

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**CENTRO DE TECNOLOGIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**MABEL RIBEIRO DA CRUZ**

**FILMES DE GELATINA E GALACTOMANANA INCORPORADOS COM  
NANOCELULOSE DE FIBRA DE ALGAROBA (*Prosopis juliflora*)**

**FORTALEZA**

**2014**

MABEL RIBEIRO DA CRUZ

FILMES DE GELATINA E GALACTOMANANA INCORPORADOS COM  
NANOCELULOSE DE FIBRA DE ALGAROBA (*Prosopis juliflora*)

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Área de Concentração: Engenharia Química

Orientador: Prof. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo.

Co-Orientador: Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho.

Fortaleza

2014

MABEL RIBEIRO DA CRUZ

FILMES DE GELATINA E GALACTOMANANA INCORPORADOS COM  
NANOCELULOSE DE FIBRA DE ALGAROBA (*Prosopis juliflora*)

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química.

Aprovada em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Men de sá Moreira de Souza Filho (Co-orientador)  
Embrapa Agroindústria Tropical

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Diana Cristina Silva de Azevedo  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ada Amélia Sanders Lopes  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - UNILAB

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Pós-Graduação em Engenharia - BPGE

- 
- C963f Cruz, Mabel Ribeiro da.  
Filmes de gelatina e galactomanana incorporados com nanocelulose de fibra de algaroba (Prosopis juliflora) / Mabel Ribeiro da Cruz. – 2014.  
71 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Fortaleza, 2014.  
Área de Concentração: Processos Químicos e Bioquímicos.  
Orientação: Profª. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo.  
Coorientação: Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho.
1. Engenharia Química. 2. Pescados. 3. Polissacarídeos. 4. Resíduos. I. Título.

*Aos meus pais, Lucia e Erivaldo.*

## AGRADECIMENTOS

*A pesquisadora Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo pela orientação e amizade ao longo de todo o trabalho e que mesmo longe sempre esteve presente.*

*Ao professor Dr. Men de sá Moreira de Souza pela amizade e confiança e pela grandiosa ajuda para construção deste trabalho, pois sem suas ideias e ousadias nada disso teria se tornado realidade.*

*A pesquisadora Dra. Morsyleide Freitas Rosa pela ajuda imprescindível nas correções.*

*Ao professor Dr. Hugo Leonardo de Brito Buarque, agradeço por me mostrar o mundo científico e me ajudar a traçar novos horizontes.*

*Aos professores Diana Cristina Silva de Azevedo, Bartolomeu Warlene Silva de Souza e Ada Amélia Sanders Lopes por terem aceitado o convite de compor a banca examinadora, muito obrigada.*

*Aos meus amigos que foram fundamentais em todos os sentidos (Menta, Lílian, Nágila, Yana, Vitória, Talita, Delane, Elígenes, Helder, Rafael e Hálisson).*

*As minhas irmãs Paloma e Melissa por todo o apoio, e a toda minha família, que torce por mim.*

*Ao meu companheiro Ronaldo por todo o amor, paciência e compreensão, me ajudando em todos os momentos.*

*Aos integrantes do Laboratório de Tecnologia da Biomassa e Laboratório de Embalagens.*

*A todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma com muita energia positiva para que no fim desse certo!*

*A capes pela bolsa concedida*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura molecular da galactomanana. ....	4
Figura 2: <i>Prosopis juliflora</i> . ....	5
Figura 3: Componentes do fruto da algaroba: (a) vagens, (b) cápsulas, (c) sementes e (d) galactomanana. ....	6
Figura 4: Hierarquia estrutural da proteína. ....	7
Figura 5: Estrutura tripla hélice do colágeno. ....	8
Figura 6: Tilápia do Nilo ( <i>Oreochomis niloticus</i> ). ....	11
Figura 7: Formação de nanocristais de celulose a partir da hidrólise da região amorfa da fibra e imagem de diferença de contraste de fase de microscopia de força atômica (AFM). ....	16
Figura 8: Gelatina de peixe extraída do resíduo de CMS da tilápia, na forma de gelatina (1) e liofilizada (2). ....	19
Figura 9: Obtenção dos filmes de gelatina e galactomanana pelo método <i>casting</i> . ....	22
Figura 10: Filme de GE e GA incorporado com nanocelulose. ....	23
Figura 11: Fluxograma da obtenção dos filmes. ....	24
Figura 12: Células de permeação contendo filmes de GE e GA. ....	25
Figura 13: Ensaio de tração em filme de GE e GA. ....	27
Figura 14: Gráfico de permeabilidade a vapor de água dos filmes de GE e GA. ....	31
Figura 15: Gráfico com valores, dos filmes de GE e GA, de alongação na ruptura (ER), resistência à tração (RT) e módulo elástico (ME) respectivamente. ....	32
Figura 16: Valores da PVA de filmes de GE e GA 1:1 incorporados com nanocelulose. ....	33
Figura 17: Gráficos de propriedades mecânicas, dos filmes de GE e GA incorporados com nanocelulose, de resistência à tração (RT), de alongação na ruptura (ER), e módulo elástico (ME) respectivamente. ....	35
Figura 18: Micrografia óptica dos filmes de GE e GA 1:1 sem incorporação de nanocelulose (1) e com incorporação de 5% de nanocelulose (2). ....	37

Figura 19: Imagens do microscópio eletrônico de varredura da secção transversal dos filmes de GE e GA 1:1 puro (A); GE e GA 1:1 com 2,5% (B); GE e GA 1:1 com 5% (C) e GE e GA 1:1 com 7,5% nanocelulose (D).....	39
Figura 20: Imagens do microscópio eletrônico de varredura em filmes de GE e GA 1:1 sem nanocelulose a) e GE e GA 1:1 com 5% de nanocelulose b). .....	40
Figura 21: Curvas de TG (a) e DTG (b) dos filmes de GE e GA 1:1 sem e com nanocelulose.....	40
Figura 22: Espectro de FTIR para filmes de GE e GA 1:1 sem (a) e com 2,5% (b); 5% (c) e 7,5% (d) de nanocelulose.....	45
Figura 23: Gráficos com valores de opacidade para filmes de GE e GA 1:1 com e sem nanocelulose.....	46
Figura 24: Termograma do filme de GE e GA 1:1 sem nanocelulose (1) e Tg do filme de GE e GA 1:1 sem nanocelulose (2).....	47



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporções do delineamento experimental.....	19
Tabela 2 - Temperatura inicial de degradação dos filmes e suas respectivas perdas de massa .....	36
Tabela 3 - Atribuições das ondas do espectro de FTIR.....	38

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>3</b>
2.1. Galactomananas de algaroba.....	3
2.1.1. Polissacarídeos .....	3
2.1.2. Galactomananas .....	3
2.1.3. A algaroba ( <i>Prosopis juliflora</i> ) .....	5
2.2. Gelatina de tilápia.....	6
2.2.1. Proteínas .....	6
2.2.2. Gelatina .....	7
2.2.3. Gelatina de pescado .....	10
2.2.4. Produção de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	11
2.3. Filmes biopoliméricos .....	12
2.3.1. Blendas poliméricas .....	13
2.3.2. Filmes à base de proteínas .....	14
2.3.3. Filmes à base de polissacarídeos .....	15
2.4. Nanocelulose e Nanocompósitos .....	15
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
3.1. Objetivo Geral.....	18
3.2. Objetivos Específicos .....	18
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
4.1. Materiais utilizados .....	19
4.1.2. Gelatina (GE) .....	19
4.1.3. Galactomanana (GA) .....	20
4.1.4. Nanocelulose.....	20
4.2.1. Formação de filmes de misturas gelatina - galactomanana .....	21
4.3.1. Caracterização dos nanocompósitos biodegradáveis obtidos.....	24
4.3.2. Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	24
4.3.3. Propriedades mecânicas.....	25
4.3.4. Microscopia óptica (MO) .....	27
4.3.5. Análise termogravimétrica (TGA) .....	27

4.3.6. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	28
4.3.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	28
4.3.8. Opacidade	28
4.3.9. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	28
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>30</b>
5.1. Caracterização dos filmes obtidos de diferentes misturas GE e GA	30
5.1.1. Ensaio de permeabilidade a vapor de água	30
5.1.2. Ensaio mecânicos	31
5.2. Caracterização do filme obtido da mistura gelatina-galactomanana nas mesmas proporções (GE e GA 1:1), incorporado com nanocelulose	33
5.2.1. Ensaio de permeabilidade	33
5.2.2. Ensaio mecânicos	34
5.2.3. Microscopia óptica	37
5.2.4. Microscopia eletrônica de varredura	38
5.2.5. Análise termogravimétrica	40
5.2.5. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	43
5.2.7. Opacidade	45
5.2.8. Calorimetria exploratória diferencial	46
<b>6. CONCLUSÃO</b>	<b>49</b>
<b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b>	<b>50</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>51</b>

## Resumo

Este trabalho busca o desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de gelatina obtida de resíduos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e galactomanana extraída da Algaroba (*Prosopis juliflora*). Foi utilizado um delineamento experimental do tipo centróide simplex para avaliar o efeito das proporções entre os dois componentes – gelatina (GE) e galactomanana (GA) - sobre as propriedades dos filmes formados. Os resultados dos filmes obtidos a partir do delineamento de misturas indicaram que o filme de GE e GA nas mesmas proporções apresentaram os melhores resultados de permeabilidade ao vapor de água e ensaios mecânicos, sendo posteriormente esse filme, submetido à incorporação de nanocelulose extraída da vagem da algaroba. A formulação dos filmes de gelatina e galactomanana foi feita utilizando 25% de glicerol (em base seca de gelatina e galactomanana) variando a quantidade de nanocristais de celulose da fibra da algaroba nas concentrações de 2,5, 5 e 7,5% (em base seca de gelatina e galactomanana). Os filmes foram obtidos por *casting* e caracterizados quanto à permeabilidade ao vapor de água (PVA), propriedades mecânicas de resistência à tração, alongação e módulo elástico, microscopia ótica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), opacidade, análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os nanocristais de celulose foram efetivos para reduzir a PVA quando adicionados a 5%. A adição de nanocelulose incrementou a resistência à tração e o módulo a partir de 2,5%, com um pequeno decréscimo na concentração de 7,5%. Não houve efeito significativo com a adição de nanocelulose na alongação dos filmes. A análise de TGA mostrou que crescentes concentrações de nanocelulose aumentaram a estabilidade térmica dos filmes, e a análise de DSC comprovou a formação de blenda. As imagens de microscopia permitiram observar aglomerações de nanocristais à medida que se aumentou as concentrações. Na análise de FTIR não houve modificação na estrutura dos filmes, ocorrendo apenas deslocamento ou redução de algumas bandas. A opacidade aumentou com a incorporação de nanocelulose, porém não aumentou com a variação das concentrações.

