos à base de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.....	107
Figura 31 Exemplos de curvas de calorimetria diferencial de varredura dos filmes à base PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.....	115
Figura 32 Isotermas de sorção dos filmes produzidos com a PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.....	117
Figura 33 Espectro de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) dos filmes de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.....	120

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição bromatológica de tortas de mamona.....	29
Tabela 2 - Composição em aminoácidos na torta de mamona destoxicada.....	30
Tabela 3 - Valores de atividade de água (a_w) nas temperaturas de 15, 25 e 35°C para soluções salinas saturadas dos sais utilizados.....	49
Tabela 4 - Formulações dos filmes produzidos à base de proteína extraída da torta de mamona.....	54
Tabela 5 - Análise bromatológica das proteínas extraídas da torta de mamona em pH = 10, 11 e 12.....	68
Tabela 6 – Composição de aminoácidos das PLTM extraídas em pH = 10, 11 e 12.....	71
Tabela 7 - Parâmetros da equação de GAB.....	74
Tabela 8 – Composição química média da fibra de sisal moída.....	76
Tabela 9 – Espessura dos filmes produzidos com a PLTM extraída em pH = 10, 11 e 12.....	81
Tabela 10 – Valores de força na perfuração (FP) e deformação na perfuração (DP) dos filmes à base de PLTM extraídas em pH=10, 11 e 12.....	83
Tabela 11 – Valores de tensão na ruptura (TR), alongação na ruptura (ER) e módulo elástico (ME) dos filmes à base de PLTM.....	85
Tabela 12 - Solubilidade e umidade dos filmes à base de proteína de mamona.....	87
Tabela 13 – Espessura dos filmes produzidos à base de PLTM.....	90

Tabela 14 – Valores de brilho para 20° e 60° dos filmes à base de PLTM para a superfície de secagem (em contato com o ar) e para a superfície em contato com o suporte (placa).....	93
Tabela 15 – Valores dos parâmetros L*, a*, b* dos filmes à base de PLTM para a superfície de secagem (em contato com o ar) e para a superfície em contato com o suporte (placa).....	95
Tabela 16 - Valores dos parâmetros ΔE^* e Opacidade dos filmes à base de PLTM para a superfície de secagem (em contato com o ar) e para a superfície em contato com o suporte (placa).....	96
Tabela 17 – Valores de força na perfuração (FP) e deformação na perfuração (DP) dos filmes produzidos à base de PLTM.....	105
Tabela 18 – Valores de tensão na ruptura (TR), alongação na ruptura (ER) e módulo de elasticidade (ME) dos filmes produzidos à base de PLTM.....	109
Tabela 19 - Solubilidade e Umidade dos filmes à base de PLTM.....	110
Tabela 20 - Valores de permeabilidade no vapor de água dos filmes à base de PLTM.....	112
Tabela 21 - Valores de transições de fase (Tg e Tm) e entalpia de fusão (ΔH) dos filmes de PLTM.....	114
Tabela 22 – Coeficientes para as isotermas de sorção dos filmes de PLTM.....	118

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 OBJETIVOS	24
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
3.1 TORTA DE MAMONA.....	25
3.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS À BASE DE PROTEÍNAS	30
3.2.1 Características de filmes à base de proteínas vegetais	32
3.2.2 Modificação química em proteínas.....	33
3.2.3 Modificação química em filmes à base de proteínas vegetais	35
3.2.4 Filmes à base de biopolímeros reforçados com fibras vegetais.....	37
3.2.5 Fibra de Sisal	39
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 MATERIAL.....	41
4.1.1 Torta de mamona	41
4.1.2 Fibra de sisal.....	42
4.1.3 Reagentes.....	43
4.2 EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA DA TORTA DE MAMONA.....	43
4.3 CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA LIOFILIZADA DA TORTA DE MAMONA.....	46
4.3.1 Análises bromatológicas	46
4.3.2 Composição de aminoácidos	46
4.3.3 Estudo das proteínas por calorimetria diferencial de varredura (DSC)	47
4.3.4 Isotermas de sorção.....	48
4.4 CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA SISAL (<i>Agave sisalana</i>).....	50
4.4.1 Análises bromatológicas	50
4.4.2 Morfologia da fibra de sisal	51
4.4.2.1 Estrutura superficial da fibra de sisal	51
4.4.2.2 Largura e comprimento da fibra de sisal.....	52
4.5 ESTUDO DO EFEITO DO pH DE EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS SOBRE OS FILMES.....	53

4.6 ESTUDO DO EFEITO DO REFORÇO COM FIBRA DE SISAL E/OU RETICULANTE GLIOXAL.....	54
4.7 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES	55
4.7.1 Aspectos visuais.....	56
4.7.2 Espessura	56
4.7.3 Brilho	57
4.7.4 Parâmetros de cor.....	58
4.7.5 Microestrutura dos filmes	59
4.7.6 Propriedades mecânicas.....	60
4.7.6.1 Testes de perfuração.....	60
4.7.6.2 Testes de tração	61
4.7.7 Solubilidade em água e Umidade	62
4.7.8 Permeabilidade ao Vapor de Água.....	64
4.7.9 Calorimetria diferencial de varredura	65
4.7.10 Isotermas de absorção.....	65
4.7.11 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	66
4.7.12 Análise estatística	67
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA LIOFILIZADA DA TORTA DE MAMONA.....	67
5.1.1 Análises bromatológicas	67
5.1.2 Composição de aminoácidos	70
5.1.3 Estudo das proteínas por calorimetria diferencial de varredura (DSC)	72
5.1.4 Isotermas de sorção das PLTM	73
5.2 CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA SISAL (<i>Agave sisalana</i>).....	75
5.2.1 Composição química da fibra de sisal.....	75
5.2.2 Morfologia da fibra de sisal	76
5.2.2.1 Microestrutura da fibra de sisal.....	76
5.2.2.2 Largura e comprimento das fibras	79
5.3 DEFINIÇÃO DO pH DE EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS.....	80
5.3.1 Produção dos filmes.....	80
5.3.2 Aspectos visuais.....	80
5.3.3 Espessura	81
5.3.4 Propriedades mecânicas.....	82

5.3.4.1 Testes de perfuração.....	82
5.3.4.2 Testes de tração.....	84
5.3.5 Solubilidade em água e Umidade	86
5.4 EFEITO DA RETICULAÇÃO COM GLIOXAL E/ou DO REFORÇO DE FIBRA DE SISAL NOS FILMES À BASE DA PROTEÍNA EXTRAÍDA DA TORTA DE MAMONA.....	87
5.4.1 Produção dos filmes.....	87
5.4.2 Caracterizações dos filmes	88
5.4.2.1 Aspectos visuais	88
5.4.2.2 Espessura.....	89
5.4.2.3 Brilho	91
5.4.2.4 Parâmetros de cor e Opacidade.....	93
5.4.2.5 Microestrutura dos filmes.....	97
5.4.2.6 Propriedades mecânicas	103
5.4.2.6.1 Testes de perfuração	103
5.4.2.6.2 Testes de tração	105
5.4.2.7 Solubilidade em Água e Umidade.....	109
5.4.2.8 Permeabilidade ao Vapor de Água.....	111
5.4.2.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	113
5.4.2.10 Isotermas de sorção	116
5.4.2.11 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	119
6 CONCLUSÕES	121
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122

1 INTRODUÇÃO

O Governo Federal, através da Lei 11.097, de 13 de janeiro de 2005, determinou que até 2008 todo o óleo diesel consumido no Brasil deverá conter um percentual mínimo obrigatório de 2% de biodiesel (BRASIL, 2005). Segundo esta lei, o biodiesel é um biocombustível derivado de biomassa renovável para o uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustível de origem fóssil. A adição de 2% de biodiesel ao diesel resultará numa economia de 800 milhões de litros de diesel por ano (MADAIL; BELARMINO; NEUTZLING, 2007). Em 2012, o percentual de adição ao diesel foi elevado para 5%, proporcionando uma economia de 2 bilhões de litros de diesel por ano.

A partir de 2004, com a intensificação das pesquisas na transformação de óleos vegetais e animais em biodiesel e o lançamento do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNBP) pelo Governo Federal, a mamona começou a ser altamente cotada como uma das fontes de matéria-prima para a produção do biodiesel, pois além de ser uma das espécies com maior teor de óleo, é cultura de grande apelo social, pelo emprego intensivo de mão-de-obra no campo e por permitir o consórcio com outras culturas, como feijão, amendoim ou milho (MADAIL; BELARMINO; NEUTZLING, 2007). A mamona é considerada como um “cash crop”, que permite a geração de um produto comercializável, com mercado líquido favorecendo o acesso do produtor a insumos agrícolas e a bens de consumo familiar

(LACERDA, 2013; MADAIL; BELARMINO; NEUTZLING, 2007; MAKISHI et al., 2013). Além disso, o cultivo da mamona é incentivado em regiões de baixa disponibilidade hídrica e está sendo melhorada geneticamente para a produção de biocombustível (SILVA; FREITAS, 2008).

O principal subproduto do processo de extração do óleo da semente da mamona, produzida na proporção de 1,2 toneladas para cada tonelada de óleo extraído (SEVERINO, 2005), é a torta, que tem elevado teor de proteínas. Apesar do alto teor de proteína, a torta não tem sido utilizada como alimento animal, devido a problemas de toxicidade (COSTA F.X. et al., 2004). Assim, uma alternativa interessante para a valorização desse subproduto, podendo constituir uma contribuição para o sucesso da cadeia do biodiesel, seria a utilização dessas proteínas no desenvolvimento de filmes biodegradáveis para utilização na agricultura. Para isso, é necessário se estabelecer um processo de extração das proteínas da torta de mamona, que normalmente é realizado por solubilização em solução alcalina, seguido de centrifugação para separar o sobrenadante, rico em proteínas, do resíduo.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi o desenvolvimento de compósito flexível (filme) biodegradável a partir da proteína liofilizada extraída da torta de mamona.

Objetivos específicos:

1. Avaliar do efeito do pH (10, 11 e 12) de extração das proteínas sobre algumas propriedades (propriedades mecânicas, solubilidade em água e umidade) físicas dos filmes produzidos, plastificados com glicerol e reticulados com glutaraldeído, com a finalidade de escolha do pH ideal para a produção de filmes;
2. Desenvolver filmes compósitos a base de proteínas extraídas da torta de mamona na condição de pH determinada no item anterior, reforçados com fibras de sisal e comparar suas propriedades com as propriedades dos filmes à base de proteínas extraídas da torta de mamona, plastificados com glicerol e reticulados, ou não, com glioxal;
3. Caracterizar dos filmes produzidos quanto às suas propriedades físicas, tais como, aspectos visuais, parâmetros de cor, brilho, microestrutura por microscopia eletrônica de varredura, propriedades mecânicas, solubilidade em água, permeabilidade ao vapor de água, transições de fase, isotermas de sorção e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 TORTA DE MAMONA

A produção mundial de mamona foi de cerca de um milhão de toneladas, no período de 2000-2004, e de 1,4 milhões de toneladas em 2005 (SAVY FILHO, 2007). Em 2005, os principais produtores de mamona foram a Índia, com 62% da produção, seguida da China, com 20%, e o Brasil, com 13% da produção de mamona em baga (MADAIL; BELARMINO; NEUTZLING, 2007). Na América do Sul, os principais produtores são o Brasil, com cerca de 100 mil toneladas em 2005, e o Paraguai, com produção de 10 e 25 mil toneladas (HOFFMAN et al., 2007).

A produção de mamona no Brasil na safra de 2013/2014 foi de 44,7 mil toneladas. Na safra de 2014/2015, existe uma estimativa de aumento de cerca de 139,8%, ou seja, uma produção de 107,2 mil toneladas conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). A produção concentra-se principalmente na região do nordeste, que é responsável por cerca de 90% da produção nacional (CONAB, 2010; FREITAS; FREDO, 2005; LIMA et al., 2008).

Um hectare de mamoneira pode gerar até 750 kg de óleo, podendo resultar em 800 litros de biodiesel (LEAL, 2007). No processamento das sementes de mamona, para cada tonelada de óleo extraído obtém-se cerca de 1,2 toneladas de torta (ÁVILA FILHO et al., 2006).

Da mamona pode-se extrair o óleo, que é o principal produto industrializado. Como co-produto, tem-se a torta, rica em nitrogênio, fósforo e potássio e que pode ser utilizada na recuperação de solos desgastados. A semente de mamona é constituída de 75 % de amêndoa e 25 % de casca, em termos médios. Sua composição química muda de acordo com a variedade e região de cultivo. O teor de óleo nas sementes situa-se, entre 25 e 55 %. O padrão comercial adotado é de 44% (COSTA, H.M. et al., 2004; LACERDA, 2013).

O óleo, que é utilizado na produção de biodiesel, é extraído da mamona por prensagem a frio ou a quente, ou com o emprego de solventes (COSTA, F.X. et al., 2004; DRUMMOND et al., 2006). Esses processos implicam na geração de subprodutos (Figura 1), como a casca, torta e farelo (SAVY FILHO, 2007; SILVA; FREITAS, 2008), além disso, o processamento do óleo bruto de mamona (reação de transesterificação) para a produção de biodiesel gera mais um subproduto: a glicerina, uma substância de baixo peso molecular largamente empregada como matéria-prima para a indústria farmacêutica e de cosméticos, mas que não pode ser utilizada como combustível devido à produção de uma substância tóxica, a acroleína. Para cada 100 litros de biodiesel, se produzem 10 ou 15 litros de glicerina, utilizando-se metanol ou etanol, respectivamente na reação de transesterificação (ALMEIDA et al., 2006).

Assim, os subprodutos obtidos após a extração de óleo são a torta, que por definição, é o resíduo da extração do óleo das sementes do mamoeiro (*Ricinus communis*), que possui uma elevada toxidez (LACERDA, 2013; SEVERINO, 2005) e o farelo, que é obtido após a desativação dos principais alergênicos e compostos tóxicos da torta, sendo usado como composto na ração animal (SAVY FILHO, 2007).

A torta de mamona contém alto teor de proteína (Tabela 1), porém devido à presença de toxinas (ricina e ricinina) e alergênicos (CB-1A, *castor bean allergen-1*), não tem sido utilizada como alimento animal, (COSTA, F.X. et al., 2004), apresentando valor comercial como fertilizante, fungicida, controlador de fitonematóides parasitas (SEVERINO, 2005).

O teor médio de óleo na torta pode variar de acordo com o método de extração, por exemplo, quando óleo de mamona é obtido por extração mecânica, um conteúdo de aproximadamente 6-13 % de óleo pode ser obtido nesse resíduo, já para o processo de extração por prensagem seguida por tratamento com solventes, esse resíduo apresenta baixa concentração de óleo (1-1,5 %) (SEVERINO, 2005), o que facilita sua absorção pelo solo.

Figura 1 Fluxograma do processo de extração e processamento do óleo de mamona. Fontes: adaptado de Botelho (2005) e de Silva e Freitas (2008).

Tabela 1 - Composição bromatológica de tortas de mamona

Fração	Teor ¹ (%)	Teor ² (%)	Teor ³ (%)	Teor ⁴ (%)	Teor ⁵
Matéria-seca	91,50	91,17	92,52	93,3	91,24
Umidade	8,50	8,13	7,48	6,7	9,76
Proteína bruta	42,50	28,74	41,50	36,5	39,77
Fibra Bruta	20,04	-	32,84	-	19,69
Extrato Etéreo	4,23	13,10	2,62	2,62	3,17
Cinzas	-	12,11	7,65	9,96	10,33
Carboidratos	-	-	-	44,9	-
Extrato não nitrogenado	-	-	7,91	-	17,89
Cálcio	0,68	-	-	-	1,54
Fósforo	0,78	3,00	-	-	0,55
Potássio	-	0,96	-	-	0,75
Nitrogênio	-	4,60	-	-	6,36

Fontes: ¹ Severino (2005); ² Costa F.X. et al. (2004); ³ Beltrão (2003); ⁴ Ascheri et al. (2007); ⁵ Lacerda (2013).

Considerando-se que a proteína da torta de mamona é composta por 60% de globulinas, 16 % de albuminas, 4 % de proteases e 20 % de gluteninas, proteínas conjugadas e compostos nitrogenados não-protéicos (SEVERINO, 2005), pode-se sugerir que se trata de boa matéria prima para produção de material biodegradável a base de proteínas, pois vários desses materiais têm sido desenvolvidos com proteínas de frações similares (THARANATHAN, 2003).

Além disso, a composição de aminoácidos dessa proteína (Tabela 2), que é relativamente rica em arginina (11 %), histidina (11 %), lisina (3,1 %), metionina (1,5 %) (BELTRÃO, 2003) permite se prever certas modificações químicas, como reticulação com aldeídos bifuncionais, possibilitando-se assim, a produção de material com melhores propriedades mecânicas (MARQUIÉ et al., 1997; MARQUIÉ, 2001; MAKISHI, 2012).

Tabela 2 - Composição em aminoácidos na torta de mamona destoxicada

Aminoácido	Teor (%) ¹	Teor (%) ²
Arginina	3,5	11
Cistina	0,4	3,5
Fenilalanina	1,8	4,2
Histidina	0,6	11
Isoleucina	1,9	5,3
Leucina	2,8	7,2
Lisina	0,7	3,1
Metionina	0,6	1,5
Tirosina	-----	1,0
Treonina	1,2	3,6
Triptofano	0,1	0,6
Valina	2,4	6,6

Fonte: ¹ Severino (2005); ² Beltrão (2003).

3.2 FILMES BIODEGRADÁVEIS À BASE DE PROTEÍNAS

Proteínas são polímeros naturais capazes de formar estruturas amorfas tridimensionais, estabilizado principalmente por ligações não covalentes. As propriedades funcionais destas estruturas são altamente dependentes da heterogeneidade estrutural, da sensibilidade térmica e do comportamento hidrofílico das proteínas (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1998).

Por muitos anos, várias matérias-primas de origem agrícola foram utilizadas para a produção de embalagem renovável, biodegradável e comestível. Dentre os produtos agrícolas, as proteínas têm sido motivo de muitos estudos, devido às suas propriedades funcionais e também à grande variedade de fonte (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1998).