**Palavras-chave:** resíduos da indústria de alimentos, polissacarídeos, filmes biodegradáveis

## Abstract

This work seeks developing biodegradable films from gelatin obtained from waste tilapia (*Oreochromis niloticus*) and galactomannan extracted from Mesquite (*Prosopis juliflora*). An experimental design type simplex centroid was used to assess the effect of the ratios between the two components - gelatin (GE) and galactomannan (GA) – on the properties of the formed films. The results of the films obtained from the mixture design indicated that the film containing a GE:GA of 1:1 showed the best results for water vapor permeability and mechanical tests, being this film later submitted to the incorporation of cellulose nanocrystals extracted from the leguminous of the mesquite. The formulation of the films of gelatin and galactomannan was performed using glycerol 25% (on a dry basis of gelatin and galactomannan) varying the amount of nanocellulose from mesquite fiber on concentrations of 2.5, 5 and 7, 5% (dry basis of gelatin and galactomannan). The films were obtained by casting and were characterized in terms of their water vapor permeability (WVP), mechanical properties (tensile strength, elongation and elastic modulus), optical scanning electron microscopy (SEM), optical microscopy (OM), Fourier Transform Infrared (FTIR), opacity, thermal gravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). The nanocellulose at 5% was effective to reduce the WVP. Nanocellulose increased the tensile strength and modulus with a slight decrease at the highest concentration (7.5 %). Nanocellulose did not affect significantly the film elongation. TGA analysis showed that increasing nanocellulose concentrations increased the film thermal stability, and the DSC analysis proved the formation of blends. The microscopy images revealed the formation of clusters of nanocrystals as their concentration increased. FTIR analysis revealed no major changes in the film structure apart from offset or reduction of some bands. The opacity increased with the incorporation of nanocellulose, although it did not increase with increasing nanocellulose concentrations.

**Keywords:** food industry wastes, polysaccharides, biodegradable films.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta grande potencial para o aproveitamento de resíduos da agroindústria visto que grandes quantidades de resíduos animais e vegetais se acumulam diariamente, provocando problemas com a logística e o descarte desses materiais. A busca por novos materiais tem motivado o desenvolvimento de estudos que buscam criar processos mais limpos, com utilização de matérias-primas renováveis que gerem produtos não agressivos ao meio ambiente, sem perder em qualidade ou desempenho (AZEREDO, 2009).

Dentre os desafios ligados à tecnologia para produzir materiais biodegradáveis está o de possibilitar a melhoria aliada com a agregação de valor aos resíduos gerados pela indústria.

Os polímeros biodegradáveis estão entre os mais estudados atualmente, sendo definidos como aqueles cuja degradação resulta da ação de organismos vivos como bactérias, fungos e algas, gerando CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, componentes celulares e outros produtos (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006).

Os biopolímeros mais utilizados na elaboração de filmes e coberturas comestíveis são as proteínas (gelatina, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo, zeínas, proteínas miofibrilares), os polissacarídeos (galactomanana, amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato, carragenana, quitosana) e os lipídeos (monoglicéridos acetilados, ácido esteárico e ésteres de ácido graxo) (CUQ et al., 1995).

Atualmente, pesquisas vêm sendo desenvolvidas utilizando galactomananas no desenvolvimento de filmes para embalagens e revestimento de alimentos, com a finalidade de aumentar o tempo de prateleira e reduzir a rancidez oxidativa e escurecimento da superfície de frutas, legumes, frutos do mar ou carne (CERQUEIRA et al., 2011a).

As galactomananas são polissacarídeos extraídos geralmente do endosperma das sementes de diferentes espécies da família *Leguminosae*, sendo formados por uma longa cadeia de manose com ramificações de galactose e detém considerável interesse das indústrias de alimentos, farmacêutica, têxtil, entre outras, por possuir a característica de formar soluções aquosas com elevada viscosidade, o que facilita a formação de filmes, mesmo em baixas concentrações (SRIVASTAVA; KAPOOR, 2005).

Por pertencer à família *Leguminosae*, a *Prosopis juliflora* possui, em seu endosperma, a galactomanana. Comumente conhecida como algaroba, uma planta de médio porte que teve o seu cultivo disseminado por todo Nordeste brasileiro, é utilizada, principalmente, como alimento para os rebanhos de caprinos e ovinos. A crescente demanda, por fonte de renda, na região em que a algarobeira está inserida, em especial nos períodos de seca, remete a uma maior exploração das potencialidades dessa planta como, por exemplo, sua utilização como fonte de galactomanana e aplicação de suas fibras na obtenção de biomateriais (AZERO; ANDRADE, 1999; OLIVEIRA et al., 1999; RIBASKY, 2009).

As proteínas se destacam devido à sua variedade de fontes e nesse contexto, a gelatina vem sendo estudada para utilização em filmes comestíveis devido à abundância de sua matéria-prima, baixo custo de produção e disponibilidade global, além de excelentes propriedades de formação de filme. A gelatina de pescado tem interessado à comunidade científica devido à variedade de espécies (especialmente a tilápia (*Oreochromis niloticus*) entre as espécies tropicais), com destaque para as propriedades das gelatinas obtidas de resíduos de pele e ossos (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

Blendas formadas pela combinação de biopolímeros têm grande importância na área de biomateriais, sendo possível juntar as propriedades individuais de cada material em um só, além da possibilidade de melhorar ou controlar as suas propriedades mecânicas e biológicas através da interação entre as suas estruturas químicas diferentes (TONHI; PEPLIS, 2002).

Adicionalmente, estudos frequentes vêm sendo desenvolvidos utilizando-se a incorporação de nanocristais de celulose como carga de reforço em matrizes poliméricas (PEREDA et al., 2013; ZARBIN, 2007; ZHOU et. al., 2012). Fatores como elevada disponibilidade e o fato de ser inteiramente biodegradável tem contribuído para o desenvolvimento de pesquisas, que têm possibilitado a melhoria das propriedades mecânicas e de barreira em matrizes poliméricas incorporadas com nanocristais de celulose (SILVA; D' ALMEIDA, 2009).

A incorporação de nanocelulose em blendas poliméricas de gelatina e galactomanana ainda é pouco estudada e a adição deste material em matrizes poliméricas apresenta relevante importância, visto que melhora as propriedades de barreira e mecânicas dos filmes.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Galactomananas de algaroba**

#### **2.1.1. Polissacarídeos**

Os polissacarídeos são estruturas presentes em todos os tipos de organismos. A celulose é o principal polissacarídeo presente nas plantas, compreendendo 80% de seu peso. Polissacarídeos são polímeros naturais que consistem de ligações covalentes entre as unidades estruturais (monossacarídeos) e que podem ser neutros ou carregados. Fazem parte do metabolismo energético de plantas (amido) e animais (glicogênio), da estrutura de células vegetais (celulose, pectina) ou do esqueleto de insetos e outros animais (quitina) (VOET, 2011; PINHEIRO, 2010).

Quando modificados ou em sua forma original, apresentam boas propriedades mecânicas para aplicação de fibras, filmes, adesivos, plásticos processáveis fundidos, espessantes, modificadores reológicos, hidrogéis, carreadores de drogas, emulsificantes etc. Na categoria de polímeros de fontes renováveis, os polissacarídeos vêm se destacando significativamente com fins de aplicações tecnológicas (TONZANI, 2012).

Os polissacarídeos avaliados e/ou usados para formar revestimentos/filmes comestíveis incluem; amido, alginatos, carragenatos, quitosana e gomas. As fontes de polissacarídeos incluem algas (ágar, alginatos, carragenanas), sementes (galactomananas), raízes e cereais (amidos) e esqueletos de crustáceos (caranguejo, camarão, etc) (PINHEIRO, 2010).

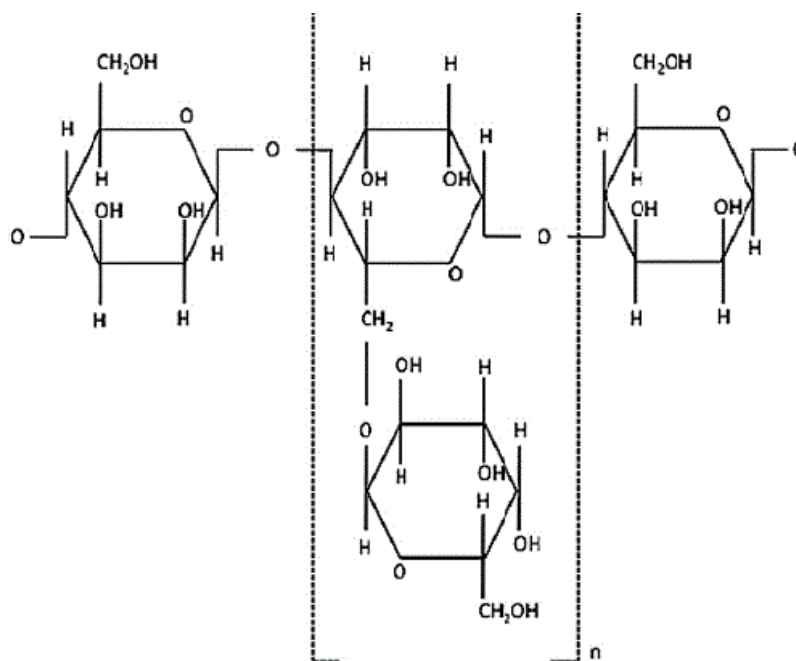
#### **2.1.2. Galactomananas**

Galactomanana é a denominação dada a polissacarídeos neutros, extraídos do endosperma de sementes de inúmeras plantas, em especial as leguminosas. A estrutura desses polímeros (Figura 1) se constituem de um esqueleto formado por unidades repetidas de D-manose, ligadas entre si por ligações de hidrogênio do tipo  $\beta(1-4)$  e unidades D-galactose que encontram-se ligadas à cadeia principal por ligações de hidrogênio do tipo  $\alpha(1-6)$  (AZERO; ANDRADE, 1999). O teor de distribuição entre as unidades básicas de manose e galactose dependem da origem e da espécie de leguminosa, e das técnicas de extração utilizadas para a sua obtenção (BENTO et al., 2013).



Sabe-se que galactomananas apresentam diferentes características moleculares em solução, como diferentes conformações, fato muitas vezes atribuído ao resultado direto da massa molecular ou de diferenças de comprimento da cadeia polimérica, bem como de seus substituintes. A viscosidade intrínseca também pode ser influenciada por uma expansão ou contração da cadeia, devido à influência da substituição da cadeia de manose por galactose. Uma das vantagens mais significativas da galactomanana é a formação de soluções viscosas a baixas concentrações (SEMENOVA, 2007; PINHEIRO 2010; POLLARD et al., 2010).

Figura 1: Estrutura molecular da galactomanana.



Fonte: Cerqueira et al, 2011b.

Dentre as inúmeras leguminosas, apenas três são amplamente utilizadas como fonte de galactomanana comercial, *Ceratonia siliqua* (goma alfarroba), *Cyamopsis tetragonolobus* (goma guar) e a *Caesalpineia spinosa* (goma tara) (CERQUEIRA et al., 2011b; AZERO; ANDRADE, 1999). Em particular, as fontes latino-americanas de galactomananas não são bem exploradas, apesar da rica biodiversidade da flora local e do clima favorável para a sua produção (CERQUEIRA, 2009a).

### 2.1.3. A algaroba (*Prosopis juliflora*)

A *Prosopis juliflora*, apresentada na Figura 2, foi introduzida no Brasil em Serra Talhada (PE), em meados de 1942, e atualmente é cultivada principalmente na Região Nordeste. Existem também registros de duas outras introduções que foram realizadas em Angicos, RN, em 1946, por meio de sementes oriundas do Peru e, em 1948, com sementes do Sudão. Sua expansão para os demais estados ocorreu através da regeneração natural e plantios (RIBASKY et al., 2009).

Figura 2: *Prosopis juliflora*.

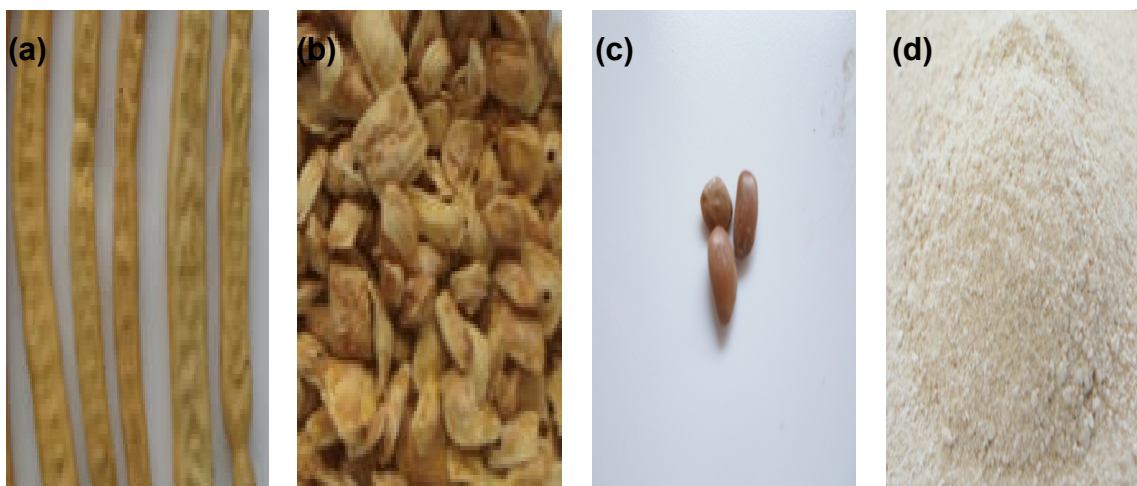


Fonte: Ribaski et al, 2009.

A espécie vegeta bem em regiões áridas e semiáridas, principalmente em regiões onde as precipitações pluviométricas estejam entre 150 a 1200 mm anuais e temperatura média anual superior a 20°C, sendo disseminada com facilidade por todo o Nordeste brasileiro. A árvore espinhosa apresenta altura entre 6 a 15 metros e possui vagens ou frutos secos que variam muito quanto ao peso, forma e tamanho. As vagens armazenam em seu interior sementes de elevada dureza que são protegidas por uma resistente camada fibrosa, denominada cápsula (RIBASKY et al., 2009; OLIVEIRA et al., 1999). Na Figura 3 podemos verificar as vagens da algaroba que alojam em seu interior pequenas cápsulas, dentro dessas cápsulas

encontram-se as sementes que armazenam no interior do endosperma a galactomanana.

Figura 3: Componentes do fruto da algaroba: (a) vagens, (b) cápsulas, (c) sementes e (d) galactomanana.



Suas vagens apresentam elevado valor alimentício, alta digestibilidade e boa palatabilidade. Podem ser consumidas por caprinos, ovinos, bovinos e equinos, podendo ser fornecidas inteiras ou trituradas, quando maduras (BRAGA et al., 2009). As plantas pertencentes à família *Leguminosae* apresentam como fonte de energia para o embrião um endosperma composto por galactomanana, com grande aplicabilidade para diferentes segmentos da indústria (AZERO; ANDRADE, 1999).

## 2.2. Gelatina de tilápia

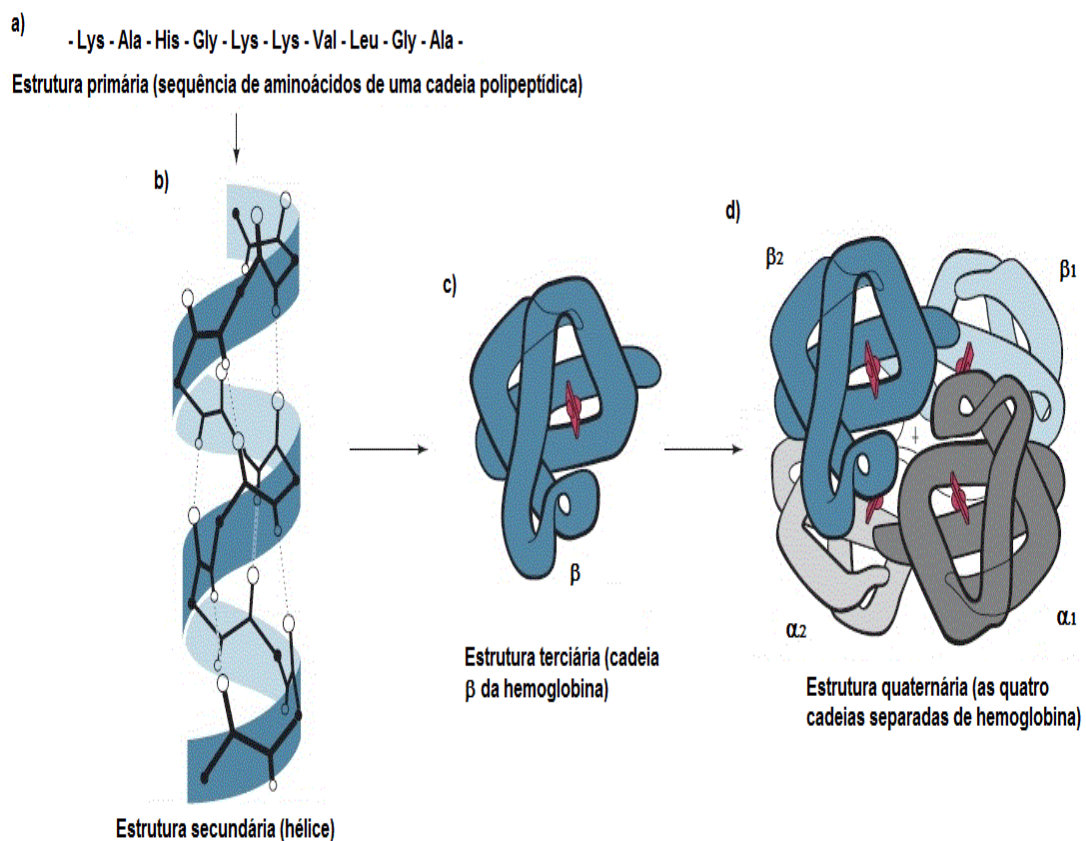
### 2.2.1. Proteínas

Proteínas são poliamidas e suas unidades monoméricas são compostas por cerca de 20 tipos diferentes  $\alpha$ -aminoácidos. Os aminoácidos comuns são conhecidos com o  $\alpha$ -aminoácidos porque possuem um grupo amino primário ( $-\text{NH}_2$ ) e um grupo carboxílico ( $-\text{COOH}$ ) com substituintes do mesmo átomo de carbono (alfa). A única exceção é a prolina, que possui um grupo amino secundário ( $-\text{NH}-$ ). Cada um dos 20 aminoácidos-padrão difere nas estruturas de suas cadeias laterais e conseqüentemente nas suas propriedades físicas e químicas (CREIGHTON, 1996).

A exatidão da sequência dos diferentes  $\alpha$ -aminoácidos ao longo da cadeia protéica é chamada de estrutura primária da proteína. Quando a estrutura primária

está correta, a cadeia de poliamidas se dobra, de modo particular, para dar a forma necessária para executar uma tarefa específica. O dobramento da cadeia das poliamidas atinge níveis de complexidade maiores, chamados de estruturas secundárias e terciárias da proteína. A estrutura quaternária surge quando a proteína contém uma agregação de mais de uma cadeia de poliamida ao longo da cadeia protéica (SOLOMONS; FRYHLE, 2000). A hierarquia estrutural da proteína pode ser observada na Figura 4.

Figura 4: Hierarquia estrutural da proteína.