Proteínas originadas de várias fontes vegetais e animais têm sido utilizadas como matéria-prima para o estudo de embalagens biodegradáveis e/ou comestíveis, tais como, gelatina (CARVALHO; GROSSO, 2004; SOBRAL et al., 2001; LIM; MINE; TUNG, 1999; THOMAZINE; CARVALHO; SOBRAL, 2005; VANIN et al., 2005), proteína de trigo ou suas frações (HERNÁNDEZ-MUÑOZ; VILLALOBOS; CHIRALT, 2004; HERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2005; LAGRAIN et al., 2010; SONG; LI; ZHENG, 2009), proteínas do músculo de peixe (GARCIA; SOBRAL, 2005; PASCHOALICK et al., 2003; SOBRAL; SANTOS; GARCIA, 2005), proteínas miofibrilares de peixe (CUQ; GONTARD; GUILBERT, 1997a,b; MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 1999, 2000; SOBRAL; MONTERREY-QUINTERO; HABITANTE, 2002), blendas de isolado proteico de soro de leite e caseinato de sódio (LONGARES et al., 2005), blendas de amido extraído de ervilha e isolado proteico de amendoim (SUN; SUN; XIONG, 2013), blendas de quitosana e proteína do soro de leite (DI PIERRO et al., 2006), blendas de quitosana e amido (BONILLA et al., 2013; LI et al., 2013; LIU et al., 2013), isolado proteico de soro de leite (COUPLAND et al., 2000; GALIETTA et al., 1998; YOSHIDA; ANTUNES, 2004), proteínas do leite (GHOSH; ALI; DIAS, 2009; LETENDRE et al., 2002), proteínas do caroço de algodão (MARQUIÉ et al., 1997), proteínas do amendoim (JANGCHUD; CHINNAN, 1999; LIU; TELLEZ-GARAY; CASTELL-PEREZ, 2004; REDDY; CHEN; YANG, 2013; REDDY; JIANG; YANG, 2012), proteínas solúveis do músculo de peixe (BOURTOOM et al., 2006; IWATA et al., 2000; TANAKA et al., 2001), isolado proteico de semente de girassol (ORLIAC et al., 2003); proteína de pistache (ZAHEDI; GHANBARZADEH; SEDAGHAT, 2010); proteína de soja (CIANNAMEA et al., 2013; CIANNAMEA;

STEFANI; RUSECKAITE, 2015; JENSEN et al., 2015; RHIM et al., 1998), dentre outras.

3.2.1 Características de filmes à base de proteínas vegetais

Biopolímeros como as proteínas são mundialmente utilizados especialmente no campo de desenvolvimento de biomateriais e aplicações como material de embalagem (RHIM; PARK; HA, 2013). De maneira geral, esses filmes apresentaram características típicas de filmes a base de biopolímeros e plastificantes higroscópicos. Eles têm alta elasticidade, mas relativa baixa resistência mecânica (LIU; TELLEZ-GARAY; CASTELL-PEREZ, 2004; JANGCHUD; CHINNAN, 1999; MARQUIÉ et al., 1995; ORLIAC et al., 2003; RHIM et al., 1998). Além disso, esses filmes apresentam-se, de maneira geral, com alta permeabilidade ao vapor de água, elevada sensibilidade à umidade relativa (LIU; TELLEZ-GARAY; CASTELL-PEREZ, 2004; JANGCHUD; CHINNAN, 1999; ORLIAC et al., 2002; RHIM et al., 1998), devido ao caráter higroscópico do material, isto é, essas propriedades do material podem variar drasticamente em função da absorção/dessorção de umidade do ambiente, uma vez que as moléculas de água têm um importante efeito plastificante em biopolímeros.

O grande número de grupos reativos presentes nos resíduos que fazem parte da cadeia proteica permite certas modificações químicas, como reticulação com agentes químicos, possibilitando-se assim, em princípio, a produção de materiais

com melhores propriedades mecânicas e de barreira (HERNÁNDEZ-MUÑOZ; VILLALOBOS; CHIRALT, 2004; LIU; TELLEZ-GARAY; CASTELL-PEREZ, 2004; MARQUIÉ, 2001; MARQUIÉ et al., 1997).

3.2.2 Modificação química em proteínas

O grau de modificação química (reticulação) depende da reatividade dos constituintes da proteína e da especificidade do agente modificador (WONG; WONG, 1992). A habilidade de sofrer modificações depende largamente da composição de aminoácidos, da sequência e da localização individual dos aminoácidos reativos na estrutura tridimensional da molécula (MEANS; FEENEY, 1971).

Os agentes utilizados na reticulação possuem peso molecular inferior ao peso molecular da cadeia principal e normalmente apresentam dois grupos funcionais reativos que formam pontes entre cadeias poliméricas adjacentes conduzindo à formação de uma rede tridimensional (COSTA JR; MANSUR, 2008). Esses agentes podem ser basicamente classificados como monofuncionais, que possuem um único tipo de grupo funcional reativo, ou homobifuncionais, que são compostos por dois grupos funcionais reativos idênticos, sendo que ambos reagem com os grupos laterais dos aminoácidos da cadeia. Além desses, existem também os heterobifuncionais que possuem dois grupos funcionais com diferentes especificidades e, ainda, como reagentes de comprimento zero que se comportam

de maneira similar aos monofuncionais (COSTA JR; MANSUR, 2008; WONG, 1991a,b; WONG; WONG, 1992).

A reticulação utilizando aldeídos normalmente é obtida com um excesso do agente reticulante, que satura a superfície da matriz proteica formando ligações covalentes entre o grupo amino e o grupo aldeído terminal, sendo que essas ligações são irreversíveis e resistem a extremos de pH e temperatura. A qualidade da reticulação precisa ser avaliada quanto às variáveis concentração, tempo de contato, temperatura e pH (BEPPU et al., 2007; MARQUIÉ, 2001).

O formaldeído (Figura 2) é o aldeído mais empregado no estudo de reticulação de proteínas no desenvolvimento de materiais, pois apresenta um grau de menor de especificidade, ou seja, é capaz de reagir com o grupo amina da lisina e ainda com os resíduos laterais da cisteína, tirosina, histidina, triptofano e arginina. Apesar de conter apenas um grupo funcional, o formaldeído se comporta como um aldeído bifuncional (HERNÁNDEZ-MUÑOZ; VILLALOBOS; CHIRALT, 2004). Entretanto tem enorme limitação pelo fato de sua toxicidade.

O glutaraldeído (Figura 2) é um agente reticulante normalmente usado na formação de redes de polipeptídios e proteínas, apesar de apresentar reações mais específicas do que o formaldeído. As reações com glutaraldeído, podem implicar em melhora significativa das propriedades mecânicas e de barreira, ocorrem facilmente em meios alcalinos, tendo como grupos funcionais reativos a lisina, a cisteína, a histidina e a tirosina (BEPPU et al., 2007; COSTA JR; MANSUR, 2008; HERNÁNDEZ-MUÑOZ; VILLALOBOS; CHIRALT, 2004; MARQUIÉ, 2001). O glioxal (Figura 2) é um agente reticulante heterobifuncional, capaz de reagir com a arginina e a lisina em pH alcalino, e sua utilização como agente reticulante tem sido cada vez

mais estudada em substituição ao formaldeído (HERNÁNDEZ-MUÑOZ; VILLALOBOS; CHIRALT, 2004; MARQUIÉ, 2001; MAKISHI, 2012; ZHANG et al., 2006).

Figura 2 Estrutura química de alguns agentes reticulantes. Fontes: ¹Kiernan, (2000); ²Oliveira et al. (2009).

3.2.3 Modificação química em filmes à base de proteínas vegetais

Agentes reticulantes são bastante aplicados nos estudos que envolvem filmes à base de proteínas de origem vegetal, visando melhorar as propriedades físicas deste filmes. Rhim et al. (1998) utilizaram amido dialdeído (DAS) como agente reticulante em filmes à base de isolado proteico de soja, e observaram uma redução da solubilidade e um pequeno aumento na resistência mecânicas dos filmes.

Hernández-Muñoz et al. (2004) utilizaram formaldeído para modificar quimicamente a gliadina e observaram uma melhora nas propriedades mecânicas e na permeabilidade ao vapor de água dos filmes à base desta proteína. Song, Li e Zheng (2009), também realizando estudos com filmes à base de gliadina, porém

modificadas quimicamente com epícloridrina, observaram aumento da elongação e tensão na ruptura, acentuada redução da solubilidade e pequenas variações na absorção de umidade e na permeabilidade ao vapor de água.

Marquié et al. (1995), estudando filmes produzidos a partir de proteínas extraídas do caroço de algodão, observaram aumento na resistência mecânica e diminuição da solubilidade dos filmes quando as proteínas foram modificadas quimicamente com o emprego de gossipol, formaldeído e glutaraldeído. Esse mesmo comportamento foi observado por Liu, Tellez-Garay e Castell-Perez (2004), quando estudaram a adição de formaldeído e glutaraldeído como agentes reticulantes em filmes à base de proteína de amendoim, além de também terem observado a diminuição da permeabilidade ao vapor de água e da permeabilidade ao oxigênio. Hernández-Muñoz, Villalobos e Chiralt (2004) também observaram melhora nas propriedades da barreira água, aumento na resistência à ruptura e diminuição da deformabilidade de filme à base da fração rica em glutenina, quando reticulada com formaldeído, glioxal e glutaraldeído.

Park, Bae e Rhee (2000), estudando a reticulação com glutaraldeído em filmes à base de proteína de soja, observaram melhora nas propriedades mecânicas (elongação e tensão na ruptura), diminuição da higroscopicidade e da solubilidade dos filmes reticulados. Sessa, Mohamed e Byars (2008) também observaram uma melhora nas propriedades mecânicas, ou seja, aumento da tensão e da elongação na ruptura de filmes de zeína reticulada também com glutaraldeído, porém utilizando ácido acético como catalizador. Liu et al. (2007), estudando filmes à base de blendas de pectina/gelatina de pele de peixe e pectina/proteína de farinha de soja, observaram que quando os filmes foram imersos em uma solução de

glutaraldeído/metanol, as propriedades mecânicas e a resistência a água dos filmes aumentaram. O mesmo comportamento foi observado por Reddy, Jiang e Yang (2012), estudando estas mesmas propriedades de filmes à base de proteína de amendoim reticulados com ácido cítrico.

Makishi et al. (2013), trabalhando com proteína extraída da torta de mamona, estudaram o efeito da concentração e do tipo de reticulante e observaram que os filmes produzidos com o reticulante glioxal apresentaram melhora nas propriedades mecânicas e diminuição da solubilidade quando comparados com filmes produzidos nas mesmas condições, porém utilizando o reticulante glutaraldeído.

Entretanto, Zhang et al. (2006) não observaram nenhuma mudança na higroscopicidade, nem nas propriedades mecânicas de filmes à base de proteína do trigo quando reticulada com glioxal.

3.2.4 Filmes à base de biopolímeros reforçados com fibras vegetais

De maneira geral, os filmes a base de proteínas tem propriedades mecânicas limitadas. Uma alternativa para se melhorar as propriedades mecânicas desses materiais é o emprego de fibras vegetais como carga de reforço (GILFILLAN; MOGHADDAM; DOHERTY, 2014; RHIM; PARK; HA, 2013; REDDY et al., 2013). Considerando-se que a distribuição de esforços ou tensões em uma matriz polimérica é uniforme em todos os seus pontos, a presença de uma segunda fase dispersa nesta matriz também sofrerá a solicitação aplicada no conjunto

(CANEVAROLO, 2002). Se o módulo de elasticidade desta segunda fase for mais alto que a matriz, o resultado final será um aumento nas propriedades mecânicas do composto, principalmente o módulo de elasticidade e a resistência ao escoamento ou ruptura. Este efeito é conhecido como "reforço por adição de fibras" e, é muito utilizado comercialmente para melhorar o desempenho mecânico de polímeros, e permitir sua utilização em aplicações nas quais o polímero puro correria grande risco de falhar (CANEVAROLO, 2002).

Vários estudos têm sido realizados sobre filmes de proteínas reforçados com fibras vegetais. Filmes de glúten de trigo reforçados com cânhamo (KUNANOPPARAT et al., 2008), filmes de caseinato de sódio reforçados com fibra de nanocelulose (PEREDA et al., 2011), filmes de alginato reforçados com celulose nanocristalina (ABDOLLAHI et al., 2013; HUQ et al., 2012), filmes nanocompósitos de quitosana reforçados com celulose nanocristalina (KHAN et al., 2012), filmes à base de glúten de trigo reforçados com fibras de palha de trigo (MONTAÑO-LEYVA et al., 2013), filmes de proteína extraída da torta de mamona reforçados com celulose (OLIVEIRA, 2013; OLIVEIRA et al., 2015), filmes de amido incorporados com nanocelulose de fibra de coco (MACHADO et al., 2014), filmes de amido reforçados com nanofibra de celulose (KARIMI et al., 2014), filme de isolado proteico de soja reforçados com celulose (JENSEN et al., 2015), filmes à base de farinha de arroz reforçados com fibra de celulose (DIAS et al., 2011) e filmes bio-nanocompositos reforçados com celulose nanocristalina (MIRI et al., 2015) são alguns exemplos desse trabalhos.

3.2.5 Fibras de Sisal

Dentre as fibras celulósicas mais utilizadas para reforçar matrizes poliméricas está a fibra de sisal (ROSÁRIO et al., 2011). A fibra de sisal tem sido utilizada como reforço em materiais termoplásticos, termofixos e de matriz polimérica (PRASANTHA KUMAR et al., 2000; JAYARAMAN, 2003; ROSÁRIO et al., 2011). O Brasil é um grande produtor de fibras de sisal, toda ela concentrada na região Nordeste (SANTOS, 2006). Além da grande importância sócio-econômica, ligada à cultura do sisal no Brasil, existem outros fatores que motivam seu estudo como o reforço para polímeros, como por exemplo, a produção de produtos ecologicamente corretos (SANTOS, 2006). A produção nacional de fibras de sisal já alcançou 135 mil toneladas, destas, 113 mil foram exportadas, sendo 26 % de fibras e 74 % de manufaturados (MARTIN et al., 2009).

A fibra de sisal é um reforço promissor para uso em compósitos por conta de seu baixo custo, baixa densidade, alta resistência e módulo de elasticidade específico, por não ter risco para a saúde, ser de fácil disponibilidade em alguns países e por ser extraída de fonte renovável (MARTIN et al., 2009). A fibra de sisal é constituída por de cerca de 65 % de celulose, 12 % de hemicelulose, 10 % de lignina e uma pequena quantidade de outros compostos solúveis em água e as propriedades mecânicas e físicas de fibras de sisal estão primariamente governadas por estes três componentes (MOHAN; KANNY, 2012).

Como se pode observar, apesar de se encontrar várias publicações abordando a pesquisa sobre filmes à base de proteínas de origem vegetal,

modificadas quimicamente ou não, poucas publicações envolvendo proteínas extraídas de mamona ou de seus subprodutos foram encontradas. Além disso, observa-se que entre os trabalhos acima descritos, não existe um comportamento consensual, isto é, nem todos os autores observaram melhoria das propriedades físicas de filmes à base de proteínas modificadas, reforçadas ou não com fibras vegetais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Torta de mamona

A torta de mamona (Figura 3 A) foi gentilmente cedida pela empresa A. Azevedo Ind. Com. de Óleos Ltda, Itupeva/SP. Inicialmente, a torta de mamona foi submetida a um processo de moagem a 20°C, em moinho de rotor termostatzado (Marconi, MA-090CFT, Piracicaba/SP), (Figura 4) e para padronização da granulometria, utilizou-se uma peneira 28 mesh (30 ABNT) (Figura 3B).

Figura 3 Torta de mamona original (A) e após moagem (B).

Figura 4 Moinho de rotor termostatzado.

4.1.2 Fibra de sisal

A fibra de sisal (Figura 5 A) foi fornecida pela Associação de Desenvolvimento Sustentável e Solidário da Região Sisaleira (APAEB – Valente/BA, Brasil), gentilmente cedida pelo Laboratório de Construções Rurais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos/USP, na pessoa do Prof. Dr. Holmer Savastano Júnior.

Antes da utilização, a fibra de sisal foi submetida à moagem em um moinho de rotor termostatzado (Marconi, modelo MA-090CFT) (Figura 4), em seguida foi tamisada em peneira 20 mesh (Figura 5 B).

Figura 5 Fibra de sisal original (A) e após moagem (B).

4.1.3 Reagentes

Os reagentes utilizados foram: Glutaraldeído (Merck), glioxal (Merck), glicerol bidestilado (Synth), hidróxido de sódio (Synth).

4.2 EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA DA TORTA DE MAMONA

Os materiais biodegradáveis foram produzidos utilizando-se a proteína liofilizada extraída da torta de mamona. A proteína foi extraída da torta de mamona por solubilização em meio alcalino pH= 10, 11 e 12, de acordo com Lacerda (2013), à temperatura de 50 °C, utilizando um reator (TECNAL, modelo TECBIO V 4,5L) com controles digitais de agitação, temperatura e pH (Figura 6). A separação foi realizada

por centrifugação (MARQUIÉ et al., 1995), em centrífuga refrigerada (Thermo IEC, Modelo Centra GP 8R, USA) (Figura 7A e 7B), seguida de congelamento em nitrogênio líquido (Figura 7C). A solução protéica foi então liofilizada em um liofilizador (Heto, modelo FD 1,0-60), após congelamento em nitrogênio líquido, para posterior utilização (Figura 8). A proteína liofilizada da torta de mamona foi caracterizada anteriormente a utilização.

Figura 6 Reator com controles digitais de agitação, temperatura e pH.

Figura 7 Centrifuga refrigerada (A), extrato proteico centrifugado (B) e congelado em nitrogênio líquido (C).

Figura 8 Liofilizador contendo extrato proteico previamente congelado em nitrogênio líquido.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA LIOFILIZADA DA TORTA DE MAMONA

4.3.1 Análises bromatológicas

As análises bromatológicas das proteínas liofilizadas da torta de mamona (PLTM) foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - USP.

As proteínas liofilizadas extraídas da torta de mamona (PLTM) foram caracterizadas em relação matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, extrato etéreo e fibra bruta de acordo com Silva e Queiroz (2002).

Também foram determinados nitrogênio não proteico, de acordo com a metodologia AOAC (1995). O teor de fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, foram determinados de acordo com Goering e Van Soest (1970).

4.3.2 Composição de aminoácidos

A composição de aminoácidos da proteína liofilizada extraída da torta de mamona (pH= 10, 11 e 12) foi determinada no Laboratório de Análises Químicas Ltda. (LAB TEC), Hortolândia/SP, com derivatização de aminoácidos em pré-coluna de fenilisotiocianato e cromatografia líquida de alta performance (JAOAC, 1989). Foi utilizada uma coluna C18 com 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro

interno, detector UV-Visível, ajustado em comprimento de onda de 254 nm, fase móvel composta por dois eluentes diferentes, um contendo acetato de sódio, trietilamina, acetonitrila, EDTA, ácido acético glacial, e outro contendo acetonitrila e água. Como derivatizante foi utilizado o fenilisotiocianato (PITC).

4.3.3 Estudo das proteínas por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A temperatura de desnaturação da proteína liofilizada da torta de mamona (PLTM) foi determinada por calorimetria diferencial de varredura, utilizando o equipamento DSC 2010, com módulo controlador Thermal Advantage Version 1A (TA Instruments) com acessório para resfriamento (Figura 9). As amostras da proteína foram hidratadas com cerca de 50 % p/p de água destilada, pesadas (10 mg) em uma balança de precisão ($\pm 0,01$ mg), em células de alumínio, as células foram então hermeticamente seladas, deixadas em repouso por 2 horas, foram aquecidas a $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, entre 0 e $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, em um ambiente inerte ($45\text{ mL}.\text{min}^{-1}$ de N_2) (SOBRAL; HABITANTE, 2001). A referência foi uma célula vazia e o equipamento foi previamente calibrado com Índio ($T_m=156,6\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H_m=28,71\text{ J.g}^{-1}$). Os resultados foram analisados utilizando-se o software Universal Analysis 2000 Version 4.2E (TA Instruments). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Figura 9 Equipamento DSC equipado com acessório para resfriamento.

4.3.4 Isotermas de sorção

As isotermas de sorção das proteínas foram determinadas gravimetricamente de acordo com o Projeto COST 90 (JOWITT et al., 1983) na temperatura de 25 °C. Com a finalidade específica de reduzir a umidade das amostras, as proteínas foram inicialmente equilibradas em dessecadores contendo pentóxido de fósforo (P_2O_5) por um período de 10 dias. Após este período, as amostras foram acondicionadas em recipientes herméticos contendo soluções salinas saturadas. Estes recipientes foram mantidos em câmaras com temperatura controlada (BOD TECNAL, MODELO TE-390) visando-se manter a temperatura de análise constante (25 °C).

As soluções salinas foram fixadas de modo a abranger uma ampla faixa de umidade relativa: cloreto de lítio (LiCl), cloreto de magnésio ($MgCl_2$), carbonato de

potássio (K_2CO_3), nitrato de magnésio ($Mg(NO_3)_2$), nitrito de sódio ($NaNO_2$), cloreto de sódio ($NaCl$) e cloreto de potássio (KCl). Os respectivos valores da atividade de água dos sais utilizados encontram-se na Tabela 3 (LABUZA; KAAANANE; CHEN, 1985; KITIC et al., 1986; GREENSPAN, 1977).

A umidade de equilíbrio (em triplicata) foi determinada após secagem a $105^\circ C$, e calculada com a eq. (1).

$$X_{bs} = \frac{m_e - m_f}{m_f} \quad (1)$$

Onde: X_{bs} = umidade de equilíbrio em base seca (g/g de matéria seca); m_e = massa da amostra quando atingido o equilíbrio (g) e m_f = massa da amostra após secagem (g).

Tabela 3 - Valores de atividade de água (a_w) nas temperaturas de 15, 25 e $35^\circ C$ para soluções salinas saturadas dos sais utilizados

Solução salina saturada	a_w		
	$15^\circ C$	$25^\circ C$	$35^\circ C$
LiCl	0,1130	0,1130	0,1125
MgCl ₂	0,3330	0,3278	0,3205
K ₂ CO ₃	0,4315	0,4316	0,4317
Mg(NO ₃) ₂	0,5587	0,5289	0,4991
NaNO ₂	0,6930	0,6450	0,6280
NaCl	0,7530	0,7510	0,7490
KCl	0,8590	0,8420	0,8270

Fonte: Labuza, Kaanane e Chen (1985); Kitic et al. (1986); Greenspan (1977).

O modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-De Boer) (eq. 2), foi ajustado aos dados experimentais (umidade de equilíbrio *versus* atividade de água), por regressão não linear (RIZVI, 1986), utilizando-se o programa STATISTICA® (versão 12).

$$\frac{X}{X_m} = \frac{C_{GAB} K_{GAB} a_w}{(1 - K_{GAB} a_w)(1 + (C_{GAB} - 1)K_{GAB} a_w)} \quad (2)$$

Onde a_w é a atividade de água; X_m é a umidade da monocamada; C_{GAB} e K_{GAB} = constantes de GAB. Todas as análises foram feitas em triplicata.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA SISAL (*Agave sisalana*)

4.4.1 Análises bromatológicas

A fibra de sisal foi caracterizada em relação matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, extrato etéreo e fibra bruta de acordo com Silva e Queiroz (2002). O teor de fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, nitrogênio na fibra em detergente neutro, nitrogênio na fibra em detergente ácido, hemicelulose, celulose,

lignina em detergente ácido foram determinados de acordo com Goering e Van Soest (1970).

4.4.2 Morfologia da fibra de sisal

4.4.2.1 Estrutura superficial da fibra de sisal

A estrutura superficial das fibras de sisal foi analisada utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Hitachi TM3000 (Tokyo, Japão) com tensão de aceleração de 15 kV (Figura 10).

Figura 10 Microscópio eletrônico de varredura.

4.4.2.2 Largura e comprimento da fibra de sisal

A largura e o comprimento das fibras foram avaliados utilizando um Estéreo microscópio Cover-015 SZX7, com lente DF PL 2x e câmera Q Color 3 acopladas, Olympus (Olympus América, Canadá) (Figura 11). As imagens foram capturadas utilizando-se o programa Q Capture, versão 2.81.0, Quantitative Imaging Corporation, utilizando-se uma placa de vidro com marcações em milímetros como suporte, e depois carregadas e analisadas no programa Image J. Aproximadamente 900 fibras foram medidas.

Figura 11 Estéreo microscópio Cover-015 SZX7, com lente DF PL 2x e câmera Q Color 3 acopladas.

4.5 ESTUDO DO EFEITO DO pH DE EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS SOBRE OS FILMES

Numa primeira etapa, foram produzidos filmes (sem fibras) com proteínas liofilizadas da torta de mamona (PLTM) extraídas em pH = 10, 11 e 12 com a seguinte formulação: 7,5 g de PLTM/100 g de solução formadora de filme (SFF), 25 g de plastificante glicerol/100 g de proteína, 0,8 g do reticulante glutaraldeído/100 g de proteína.

A SFF foi preparada inicialmente pela dispersão da PLTM em água destilada, sob agitação magnética constante, por 30 minutos. Após a completa dispersão da PLTM, adicionou-se o agente reticulante, mantendo-se agitação durante 5 min. Decorrido este tempo, adicionou-se o glicerol e a agitação magnética foi mantida por mais 1 minuto. Os filmes foram produzidos por “casting” após a secagem da SFF (25 g/placa de poliestireno), em estufa com circulação forçada (Marconi, MA037) e controle de temperatura, mantida a 30 °C durante 16 horas.

Em seguida, os filmes foram avaliados subjetiva (manuseabilidade e aparência geral) e objetivamente, através da avaliação da espessura, das propriedades mecânicas de tração e perfuração, dos testes de umidade e solubilidade em água, conforme metodologias descritas mais adiante.

A partir da avaliação destes resultados (melhores propriedades mecânicas, menores solubilidade e umidade), foi então definido o pH de extração da proteína da torta de mamona para o estudo envolvendo a produção de filmes à base da proteína extraída da torta de mamona, reforçados com fibra de sisal.

4.6 ESTUDO DO EFEITO DO REFORÇO COM FIBRA DE SISAL E/OU RETICULANTE GLIOXAL

Foram produzidos filmes (com e sem fibras) com proteínas liofilizadas da torta de mamona (PLTM) extraídas em pH = 12 com a seguinte formulação: 6 g de PLTM/100 g de solução formadora de filme (SFF), 25 g de plastificante glicerol/100 g de proteína, 0,8 g do reticulante glioxal/100 g de proteína, segundo procedimento utilizado por Makishi (2012).

Foram produzidas quatro formulações de filmes a base de proteínas extraídas da torta de mamona (Tabela 4), conforme descrito no item 4.5, entretanto naquelas formulações que continham fibra de sisal, após a adição do glicerol, a fibra foi adicionada e a agitação mantida por 5 minutos.

Tabela 4 - Formulações dos filmes produzidos à base de proteína extraída da torta de mamona

Filme	g de PLTM/100 g de SFF	g de glicerol/100 g de proteína	g de glioxal/100 g de proteína	g de FS/100 g de proteína
F1	6	25	5	20
F2	6	25	0	20
F3	6	25	5	0
F4	6	25	0	0

PLTM=proteína liofilizada da torta de mamona; SFF=solução formadora de filme; FS=fibra de sisal.

Os filmes foram então avaliados subjetiva (manuseabilidade e aparência geral) e objetivamente, através da avaliação da espessura, do brilho, dos

parâmetros de cor e opacidade, da microestrutura, das propriedades mecânicas de tração e perfuração, da umidade, da solubilidade em água, da calorimetria diferencial de varredura, das isothermas de sorção e da espectroscopia por transformada de Fourier, conforme metodologias descritas mais adiante.

4.7 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os filmes produzidos foram previamente acondicionados em dessecadores com umidade relativa constante de 52,5 % a 25 °C (MAKISHI, 2012), obtida utilizando soluções saturadas de nitrato de magnésio ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$). Inicialmente os filmes foram retirados da estufa e mantidos nestas condições por 24 horas. Os filmes foram então descolados do suporte de secagem, cortados e novamente acondicionados durante um período de 7-8 dias antes de serem submetidos às caracterizações. No caso das caracterizações de microestrutura dos filmes e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), os filmes foram acondicionados em sílica gel, pelo mesmo período (MAKISHI, 2012).

4.7.1 Aspectos visuais

O aspecto visual dos filmes foi avaliado subjetivamente em relação à homogeneidade (cor, presença de partículas insolúveis, bolhas, etc.) e manuseabilidade (facilidade do preparo das amostras para a realização das caracterizações), exsudação de plastificante na superfície dos filmes e facilidade de desprendimento do suporte.

4.7.2 Espessura

A espessura dos filmes foi determinada com um Micrômetro digital (Mitutoyo), com precisão de 0,001 mm (Figura 12), medindo-se o filme em 10 pontos aleatórios, 24 horas antes da realização de cada caracterização.

Figura 12 Micrômetro digital

4.7.3 Brilho

A análise de brilho foi realizada segundo os procedimentos de Villalobos et al. (2005). O brilho dos filmes produzidos foi determinado com o emprego de um glossímetro Novo-Gloss Lite, Rhopoint NGL 20/60, nos ângulos de 20 ° e 60 ° (Figura 13). Foram realizadas 10 medidas aleatórias em cada superfície dos filmes (em contato com ar e com a placa).

Figura 13 Glossímetro utilizado na análise de brilho.

4.7.4 Parâmetros de cor

A cor dos filmes foi determinada com um colorímetro (HunterLab, modelo Miniscan EZ), trabalhando com D_{65} (luz do dia); e usando-se os padrões CIE Lab: L^* , variando de 0 (preto) a 100 (branco); a^* , do verde (-) ao vermelho (+); e b^* , do azul (-) ao amarelo (+) (SOBRAL et al., 2001). Os filmes foram aplicados na superfície de uma placa branca padrão e os padrões de cor L^* , a^* e b^* foram medidos e transferidos em tempo real para o microcomputador (SOBRAL et al., 2001). A diferença total de cor (ΔE^*) foi calculada com a eq. (3), sendo medido também, os parâmetros de cor do padrão branco sem o filme ($L^*_{\text{padrão}}$ (93), $a^*_{\text{padrão}}$ (-0,99) e $b^*_{\text{padrão}}$ (1,3)).

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5} \quad (3)$$

Onde: $\Delta L^* = L^*_{\text{padrão}} - L^*_{\text{amostra}}$; $\Delta a^* = a^*_{\text{padrão}} - a^*_{\text{amostra}}$ e $\Delta b^* = b^*_{\text{padrão}} - b^*_{\text{amostra}}$

A opacidade foi determinada de acordo com Sobral (2000), utilizando-se o software do equipamento. De acordo com este método, a opacidade foi calculada como a relação entre a opacidade do filme sobreposto sobre o padrão preto (Y_p) e sobre o padrão branco (Y_b), com a eq. (4).

$$Y = \frac{Y_p}{Y_b} 100 \quad (4)$$

4.7.5 Microestrutura dos filmes

A microestrutura dos filmes foi realizada sem recobrimento, empregando-se microscopia eletrônica de varredura, de acordo com Makishi (2012), utilizando-se um microscópio de eletrônico de varredura Hitachi modelo TM3000 (Tokyo, Japão) (Figura 10). Os filmes foram previamente acondicionados em sílica gel. Para melhor conhecimento da microestrutura dos filmes, foram realizadas análises da superfície de contato com o suporte e da superfície de secagem com tensão de aceleração de 5 kV e da porção interna dos filmes, com tensão de aceleração de 15 kV. A parte

interna dos filmes foi obtida após criofratura, isto é, por quebra da amostra de filme após congelamento com nitrogênio líquido.

4.7.6 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas através de testes de perfuração (força e deformação na perfuração) e tração (tensão e deformação na ruptura e módulo elástico) utilizando-se um texturômetro *i COM*, uma atualização do TA.XT2i (Stable Micro System). Os dados foram analisados com o auxílio do programa Exponent Lite Express (v. 4.013.0 XT express).

4.7.6.1 Testes de perfuração

Nos testes de perfuração (Figura 14), as amostras foram fixadas em uma célula com anel perfurado de 46 mm de diâmetro e submetidas à perfuração. Foi utilizada sonda cilíndrica de 3 mm de diâmetro e a velocidade do teste foi fixada em 1 mm.s^{-1} (SOBRAL et al., 2001). A força na perfuração (FP, em N) foi determinada diretamente das curvas de força versus deslocamento da sonda, e a deformação na perfuração (DP, em %) foi calculada com a eq. (5).

$$DP = \frac{\sqrt{d^2 + l_0^2} - l_0}{l_0} 100 \quad (5)$$

Onde: DP= deformação na perfuração (%); d = deslocamento da sonda cilíndrica no momento da perfuração (mm) e l_0 = comprimento inicial do filme (23 mm).

Figura 14: Texturômetro equipado com sonda de perfuração.

4.7.6.2 Testes de tração

Os testes de tração (Figura 15) foram realizados de acordo com Thomazine, Carvalho e Sobral (2005), baseados na ASTM D882-10 (ASTM 2010a). As amostras dos filmes (15 x 90 mm) foram cortadas e fixadas em uma sonda específica. A distância inicial de separação foi fixada em 50 mm e o teste foi realizado com

velocidade constante de $0,9 \text{ mm.s}^{-1}$. A tensão na ruptura (TR, em MPa) e a deformação na ruptura (DR, em %) foram obtidas diretamente das curvas de tensão versus deformação, e o módulo elástico (ME, em MPa) foi determinado calculando-se o coeficiente angular da parte linear da curva de tensão versus elongação.

Figura 15 Texturômetro equipado com sonda de tração.

4.7.7 Solubilidade em água e Umidade

A solubilidade em água (S) dos filmes foi determinada após 24 horas de imersão em água destilada, sob agitação mecânica de 60 rpm a 25°C (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992). Para os testes de solubilidade os filmes foram cortados na forma de discos de 2 cm de diâmetro. A massa seca inicial das amostras (m_i) foi determinada após secagem por um período de 24 horas (105°C). As amostras foram imersas em água destilada (50 mL) e mantidas sob agitação mecânica por um

período de 24 horas a 25 °C em estufa (BOD TE 390, Tecnal). Após este período as amostras foram submetidas a secagem por um período de 24 horas (105 °C) para se determinar a massa final da amostra (m_f). As análises foram feitas em triplicata.

A solubilidade foi expressa em termos de massa seca solubilizada, e calculada com a eq. (6).

$$MS = \frac{m_i - m_f}{m_i} 100 \quad (6)$$

Onde: MS = solubilidade em água (g matéria seca solubilizada/100 g de filme seco); m_i = massa seca inicial da amostra (g) e m_f = massa seca final da amostra (g).

Para a análise de umidade foram realizadas triplicatas de cada formulação, sendo que as amostras foram cortadas em 3 discos de 2 cm de diâmetro. Estas amostras foram dispostas em pesa filtros e levadas a estufa a 105 °C por 24 h. A umidade foi calculada com a eq. (7).

$$\text{Umidade}(\%) = \left(1 - \frac{m_f}{m_i}\right) \times 100 \quad (7)$$

Onde: m_i = massa da amostra antes da secagem (g), m_f = massa da amostra seca (g).

4.7.8 Permeabilidade ao Vapor de Água

A permeabilidade a vapor de água (PVA) foi determinada de acordo com o método ASTM E96-96M (ASTM, 2010b), com gradiente de umidade relativa igual a 100%. Os filmes foram fixados em células contendo sílica gel através de um anel perfurado (área exposta 31,17 cm²). Essas células foram acondicionadas em dessecadores contendo água destilada e mantidas em uma estufa (BOD TE 390, Tecnal) com controle eletrônico de temperatura, a 25 °C (±0,2 °C). O ganho de massa do sistema (célula + filme) foi determinado em intervalos de 24 h por um período de 120 horas, em balança semi-analítica (Marte, AS2000) e a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada com a eq. (8).

$$PVA = \frac{G \cdot x}{t \cdot A_e (P_1 - P_2)} \quad (8)$$

Onde x é a espessura média (mm) dos filmes, A_e é a área de permeação (cm²) e P₁ e P₂ são as pressões de vapor da água do ambiente contendo água pura (2642 Pa, a 25 °C) e sílica gel (0 Pa), respectivamente. E, o termo G/t (g/h) corresponde ao coeficiente angular da regressão linear da reta de ganho de massa do sistema *versus* tempo.

4.7.9 Calorimetria diferencial de varredura

A temperatura de transição vítrea dos filmes foi determinada de acordo com Sobral et al. (2001) utilizando-se um DSC TA 2010 com módulo controlador Thermal Advantage Version 1.1A (TA Instruments) e acessório para resfriamento (Figura 9). Amostras dos filmes (10 mg) foram pesadas em balanças analítica ($\pm 0,01$ mg) em células de alumínio, e estas foram acondicionadas por 10 dias em 52,9 % de umidade relativa. Anteriormente às análises, as células foram hermeticamente fechadas. As amostras foram aquecidas de -150 a 180 °C (10 °C.min⁻¹), juntamente com uma célula de alumínio vazia, utilizada como referência. Após a primeira corrida, as células foram resfriadas rapidamente utilizando-se nitrogênio líquido e foi realizada uma segunda corrida nas mesmas condições da primeira. Os resultados foram analisados utilizando-se o software Universal Analysis 2000 Version 4.2E (TA Instruments). A temperatura de transição vítrea (T_g) foi determinada como o ponto de inflexão da linha de base e, a temperatura de fusão, onde ocorreu o pico endotérmico.

4.7.10 Isotermas de absorção

As isotermas de absorção dos filmes foram determinadas conforme descrito no item 4.3.4.