Fonte: Adaptado de Voet,

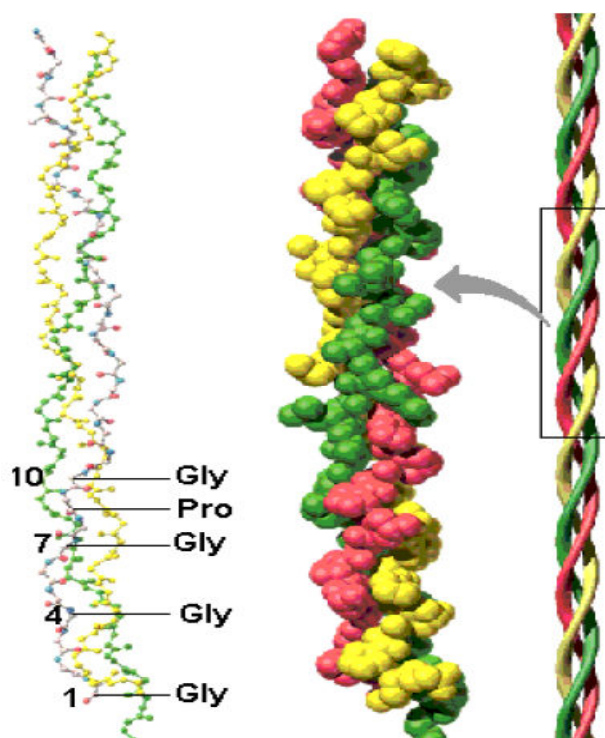
### 2.2.2. Gelatina

A gelatina é uma proteína ausente de triptofano, além de ser pobre em tirosina, cistina e metionina, sendo obtida industrialmente a partir da hidrólise controlada da estrutura organizada do colágeno de ossos, cartilagens e pele de animais, em geral imperfeitas e impróprias para a transformação em couro (BORDIGNON, 2010). Ou seja, a gelatina não é uma proteína que ocorre naturalmente, sendo obtida por hidrólise parcial do colágeno (MONTERO; GÓMEZ-

GUILLÉN, 2000). A gelatina origina-se da dissociação térmica ou química das cadeias polipeptídicas do colágeno, em que o colágeno insolúvel é convertido em gelatina solúvel através de hidrólise ácida ou básica. Sendo o colágeno produzido pelo processo ácido classifica-se a gelatina resultante em tipo A e, pelo processo básico, gelatina tipo B (ARVANITOYANNIS, 2002).

A gelatina pode ser obtida a partir de diversas fontes animais como bovinos, suínos, frangos e peixes. Como pode ser observada na Figura 5, a gelatina apresenta uma cadeia protéica simples, resultante da desnaturação térmica ou degradação química e física das fibras proteicas insolúveis do colágeno, envolvendo a ruptura das estruturas de tripla-hélices (BATISTA, 2004).

Figura 5: Estrutura tripla hélice do colágeno.



Fonte: Vulcani, 2004.

A estrutura da gelatina é semelhante à do colágeno, por isso, a gelatina é uma mistura complexa de vários aminoácidos com sequências geralmente idênticas, predominando sempre duas cadeias iguais designadas por  $\alpha 1$ , e uma terceira por  $\alpha 2$ . Estas cadeias são enroladas em torno de um eixo comum, por isso, essa estrutura é conhecida como tripla hélice (MENESES, 2007). A estrutura tripla-hélice é estabilizada pela formação de pontes de hidrogênio intercadeias entre os grupos

C=O e N-H e durante o processo de desnaturação, a estrutura tripla-hélice é quebrada para formar estruturas aleatórias em forma de espiral (DAI; CHEN; LIU, 2006).

Apesar da maioria das gelatinas comerciais serem derivada de mamíferos, principalmente de origem suína e bovina, por muitas razões sócio-culturais cresce a exigência de fontes alternativas. Essa busca ocorre inclusive por uma questão ambiental, já que a raspa de couro bovino (material poluente e menos nobre do que o couro) também é utilizada na produção de gelatina. O problema surge durante o seu processamento, que gera resíduo contendo cromo, produto que se descartado incorretamente pode vir a contaminar o meio ambiente (ALMEIDA et al., 2012).

Entende-se por “gelatina comestível” o produto da hidrólise em água em ebulição de tecidos ricos em substâncias colagênicas (cartilagens, tendões, ossos, aparas de couro) concentrado e seco (RIISPOA, 1997).

A gelatina é produzida em larga escala a preços relativamente baixos, justificando assim o grande interesse e exploração de suas propriedades funcionais (DAVANÇO, 2006). Nas indústrias farmacêuticas, ela tem sido utilizada como material de cápsulas. Já na indústria alimentícia, sua aplicação se dá como ingrediente para conferir gomosidade, elasticidade, consistência e estabilidade física a produtos elaborados. É utilizada ainda como clarificante de bebidas: como vinho branco, cervejas, sucos de frutas; como espessante, estabilizador de emulsões e texturizador para iogurtes, sorvetes, alguns queijos, espumas e saladas de frutas (McCORMICK, 1987). Infere-se ainda que nos campos médicos e farmacêuticos a gelatina é usada como uma matriz para implantes e microesferas, e para liberação de medicamentos injetáveis (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

A cor, a transparência, facilidade de dissolução e sabor são fatores importantes para determinar a qualidade da gelatina usada nos alimentos. Quando incorporada de sabores, a gelatina forma uma sobremesa popular facilmente assimilável e que até mesmo auxilia a digestão de outros alimentos por formar emulsões com gordura (SHREVE; BRINK Jr, 1980). A gelatina pode contribuir para enriquecimento do conteúdo protéico dos alimentos, além de funcionar como filme externo ou material de cápsulas (LEUENBERGER, 1991).



### 2.2.3. Gelatina de pescado

Segundo Vidotti e Gonçalves (2006), os resíduos gerados, com a cadeia produtiva da piscicultura, podem ser transformados em diversos subprodutos destinados à fabricação de diferentes produtos com aplicação tecnológica, agregando valor econômico considerável a produção da tilapicultura. Durante o processo de filetagem da tilápia, são produzidos cerca de 65% de resíduos, dos quais partes comestíveis das carcaças podem ser utilizadas para produção da Carne Mecanicamente Separada (CMS) (MARENGONI et al., 2009).

Para esta espécie os resíduos gerados incluem: 14% de cabeça, 35% de carcaça, 10% de pele, 10% de vísceras e 1% de escamas (BORDIGON, 2010).

O surgimento de equipamentos capazes de separar o material muscular agregado às espinhas com eficiência possibilitou um avanço na tecnologia para recuperação dos resíduos de pescados (PESSATTI, 2001). A polpa de peixe obtida a partir da máquina de CMS, cerca de 14% do peso da tilápia, pode ser usada na obtenção de outros produtos com maior valor agregado. Uma grande quantidade de resíduos ainda resta após a obtenção de CMS, incluindo pele e espinhas, ricos em colágeno. A produção de gelatina de peixe é considerada como a melhor forma de processar resíduos da indústria de pescado (GÓMEZ-GUÍLLEN et al., 2002). Após a filetagem da tilápia, os resíduos gerados se constituem em uma diversidade de matérias-primas de alta qualidade, podendo ser transformadas em diversos subprodutos destinados à produção dos mais variados produtos e agregando valor econômico considerável à tilapicultura (BORDIGNON, 2010).

Dentre os resíduos de filetagem do pescado, as peles podem ser transformadas em couros, sendo atualmente uma fonte alternativa de renda que pode servir de matéria-prima para a fabricação de itens de vestuário, entre outros artefatos, ou mesmo na produção de gelatina através da degradação hidrolítica do colágeno presente na pele (GIMENEZ et al., 2004).

Gelatinas comerciais produzidas a partir de resíduos bovinos e suínos tem seu uso limitado devido algumas restrições socioculturais e mesmo religiosas, além de preocupações relacionadas a doenças associadas a bovinos e suínos, como a encefalopatia espongiiforme bovina (vulgarmente conhecida como mal da vaca louca) e febre aftosa (CHO et al., 2005). Devido a essa problemática, muitos povos procuram novas alternativas para o consumo de gelatinas, buscando produtos

produzidos com matérias-primas alternativas (BORDIGNON, 2010). Neste âmbito, a gelatina de peixe, é uma opção alternativa para substituição da gelatina tradicional de mamíferos (NORLAND, 1990).

Na aquicultura continental nacional a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) apresenta destaque, sendo a espécie mais produzida, representando 39,4% da produção (BRASIL, 2010). É de extrema importância estudar formas de aproveitamento do grande volume de resíduos gerados no processamento da tilápia, pois o rendimento da produção de filé a partir dessa espécie geralmente fica em torno de 30% enquanto os 70% restantes são resíduos do processamento (FREITAS et al., 2012), os quais apresentam alto teor de colágeno, a partir do qual se produz gelatina. A necessidade de uma boa utilização desses subprodutos da indústria de peixe é uma das razões do interesse que abrange a exploração de diferentes espécies e otimização da extração de gelatina de peixe para aplicação em filmes biodegradáveis (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011; KARIM; BHAT, 2009)

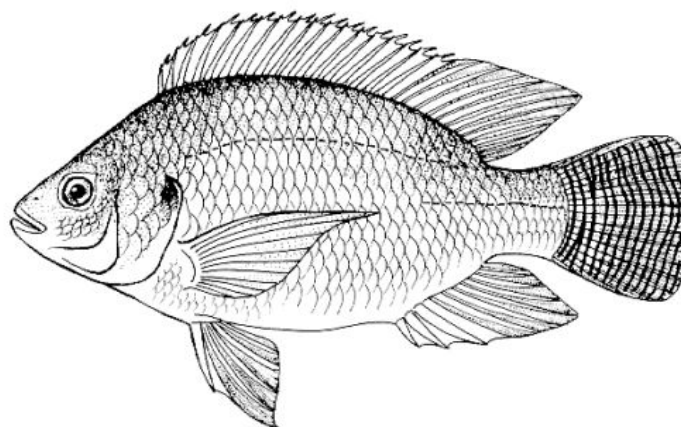
#### **2.2.4. Produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

A primeira introdução de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Figura 6, em território nacional se deu no ano de 1971, através do DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra as Secas) em Pentecostes, Ceará (CASTAGNOLLI, 1992; MOREIRA, 1999).

A tilápia do Nilo é de grande importância para a piscicultura mundial, e sua produção cresce acentuadamente. É uma das espécies mais indicadas para o cultivo intensivo, em virtude das qualidades para a produção, bem como da textura da carne. A produção mundial de tilápias cultivadas ultrapassou dois milhões de toneladas, sendo que a tilápia do Nilo, sozinha, respondeu pela oferta de 1,7 milhão de toneladas em 2005. O Brasil é o 6º maior produtor de tilápia cultivada no mundo. No ano de 2005, a China era o maior produtor, com cerca de 980 mil toneladas (KUBITZA, 2007). Segundo Brasil (2011) a tilápia do Nilo e o tambaqui foram às espécies mais cultivadas, as quais somadas representaram 67% da produção nacional de peixe.