4.7.11 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier foram realizadas utilizando-se um espectrofotômetro com transformada de Fourier Perkin Elmer (Spectrum One FT-IR) munido de acessório universal de atenuação da transmitância, modelo ATR (Figura 16), de acordo com Vicentini et al. (2005). Foram realizadas 16 varreduras na faixa espectral de 650 a 4.000 cm^{-1} , com resolução de 2 cm^{-1} .

Figura 16 Espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), equipado com o acessório universal modelo ATR.

4.7.12 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico "Statistical Analysis Systems" – SAS (SAS, versão 9.3), através do teste múltiplo de Tukey no intervalo de 95 % de confiança.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÍNA LIOFILIZADA DA TORTA DE MAMONA

5.1.1 Análises bromatológicas

De maneira geral, o aumento do pH das soluções de extração provocou maiores valores dos teores de matéria seca (MS), de matéria mineral (MM), de proteína bruta (PB) e de fibra bruta (FB) (Tabela 5). Pode-se sugerir que o aumento da quantidade de base utilizada para elevação do pH deve ter contribuído para o aumento significativo dos teores de MM obtidos em pH 11 e 12. O mesmo comportamento foi encontrado por Neves, Lourenço e Silva (2001), quando estudaram a extração de proteínas de tremoço, entretanto, Ayhllon-Meixueiro, Vaca-

Garcia e Silvestre (2000), avaliando isolado proteico de girassol, encontraram valores inferiores (7,6 %) para MM, provavelmente devido ao processo de obtenção do isolado por precipitação no ponto isoelétrico, das proteínas extraídas neste estudo. O mesmo comportamento foi observado por Barbin, Natchi e Müller (2011), para isolado proteico de colza.

Tabela 5 – Resultados da análise bromatológica das proteínas extraídas da torta de mamona em pH=10, 11 e 12

	pH de extração		
	10	11	12
MS	94,0 ± 0,1 ^b	94,3 ± 0,1 ^b	95,6 ± 0,3 ^a
MM	10,6±0,1 ^b	18,6±0,4 ^a	18,4±0,2 ^a
PB	65,6 ± 0,6 ^a	69,2 ± 2,2 ^a	69,0 ± 0,6 ^a
FB	0,16 ± 0,0 ^b	0,11 ± 0,0 ^b	0,22 ± 0,1 ^a
EE	1,4 ± 0,1 ^a	1,1 ± 0,1 ^a	1,1 ± 0,5 ^a
ENN	13,3 ± 2,2 ^{a,b}	5,8 ± 3,7 ^b	19,6 ± 4,0 ^a
NNP	8,3 ± 0,2 ^a	8,5 ± 0,4 ^a	7,1 ± 0,4 ^b
FDN	2,6 ± 0,6 ^a	1,9 ± 0,1 ^a	1,9 ± 0,4 ^a
FDA	0,3 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,2 ^a	0,1 ± 0,2 ^a

MS=matéria seca; MM=matéria mineral; PB=proteína bruta; FB=fibra bruta; EE=extrato etéreo; ENN (extrativo não nitrogenado); NNP=nitrogênio não proteico; FDA=fibra em detergente ácido; FDN=fibra em detergente neutro. Valores expressos em g/100g de amostra em base seca. ^{a-b}, letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são significativamente diferentes (p<0.05).

As proteínas liofilizadas da torta de mamona (PLTM) extraídas nas três condições diferentes de pH apresentaram teores de proteína bruta entre 65 e 69 % (Tabela 5), podendo ser considerados concentrados proteicos, com grande potencial

para desenvolvimento e produção de filmes biodegradáveis. O aumento do pH deve ter contribuído para melhor solubilização das proteínas, facilitando sua extração (LACERDA, 2013). Valores similares de PB foram encontrados por Neves, Lourenço e Silva (2001), estudando extratos proteicos de tremoço (66 %) e por Barbin, Natchi e Müller (2011), avaliando a extração das proteínas em torta de colza (63,6 %) já Ayhllon-Meixueiro, Vaca-Garcia e Silvestre (2000), avaliando isolado proteico de girassol e Lestari, Mulder e Sanders (2011), trabalhando com isolado proteico de torta de pinhão-manso, obtiveram concentrações de proteína bruta de aproximadamente 90 e 97 %, respectivamente. Estas altas concentrações são justificadas pelo processo de obtenção das proteínas por precipitação no ponto isoelétrico das proteínas.

O conteúdo de nitrogênio não proteico encontrado nas PLTM foi relacionado à desnaturação das proteínas em decorrência do elevado pH de extração ou do processo drástico de extração do óleo (LACERDA, 2013), já o extrativo não nitrogenado está relacionado a presença de carboidratos não identificados (MAKISHI et al., 2013).

A presença de fibra bruta, fibra em detergente neutro e fibra em detergente ácido, nos extratos proteicos liofilizados de mamona pode ser atribuída a solubilização de parcial da celulose, hemicelulose e lignina da parede celular da torta de mamona original (LACERDA, 2013; MAKISHI et al., 2013; VAN SOEST; FERREIRA; HARTLET, 1984).

5.1.2 Composição de aminoácidos

Como pode-se observar na Tabela 6, a composição de aminoácidos das proteínas liofilizadas da torta de mamona extraídas em pH (10, 11 e 12) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, ou seja, o aumento do pH de extração, não interferiu na composição em aminoácidos das proteínas extraídas. Sgarbieri (1996) observou que em ambiente de pH elevado, pode haver racemização dos aminoácidos e com isso, provocando perdas principalmente de cisteína, serina, treonina, lisina e arginina, o que não foi observado, pois estes aminoácidos estão presentes na PLTM, em níveis compatíveis com a concentração dos mesmos na torta de mamona original, estudada por Lacerda (2013).

A presença de arginina, lisina, histidina, metionina e tirosina (Tabela 6) é importante, pois são estes os principais aminoácidos envolvidos em reações de modificação química de proteínas (MAKISHI, 2012). O alto teor de arginina encontrado nas três PLTM sugere que o emprego de glicol na produção de filmes à base destas proteínas pode produzir filmes com melhores propriedades mecânicas, pois este agente reticulante promove maior interação com a arginina, enquanto o glutaraldeído reage mais com a lisina, cistina, histidina e tirosina. Esta baixa concentração observada em relação a estes aminoácidos, pode justificar os resultados encontrados por Makishi (2012), que estudando filmes à base de PLTM, observou melhores propriedades mecânicas e menor solubilidade em água nos filmes produzidos utilizando glicol como agente reticulante quando comparados

com filmes semelhantes produzidos nas mesmas condições e utilizando glutaraldeído como agente reticulante.

Tabela 6 – Composição de aminoácidos das PLTM extraídas em pH = 10, 11 e 12

Aminoácidos (g/100 g de PLTM)	pH de extração		
	10	11	12
Alanina	3,12±0,02 ^a	3,25±0,22 ^a	3,17±0,08 ^a
Arginina	13,05±0,35 ^a	11,24±0,71 ^a	12,87±0,16 ^a
Ácido Aspártico	6,39±0,15 ^a	6,57±0,48 ^a	6,46±0,12 ^a
Glicina	3,52±0,02 ^a	3,43±0,06 ^a	3,57±0,07 ^a
Isoleucina	2,90±0,05 ^a	3,09±0,13 ^a	3,08±0,07 ^a
Leucina	4,42±0,01 ^a	4,76±0,25 ^a	4,68±0,18 ^a
Ácido Glutâmico	19,71±0,50 ^a	17,02±0,69 ^a	18,62±0,42 ^a
Lisina	2,08±0,01 ^a	1,86±0,11 ^a	2,08±0,02 ^a
Cistina	0,33±0,60 ^a	0,43±0,27 ^a	1,08±0,70 ^a
Metionina	2,67±0,04 ^a	3,56±0,19 ^a	4,49±0,54 ^a
Fenilalanina	2,64±0,02 ^a	2,86±0,23 ^a	2,77±0,10 ^a
Tirosina	1,80±0,02 ^a	2,11±0,13 ^a	2,10±0,10 ^a
Treonina	2,03±0,00 ^a	1,83±0,16 ^a	2,11±0,07 ^a
Triptofano	13,52±0,72 ^a	12,39±0,25 ^a	12,19±0,50 ^a
Prolina	2,61±0,04 ^a	2,83±0,10 ^a	2,79±0,13 ^a
Valina	3,62±0,17 ^a	3,71±0,25 ^a	3,72±0,04 ^a
Histidina	2,22±0,01 ^a	1,72±0,47 ^a	2,32±0,02 ^a
Serina	4,92±0,06 ^a	3,59±0,78 ^a	3,70±0,99 ^a

^a, letras diferentes na mesma linha indicam que os valores são significativamente diferentes (p<0,05).

5.1.3 Estudo das proteínas por calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As PLTM extraídas nas três condições diferentes de pH não apresentaram pico endotérmico (Figura 17) característico de desnaturação de proteínas, o que indica que as PLTM estão em estado desnaturado. Isto se deve provavelmente ao processo, relativamente drástico, de extração do óleo da semente da mamona (Lacerda, 2013).

Figura 17 Curvas de DSC das PLTM extraídas em pH = 10, 11 e 12.

5.1.4 Isotermas de sorção das PLTM

As isotermas de sorção de vapor de água das PLTM apresentaram forma sigmoide, podendo ser classificadas como tipo II. Não se observou diferenças nos comportamentos das isotermas das proteínas liofilizadas da torta de mamona devido ao efeito do pH de extração, ou seja, elas mantiveram as mesmas formas em função do pH de extração das proteínas (Figura 18).

Figura 18 Isotermas de sorção das PLTM mamona obtidas em pH 10, em pH 11 e em pH 12.

Pode-se observar na Figura 18 que o modelo GAB (eq. 2) representou satisfatoriamente os dados experimentais. Os valores dos parâmetros da equação

de GAB, obtidos por regressão não linear ($R^2 > 0.99$), estão apresentados na Tabela 7. Pode-se observar nessa tabela que o pH 12 afetou as propriedades higroscópicas das proteínas, sobretudo aquelas relacionadas com a monocamada, como a umidade de monocamada (X_m) e a constante da monocamada (C_{GAB}). Esse comportamento indica uma maior sensibilidade a eventuais alterações da umidade relativa ambiental.

Tabela 7 - Parâmetros da equação de GAB

pH de extração	X_m (%)	C_{GAB}	K_{GAB}	R^2
10	6,4	21,0	0,94	0,999
11	6,0	29,9	0,94	0,991
12	7,6	3,7	0,90	0,995

A umidade de monocamada (X_m) das proteínas liofilizadas da torta de mamona obtidas nos pH 10, 11 e 12 (Tabela 7) variou entre 6 – 7,6 %. Os valores da constante C_{GAB} das proteínas liofilizadas da torta de mamona obtidas nos pH 10 e 11 foram semelhantes aos observados por Abugoch et al. (2011), para filmes à base de proteína de quinoa e quitosana e aos observados por Sobral e Habitante (2001), para gelatina de pele de porco, que observaram valores entre 18 – 20 % para a constante C_{GAB} . Entretanto, o valor observado para C_{GAB} na proteína liofilizada da torta de mamona obtidas no pH 12 foi bem abaixo do encontrado por estes mesmos autores. Já os valores do parâmetro K_{GAB} de todas as amostras analisadas foram

semelhantes aos observados por Abugoch et al. (2011) e Sobral e Habitante (2001), que observaram valores entre 0,80 e 0,95.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA SISAL (*Agave sisalana*)

5.2.1 Composição química da fibra de sisal

Pode-se observar na Tabela 8 que a fibra de sisal é um material rico em celulose e hemicelulose, com cerca de 5 % de lignina. As fibras de sisal apresentaram teores de lignina e celulose mais baixos que os encontrados por Martin et al. (2009) (7,4 %) e por Satyanarayana, Guimarães e Wypych (2007) (7,6-8,0 %), e valores de matéria mineral mais elevados que os observados por Martin et al. (2009) (1,2 %), provavelmente devido as impurezas encontradas nas micrografias de superfície da fibra de sisal (Figura 19). Mohan e Kanny (2012) relataram valores inferiores de celulose (65 %) e hemicelulose (12 %) e valores superiores de lignina (10%). Os mesmos valores foram observados também por Faruk et al. (2012).

Tabela 8 – Composição química média da fibra de sisal moída

Componentes	Fibra de Sisal Moída (%)
Matéria Seca	94,17 ± 0,04
Matéria Mineral	4,86 ± 0,02
Proteína Bruta	0,84 ± 0,07
Fibra Bruta	65,65 ± 0,01
Lignina	4,76 ± 0,39
Celulose	69,90 ± 0,45
Hemicelulose	15,50 ± 1,27
Fibra Detergente Neutro	90,45 ± 0,53
Fibra Detergente Ácido	65,42 ± 0,19

5.2.2 Morfologia da fibra de sisal

5.2.2.1 Microestrutura da fibra de sisal

Segundo Martins, Kiyohara e Joekes (2004), as fibras de sisal são formadas por um feixe composto, denominado fibras elementares ou microfibrilas. O parênquima, que são estruturas largamente distribuídas, ao longo de toda a fibra de sisal (MARTIN et al., 2009), pode ser observado na fibra intacta (Figura 19), porém esta estrutura não pode mais ser observada nas fibras que foram submetidas ao processo de moagem (Figura 20). Observa-se também a presença de poros e de

impurezas na forma de cristais, identificadas como Cálcio através da análise de espectroscopia de energia dispersiva de raio X - EDS (Figura 19 C).

Figura 19 Micrografias da fibra de sisal inteira (A e B) e EDS dos cristais de impureza (C).

Nas micrografias das fibras de sisal após serem submetidas ao processo de moagem, observam-se estruturas fibrilares de diferentes comprimentos e diâmetros (Figura 20 A e B) resultado da desfibrilação. Observam-se também, rugosidades, descamação, fendas, e algumas fibras apresentando sinais de maceração nas extremidades (Figura 20 C) provavelmente devido ao processo de moagem. A desfibrilação e a descamação das fibras de sisal, também foram observadas por Arsenè et al. (2003), neste caso, causadas por tratamentos químicos, térmicos e mecânicos e também por Martins, Kiyohara e Joekes (2004) e Mohan e Kanny (2012), depois de submeterem as fibras de sisal a tratamento químico.

Figura 20 Micrografias da fibra de sisal após a moagem. A=aumento de 50x; B=aumento de 100x e C= aumento de 500x.

5.2.2.2 Largura e comprimento das fibras

As fibras de sisal (Figura 5 A) após serem submetidas ao processo de moagem (Figura 5B) apresentaram uma distribuição heterogênea (distribuição não normal) tanto com relação ao comprimento, com média de 0,95 mm, quanto à largura, apresentando largura média de 0,047 mm (Figura 21).

Figura 21 Distribuição das medidas de largura (A) e comprimento (B) das fibras de sisal utilizadas na produção de filmes à base de proteína de torta de mamona. Micrografias ópticas das fibras de sisal (C).

5.3 DEFINIÇÃO DO pH DE EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS

5.3.1 Produção dos filmes

Os filmes foram produzidos por “casting”, ou seja, pela desidratação da solução formadora de filme (SFF) com concentração constante de PLTM extraídas em pH = 10, 11 e 12 com a seguinte formulação: 7,5 g de PLTM/100 g de SFF, 25 g de plastificante glicerol/100 g de proteína, 0,8 g de glutaraldeído/100 g de proteína.

5.3.2 Aspectos visuais

Os filmes produzidos com as proteínas liofilizadas da torta de mamona apresentaram-se com coloração amarronzada e com aspecto visual homogêneo, independentemente do pH de extração das proteínas (Figura 22). A coloração foi devido à presença de pigmentos na matéria prima, ou seja, não sendo necessariamente consequência da reação de reticulação.

Figura 22 Filmes produzidos com PLTM extraídas em pH 10 (esquerda), 11 (centro) e 12 (direita).

5.3.3 Espessura

Pode-se observar na Tabela 9 que a condição de pH utilizada na extração da proteína da torta de mamona não influenciou a espessura dos filmes produzidos, permanecendo em torno de 0,122 milímetros.

Tabela 9 - Espessura dos filmes produzidos com a PLTM extraída em pH = 10, 11 e 12

pH da extração	Espessura (mm)
10	0,120±0,002 ^a
11	0,123±0,004 ^a
12	0,122±0,002 ^a

^a, letras diferentes indicam que os valores são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

5.3.4 Propriedades mecânicas

5.3.4.1 Testes de perfuração

De maneira geral, o pH de extração das proteínas não afetou o comportamento mecânico dos filmes produzidos com essas proteínas. Pode-se observar na Figura 23, que as curvas mecânicas obtidas nos testes de perfuração apresentaram o mesmo comportamento. Entretanto, observou-se que o pH de extração das proteínas influenciou as propriedades mecânicas dos filmes. O aumento do pH implicou em filmes mais resistentes à perfuração (Tabela 10).

Figura 23 Exemplos de curvas do teste de perfuração dos filmes elaborados com PLTM em pH 10, pH 11 e pH 12.

A força na perfuração aumentou de 4 para 6,5 N em consequência do aumento do pH de extração das proteínas de 10 para 12, respectivamente, mas sem efeito significativo ($p>0,05$) na deformação na perfuração, que permaneceu em torno de 3 % (Tabela 10). Marquié et al. (1995), estudando filmes a base de farinha de algodão reticulados com glutaraldeído, observaram valores maiores para força na perfuração (7 N). Alves et al. (2011), estudando filmes feitos com blenda de gelatina/PVA reticulados com glutaraldeído, também observaram valores maiores tanto para a força na perfuração (11,6 N), quanto para a deformação na perfuração (24,7 %), que o observados nesta tese, independentemente da condição de pH utilizada na extração das proteínas da torta de mamona

Tabela 10 – Valores de força na perfuração (FP) e deformação na perfuração (DP) dos filmes à base de PLTM extraídas em pH=10, 11 e 12

pH	FP (N)	DP (%)
10	4,0±0,9 ^b	3,6±0,3 ^a
11	5,2±0,3 ^{ab}	3,2±0,4 ^a
12	6,5±0,2 ^a	2,9±0,1 ^a

^{a, b}, letras diferentes, na mesma coluna, indicam que os valores são significativamente diferentes ($p<0,05$).

5.3.4.2 Testes de tração

Pode-se observar na Figura 24, que as curvas mecânicas obtidas nos testes de tração, também apresentaram o mesmo comportamento. Entretanto, observou-se que o pH de extração das proteínas influenciou as propriedades mecânicas dos filmes, ou seja, o aumento do pH também implicou em filmes mais resistentes à tração (Tabela 11).