Figura 6: Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).





Fonte: FAO, 2012

De acordo com Boscolo et al. (2001), o baixo custo da produção de tilápia, principalmente do alevino e da alimentação, quando relacionado à qualidade da carne, faz da tilápia do Nilo uma das mais cultivadas no mundo. Essa espécie apresenta fácil reprodução e obtenção de alevinos, a possibilidade de manipulação hormonal do sexo, para obtenção dos machos que apresentam maiores rendimentos em relação às fêmeas, além de apresentarem boa conversão alimentar e excelente crescimento (KUBITZA, 2000). A tilápia do Nilo é a espécie mais utilizada para beneficiamento sendo processada para obtenção de filés frescos ou congelados, sem peles (BORDIGNON, 2010).

### **2.3. Filmes biopoliméricos**

Polímeros são macromoléculas compostas por muitas unidades de repetição denominadas meros, ligadas por ligação covalente (CANEVAROLO, 2004). Uma das principais aplicações de polímeros é a obtenção de plásticos, que são compostos à base de polímeros e vários outros produtos químicos, como aditivos, estabilizantes e corantes, cujos tipos e proporções mudam de um polímero para outro, porque cada um dos produtos finais é otimizado em relação ao seu processamento e aplicação futura (SIRACUSA et al., 2008).

Os biopolímeros que formam filmes biodegradáveis podem ser divididos em três categorias, de acordo com a sua origem: Polímeros diretamente extraídos da biomassa: 1) polissacarídeos (amido, celulose, pectinas ou quitina/quitosana); 2) proteínas (caseína ou glúten); 3) lipídios (ácidos gordos, resinas e ceras). Polímeros produzidos por síntese química usando monómeros, como o ácido polilático, um

biopoliéster polimerizado a partir do ácido láctico. Polímeros produzidos por microrganismos, como por exemplo, a pululana e os hidroxipolialcanoatos (PHAs) (SRINIVASA; THARANATHAN, 2007).

Uma das principais formas de utilização dos polímeros biodegradáveis é a obtenção de películas. Estas são finas camadas contínuas, preparadas a partir de materiais biológicos (ANDREUCETTI, 2010), que podem ser classificadas em coberturas ou revestimentos, quando são depositadas diretamente na superfície do alimento, e em filmes, quando são obtidas de forma manual e posteriormente aplicadas da forma desejada. (DEBEAUFORT et al., 1998).

As funções a serem desempenhadas pelo filme dependem do produto alimentício em que o filme será aplicado, levando em consideração especialmente o tipo de deterioração a que este produto está sujeito (KESTER; FENNEMA, 1986). As principais funções do filme são: servir como barreira a elementos externos (umidade, oxigênio, dióxido de carbono, aromas, lipídios e outros solutos), funcionando como materiais seletivos quanto à transferência de massa; carregar propriedades ativas, como carrear aditivos alimentares e agentes antimicrobianos; melhorar a integridade mecânica e as características de manuseio de alimentos (ANDREUCETTI, 2010; KESTER; FENNEMA, 1986). Todas estas funções servem para proteger o alimento e aumentar sua vida de prateleira, ou melhorar a funcionalidade do material para que este tenha capacidade de ser utilizado.

### **2.3.1. Blendas poliméricas**

A mistura de dois ou mais polímeros, formando uma blenda polimérica, resulta em materiais com propriedades melhores que os constituintes puros. Suas propriedades físicas e químicas podem ser alteradas para uma vasta gama de aplicações, proporcionando desempenho desejável para o produto final, sendo esse um dos caminhos comercialmente mais importantes para o desenvolvimento de novos materiais (ITO et al., 2004).

Misturas poliméricas podem ser obtidas por diferentes técnicas que podem ser grandemente afetadas pelo método de preparação. A mistura mecânica que é realizada por fusão dos polímeros, “casting”, que consiste na dissolução dos polímeros em um solvente comum e evaporação do solvente formando um filme e mistura por polimerização na qual ocorre a dissolução de um polímero em um

monômero que polimeriza, formando uma rede interpenetrante são alguns dos métodos (UTRACKI, 1989).

O estudo da miscibilidade de blendas poliméricas é bastante relevante e depende de três fatores: da interação química entre os componentes, da proporção relativa em que os componentes estão na mistura e das condições de processamento (MANO, 1999). Em sistemas poliméricos miscíveis, os polímeros existem na mistura como uma solução homogênea em que os segmentos das cadeias estão misturados em solução mútua e as propriedades variam progressivamente com a composição da mistura. As blendas imiscíveis possuem fases separadas morfologicamente com transições vítreas distintas que são associadas a cada uma das fases. Cada fase apresenta-se como uma solução sólida do polímero em menor quantidade no polímero em maior quantidade (CORRADINI, 2004).

A transição vítrea ( $T_g$ ) é o método mais utilizado na avaliação da miscibilidade das blendas poliméricas, onde o aparecimento de uma única  $T_g$  indica uma uniformidade em escalar molecular e os polímeros tornam-se interdispersos, formando uma fase homogênea indicando assim uma mistura binária miscível, não havendo segregação de fases. Na mistura polimérica imiscível ocorre o aparecimento de duas  $T_g$  diferentes com valores próximos da  $T_g$  dos polímeros puros (UTRACKI, 1989).

### **2.3.2. Filmes à base de proteínas**

As proteínas estão entre as principais macromoléculas encontradas em filmes comestíveis. Devido ao caráter hidrofílico das proteínas, os filmes têm boa barreira a gases, porém pobre barreira à umidade (ANDREUCETTI; CARVALHO; GROSSO, 2009). Estes são sensíveis às condições ambientais, especialmente à umidade relativa (RH), devido à característica higroscópica desse tipo de material.

Os filmes de proteínas são bastante atrativos por servir como fonte de nutrientes e principalmente por apresentar propriedades superiores de barreira a gases. Esta boa barreira ao oxigênio se deve à baixa permeabilidade a substâncias apolares, conferida pela alta densidade de energia coesiva que as proteínas apresentam, e à sua natureza polar (MAIA et al., 2000).

Em função de sua excelente propriedade filmogênica, a gelatina tem sido amplamente utilizada em estudos sobre a formação de filmes de biopolímeros e

continua sendo utilizada em estudos de filmes comestíveis, graças à abundância de matéria-prima, baixo custo de produção e disponibilidade global (VANIN et al., 2005).

### **2.3.3. Filmes à base de polissacarídeos**

Os filmes de polissacarídeos apresentam uma boa barreira ao CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> e uma fraca barreira ao vapor de água. Devido às interações entre as moléculas do polímero os filmes formados são quebradiços por possuírem características de estrutura frágil e dura. A formação de filmes e revestimentos comestíveis com base em polissacarídeos exige na maioria dos casos, a presença de um plastificante. A água é um dos plastificantes mais eficazes na composição de filmes e revestimentos, sendo a umidade relativa de armazenagem dos filmes um dos parâmetros mais analisados devido à sua influência na estrutura do filme (PINHEIRO et al.; 2010).

Os polissacarídeos avaliados e/ou usados para formar revestimentos/filmes comestíveis incluem; amido, alginatos, carragenatos, quitosano e gomas. Como fonte de gomas naturais tem-se, por exemplo, extratos de algas marinhas (alginatos, agar) e gomas de sementes (galactomananas) (CERQUEIRA et al.; 2011a).

## **2.4. Nanocelulose e Nanocompósitos**

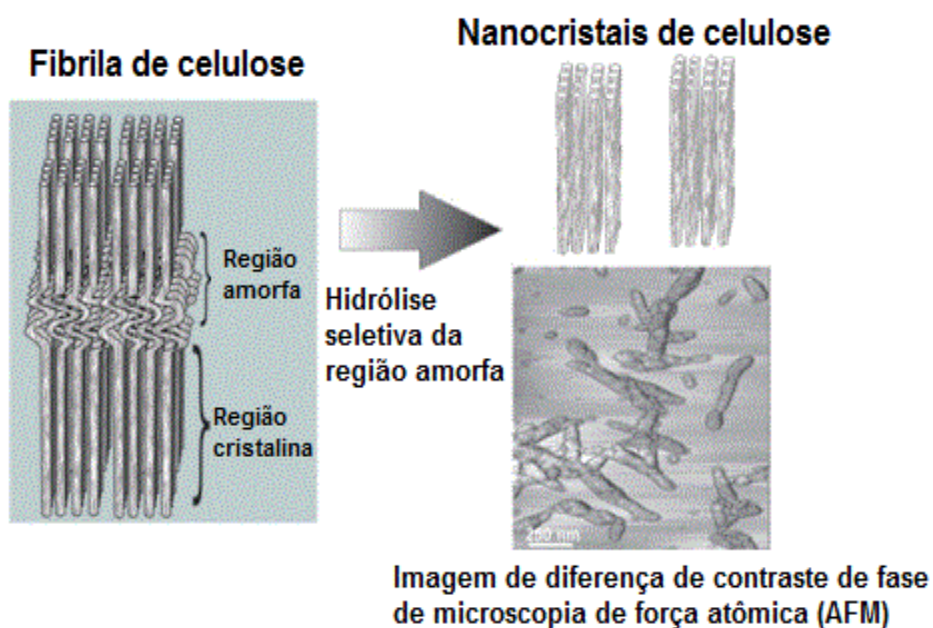
A ciência e a tecnologia em nanoescala têm atraído muita atenção nos últimos anos, em função da expectativa quanto ao impacto que os materiais nanoestruturados podem causar em diversas áreas. Os nanocompósitos são reportados na literatura como compósitos em que uma das fases apresenta, no mínimo, uma dimensão em escala nanométrica (1 a 100 nm), onde 1 nm é igual a 10<sup>-9</sup> m (KOCH, 2007; ZARBIN, 2007).

As vantagens de compósitos reforçados com nanofibras de celulose têm recebido muita atenção e têm sido foco de vários trabalhos de pesquisa devido às características da celulose: baixa densidade, caráter renovável, alta resistência, baixo custo e propriedades biodegradáveis (SAMIR et al., 2004).

Segundo Nascimento et al. (2010), a nanocelulose é obtida através de vários tratamentos químicos e/ou físicos da fibra vegetal. A preparação de suspensões aquosas de nanofibras de celulose são geralmente produzidas por um processo de dois passos: hidrólise ácida para remover as regiões amorfas do polímero de

celulose, e fragmentação dos segmentos cristalinos em nanocristais (Figura 7). O agente hidrolisante, o ácido sulfúrico, substitui grupos de hidroxila por grupos sulfatados, estabilizando os nanocristais de celulose na solução, evitando assim a sua aglomeração. Essas partículas coloidais de alta cristalinidade são empregadas como reforço para matrizes poliméricas e nanocompósitos (TEIXEIRA et al., 2010). A eficiência do ataque ácido às regiões amorfas depende de quão isolada está a nanofibra de celulose, pois fatores como ácido utilizado, concentração, tempo de exposição, proporção fibra:ácido e temperatura podem determinar o tamanho dos nanocristais, o rendimento e a qualidade da solução coloidal (PEREIRA, 2010).

Figura 7: Formação de nanocristais de celulose a partir da hidrólise da região amorfa da fibra e imagem de diferença de contraste de fase de microscopia de força atômica (AFM).



Fonte: (Fonte: Silva et al., 2009)

Nanocristais de celulose, também reportados na literatura como *whiskers*, cristalitos ou cristais de celulose, são os domínios cristalinos de fontes celulósicas e são assim chamados devido a suas características físicas de rigidez, de espessura e de comprimento (SILVA et al., 2009). Essas nanopartículas, quando isoladas, geralmente apresentam propriedades como material de reforço, mesmo em baixas concentrações, em matrizes poliméricas, pelo seu potencial em melhorar as

propriedades de resistência mecânica, térmicas, ópticas, dielétricas, de permeação de gases e líquidos, dentre outras (SILVA, D'ALMEIDA, 2009).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Produzir filmes bionanocompósitos a partir de gelatina de resíduos de tilápia e galactomanana extraída da semente da algaroba, reforçado com nanocelulose de vagem de algaroba, avaliando o efeito da adição dos nanocristais sobre as características e desempenho dos filmes.

#### 3.2. Objetivos Específicos

i) Desenvolver, pela técnica de *casting* (deposição), filmes a partir de gelatina (GE) e galactomanana (GA);

ii) Caracterizar os filmes de gelatina e galactomanana, avaliando algumas de suas propriedades quanto ao desempenho em termos de permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas, escolhendo o tratamento com melhores resultados para incorporação de nanocelulose.

iii) Avaliar o efeito, no filme de gelatina e galactomanana, da adição da nanocelulose sobre as propriedades mecânicas, térmicas, ópticas e de barreira ao vapor de água.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Materiais utilizados

#### 4.1.2. Gelatina (GE)

A produção da gelatina (Figura 8) foi realizada no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da EMBRAPA Agroindústria Tropical (CNPAT) a partir dos resíduos (pele e cartilagens) da filetagem de tilápia (*Oreochromis niloticus*). A obtenção dos resíduos foi realizada no Centro de Pesquisas Ictiológicas Rodolpho Von Ihering (Pentecoste, CE) do Departamento Nacional de Obras Contrás a Secas (DNOCS), em máquina despulpadora de pescado (marca High Tech, modelo HT 250) para obtenção de carne mecanicamente separada (CMS).

O resíduo ficou primeiramente imerso em solução de ácido acético 0,2 M (m/v) na proporção de 1:2 (resíduo:solução) para intumescimento do material, por 1 h a 25°C. O resíduo foi neutralizado, filtrado da solução e pesado. Em seguida, foram realizados dois pré-tratamentos: hidrólise ácida com ácido sulfúrico 0,2 M (m/v) seguida de neutralização, filtração e hidrólise alcalina com NaOH 0,2 M (m/v) a 25°C, sob agitação constante por 1 h, na proporção de 1:3 (m/v) para cada etapa, com o objetivo de facilitar o processo de obtenção de gelatina a partir do colágeno presente nos resíduos. A extração do material hidrolisado foi feita em água destilada a 50°C por 2 h, na proporção de 1:5 (m/v) sob agitação constante. Depois de obtida, a gelatina foi filtrada, liofilizada e triturada em um moinho analítico (IKA, modelo A11 basic) para tornar a gelatina em forma de pó.

Figura 8: Gelatina de peixe extraída do resíduo de CMS da tilápia, na forma de gelatina (1) e liofilizada (2).





#### **4.1.3. Galactomanana (GA)**

A galactomanana utilizada foi cedida pelo Laboratório de Tecnologia de Biomassa da EMBRAPA – CNPAT. A extração foi feita a partir das cápsulas da *Prosopis juliflora* cujas vagens foram cedidas pela Embrapa Algodão (Campina Grande, PB).

As vagens foram submersas em água em uma proporção de 1:2 (m/v) por 24 h. Em seguida, o material foi processado em liquidificador industrial para obtenção das cápsulas com as sementes. Após o processamento, foram obtidas uma fração líquida (que foi descartada) e outra fração sólida, composta por fibra mais cápsulas, que foi seca ao sol durante 24 h. Depois de secas, as fibras foram desagregadas das cápsulas manualmente com o auxílio de uma peneira contendo orifícios em torno de 0,5 a 1cm, assim foi possível separar as cápsulas da fibra das vagens da algaroba.

Foi utilizado um moinho de facas tipo Willye com peneira de 30 mesh para trituração das cápsulas. Em seguida, 200g do material moído foram imersos em 1200 mL de água destilada (razão de 1:6, m/v), em um becker de 2 L. O sistema foi mantido sob agitação e aquecimento a 50 °C durante 1 hora. Em seguida o material foi filtrado e obteve-se uma porção fibrosa, denominada fibra das cápsulas, e uma solução viscosa, que foi centrifugada duas vezes durante 15 minutos, a 20°C, para remoção de impurezas ainda presentes na solução. A galactomanana foi precipitada em álcool etílico comercial a 92,8° INPM, na proporção de 1:2 (m/v) e ficou em contato com o solvente por 24 h sob refrigeração (4°C). O precipitado foi centrifugado sob as mesmas condições realizadas anteriormente para separar a galactomanana extraída do álcool, e a goma obtida foi seca em estufa a vácuo por 48 h a 40°C. Foi feita moagem em um moinho analítico (IKA, modelo A11 basic) para tornar a galactomanana em forma de pó.

#### **4.1.4. Nanocelulose**

Os nanocristais de celulose utilizados foram cedidos pelo Laboratório de Tecnologia de Biomassa da EMBRAPA – CNPAT, e foram extraídos por hidrólise ácida de vagens da algaroba, cedidas pela Embrapa Algodão (Campina Grande, PB). A nanocelulose cristalina foi obtida na forma de suspensão coloidal estável. Para a amostra em questão foi observado um potencial zeta médio de -30 mV,

tamanho de partícula médio de 164,33 nm (medido por meio de espalhamento de luz dinâmico – DLS) e um percentual de 59±2% das partículas com uma dimensão inferior a 100nm.

A obtenção dos nanocristais de celulose se deu através de hidrólise ácida, das fibras branqueadas, com ácido sulfúrico 60% (v/v), a 50°C, por 1 hora, na proporção de 1:20 (m/v). Após a hidrólise, a reação foi interrompida pela adição de água deionizada gelada (4°C) numa proporção de 1:10 (v/v). Posteriormente a amostra foi centrifugada a 13000 rpm, por 15 minutos a 20°C. O sobrenadante foi descartado, o precipitado foi lavado com água deionizada e depois submetido à sonicação em ultrassom de ponteiros de marca UNIQUE, com frequência ultrassônica de 60 kHz e potência a 100 W por 4 minutos. Este procedimento foi realizado por três vezes, e então a amostra foi dialisada em uma membrana de troca iônica submersa em água deionizada, até obter pH estável e próximo a 7,0.

#### **4.2.1. Formação de filmes de misturas gelatina - galactomanana**

Foi utilizado um delineamento experimental do tipo centróide simplex para avaliar o efeito das proporções entre os dois componentes - gelatina (GE) e galactomanana (GA) - sobre as propriedades dos filmes formados. O delineamento para os dois componentes foi composto de 5 ensaios, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Proporções dos componentes GE e GA usados no delineamento experimental composto de cinco ensaios.

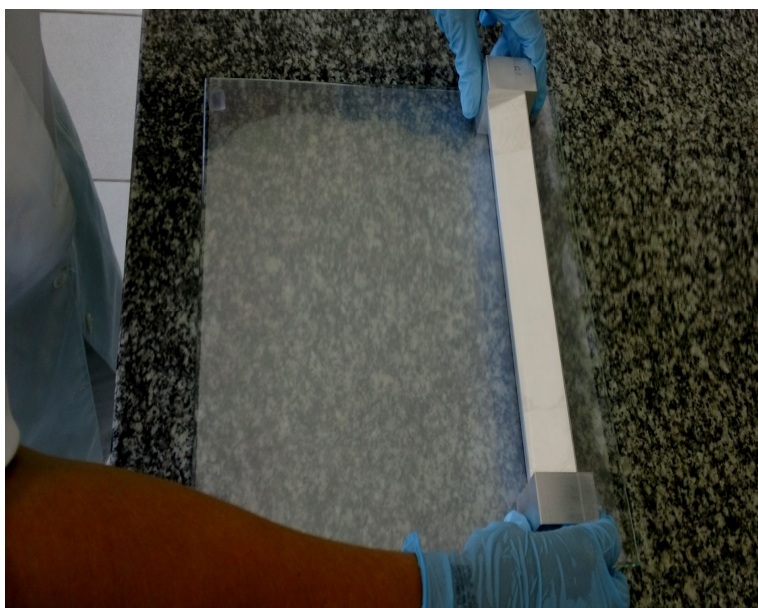
Ensaio	GA	GE
1	1	0
2	0	1
3	0,5	0,5
4	0,75	0,25
5	0,25	0,75

A preparação das soluções filmogênicas foi obtida inicialmente com a hidratação dos materiais separadamente e em seguida foi feita uma solução de gelatina 9% (m/v) e uma solução de galactomanana 6% (m/v), concentrações estas

definidas a partir de testes preliminares como as concentrações que geraram viscosidades adequadas à deposição de filmes.