Figura 24 Exemplos de curvas do teste de tração dos filmes produzidos com PLTM em pH 10, pH 11 e pH 12.

Segundo os resultados dos testes de tração (Tabela 11), o aumento do pH de extração implicou em filmes mais resistentes e mais rígidos ($p < 0.05$), com aumento dos valores de tensão na ruptura de 2,4 para 4,5 MPa e módulo elástico de 0,94

para 2,4 MPa, porém similarmente ao observado nos testes de perfuração, a elongação na ruptura não foi influenciada ($p>0.05$) pelo pH de extração das proteínas, variando entre 28 e 45 %.

Tabela 11 – Valores de tensão na ruptura (TR), elongação na ruptura (ER) e módulo elástico (ME) dos filmes à base de PLTM

pH de extração	TR (MPa)	ER (%)	ME (MPa)
10	2,4±1,0 ^b	27,8±7,3 ^a	0,9±0,2 ^b
11	3,9±0,3 ^{ab}	28,4±8,4 ^a	1,2±0,2 ^b
12	4,5±0,1 ^a	44,7±11,0 ^a	2,4±0,5 ^a

a-b, letras diferentes na mesma coluna indicam que os valores são significativamente diferentes ($P<0.05$).

Ayhllon-Meixueiro, Vaca-Garcia e Silvestre (2000), estudando filmes à base de isolado protéico de girassol, observaram valores similares de tensão na ruptura (3,9 MPa) e valores superiores de elongação na ruptura (215 – 251 %). Esse mesmo comportamento foi encontrado por Hernández-Muñoz et al. (2005), em filmes feitos com gliadina usando glutaraldeído como agente reticulante, observando 2,8 MPa para tensão na ruptura e 245 %, para elongação na ruptura. De maneira geral, os valores das propriedades mecânicas determinadas neste trabalho foram similares aos encontrados por Makishi et al. (2013) e por Oliveira (2013), trabalhando com sistema semelhante.

Apesar do pH de extração não ter afetado significativamente ($p<0,05$) nem a concentração de proteínas no extrato (Tabela 5), nem o perfil de aminoácidos

(Tabela 6), a qualidade das proteínas pode ter sido afetada, sugerindo que houve alguma alteração estrutural nos peptídeos, que inclusive alterou o comportamento higroscópico da monocamada (Figura 18), de forma que esse efeito foi sentido nas propriedades mecânicas relacionadas com a resistência dos filmes.

5.3.5 Solubilidade em água e Umidade

O efeito do pH de extração foi nítido sobre a solubilidade em água, sendo que os filmes produzidos com a proteína extraída em pH 10 foram totalmente solúveis, e os filmes produzidos com as proteínas extraídas em pH 11 e 12 apresentaram valores de solubilidade de 62 e 59 %, respectivamente (Tabela 12). Ou seja, ocorreu uma melhoria da qualidade das proteínas com o aumento do pH, o que também implicou em filmes cada vez menos solúveis. Marquié et al. (1995), estudando filmes a base de farinha de semente de algodão, observaram 100 % de solubilidade nos filmes sem agentes reticulantes, a qual decresceu com a adição de glutaraldeído. Considerando-se que esses filmes serão indicados para uso na agricultura, é desejável que estes materiais possuam baixa solubilidade em água, assim, os filmes produzidos em pH = 12 seriam os mais adequados.

Tabela 12 - Solubilidade e umidade dos filmes à base de proteína de mamona

pH de extração	Solubilidade (%)	Umidade (%)
10	TS	12,5±0,4 ^a
11	61,6±1,5 ^a	13,7±0,7 ^a
12	58,5±0,2 ^a	12,9±0,2 ^a

a,b, letras diferentes na mesma coluna indicam valores significativamente diferentes (P<0,05). TS=Totalmente Solúvel.

Por outro lado, o pH de extração das proteínas não afetou a umidade dos filmes, que permaneceu em torno de 13 % (Tabela 12). Esse resultado é muito interessante devido a grande quantidade de NaOH utilizada no aumento do pH de extração das proteínas, o que poderia, em princípio, tornar os filmes mais higroscópicos, como observado nas isotermas de sorção das PLTM. Entretanto, isso não foi observado nos filmes, conforme os resultados apresentados na Tabela 12.

5.4 EFEITO DA RETICULAÇÃO COM GLIOXAL E/OU DO REFORÇO DE FIBRA DE SISAL NOS FILMES À BASE DA PROTEÍNA EXTRAÍDA DA TORTA DE MAMONA

5.4.1 Produção dos filmes

A utilização do glioxal como agente de reticulação da PLTM nesta fase do trabalho foi baseada no estudo de Makishi (2012), sobre o efeito de diferentes

agentes reticulantes na produção de filmes a base de PLTM extraídas em pH 12, e observou que o glioxal apresentou melhores resultados no que se refere a propriedades mecânicas e solubilidade quando comparados com filmes produzidos utilizando o glutaraldeído no processo de reticulação da proteína dos filmes. Além disso, Oliveira (2013) também utilizou o glioxal como agente reticulante da PLTM na produção de filmes compósitos com fibras de celulose.

Neste estudo, os filmes foram produzidos por “casting”, ou seja, pela desidratação da solução formadora de filme (SFF) com concentração constante de PLTM extraída em pH 12 com a seguinte formulação: 6 g de Proteína/100 g de SFF, 25 g de glicerol/100 g de proteína, 5 g de glioxal/100 g de proteína e 20 g de fibra de sisal/100 g de proteína (Tabela 4).

5.4.2 Caracterizações dos filmes

5.4.2.1 Aspectos visuais

Os filmes produzidos à base da proteína liofilizada da torta de mamona e sem fibra de sisal (Figura 25 F3 e F4) apresentaram-se com coloração amarronzada e com aspecto visual homogêneo, independentemente da presença ou não do agente reticulante. Com a adição da fibra de sisal, os filmes ficaram mais rugosos, com uma cor ligeiramente mais escura, independentemente do glioxal (Figura 25 F1 e F2).

Os filmes produzidos com as formulações que não continham glioxal apresentaram-se mais quebradiços e com maior aderência ao suporte de secagem, enquanto os filmes produzidos com a presença do agente reticulante foram de fácil remoção do suporte de secagem e apresentaram facilidade de corte e maleabilidade. Não houve exsudação de plastificante dos filmes em nenhuma das formulações produzidas.

Figura 25 Filmes produzidos à base de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

5.4.2.2 Espessura

A espessura é um parâmetro importante a ser considerado nos filmes produzidos à base de biopolímeros, e precisa ser controlado, pois a espessura exerce influencia direta em diversas propriedades, principalmente na cor, na opacidade, na permeabilidade ao vapor de água e nas propriedades mecânicas (SOBRAL, 2000).

Os resultados de espessura (Tabela 13) foram obtidos através da média de 10 medidas em pontos aleatórios de cada uma das triplicatas dos filmes produzidos. Observou-se que a presença do agente reticulante não influenciou esta propriedade, entretanto os filmes produzidos com fibra de sisal apresentaram espessura significativamente maior em relação àqueles sem fibra de sisal em sua formulação. Oliveira (2013), estudando também filmes a base de PLTM, não observou alteração nas espessuras dos filmes produzidos com a adição de fibra de celulose, entretanto, Machado et al. (2014), estudando a incorporação de nanocelulose da fibra de coco verde em filmes à base de amido, também observaram que, com a adição da fibra nas formulações, a espessura dos filmes aumentou.

Tabela 13 – Espessura dos filmes produzidos à base de PLTM

Formulação	Espessura (mm)
F1	0,166±0,008 ^a
F2	0,159±0,007 ^a
F3	0,113±0,007 ^b
F4	0,112±0,009 ^b

^{a, b}, letras diferentes indicam que os valores são significativamente diferentes ($p < 0,05$). F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

5.4.2.3 Brilho

O brilho foi analisado em ambas as superfícies dos filmes, a saber, na superfície do filme em contato com o suporte de secagem (placa) e na superfície de secagem dos filmes, ou seja, na superfície do filme em contato com o ar. O brilho é uma propriedade relacionada com o polimento da superfície, portanto é altamente influenciado pela rugosidade do material (VILLALOBOS et al., 2005; MORAES et al., 2008), sendo assim, quanto mais polido o material, ou seja menos rugoso, maior será o valor de brilho. Outros fatores também podem afetar o brilho de filmes biodegradáveis, tais como, surfactantes, lipídeos, umidade relativa do ar e tempo de armazenamento (TREZZA; KROCHTA, 2000).

Valores de brilho dos filmes produzidos, medidos em dois ângulos de incidência (20° e 60°), podem ser observados na Tabela 14. As medidas realizadas a 20° não permitiram se observar nenhuma diferença entre os resultados. Este comportamento pode ser explicado, pois segundo Hutchings (1999), ângulos mais baixos são indicados para superfícies polidas, que possuem alto brilho. Os valores obtidos em ângulos próximos a 45° são indicados para avaliar o brilho em superfícies de brilho médio, ao passo que os ângulos de incidência mais altos, permitem melhor avaliar esta propriedade em superfícies de baixo brilho e quanto maior for o ângulo de incidência, maior será o valor de brilho obtido (BONILLA et al., 2013; HUTCHINGS, 1999; VILLALOBOS et al., 2005).

No geral, para o brilho medido no ângulo de 60° , pode-se observar na Tabela 14 que os filmes que contêm fibras em sua formulação (F1 e F2) apresentaram

valores mais baixos do que aqueles filmes sem a adição da fibra (F3 e F4). O mesmo efeito foi observado por Oliveira et al. (2015), quando estudaram a incorporação de fibras de celulose em filmes à base de proteína de mamona. Bonilla et al. (2013) também observaram a diminuição do brilho, após adição de quitosana em filmes à base de amido, mesmo efeito observado por Bitencourt (2013), após incorporação de extrato etanólico de cúrcuma em filmes à base de gelatina.

Assim como observado por Makishi et al. (2013), a modificação das PLTM com glicol, não causou influência no brilho medido no ângulo de 60° (Tabela 14 F3 e F4), exceção feita ao valor mais baixo medido na superfície em contato com o ar da formulação F3.

As superfícies de secagem dos filmes (em contato com o ar) apresentaram valores mais baixos do que as superfícies em contato com o suporte de secagem (Tabela 14). O mesmo efeito foi observado por Makishi et al. (2013), estudando filmes à base de proteína de mamona reticuladas com glutaraldeído e glicol, que explicaram esse comportamento pela migração de material para a superfície de secagem provocada pelo arraste pela umidade.

Tabela 14 – Valores de brilho para 20 ° e 60 ° dos filmes à base de PLTM para a superfície de secagem (em contato com o ar) e para a superfície em contato com o suporte (placa)

Formulação	20 °	60 °
F1 Ar	18,2±3,0 ^a	9,0±1,0 ^d
F2 Ar	19,8±3,9 ^a	9,9±4,4 ^d
F3 Ar	24,8±2,5 ^a	53,6±0,9 ^b
F4 Ar	23,5±1,3 ^a	74,5±6,1 ^a
F1 Placa	18,9±1,8 ^a	46,0±3,1 ^b
F2 Placa	21,0±9,0 ^a	29,4±3,1 ^c
F3 Placa	18,6±2,1 ^a	77,2±5,1 ^a
F4 Placa	18,5±0,7 ^a	78,3±1,1 ^a

a, b, c, d, letras diferentes na mesma coluna, indicam que os valores são significativamente diferentes (p<0,05). F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

5.4.2.4 Parâmetros de cor e Opacidade

Os parâmetros de cor e opacidade foram analisados em ambas as superfícies dos filmes, a saber, na superfície do filme em contato com o suporte de secagem (placa) e na superfície de secagem dos filmes, ou seja, na superfície do filme em contato com o ar.

A reação de reticulação das PLTM com glioxal, não ocasionou alteração significativa nos parâmetros de cor dos filmes produzidos (Tabela 15 F3 e F4) em nenhuma das superfícies analisadas. Comportamento semelhante foi observado

por Makishi et al. (2013), estudando a ação dos reticulantes glicolal e glutaraldeído nas proteínas de mamona dos filmes produzidos. Carvalho e Grosso (2006) utilizaram formaldeído e glicolal como agentes de modificação química em filmes de gelatina e observaram que com a adição de formaldeído, houve um aumento dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* e b^* , caracterizando o aumento da coloração amarela dos filmes, entretanto, após adição de glicolal, ocorreu diminuição da luminosidade e aumento dos parâmetros a^* e b^* , indicando um aumento da intensidade da cor amarela.

A adição de fibra de sisal moída à formulação ocasionou o aumento da luminosidade (L^*) e a diminuição dos parâmetros a^* e b^* de ambas as superfícies dos filmes produzidos (Tabela 15 F1 e F2), indicando uma “diluição” da cor devido a coloração mais clara da fibra de sisal (Figura 5) em relação à proteína liofilizada da torta de mamona utilizada na produção dos filmes.

Tabela 15 – Valores dos parâmetros L*, a*, b* dos filmes à base de PLTM para a superfície de secagem (em contato com o ar) e para a superfície em contato com o suporte (placa)

Formulação	L*	a*	b*
F1 Ar	28,0±2,5 ^a	20,1±2,6 ^c	15,7±5,1 ^b
F2 Ar	27,0±1,5 ^{a,b}	19,1±1,5 ^c	14,4±1,4 ^b
F3 Ar	19,0±0,5 ^{d,e}	28,0±0,2 ^a	24,6±0,4 ^a
F4 Ar	18,0±0,1 ^e	29,4±0,4 ^a	27,4±0,6 ^a
F1 Placa	22,2±1,8 ^{c,d}	23,8±1,1 ^b	26,9±2,7 ^a
F2 Placa	23,4±1,0 ^{c,b}	21,7±1,7 ^{b,c}	23,0±1,0 ^a
F3 Placa	17,1±0,9 ^e	29,6±0,6 ^a	26,6±1,8 ^a
F4 Placa	18,9±0,4 ^{d,e}	28,6±0,3 ^a	26,5±0,9 ^a

^{a, b, c, d, e}, letras diferentes na mesma coluna, indicam que os valores são significativamente diferentes (p<0,05). F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

De forma análoga, a diferença total de cor (ΔE^*) e a opacidade também foram influenciadas pela adição da fibra à formulação, ocorrendo uma diminuição da diferença total da cor (ΔE^*) e aumento da opacidade dos filmes contendo fibra de sisal moída em sua formulação (Tabela 16 F1 e F2) em comparação com os filmes produzidos sem a adição da fibra (Tabela 16 F3 e F4). O mesmo efeito na opacidade foi observado por Bodirlau, Teaca e Spiridon (2013), quando adicionaram fibras naturais em filmes a base de amido. Oliveira et al. (2015) também observaram o mesmo comportamento de diminuição da diferença total de cor (ΔE^*) e aumento da opacidade quando adicionaram fibras de celulose em filmes a base de proteína de mamona.

Tabela 16 - Valores dos parâmetros ΔE^* e Opacidade dos filmes à base de PLTM para a superfície de secagem (em contato com o ar) e para a superfície em contato com o suporte (placa)

Formulação	ΔE^*	Opacidade (%)
F1 Ar	73,0±0,6 ^e	57,5±9,9 ^a
F2 Ar	73,2±1,8 ^e	58,8±4,9 ^a
F3 Ar	83,8±0,4 ^{c,b}	23,5±0,1 ^c
F4 Ar	86,1±0,4 ^{a,b}	14,5±2,2 ^c
F1 Placa	82,1±0,5 ^c	41,2±2,6 ^b
F2 Placa	79,2±1,5 ^d	48,2±6,7 ^{a,b}
F3 Placa	86,7±0,2 ^a	14,3±2,6 ^c
F4 Placa	84,8±0,1 ^{a,b}	18,6±0,8 ^c

a, b, c, d, e, letras diferentes na mesma coluna, indicam que os valores são significativamente diferentes ($p < 0,05$). F1=filme com fibra e com glioal; F2=filme com fibra e sem glioal; F3=filme sem fibra e com glioal; F4=filme sem fibra e sem glioal.

Observando as duas superfícies analisadas dos filmes reforçados com fibra de sisal com e sem glioal (Tabela 16 F1 e F2) as superfícies de secagem dos filmes (contato com o ar) apresentaram diferença total de cor (ΔE^*) menor do que a superfície em contato com a placa, muito provavelmente devido à rugosidade apresentada pela superfície em contato com o ar. Da mesma forma, a opacidade também foi influenciada nas diferentes superfícies dos filmes reforçados com fibra de sisal com e sem glioal (Tabela 16 F1 e F2), sendo que este parâmetro foi maior para as superfícies em contato com o ar em comparação com a superfície em contato com a placa.

De maneira geral, a presença de glioxal na formulação dos filmes sem adição de fibra de sisal (Tabela 16 F3 e F4) não afetou significativamente a diferença total de cor (ΔE^*), nem a opacidade dos filmes produzidos independente da superfície do filme analisada, exceção feita a formulação F3, superfície em contato com o ar, que apresentou diferença total de cor (ΔE^*) menor que as demais. Carvalho e Grosso (2006) observaram que filmes de gelatina modificada com glioxal, apresentaram opacidade mais alta do que os filmes modificados com formaldeído e dos filmes sem modificação química.

5.4.2.5 Microestrutura dos filmes

A microestrutura dos filmes produzidos foi avaliada através das imagens geradas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram avaliadas a superfície de secagem dos filmes (em contato com o ar), a superfície em contato com o suporte de secagem (placa) (Figura 26) e também a superfície da seção transversal dos filmes obtida por criofratura, após congelamento com nitrogênio líquido (Figura 28).

Pode-se observar nas imagens das superfícies de secagem dos filmes (Figura 26 esquerda), que os filmes que possuem fibras de sisal em sua composição (F1 e F2), apresentam maior rugosidade do que os filmes que não contêm fibra de sisal (F3 e F4). Observando as superfícies em contato com o suporte de secagem (placa) (Figura 26 direita), os filmes que possuem fibras de sisal em sua composição (F1 e

F2), apresentaram além da sombra das fibras de sisal, a presença de micro fraturas na matriz proteica dos filmes, o que não foi observado nos filmes que não contêm fibra de sisal em sua formulação (F3 e F4). As ranhuras observadas mais claramente nas superfícies em contato com o suporte de secagem (placa) (Figura 26 direita) dos filmes que não contêm fibra de sisal em sua formulação (F3 e F4), provavelmente foram provocadas por imperfeições dos suportes de secagem utilizados.

Pode-se observar também a presença de partículas em todas as superfícies avaliadas, sendo mais evidenciadas nas superfícies de secagem (em contato com o ar) dos filmes que não contêm fibra de sisal em sua formulação (F3 e F4) do que dos filmes que possuem fibras de sisal em sua composição (F1 e F2).