As soluções de gelatina e galactomanana ficaram sob agitação constante a temperatura ambiente por um período de aproximadamente 1 h. Na sequência, a solução de gelatina foi agitada periodicamente durante 30 minutos a 40°C, e a solução de galactomanana foi mantida sob agitação constante por 1 h a 45°C. Ao solubilizar completamente a gelatina e a galactomanana, as duas soluções foram misturadas (de forma a obter as proporções finais definidas para cada tratamento), e o plastificante (glicerol) foi adicionado a essa solução. No fim deste período, a solução foi homogeneizada em UltraTurrax IKA T25 a 15000 rpm por 15 min. Em seguida, a mistura passou por degasagem em bomba de vácuo (BUCHI, modelo V-700) durante 30 minutos para retirada das bolhas formadas durante a agitação. As soluções filmogênicas obtidas foram vertidas sobre placas de vidro (30 x 30 cm) cobertas por superfície de poliéster (Mylar®), tiveram sua espessura uniformizada a 1mm com o auxílio de uma barra niveladora de alumínio (Figura 9), e as placas de vidro foram colocadas dentro de uma estufa com circulação de ar, e foram mantidas a 35 °C por 24 h para secagem do filme.

Figura 9: Obtenção dos filmes de gelatina e galactomanana pelo método *casting*.



Os resultados obtidos a partir do delineamento de misturas serviram de base para escolher a proporção da mistura gelatina (GE) – galactomana (GA) a ser submetida à formação de filmes nanocompósitos.

#### **4.2.2. Formação de filmes nanocompósitos**

A solução filmogênica foi preparada seguindo o mesmo procedimento descrito no item 4.2.1. A adição da nanocelulose à mistura GE-GA, para os filmes nanocompósitos, foi feita após adição de glicerol e em seguida a solução foi submetida à sonicação (ultrassom de ponteira HIELSCHER UP400S, a 400W e 24 kHz) por 1 minuto para dispersão dos cristais. Posteriormente a solução foi homogeneizada em UltraTurrax IKA T25 a 15000 rpm por 15 min. A mistura passou por degaseificação em bomba de vácuo (BUCHI, modelo V-700) durante 30 minutos para retirada das bolhas formadas durante a agitação. As concentrações de nanocelulose variaram de 0, 2,5, 5 e 7,5%, com base na massa seca de GE e GA .

A formação dos filmes se deu pelo mesmo procedimento descrito em 4.2.1. O filme está representado na Figura 10 e a metodologia está esquematizada no fluxograma da Figura 11.

Figura 10: Filme de GE e GA incorporado com nanocelulose.

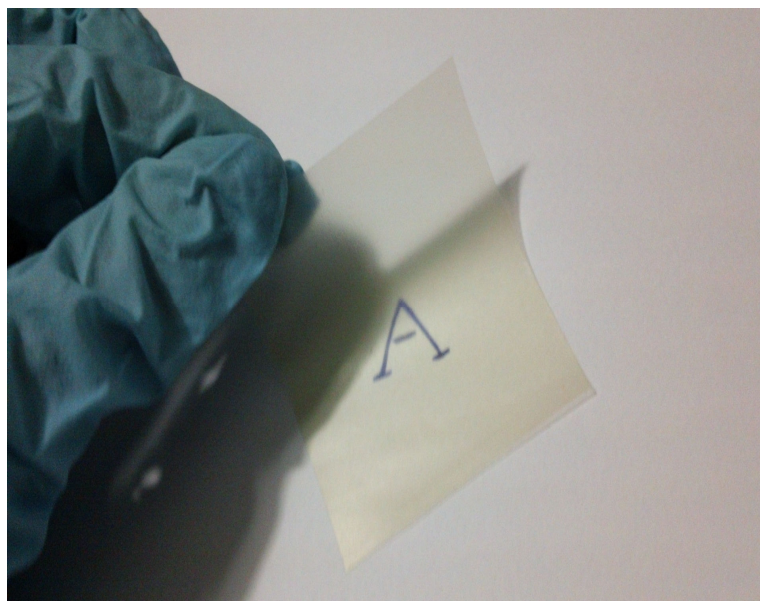
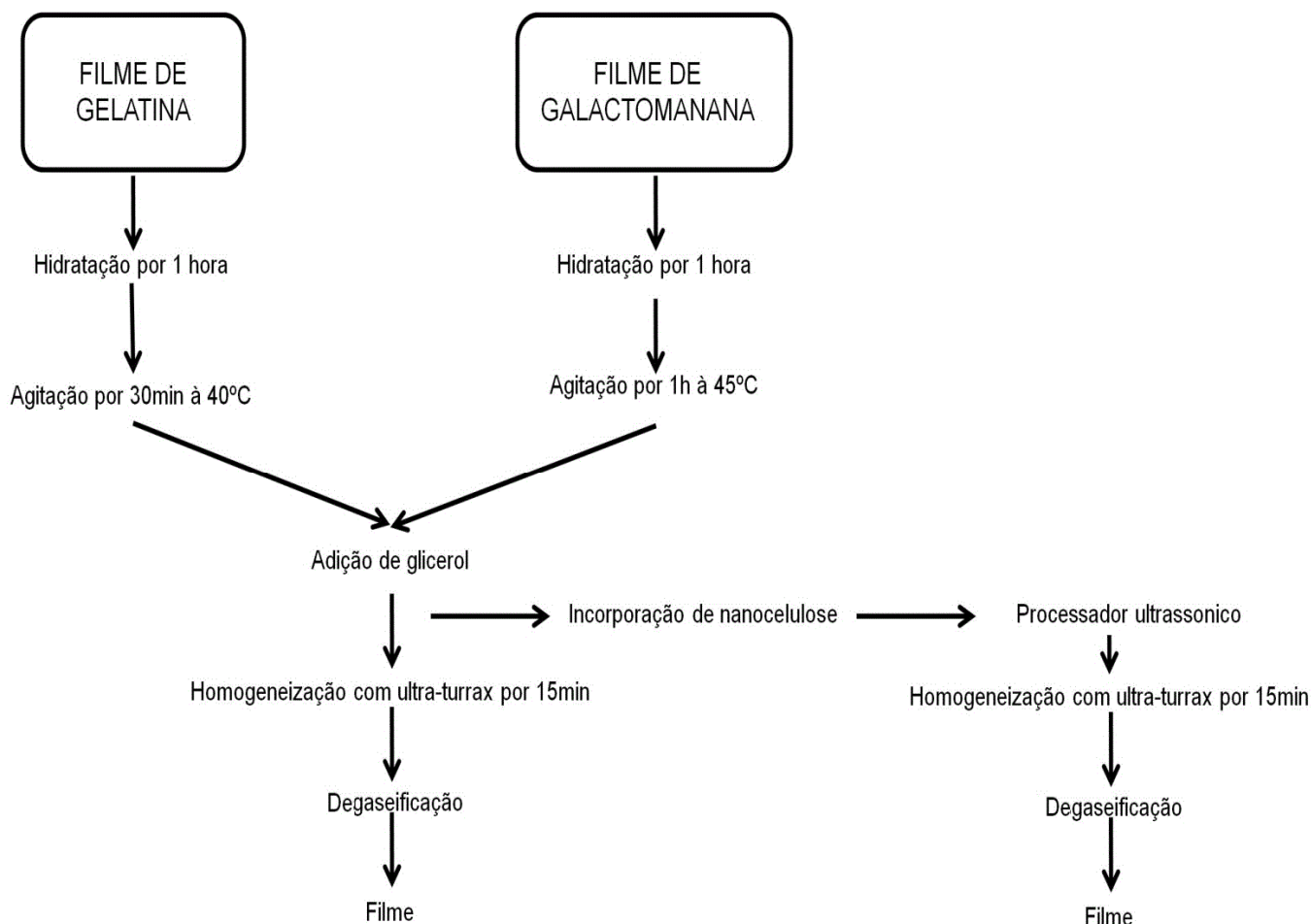


Figura 11: Fluxograma da obtenção dos filmes.



#### 4.3.1. Caracterização dos nanocompósitos biodegradáveis obtidos

Os filmes obtidos, com e sem adição de nanocelulose, foram caracterizados quanto à permeabilidade ao vapor de água (PVA), propriedades mecânicas, microscopia óptica (MO), análise termogravimétrica (TGA), infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), opacidade e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

#### 4.3.2. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A análise de PVA foi realizada através do método gravimétrico ASTM E96-00 (ASTM, 2000). Foram cortadas, com um bisturi, oito amostras de cada filme e medida a espessura (micrômetro digital MITUTOYO, modelo Digitatic Micrometer,

com resolução de 0,001 mm) em oito pontos diferentes. As amostras foram fixadas entre os encaixes de células de permeação em acrílico com 13,2 mm de altura e 49 mm de diâmetro e contendo em seu interior 6 mL de água (Figura 12). Foi realizada a selagem com graxa de silicone para garantir que toda permeação ocorresse através do filme. As células de permeação foram, em seguida, acondicionadas em um dessecador vertical modelo ARSEC DCV-040 e foram mantidas sob controle de temperatura e umidade ( $25 \pm 5$  °C de temperatura e  $50 \pm 5\%$  de umidade relativa) contendo em seu interior sílica gel. O peso das células foi verificado no intervalo mínimo de 1 hora em uma balança analítica. Foram feitas oito pesagens em um período de 24 h, conforme dita a norma. A unidade de PVA é  $\text{g}\cdot\text{mm}\cdot\text{kPa}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  e seu valor é obtido pela Equação 1:

$$PVA = TPVA \times e / \Delta P \quad (1),$$

onde TPVA é a taxa de permeabilidade ao vapor de água,  $e$  é a espessura do filme, e  $\Delta P$  é a diferença de pressão parcial de vapor de água entre as faces do filme.

Figura 12: Células de permeação contendo filmes de GE e GA.



#### 4.3.3. Propriedades mecânicas.

As propriedades de resistência à tração foram determinadas de acordo com a norma ASTM D638-01, em quintuplicata para cada condição de filme. Antes da realização dos testes, os corpos de prova foram cortados em uma prensa

estampadora Ceast modelo versão pneumática e acondicionados em um dessecador contendo nitrato de magnésio hexahidratado para mantê-los em um ambiente com umidade relativa e temperatura em torno, respectivamente, de  $50 \pm 5\%$  e  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , por no mínimo 40 horas. Os ensaios foram realizados utilizando o EMIC (Máquina Universal de Ensaio, modelo DL-3000), com uma célula de carga de 100 N, Figura 13. A velocidade de tracionamento utilizada foi de 50 mm/min, sendo a distância inicial entre as garras de 100 mm.