Figura 26 Micrografias da superfície de secagem (em contato com o ar) (esquerda) e da superfície em contato com o suporte (placa) (direita) dos filmes à base de PLTM. F1=filme com fibra e com glixal; F2=filme com fibra e sem glixal; F3=filme sem fibra e com glixal; F4=filme sem fibra e sem glixal.

Estas partículas, anteriormente mencionadas, foram analisadas por espectroscopia dispersiva de raio X – EDS (Figura 27). Observa-se a presença principalmente de sódio, enxofre e potássio. A presença de sódio pode ser explicada pelo uso de hidróxido de sódio no processo de extração das proteínas. Por se tratar de material originalmente oriundo de resíduo da extração do óleo da mamona, estas partículas podem ser contaminantes do processo de extração ou mesmo de devido a estocagem da torta de mamona.

Figura 27 Exemplo de imagem (esquerda) e gráfico gerado (direita) por espectroscopia dispersiva de raio X – EDS realizada nas partículas presentes nos filmes de PLTM.

Observando a seção transversal dos filmes produzidos (Figura 28), nas duas formulações que continham fibras de sisal (F1 e F2), percebe-se claramente a separação da fibra de sisal da matriz proteica dos filmes, independentemente da presença de glioxal na formulação. Pode-se observar também a distribuição heterogênea das fibras de sisal na matriz proteica dos filmes, sendo que estas ficaram mais concentradas na superfície de secagem dos filmes, diferentemente do

observado por Montañó-Leyva et al. (2013), que observaram a distribuição uniforme de fibras de palha de trigo nos filmes à base de glúten. Observa-se também uma tendência das fibras de sisal de se aglomerarem umas com as outras. Esse mesmo efeito foi observado por Wretfors et al. (2009), em plásticos de glúten de trigo reforçados com fibra de cânhamo. Estes autores sugerem que esta aglomeração pode tornar os filmes mais fracos nas zonas sem reforço das fibras.

Comparando-se os filmes F3 e F4, que não possuem fibra de sisal em sua formulação, com a adição do glioxal (F3) percebe-se a tendência de migração das partículas visualizadas para a superfície de secagem dos filmes, fenômeno este chamado, por Makishi (2012), de elutriação.

Figura 28 Micrografias das superfícies criofraturadas dos filmes á base de PLTM. Aumento de 500x (esquerda) e 2.000x (direita). F1=filme com fibra e com glicol; F2=filme com fibra e sem glicol; F3=filme sem fibra e com glicol; F4=filme sem fibra e sem glicol.

5.4.2.6 Propriedades mecânicas

5.4.2.6.1 Testes de perfuração

As curvas mecânicas obtidas nos testes de perfuração apresentaram o mesmo comportamento. As curvas obtidas nos testes de perfuração apresentaram forma típica de curvas de filmes à base de biopolímeros, sem alteração no formato dessas curvas em função da adição de fibras de sisal ou da adição do agente reticulante glicolal (Figura 29), o mesmo comportamento foi observado por Oliveira, (2013), que estudou a adição de fibra de celulose à matriz do filme de proteína de mamona.

Nos filmes produzidos sem a presença de fibra de sisal (Tabela 17 F3 e F4) a adição do agente reticulante glicolal, ocasionou um aumento tanto na força na perfuração quanto na deformação na perfuração, concordando com os resultados obtidos por Makishi (2012), que estudou matriz semelhante. Marquié et al. (1995), estudando filmes produzidos a partir de proteínas extraídas do caroço de algodão, observaram aumento na força na perfuração em filmes reticulados com formaldeído e glutaraldeído. Alves et al. (2011), estudando filmes à base de blendas de gelatina suína e poli(vinil álcool) (PVA) reticuladas com glutaraldeído, observaram valores similares para força na perfuração, porém valores mais altos (24,7 %) para a deformação na perfuração. Observando os filmes produzidos sem reticulação (Tabela 17 F2 e F4), a adição da fibra não influenciou estatisticamente a força na

perfuração, porém ocasionou também uma diminuição da deformação na perfuração.

Figura 29 Exemplos de curvas de perfuração dos filmes produzidos à base de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

De maneira geral, nos filmes à base de PLTM reticulados com glioxal (Tabela 17 F1 e F3), a adição de fibra de sisal moída à formulação da solução formadora de filme, influenciou negativamente os resultados dos testes de perfuração, ou seja, a presença da fibra de sisal diminuiu a força na perfuração e também a deformação na

perfuração dos filmes produzidos. Oliveira (2013) observou que a adição de fibra de celulose à matriz do filme de PLTM também provocou diminuição dos valores de deformação na perfuração, porém houve um aumento na força na perfuração.

Tabela 17 – Valores de força na perfuração (FP) e deformação na perfuração (DP) dos filmes produzidos à base de PLTM

Formulação	FP (N)	DP (%)
F1	9,1±0,6 ^b	2,4±0,3 ^c
F2	5,2±0,1 ^c	2,9±0,1 ^c
F3	11,2±0,7 ^a	5,7±0,4 ^a
F4	6,1±0,1 ^c	4,2±0,2 ^b

^{a,b,c}, letras diferentes na mesma coluna, indicam que os valores são significativamente diferentes ($p < 0,05$). F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

5.4.2.6.2 Testes de tração

Pode-se observar na Figura 30, que as curvas mecânicas obtidas nos testes de tração, também apresentaram o mesmo comportamento, independente da adição de glioxal como agente reticulante e/ou fibra de sisal moída como reforço. Entretanto, observou-se que a adição do agente reticulante glioxal à formulação, produziu filmes mais resistentes e com maior elongação na ruptura quando comparados com os filmes sem reticulação (Tabela 18 F3 e F4). O mesmo

comportamento foi observado por Zhang et al. (2006), estudando filmes a base de proteína de trigo reticuladas também com glicolal, com valores similares de TR (10,5 MPa) e valores maiores para ER (149,6 %) ao encontrado nesta tese. Seixas et al. (2013) também observaram um aumento na resistência mecânica em filmes a base de blenda de alginato e pectina quando submetidos a reação de reticulação com cloreto de cálcio. Entretanto, Carvalho e Grosso (2006), estudando a modificação química de gelatina suína com glicolal, não observaram aumento na tensão na ruptura, nem na elongação na ruptura, os filmes produzidos apresentaram maior TR (16 MPa) e menor ER (38 %). Li et al. (2013), estudando filmes compósitos de quitosana e amido reticulados com glutaraldeído, observaram uma diminuição tanto da TR, quanto da ER dos filmes após a adição do agente reticulante. Os filmes sem glicolal e sem fibra (Tabela 18 F4) apresentaram módulo elástico maior que os demais indicando serem mais rígidos, porém menos flexíveis.

Nos filmes produzidos sem reticulação a adição da fibra não influenciou estatisticamente a tensão na ruptura, porém ocasionou uma diminuição da elongação na ruptura (Tabela 18 F2 e F4), corroborando os resultados do teste de perfuração (Tabela 17 F2 e F4).

Figura 30 Exemplos de curvas de tração dos filmes produzidos à base de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

A adição de fibra de sisal à formulação dos filmes à base de PLTM reticulados com glioxal (Tabela 18 F1 e F3), influenciou negativamente os resultados dos testes de tração, ou seja, a presença da fibra de sisal diminuiu a tensão na ruptura e a elongação na ruptura, sem, no entanto causar alteração no módulo elástico dos filmes produzidos, corroborando os resultados encontrados no teste de perfuração. Este efeito de diminuição da tensão na ruptura e da elongação na ruptura pode ser explicado pela dispersão heterogênea da fibra de sisal na matriz proteica dos filmes, conforme se pode observar nas micrografias das superfícies criofraturadas dos

filmes (Figura 28), causando uma descontinuidade da matriz polimérica. A aglomeração das fibras pode tornar os filmes mais fracos nas zonas sem reforço das fibras (WRETFORS et al., 2009).

Comportamento semelhante foi observado por Montañó-Leyva et al. (2013), quando adicionou 5% de palha de trigo em filmes a base de glúten de trigo. Oliveira et al. (2015) observaram que a adição de fibra de celulose à matriz do filme de proteína de mamona também causou diminuição na elongação na ruptura, porém com aumento na tensão na ruptura. Esse mesmo comportamento foi observado por Kunanopparat et al. (2008), estudando filmes a base de glúten de trigo reforçados com fibra de cânhamo, por Müller, Laurindo e Yamashita (2009a, 2009b), estudando fibra de celulose como reforço em filmes à base de amido de mandioca, por Pereda et al. (2011), estudando filmes nanocomposito de caseinato de sódio e fibra de nanocelulose, por Gilfillan, Moghaddam e Doherty (2014), em compósitos de amido reforçados com nanofibra de bagaço de cana de açúcar, por Machado et al. (2014), estudando a incorporação de nanocelulose extraída da fibra de coco verde em filmes a base de amido de mandioca, por Jensen et al. (2015), incorporando fibra de celulose em filmes a base de proteína de soja.

Tabela 18 – Valores de tensão na ruptura (TR), alongação na ruptura (ER) e módulo de elasticidade (ME) dos filmes produzidos à base de PLTM

Formulação	TR (MPa)	ER (%)	ME (MPa)
F1	5,1±0,2 ^b	24,2±1,1 ^c	1,4±0,2 ^b
F2	3,4±0,2 ^c	12,1±0,5 ^d	1,0±0,2 ^b
F3	10,3±1,0 ^a	78,5±2,6 ^a	1,5±0,1 ^b
F4	3,5±0,1 ^c	56,0±3,8 ^b	20,0±0,9 ^a

^{a, b, c, d}, letras diferentes na mesma coluna, indicam que os valores são significativamente diferentes (p<0,05). F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

5.4.2.7 Solubilidade em Água e Umidade

Por ser importante para a biodegradabilidade dos filmes, a solubilidade é uma característica relevante quando estes filmes são produzidos com a finalidade de utilização como embalagem (WITTAYA, 2009).

A umidade do filme sem glioxal e sem fibra de sisal (F4) apresentou valor significativamente menor (p>0,05) do que os demais filmes produzidos (Tabela 19). Pôde-se observar que a adição de fibra de sisal moída não provocou mudanças na higroscopicidade dos filmes reticulados com glioxal (Tabela 19 F1 e F3). O mesmo comportamento foi observado por Oliveira et al. (2015), estudando matriz semelhante incorporando fibra de celulose, por outro lado Müller, Laurindo e Yamashita (2009a), estudando fibra de celulose como reforço em filmes a base de

amido de mandioca observaram uma diminuição da umidade dos filmes produzidos em função da incorporação da fibra de celulose.

Tabela 19 - Solubilidade e Umidade dos filmes à base de PLTM

Formulação	Solubilidade (%)	Umidade (%)
F1	36,8±1,6 ^b	14,3±0,4 ^a
F2	TS	13,4±0,1 ^a
F3	42,8±0,9 ^a	14,3±0,2 ^a
F4	TS	12,4±0,9 ^b

^{a, b, c}, letras diferentes na mesma coluna, indicam que os valores são significativamente diferentes (p<0,05). F1=filme com fibra e com glicol; F2=filme com fibra e sem glicol; F3=filme sem fibra e com glicol; F4=filme sem fibra e sem glicol. TS=Totalmente Solúvel.

Os filmes produzidos sem o glicol (Tabela 19 F2 e F4) foram completamente solúveis indicando a necessidade de utilizar-se um agente reticulante na formulação, sugerindo que apenas a fibra não foi capaz de garantir a integridade da matriz polimérica. Pode-se observar na Tabela 19 F3 e F4, que a solubilidade foi reduzida para 42 % nos filmes produzidos após a reticulação das PLTM com glicol. Marquié et al. (1995) também observaram redução da solubilidade em função da adição de glutaraldeído na formulação de filmes à base de proteína de algodão. Observa-se também na Tabela 19 F1 e F3 que a adição de fibra de sisal moída à formulação, implicou em uma diminuição da solubilidade. O mesmo comportamento foi observado por Machado et al. (2014), estudando a incorporação de nanocelulose

extraída da fibra de coco verde em filmes a base de amido de mandioca e também por Dias et al. (2011), em filmes à base de farinha de arroz reforçados com fibras de celulose.

5.4.2.8 Permeabilidade ao Vapor de Água

A reação de reticulação das PLTM não afetou a permeabilidade do vapor de água dos filmes produzidos, que permaneceu em torno de 0,6 g.mm./h.m².kPa (Tabela 20 F3 e F4). Esse mesmo comportamento foi observado por Li et al. (2013), quando estudaram a reação de reticulação com glutaraldeído em filmes à base de compósitos de quitosana e amido, entretanto Carvalho e Grosso (2004, 2006) observaram uma diminuição da permeabilidade ao vapor de água quando filmes de gelatina foram reticulados com glioxal. O mesmo efeito foi observado por Hernández-Muñoz, Villalobos e Chiralt (2004), quando incorporaram formaldeído, glutaraldeído ou glioxal em filmes ricos em glutenina, sendo que a permeabilidade ao vapor de água reduziu em 30 % independente do agente reticulante estudado.

Tabela 20 - Valores de permeabilidade no vapor de água dos filmes à base de PLTM

Formulação	Permeabilidade ao vapor de água (g.mm/h.m ² .kPa)
F1	1,2±0,2 ^a
F2	1,0±0,1 ^a
F3	0,6±0,0 ^b
F4	0,6±0,1 ^b

^{a, b}, letras diferentes indicam que os valores são significativamente diferentes ($p < 0,05$). F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

A adição de fibra de sisal moída à formulação aumentou em cerca de 50 % a permeabilidade ao vapor de água dos filmes produzidos (Tabela 20 F1 e F2). Jensen et al. (2015) também observaram aumento da permeabilidade ao vapor de água quando incorporaram fibra de celulose aos filmes à base de proteína de soja. Efeito contrário foi observado por Müller, Laurindo e Yamashita (2009a), ou seja, os filmes à base de amido de mandioca reforçados com fibra de celulose apresentaram permeabilidade ao vapor de água menor que os filmes de amido de mandioca sem reforço de fibra de celulose. Oliveira et al. (2015) não observou alteração na permeabilidade ao vapor de água após a incorporação de fibra de celulose em filmes de proteína de mamona.

5.4.2.9 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Os filmes de proteínas de torta de mamona produzidos foram analisados por calorimetria diferencial de varredura (DSC). Os valores das propriedades de transições de fase estão apresentados na Tabela 21. Pode-se observar na Figura 31 que na primeira varredura, em todas as formulações, as curvas apresentaram uma inflexão da linha de base, caracterizando a transição vítrea (T_g) da fração rica em plastificante glicerol (SOBRAL et al., 2001), porém as curvas referentes às duas formulações sem glioxal (Figura 31 F2 e F4), não apresentaram pico endotérmico, o que caracteriza o estado desnaturado da PLTM. Este resultado já era esperado, pois conforme foi discutido no item 5.1.3, a torta de mamona foi submetida a um processo relativamente drástico, quando da extração do óleo da semente da mamona, o que pode ter causado a desnaturação irreversível das proteínas contidas na torta (Lacerda, 2013).

Tabela 21 - Valores de transições de fase (Tg e Tm) e entalpia de fusão (ΔH) dos filmes de PLTM

Formulação	1ª Varredura			2ª Varredura	Umidade
	T _{g1}	ΔH_m	T _m	T _{g2}	
F1	-40,4±0,8 ^a	3,6±1,1 ^a	83,4±5,6 ^a	-43,0±1,0 ^a	15,0±0,6 ^a
F2	-46,3±1,0 ^b	-	-	-45,8±0,8 ^a	15,2±0,2 ^a
F3	-47,6±1,7 ^b	3,6±0,1 ^a	73,2±5,4 ^a	-49,3±1,8 ^b	14,9±0,5 ^a
F4	-48,5±0,8 ^b	-	-	-50,2±1,1 ^b	14,2±0,3 ^a

^{a, b}, letras diferentes indicam que os valores são significativamente diferentes ($p < 0,05$). F1=filme com fibra e com glicol; F2=filme com fibra e sem glicol; F3=filme sem fibra e com glicol; F4=filme sem fibra e sem glicol.

Os filmes com as PLTM submetidas à reação de reticulação com glicol (Figura 31 F1 e F3) apresentaram, na primeira varredura, além da inflexão da linha de base, caracterizando a transição vítrea (Tg) da fração rica em plastificante glicol (SOBRAL et al., 2001), um pico endotérmico, sugerindo que ocorreu modificação molecular das proteínas dos filmes produzidos, sendo que a adição da fibra de sisal moída, não provocou alteração nem da temperatura, nem da entalpia da desnaturação (Tabela 21 F1 e F3).

As reações de reticulação de proteínas provocam alterações das propriedades térmicas das mesmas, pois as ligações formadas entre as proteínas e o agente reticulante aumentam a estabilidade da matriz polimérica (HERNÁNDEZ-MUÑOZ; VILLALOBOS; CHIRALT, 2004).

Figura 31 Exemplos de curvas de calorimetria diferencial de varredura dos filmes à base PLTM. F1=filme com fibra e com glicolal; F2=filme com fibra e sem glicolal; F3=filme sem fibra e com glicolal; F4=filme sem fibra e sem glicolal.

A adição de fibra de sisal moída à formulação (Tabela 21 F1 e F2) ocasionou um aumento da temperatura de transição vítrea (T_g) dos filmes produzidos, indicando interação das fibras de sisal com a fração rica em glicerol da matriz proteica dos filmes. Este comportamento também foi observado por Oliveira et al.

(2015) em filmes de proteína de mamona reforçados com fibra de celulose. Entretanto, Kunanopparat et al. (2008) não observaram alteração na Tg do plastificante em filmes à base de glúten de trigo após reforço com fibra de cânhamo.

A partição do glicerol entre a matriz polimérica e as fibras de reforço, também foi relatada por Kunnanopparat et al. (2008) e por Müller, Laurindo e Yamashita (2009b), entretanto estes autores abordaram esta partição como um fenômeno que influencia o módulo de Young de filmes compósitos, devido à desplastificação da matriz polimérica dos filmes.

5.4.2.10 Isotermas de sorção

As isotermas de sorção dos filmes produzidos com PLTM apresentaram forma sigmoideal (Figura 32), que é a forma mais comumente encontrada em alimentos. Pode-se observar na Figura 32 que ocorre um aumento gradual e discreto entre o intervalo de atividade de água de 0 a 0,7. A partir deste valor ($a_w=0,7$) os filmes absorvem maior quantidade de água, provavelmente devido a alterações solvente-solvente (HERNÁNDEZ-MUÑOZ; VILLALOBOS; CHIRALT, 2004).

Figura 32 Isotermas de sorção dos filmes produzidos com a PLTM. F1=filme com fibra e com glicol; F2=filme com fibra e sem glicol; F3=filme sem fibra e com glicol; F4=filme sem fibra e sem glicol.

O modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-De Boer) (eq. 2), foi ajustado aos dados experimentais (umidade de equilíbrio *versus* atividade de água), por regressão não linear (RIZVI, 1986), utilizando-se o programa STATISTICA® (versão 12). Após o ajuste dos dados ao modelo de GAB, observou-se um $R^2=0,99$, podendo-se considerar que o ajuste ao modelo foi satisfatório para todas as formulações estudadas (Tabela 22).

Os valores correspondentes à umidade de monocamada (X_m) dos filmes que sofreram reticulação foram semelhantes entre si (Tabela 22 F1 e F3), os filmes sem reticulação e com fibra de sisal (Tabela 22 F2) apresentaram o menor valor de X_m dentre todas as formulações, enquanto os filmes sem reticulação e sem fibra de sisal

apresentaram o maior valor de X_m . A presença da fibra de sisal aumentou o valor da C_{GAB} , desta forma pode-se sugerir, de maneira geral, que a fibra influenciou na capacidade de absorção de água dos filmes independente da presença ou não do agente reticulante (Tabela 22).

Observando a influência da adição de glicolal como agente de modificação química das PLTM, tanto nos filmes que continham a fibra de sisal (F1), como nos filmes que não continham a adição da fibra de sisal (F3), a umidade da monocamada não sofreu alteração, indicando, portanto, que a adição do agente reticulante não influenciou na capacidade de absorção de água dos filmes produzidos.

Tabela 22 – Coeficientes para as isotermas de sorção dos filmes de PLTM

Coeficientes	F1	F2	F3	F4
C_{GAB}	2,66	16,82	2,42	1,39
K_{GAB}	0,95	0,97	0,95	0,93
X_m	10,21	8,10	10,66	13,22
R^2	0,99	0,99	0,99	0,99

F1=filme com fibra e com glicolal; F2=filme com fibra e sem glicolal; F3=filme sem fibra e com glicolal; F4=filme sem fibra e sem glicolal.

5.4.2.11 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Observando os espectros de FTIR dos filmes produzidos, não foi possível detectar alterações nos espectros em nenhuma das formulações produzidas, não sendo possível verificar as mudanças ocorridas após a reticulação das PLTM dos filmes produzidos, nem a influência da fibra de sisal nos espectros gerados (Figura 33). Além disso, por ser uma análise qualitativa, a área dos picos, não pode ser atribuída a maiores ou menores concentrações de nenhum componente da formulação.

As bandas próximas a 1.425 cm^{-1} , 1.397 cm^{-1} e 1.316 cm^{-1} correspondem as vibrações das ligações CH_2 , CH_3 , e a presença de aminas, respectivamente. Os picos próximos a 1.040 cm^{-1} estão associados a alongamentos dos grupos C-O e O-H (LI et al., 2013), podendo ser atribuídos à presença de glicerol (BERGO; SOBRAL, 2007).

Figura 33 Espectro de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) dos filmes de PLTM. F1=filme com fibra e com glioxal; F2=filme com fibra e sem glioxal; F3=filme sem fibra e com glioxal; F4=filme sem fibra e sem glioxal.

Todas as formulações apresentam um pico em aproximadamente 3.277 cm^{-1} que representa amida A (estiramento N-H) e água livre (O-H), 1.634 , 1.538 e 1.236 cm^{-1} , que representam respectivamente, amida I (estiramento da ligação C=O), a amida II (estiramento da ligação C-N e a deformação angular da ligação N-H) e a amida III, respectivamente (BERGO; SOBRAL, 2007; LI et al., 2013; BITENCOURT, 2013).

6 CONCLUSÕES

No estudo sobre o efeito do pH de extração das proteínas da torta de mamona sobre os filmes produzidos com essas proteínas liofilizadas, observou-se que as proteínas extraídas da torta de mamona, adicionadas de glutaraldeído, apresentam boas propriedades filmogênicas, independentemente do pH de extração.

O pH de extração das proteínas da torta de mamona não afetou a concentração de proteínas extraídas, e nem seus perfis de aminoácidos, mas influenciou certas propriedades físicas dos filmes. De maneira geral, os filmes produzidos com proteínas extraídas em pH = 12 apresentaram melhores propriedades mecânicas e solubilidade.

No estudo sobre o efeito do reforço com fibra de sisal e/ou do reticulante glicoxal sobre filmes produzidos com proteínas liofilizadas de torta de mamona, observou-se que a adição de fibras (sisal) não implicou em melhoras das propriedades físicas dos filmes. Esse comportamento foi explicado pela pobre dispersão das fibras na matriz proteica, observado por microscopia eletrônica de varredura. Por outro lado, a adição do glicoxal, como agente reticulante, contribuiu para a melhora das propriedades físicas dos filmes muito possivelmente por causa da importante concentração de arginina na proteína. Entretanto, o glicoxal não foi capaz de garantir a qualidade dos filmes contendo a fibra de sisal.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, M.; ALBOOFETILEH, M.; REZAEI, M.; BEHROOZ, R. Comparing physico-mechanical and thermal properties of alginate nanocomposite films reinforced with organic and/or inorganic nanofillers. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 32, p. 416-424, 2013.

ABUGOCH, L.E.; TAPIA, C.; VILLAMÁN, M.C.; YAZDANI-PEDRAM, M.; DÍAZ-DOSQUE, M. Characterization of quinoa proteinechitosan blend edible films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 25, p. 879-886, 2011.

ALMEIDA, C. H. T.; AMORIM, H.; CASTELLETTI, C. E. M.; PERES, S. Caracterização dos co-produtos de processamento de biodiesel de mamona para geração de energia térmica e elétrica. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 1., 2006. Distrito Federal. Brasil. **Anais ...**, p.68-72, 2006.

ALVES, P.M.A.; CARVALHO, R.A.; MORAES, I.C.F.; LUCIANO, C.G.; BITTANTE, A.M.Q.B.; SOBRAL, P.J.A. Development of films based on blends of gelatin and poly(vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 25, n. 7, p. 1751-1757, 2011.

AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 16. ed. Arlington, USA, 1995.

ARSÈNE, M.A.; SAVASTANO JR, H.; ALLAMEH, S.M.; GHAVAMI, K.; SOBOYEJO, W. Cementitious composites reinforced with vegetable fibers. In: 1st Inter American Conference on Non-Conventional Materials and Technologies in the Eco-Construction and Infrastructure, 2003, João Pessoa. **Abstracts...** 1st Inter American Conference on Non-Conventional Materials and Technologies in the Eco-Construction and Infrastructure. Rio de Janeiro: Abmtenc, Brasil, v. 1, p. 1-27, 2003.

ASCHERI, J. L. R.; MACIEL, F. M.; CARVALHO, C. W. P.; FREITAS, S. C.; MACHADO, O. L. T. Destoxificação de torta de mamona por extrusão termoplástica: Estudo preliminar. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 2., 2007. Distrito Federal, Brasil, **Anais...**, 2007.

ASTM. American Society for Testing and Materials. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. International Standard Method D882-10, Philadelphia, USA, 2010a.

ASTM. American Society for Testing and Materials. Standard test method for water vapor transmission of materials. International Standard Method E96/96M, Philadelphia, 2010b.

ÁVILA FILHO, S.; DUARTE, F.; JESUS, D. S.; MACHADOR, A.; RIBEIRO, N. M.; VELOSO, M. C. C. Métodos para determinação de toxinas presentes na torta de mamona. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel, 1., 2006. Distrito Federal, Brasil. **Anais...**, v. 1, p. 24-27, 2006.

AYHLLON-MEIXUEIRO, F.; VACA-GARCIA, C.; SILVESTRE, F. Biodegradable films from isolate of sunflower (*Helianthus annuus*) proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa, USA, v. 48, p. 3032-3036, 2000.

BARBIN, D.F.; NATCHI, A.; MÜLLER, K. Improvement of properties of rapeseed protein concentrates produced via alcoholic process by thermal and mechanical treatments. **Journal of food processing and preservation**, Westport, Conn., USA, v. 35, p. 369-375, 2011.

BEPPIU, M. M.; VIEIRA, R. S.; AIMOLI, C. G; SANTANA, C. C. Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: Effect on ion permeability and water absorption. **Journal Membrane Science**, Amsterdam, Netherlands, v. 301, p. 126-130, 2007.

BELTRÃO, N. E. M. Torta de mamona (*Ricinus communis* L.): fertilizante e alimento. Comunicado Técnico n. 171 da Embrapa de 2003. ISSN 0102-0099. Disponível em: <http://www.cnpa.embrapa.br/plataforma_mamona/publicacoes/comunicacoes/04.pdf>. Acesso em: 22 de março de 2010.

BERGO, P.; SOBRAL, P.J.A. Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 21, n. 8, p. 1285-1289, 2007.

BITENCOURT, Camila Marques. Desenvolvimento e aplicação de filmes à base de gelatina aditivados com extrato etanólico de cúrcuma (*Cúrcuma longa* L.). 2013. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

BONILLA, J.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition. **Journal of Food Engineering**, Essex, United Kingdom, v. 114, n. 3, p. 303-312, 2013.

BODIRLAU, R.; TEACA, C.A.; SPIRIDON, I. Influence of natural fillers on the properties of starch-based biocomposite films. **Composites Part B: Engineering**, Kidlington, United Kingdom, v. 44, n. 1, p. 575-583, 2013.

BOTELHO, C. A. V. A. Resposta técnica SBRT no, 04/10/2005. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas-SBRT. Disponível em: <[http:// www.sbrt.ibict.br/uploads/sbrtno.pdf](http://www.sbrt.ibict.br/uploads/sbrtno.pdf)> Acesso em 16 de fevereiro de 2010.

BOURTOOM, T. CHINNAN, M. S.; JANTAWAT, P.; SANGUANDEEKUL, R. Effect of select parameters on the properties of edible films from water-soluble fish proteins in surimi wash-water. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, London, United Kingdom, v. 39, n. 4, p. 406-419, 2006.

BRASIL. Lei Ordinária Nº 11097, de 13 de janeiro de 2005. Dispõe Sobre a Introdução do Biodiesel na Matriz Energética Brasileira; Altera as Leis 9.478, de 6 de Agosto de 1997, 9.847, de 26 de Outubro de 1999 e 10.636, de 30 de Dezembro de 2002; e da Outras Providencias. **Diário Oficial da União**, Poder Legislativo, Brasília, DF. 14 de Jan. 2005.

CANEVAROLO, S.V.J. Ciência dos Polímeros: Um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 2ª ed. São Paulo, SP, Brasil: Artliber, p. 282, 2002.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase glyoxal and formaldehyde. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 18, n. 5, p. 717-726, 2004.

CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Properties of chemically modified gelatin films. **Brazilian Journal of Cheminty and Engineering**, São Paulo, Brasil, v. 23, n. 1, p. 45-53, 2006.

CIANNAMEA, E.M.; SAGUES, M.F.; SAUMELL, C.; STEFANI, P.M. ; RUSECKAITE, R.A. Soybean protein films. Characterization and potential as novel delivery devices of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores. **Biological Control**, Maryland Heights, USA, v. 66, n. 2, p. 92-101, 2013.

CIANNAMEA, E.M.; STEFANI, P.M.; RUSECKAITE, R.A. Storage-induced changes in functional properties of glycerol plasticized - Soybean protein concentrate films produced by casting. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 45, n. 9, p. 247-255, 2015.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento : Acompanhamento da safra brasileira: Grãos – Safra2009/2010 – 10º levantamento, Julho 2010. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/1bcbd827bf80c423c09f4adef50fad86.pdf>>. Acesso em: 22 de novembro de 2010.

COSTA, F.X.; SEVERINO, L.S.; BELTRÃO, N.E.M.; FREIRE, R.M.M.; LUCENA, A.M. A.; GUIMARÃES, M.M.B. Composição da torta de mamona. In: Congresso Brasileiro de Mamona: energia e sustentabilidade, 1., 2004. Campina Grande, PB, Brasil, **Anais...** CD-ROM, 2004.

COSTA, H.M. ; RAMOS, V.D.; ABRANTES, T.A.S. ; CASTRO de, D.F. ; VISCONTE, L.L.Y. ; NUNES, R.C.R. ; FURTADO, C.R.G. Efeito do óleo de mamona em composições de borracha natural contendo sílica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, SP, Brasil, v. 14, n. 1, p.46-50, 2004.

COSTA JR, E.S.; MANSUR, H.S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli (álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. **Química Nova**, São Paulo, SP, Brasil, v. 31, n. 6, p. 1460-1466, 2008.

COUPLAND, J.N.; SHAW, N.B.; MONAHAN, F.J.; O'RIORDAN, E.D.; O'SULLIVAN, M. Modeling the effect of glycerol on the moisture sorption behavior of whey protein edible films. **Journal of Food Engineering**, Essex, United Kingdom, v. 43, n. 1, p. 25-30, 2000.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Proteins as Agricultural Polymers for Packaging Production. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, Minn., USA, v. 75, n. 1, p. 1-9, 1998.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affect by hydrophilic plasticizers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., USA, v. 45, n. 3, p. 662-626, 1997a.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Thermal properties of fish myofibrillar protein-based films as affect by moisture content. **Polymer**, London, United Kingdom, v. 38, n. 10, p. 2399-2405, 1997b.

DI PIERRO, P.; CHICO, B.; VILLALONGA, R.; MARINIELLO, L.; DAMIAO, 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**, Washington, USA, v. 7, p. 744-749, 2006.

DIAS, A.B.; MULLER, C.M.O.; LAROTONDA, F.D.S.; LAURINDO, J.B. Mechanical and barrier properties of composite films based on rice flour and cellulose fibers. **LWT - Food Science and Technology**, London, United Kingdom, v. 44, n. 2, p. 535-542, 2011.

DRUMMOND, A.R.F.; GAZINEU, M.H.P.; ALMEIDA, L.; SOUTO MAIOR, A. Metanol e etanol como solventes na extração de óleo de mamona. In: Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel, 1., 2006, Distrito Federal. **Anais...** p. 3-7, 2006.

FARUK, O.; BLEDZKI, A. K.; FINK, H-P.; SAIN, M. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. **Progress in Polymer Science**, London, Camden, United Kingdom, v. 37, p. 1552-1596, 2012.

FREITAS, S.; FREDO, C.J. Biodiesel à base de óleo de mamona: algumas considerações. **Revista Informações Econômicas**, USP-IEA-SP, São Paulo, Brasil, v. 35, n. 1, 2005.

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

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

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. Forage fiber analysis. **Agricultural Handbook n°379**. Washington, DC, USA, p. 20, 1970.

GILFILLAN, W.N.; MOGHADDAM, L.; DOHERTY, W.O.S. Preparation and characterization of composites from starch with sugarcane bagasse nanofibres. **Cellulose**, Dordrecht, Netherlands, v. 21, p. 2695-2712, 2014.

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, USA, v. 57, n. 1, p. 190-195, 1992.

GHOSH, A.; ALI, M. A.; DIAS, G. J. Effect of Cross-Linking on Microstructure and Physical Performance of Casein Protein. **Biomacromolecules**, Washington, DC, USA, v. 10, n. 7, p. 1681-1688, 2009.

GREENSPAN, L. Humidity points of binary saturated aqueous solutions. **Journal of Research of the National of Standards**, Hoboken, United States, v. 81A, n. 1, p. 92-93, 1977.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; VILLALOBOS, R.; CHIRALT, A. Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 18, n. 3, p. 403-411, 2004.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; LÓPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J. M.; GAVARA, R. Formaldehyde Cross-Linking of Gliadin Films: Effects on Mechanical and Water Barrier Properties. **Biomacromolecules**, Washington, DC, USA, v. 5, n. 2, p. 415-421, 2004.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; KANAVOURAS, A.; LAGARON, J.M.; GAVARA, R. Development and Characterization of Films Based on Chemically Cross-Linked Gliadins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa, USA, v. 53, n. 21, p. 8216-8223, 2005.

HOFFMAN, L.V.; DANTAS, A.C.A.; MEDEIROS, E.P.; SOARES, L.V. Ricina: um impasse para a utilização da torta de mamona e suas aplicações. Campina Grande: Embrapa Algodão, 25 p. (Documentos, 174), Campina Grande, PB, Brasil, 2007.

HUQ, T.; SALMIERI, S.; KHAN, A.; KHAN, R.A.; LE TIEN, C.; RIEDL, B.; FRASCHINI, C.; BOUCHARD, J.; URIBE-CALDERON, J.; KAMAL, M.R.; LACROIX, M. Nanocrystalline cellulose (NCC) reinforced alginate based biodegradable nanocomposite film. **Carbohydrate Polymers**, Barking, United Kingdom, v. 90, n. 4, p.1757-1763, 2012.

HUTCHINGS, J.B. Food color and appearance. Aspen Publisher, Maryland, USA, 1999.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201002comentarios.pdf> . Acesso em: 22 de março de 2010.

IWATA, K.; ISHIZAKI, S.; HANDA, A.; TANAKA, M. Preparation and characterization of edible films from fish water-soluble proteins. **Fisheries Science**, Kyoto, Japan, v. 66, p. 372-378, 2000.

JANGCHUD, A.; CHINNAN, M.S. Properties of peanut protein film: sorption isotherm and plasticizer effect. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, London, United Kingdom, v. 32, n. 2, p. 89-84, 1999.

JAOAC, **Journal of the Association of Official Analytical Chemistry**, Rockville, USA, v. 72, n. 6, p. 912-916, 1989.

JAYARAMAN, K. Manufacturing sisal-polypropylene composites with minimum fibre degradation. **Composites Science and Technology**, Oxford, Kidlington, United Kingdom, v. 63 n. 3-4, p.367-374, 2003.

JENSEN, A.; LIM, L.-T.; BARBUT, S.; MARCONE, M. Development and characterization of soy protein films incorporated with cellulose fibers using a hot surface casting technique. **LWT - Food Science and Technology**, London, United Kingdom, v. 60, n. 1, p.162 – 170, 2015.

JOWITT, R.; ESCHER, F.; HALLTOM, B.; MEFFERT, H.F.T.; SPIESS, W.E.L.; VOS, G. **Physical Properties of Foods**. London and New York: Applied Science Publishers, 1983.

KARIMI, S.; DUFRESNE, A.; TAHIR, P.M.; KARIMI, A.; ABDULKHANI, A. Biodegradable starch-based composites: effect of micro and nanoreinforcements on composite properties. **Journal of Materials Science**, New York, USA, v. 49, n. 13, p.4513-4521, 2014.

KIERNAN, J. A. Formaldehyde, formalin, paraformaldehyde and glutaraldehyde: What they are and what they do. **Microscopy Today**, New York, USA, p. 8-12, 2000.

KITIC, D.; JARDIM, D.C.P.; FAVETTO, G.J.; RESNIK, S.L.; CHIRIFE, J. Theoretical prediction of the water activity of standard saturated salt solutions at various temperatures. **Journal of Food Science**, Chicago, USA, v. 51, n. 5, p. 1037-1041, 1986.

KHAN, A.; KHAN, R. A.; SALMIERI, S.; TIEN, C. Le; RIEDL, B.; BOUCHARD, J.; CHAUVE, G.; TAN, V.; KAMAL, M. R.; LACROIX, M. Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, United Kingdom, v. 90, n. 4, 6 p. 1601-1608, 2012.

KUNANOPPARAT, T.; MENUT, P.; MOREL, M.-H.; GUILBERT, S. Plasticized wheat gluten reinforcement with natural fibers: Effect of thermal treatment on the fiber/matrix adhesion. **Composites Part A**, Oxford, Kidlington, United Kingdom, v. 39, n. 12, p.1787 - 1792, 2008.

LABUZA, T.P; KAAANANE, A.; CHEN, J.Y. Effect of temperature on the moisture sorption isotherms and water activity shift of two dehydrated foods. **Journal of Food Science**, Chicago, USA, v. 50, n. 2, p. 385-392, 1985.

LACERDA, R.S. Caracterização química, bioquímica e físico-química da torta de mamona para seu aproveitamento na produção de material biodegradável e na alimentação animal, 2013, 219f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga - SP, 2013.

LAGRAIN, B.; GODERIS, B.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. Molecular Basis of Processing Wheat Gluten toward Biobased Materials. **Biomacromolecules**, Los Angeles, Califórnia, USA, v. 11, n. 3, p. 533-541, 2010.

LEAL, I. A.P.B. Resposta técnica SBRT no, 19/03/2007. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas - SBRT. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br/uploadsbrt>>. Acesso em: 26 de agosto de 2008.

LESTARI, D.; MULDER, W.J.; SANDERS, J.P.M. Jatropha seed protein functional properties for technical applications. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, Netherlands, v. 53, p. 297-304, 2011.

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

LI, H.; GAO, X.; WANG, Y.; ZHANG, X.; TONG, Z. Comparison of chitosan/starch composite film properties before and after cross-linking. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, Netherlands, v. 52, p. 275-279, 2013.

LIM, L.T.; MINE, Y.; TUNG, A. Barrier and tensile properties of transglutaminase cross-linked gelatin films as affect by relative humidity, temperature, and glicerol content. **Journal of Food Science**, Chicago, USA, v. 64, n. 4, p. 616-622, 1999.

LIMA, R.L.S.; SEVERINO, L.S.; SAMPAIO, L.R.; FREIRE, M.A.O.; SOFIATTI, V.; BELTRÃO, N.E.M. Combinação da casca e torta de mamona como adubo orgânico para a mamoneira. In: Congresso Brasileiro de Mamona: energia e ricinoquímica, 3., 2008, Campina Grande, PB, Brasil. **Anais...** 2008.

LIU, C.-C.; TELLEZ-GARAY, A.M.; CASTELL-PEREZ, M.E. Physical and mechanical properties of peanut protein films. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, London, United Kingdom, v. 37, p. 731-738, 2004.

LIU, H.; ADHIKARI, R.; GUO, Q.; ADHIKARI, B. Preparation and characterization of glycerol plasticized (high-amylose) starch–chitosan films. **Journal of Food Engineering**, Essex, United Kingdom, v. 116, n. 2, p. 588-597, 2013.

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**, Easton, Pa., USA, v. 55, n. 6, p. 2349-2355, 2007.

LONGARES, A.; MONAHAN, F.J.; O'RIORDAN, E.D.; O'SULLIVAN, M. Physical properties of edible films made from mixtures of sodium caseinate and WPI. **International Dairy Journal**, Amsterdam, Netherlands, v. 15, n. 12, p. 1255-1260, 2005.

MACHADO, B.A.S.; REIS, J.H.O.; SILVA, J.B.; CRUZ, L.S.; NUNES, I.L.; PEREIRA, F. V.; DRUZIAN, J.I. Obtenção de nanocelulose da fibra de coco verde e incorporação em filmes biodegradáveis de amido plastificados com glicerol. **Química Nova**, São Paulo, Brasil, v. 37, n. 8, p. 1275-1282, 2014.

MADAIL, J.C.M.; BELARMINO, L.C.; NEUTZLING, D.M. Aspectos Econômicos da mamona. *Sistemas de Produção*, 11. ISSN 1806-9207, 2007. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mamona/Sistemasproducao...>>. Acesso em: 09 de setembro de 2008.

MAKISHI, G.L.A. Desenvolvimento de filmes à base de proteínas extraídas da torta de mamona (*Ricinus communis* L.) reticuladas com glutaraldeído e glicoxal. 2012. 139f, Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

MAKISHI, G.L.A., LACERDA, R.S., BITTANTE, A.M.Q.B., CHAMBIA, H.N.M, COSTA, P.A., GOMIDE, C.A., CARVALHO, R.A., SOBRAL, P.J.A. Films based on castor bean (*Ricinus communis* L.) proteins crosslinked with glutaraldehyde and glyoxal, **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, Netherlands, v.50, p. 375-382, 2013.

MARQUIÉ, C.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Biodegradable Packaging Made from Cottonseed Flour: Formation and Improvement by Chemical Treatments with Gossypol, Formaldehyde, and Glutaraldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., USA, v. 43, n. 10, p. 2762-2767, 1995.

MARQUIÉ, C.; TESSIER, A.M.; AYMARD, C.; GUILBERT, S. HPLC Determination of the Reactive Lysine Content of Cottonseed Protein films to monitor the extend of Cross-Linking by Formaldehyde, Glutaraldehyde, and Glyoxal. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., USA, v. 45, n. 3, p.922-926, 1997.

MARQUIÉ, C. Chemical Reactions in Cottonseed Protein Cross-Linking by Formaldehyde, Glutaraldehyde, and Glyoxal for the Formation of Protein Films with Enhanced Mechanical Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., USA, v. 49, n. 10, p. 4676-4681, 2001.

MARTIN, A.R.; MARTINS, M.A.; MATTOSO, L.H.C.; SILVA, O.R.R.F. Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade Agave sisalana. **Polímeros**, São Carlos, SP, Brasil, v. 19, n.1, p. 40-46, 2009.

MARTINS, M.A.; KIYOHARA, P.K.; JOEKES, I. Scanning electron microscopy study of raw and chemically modified sisal fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, USA, v. 94, p. 2333, 2004.

MEANS, G.E.; FEENEY, R.E. Modifications to change properties, in: **Chemical Modification of Proteins**, San Francisco, USA, Ch. 3, p. 35-51, 1971.

MIRI, N.E.; ABDELOUAHDI, K.; BARAKAT, A.; ZAHOUILY, M.; FIGHRI, A.; SOLHY, A.; ACHABY, M.E. Bio-nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals: rheology of film-forming solutions, transparency, water vapor barrier and tensile properties of films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, United Kingdom, in press, 2015.

MOHAN, T.P.; KANNY, K. Chemical treatment of sisal fiber using alkali and clay method. **Composites Part A**, Oxford, Kidlington, United Kingdom, v. 43, p. 1989-1998, 2012.

MONTAÑO-LEYVA, B.; GHIZZI, G.D.S.; GASTALDI, E.; GONTARD, N.; ANGELLIER-COUSSY, H.; TORRES-CHÁVEZ, P. Biocomposites from wheat proteins and fibers: Structure/mechanical properties relationships. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, Netherlands, v. 43, n. 1, p. 545-555, 2013.

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

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J.A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, Brasil, v. 35, n. 1, p. 179-189, 2000.

MORAES, I.C.F.; SILVA, G.G.D.; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B.; BERGO, P.V.A.; SOBRAL, P.J.A. Influência do grau de hidrólise do poli (vinil álcool) nas propriedades físicas de filmes à base de blendas de gelatina e poli (vinil álcool) plastificados com glicerol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, Brasil, v. 28, n. 3, p. 738-745, 2008.

MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J.B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers addition on the mechanical properties and water vapor barrier of starch-based films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 23, n. 5, p. 1328-1333, 2009a.

MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J.B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers on the crystallinity and mechanical properties of starch-based films at different relative humidity values. **Carbohydrate Polymers**, Barking, United Kingdom, v. 77, n. 2, p. 293-299, 2009b.

NEVES, V.A.; LOURENÇO, E.J.; SILVA, M.A. Extração, isolamento e fracionamento da proteína de tremço (*Lupinus albus* L.), var. Multolupa. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, SP, Brasil, v. 12, p. 115-130, 2001.

OLIVEIRA, T. G. Desenvolvimento de filmes biodegradáveis à base de proteína da torta de mamona (*Ricinus communis* L.) modificada com glioxal e reforçados com fibras de celulose. 2013 85f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2013.

OLIVEIRA, T.G.; MAKISHI, G.L.A.; CHAMBI, H.N.M.; BITTANTE, A.M.Q.B.; LOURENÇO, R.V.; SOBRAL, P.J.A. Cellulose fiber reinforced biodegradable films based on proteins extracted from castor bean (*Ricinus communis* L.) cake. . **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, Netherlands, v. 67, p. 355-363, 2015.

OLIVEIRA, I.R.W.Z.; FATIBELLO-FILHO, O.; FERNANDES, S.C.; VIEIRA, I.C. Imobilização da lacase em micropartículas de quitosana obtidas por *spray drying* e usadas na construção de biossensores. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 32, n. 5, p. 1195-1201, 2009.

ORLIAC, O.; ROUILLY, A.; SILVESTRE, F.; FRIGAL, L. Effects of additives on the mechanical properties, hydrophobicity and water uptake of thermo-moulded films produced from sunflower protein isolate. **Polimer**, London, United Kingdom, v. 43, p. 5417-5425, 2002.

ORLIAC, O.; ROUILLY, A.; SILVESTRE, F.; RIGAL, L. Effects of various plasticizers on the mechanical properties, water resistance and aging of thermo-moulded films made from sunflower proteins. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, Netherlands, v. 18, n. 2, p. 91-100, 2003.

PARK, S. K.; BAE, D. H.; RHEE, K. C. Soy protein biopolymers cross-linked with glutaraldehyde. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, USA, v. 77, p. 879-883, 2000.

PASCHOALICK, T.M.; 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**, Oxford, United Kingdom, v. 17, n. 4, p. 419-427, 2003.

PEREDA, M.; ARNICA, G.; RACZ, I.; MARCOVICH, N.E. Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. **Journal of Food Engineering**, Essex, United Kingdom, v. 103, n. 1, p. 76-83, 2011.

PRASANTHA KUMAR R.; MANIKANDAN, N.K.C.; SABU, T.; SCHIT, S.C.; RAMAMURTHY, K. Morphology and melt rheological behaviour of short-sisal-fibre-reinforced SBR composites. **Composites Science and Technology**, Oxford, United Kingdom, v. 60, n. 9, p. 1737-1751, 2000.

REDDY, N.; JIANG, Q.; YANG, Y. Preparation and properties of peanut protein films crosslinked with citric acid. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, Netherlands, v. 39, p. 26-30, 2012.

REDDY, N.; CHEN, L.; YANG, Y. Thermoplastic films from peanut proteins extracted from peanut meal. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, Netherlands, v. 43, p. 159-164, 2013.

REDDY, M.M.; VIVEKANANDHAN, S.; MISRA, M.; BHATI, S.K.; MOHANTY, A.K. Biobased plastics and bionanocomposites: current status and future opportunities. **Progress in Polymer Science**, v. 38, p. 1653-1689, 2013.

RHIM, J.W.; GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; CEZEIRAT, C.; HANNA, M.A. Soy protein isolate-dialdehyde starch films. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, Netherlands, v. 8, p. 195-203, 1998.

RHIM, J.W.; PARK, H.M.; HA, C.S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, London, Camden, United Kingdom, v. 38, p. 1629-1652, 2013.

RIZVI, S.S.H. Thermodynamic properties of foods in dehydration. In:RAO, M.A.; RIZVI, S.H. **Engineering Properties of Foods**. New York: Academic Press, USA, p. 265-279, 1986.

ROSÁRIO, F.; PACHEKOSKI, W.M. ; JOAQUIM, A.P.; SANTOS, S.F.; SAVASTANO JR, H. ; CASARIN, S.A. Resíduos de sisal como reforço em compósitos de polipropileno virgem e reciclado. **Polímeros**, São Carlos, SP, Brasil, v. 21, p. 90-97, 2011.

SATYANARAYANA, K.G.; GUIMARÃES, J.L.; WYPYCH, F. Studies on lignocellulosic fibers of Brazil. Part I: source, production, morphology, properties and applications, **Composites Part A**, Oxford, Kidlington, United Kingdom, v. 38, p. 1694-1709, 2007.

SANTOS, D'A. J. – «Produção e consumo», in: O sisal no Brasil, Andrade, W. (org.), cap.4, SINDIFIBRAS, Brasília, DF, Brasil, 2006.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT: guide for personal computer; version 9.3, Cary, NC, USA 2002-2010.

SAVY FILHO, A. Mamona (*Ricinus communis*) – Desenvolvimento de tecnologia de produção, (PRÊMIO PÉTER MURÁNYI), 2007.

SEIXAS, F.; SALOMÃO, P.G.; SOUZA, R.P.; GIMENES, M.L. Biofilms composed of alginate and pectin: effect of concentration of crosslinker and plasticizer agents. **Chemical Engineering Transactions**, Ernest, PI, Australia, v. 32, p. 1693-1698, 2013.

SESSA, D. J.; MOHAMED, A.; BYARS, J. A. Chemistry and Physical Properties of Melt-Processed and Solution-Cross-Linked Corn Zein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., USA, v. 56, n. 16, p. 7067-7075, 2008.

SEVERINO, L.S. O que sabemos sobre a torta de mamona. Campina Grande: Embrapa Algodão, (Documentos 134), Campina Grande, PB, Brasil, p. 31, 2005.

SGARBIERI, V.C. Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações. ISBN 85-85519-18-5 São Paulo: Varela, Brasil, 517 p., 1996.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos. 3.ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 235 p., 2002.

SILVA, P.R.F.; FREITAS, T.F.S. Biodiesel: o ônus e o bônus de produzir combustível. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, Brasil, v. 38, n. 3, p. 843-851, 2008.

SOBRAL, P.J.A. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, Brasil, v. 35, n. 6, p. 1251-1259, 2000.

SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C.; HUBINGER, M.D.; ROQUES, M.A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 15, n. 4-6, p. 423-432, 2001.

SOBRAL, P.J.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Phase transitions of pigskin gelatin. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 15, n. 4-6, p. 377-382, 2001.

SOBRAL, P.J.A.; MONTERREY-QUINTERO, E.S.; HABITANTE, A.M.Q.B. Glass transition of Nile tilapia myofibrillar protein films plasticized by glycerin and water. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Budapest, Hungary, v. 67, n. 2, p. 499-504, 2002.

SOBRAL, P.J.A.; SANTOS J.S.; GARCÍA, F.T. Effect of protein and plasticizer concentrations in films forming solutions on physical properties of edible and films based on muscle proteins of a Thai Tilapia. **Journal of Food Engineering**, Essex, United Kingdom, v. 70, n. 1, p. 93-100, 2005.

SONG, Y.; LI, L.; ZHENG, Q. Influence of Epichlorohydrin Modification on Structure and Properties of Wheat Gliadin Films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., USA, v. 57, n. 6, p. 2295-2301, 2009.

SUN, Q.; SUN, C.; XIONG, L. Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, United Kingdom, v. 98, n. 1, p. 630 - 637, 2013.

TANAKA, M.; IWATA, K.; SANGUANDEEKUL, R.; HANDA, A.; ISHIZAKI, S. Influence of plasticizers on the properties of edible films prepared from fish water-soluble proteins. **Fisheries Sciences**, Kyoto, Japan, v. 67, n. 2, p. 346-351, 2001.

THARANATHAN, R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, United Kingdom, v. 14, n. 3, 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**, Chicago, USA, v. 70, n. 3, p. E172-E176, 2005.

TREZZA, T.A.; KROCHTA, J.M. The gloss of edible coatings as affected by surfactants, lipids, relative humidity, and time. **Journal of Food Science**, Chicago, USA, v. 65, n. 4, p. 658-662, 2000.

VAN SOEST, P.J.; FERREIRA, A.M.; HARTLET, R.D. Chemical properties of fibre in relation to nutritive quality of ammonia treated forages. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, Netherlands, v.10, p.156-164, 1984.

VANIN, F.M.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C., CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin based films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 70, n. 3, p. 172-176, 2005.

VILLALOBOS, R.; CHANONA, J.; HERNÁNDEZ, P.; GUTIÉRREZ, G.; CHIRALT, A. et al. Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. **Food Hydrocolloids**, Oxford, United Kingdom, v. 19, n. 1, p. 53-61, 2005.

VICENTINI, N.M.; DUPUY, N.; LEITZELMAN, M.; CEREDA, M.P.; SOBRAL, P.J.A. Prediction of cassava starch edible film properties by chemometric analysis of infrared spectra. **Spectroscopy Letters**, New York, USA, v. 38, n. 6, p. 749-767, 2005.

YOSHIDA, C.M.P.; ANTUNES, A.J. Characterization of whey protein emulsion films. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, SP, Brasil, v. 2, n. 21, p. 247-252, 2004.

WITTAYA, T. Microcomposites of rice starch film reinforced with microcrystalline cellulose from palm pressed fiber. **International Food Research Journal**, Serdang, Selangor, Malaysia, v. 16, p. 493-500, 2009.

WRETFORS, C.; CHO, S.-W.; HEDENQVIST, M. S.; MARTTILA, S.; NIMMERMARK, S.; JOHANSSON, E. Use of industrial hemp fibers to reinforce wheat gluten plastics. **Journal of Polymers and the Environment**, New York, USA, v. 17, n. 4, p. 259-266, 2009.

WONG, S.S. Heterobifunctional cross-linkers, in: **Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking**, London, United Kingdom, CRC Press, Ch. 5, p. 147-189, 1991a.

WONG, S. S. Homobifunctional cross-linking reagents, in **Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking**, London, United Kingdom, CRC Press, Ch. 4, p. 75-133, 1991b.

WONG, S. S.; WONG, L-J. C. Chemical crosslinking and the stabilization of proteins and enzymes. **Enzyme and Microbial Technology**, Woburn, USA, v. 14, n. 11, p. 866-874, 1992.

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

ZHANG, X.; HOOBIN, P. BURGAR, I.; DO, M.D. Chemical modification of wheat protein-based natural polymers: Cross-linking effect on mechanical properties and phase structures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, Pa., USA, v. 54, p. 9858-9865, 2006.