De acordo com a normatização citada, os filmes foram avaliados em relação à resistência à tração ( $\sigma$ ), alongação na ruptura ( $\varepsilon$ ) e módulo de elasticidade em tração ou módulo de Young. A resistência à tração ( $\sigma$ ), dada em MPa, foi determinada medindo-se a força necessária para romper o filme dividida pela área da secção submetida à tração. Os valores de  $\sigma$  foram calculados utilizando a Equação 2:

$$\sigma = \left[ \frac{F}{A} \right] \quad (2),$$

onde F é o valor da força (N) de ruptura exercida e A ( $\text{m}^2$ ) é a área seccional do filme.

A deformação ( $\varepsilon$ ) das amostras (alongação na ruptura) foi determinada pela Equação 3:

$$\varepsilon = \left[ \frac{L - L_0}{L_0} \right] \quad (3),$$

onde L e  $L_0$  são os comprimentos de alongação do filme durante o experimento e o comprimento inicial, respectivamente.

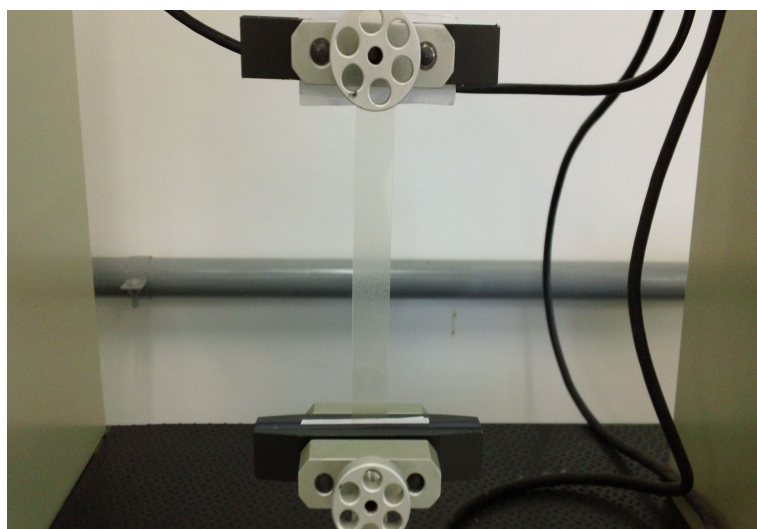
A alongação é o incremento da distância entre marcas a um determinado estágio de extensão (L) relativo ao comprimento original ( $L_0$ ). É geralmente expressa em percentual (%) de acordo com a Equação 4:

$$\Delta L = \left[ \frac{L}{L_0} \times 100 \right] \quad (4)$$



O módulo de Young ou módulo de elasticidade foi calculado a partir da inclinação inicial (região de deformação elástica) da curva obtida tensão-deformação entre 0 e 1% de alongamento. Em termos práticos, o módulo de Young ou módulo de elasticidade é um indicador da rigidez do material, sendo que, quanto maior o módulo, mais rígido é o material.

Figura 13: Ensaio de tração em filme de GE e GA.



#### **4.3.4. Microscopia óptica (MO)**

Um filme de gelatina e galactomanana puro e outro incorporado com NC 5% foi analisado por microscopia óptica, usando um microscópio (Óptico-NIKON). Os filmes foram cobertos com corante para uma melhor visualização em escala de 20 $\mu\text{m}$ .

#### **4.3.5. Análise termogravimétrica (TGA)**

A análise termogravimétrica (TGA) das amostras foi conduzida num intervalo de temperatura de 25 – 800 °C, sob atmosfera de ar sintético, com uma taxa de fluxo de 10 mL.min<sup>-1</sup> utilizando cadinhos de alumina. Massas de aproximadamente 10,0 mg foram aquecidas a uma taxa constante de 40 °C.min<sup>-1</sup>. Um analisador térmico STA 6000 (PERKIN ELMER) foi utilizado para este estudo. As caracterizações foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Biomassa da EMBRAPA – CNPAT.



#### **4.3.6. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)**

Os espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos em um espectrofotômetro Agilent, modelo Cary 660. Os filmes foram medidos quanto à transmitância, em módulo de ATR com cristal de seleneto de zinco, na faixa de  $4000\text{ cm}^{-1}$  a  $650\text{ cm}^{-1}$ . As caracterizações foram realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais da EMBRAPA Agroindústria Tropical (CNPAT).

#### **4.3.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

Para analisar a morfologia dos filmes foi utilizado Microscópio Eletrônico de Varredura Zeiss DSM 940A, sob uma voltagem de aceleração de 15 kV. As amostras foram montadas em stubs e metalizadas com platina (camada com 60 nm de espessura) em evaporadora SEM. Os filmes foram colocados sobre um plano liso e colados com fita dupla face de carbono.

#### **4.3.8. Opacidade**

A opacidade dos biofilmes foi determinada segundo método Hunterlab (Hunter Associates Laboratory, 1997), utilizando-se um colorímetro Konica Minolta modelo CR-400. Foram feitas leituras em triplicata da parte central e das extremidades dos filmes. Por esse método, a opacidade ( $Y$ ) da amostra é calculada como a relação entre a opacidade da amostra colocada sobre o padrão preto ( $y_p$ ) e a opacidade da amostra colocada sobre o padrão branco ( $y_b$ ), de acordo com a Equação 5:

$$Y = \left( \frac{y_p}{y_b} \right) \times 100 \quad (5)$$

#### **4.3.9. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)**

As medições de DSC foram realizadas num calorímetro diferencial de varredura Q20 Universal V4.7a (TA Instruments). Primeiramente foi pesado  $5 \pm 0,3$  mg da amostra e em seguida foi realizado um primeiro ciclo de aquecimento de  $-10^\circ\text{C}$  até  $105^\circ\text{C}$  para poder apagar a história térmica prévia do material, e em seguida a amostra foi resfriada a  $-10^\circ\text{C}$ . Logo após foi realizado um segundo ciclo de aquecimento até  $250^\circ\text{C}$  a uma taxa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Os

experimentos foram realizados sob atmosfera de nitrogênio a uma taxa de fluxo de  $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  e foram utilizados cadinhos de platina hermeticamente fechados.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização dos filmes obtidos de diferentes misturas GE e GA

#### 5.1.1. Ensaio de permeabilidade a vapor de água

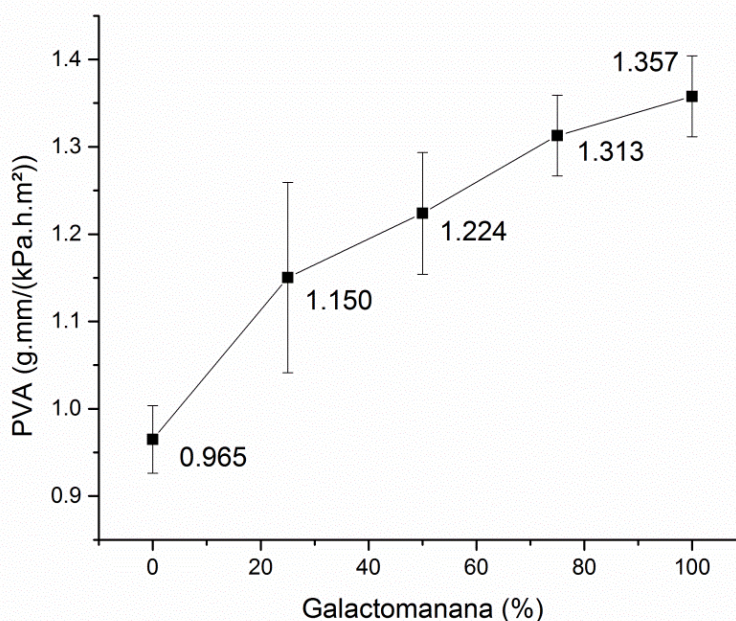
Nos ensaios de permeabilidade a vapor de água (PVA), o filme somente com galactomanana apresentou o maior valor de PVA, enquanto o filme somente com gelatina mostrou o valor mais baixo de PVA entre os filmes testados como pode ser verificado no gráfico da Figura 14.

Segundo Cerqueira et al. (2009b), a alta hidrofiliçidade dos filmes de galactomanana se deve à alta polaridade do polissacarídeo, favorecendo a permeação de moléculas de água. O glicerol, através de sua ação de plastificação, muda a rede polimérica criando regiões móveis com maiores distâncias entre cadeias, promovendo o agrupamento da água na matriz polimérica. A PVA do filme de gelatina ( $0,965 \text{ g.mm}/(\text{kPa.h.m}^2)$ ) foi próxima ao valor encontrado por Avena-Bustillos (2006) para filmes de gelatina de peixe de água fria ( $0,932 \text{ g.mm}/(\text{kPa.h.m}^2)$ ).

A transferência de umidade é um fator importante, que contribui para a alteração da qualidade dos alimentos durante o transporte e armazenamento. Valores críticos de atividade da água devem ser mantidos, de modo a garantir a qualidade e segurança dos produtos alimentares. De acordo com Krochta e Mulder-Johnson (1997), os filmes são considerados como fracas barreiras para permeabilidade de vapor de água para valores de PVA entre  $0,4$  e  $4,2 \text{ g.mm}/\text{m}^2.\text{h.kPa}$ , barreiras moderadas para valores de PVA entre  $0,004$  e  $0,4 \text{ g.mm}/\text{m}^2.\text{h.kPa}$  e boas barreiras quando apresentam um valor de PVA entre  $4 \times 10^{-4}$  e  $4 \times 10^{-3} \text{ g.mm}/\text{m}^2.\text{h.kPa}$ .

Yoo e Krochat (2011) encontraram valores de PVA de  $4,25 \text{ g.mm}/(\text{kPa.h.m}^2)$  para filmes de proteína do soro do leite e metilcelulose. Prommakool et al. (2011) estudaram filmes de proteína do soro do leite e polissacarídeo do quiabo *Abelmoschus esculentus* e acharam valores de  $2,6 \text{ g.mm}/(\text{kPa.h.m}^2)$ , sugerindo que o aumento da PVA nos filmes foi devido a grupos hidroxilas no açúcar e os grupos carboxilas presentes no quiabo, aumentando a natureza hidrofílica dos filmes quando comparado com filmes de proteína. Os filmes obtidos constituem uma barreira fraca ao vapor de água.

Figura 14: Gráfico de permeabilidade a vapor de água dos filmes de GE e GA.



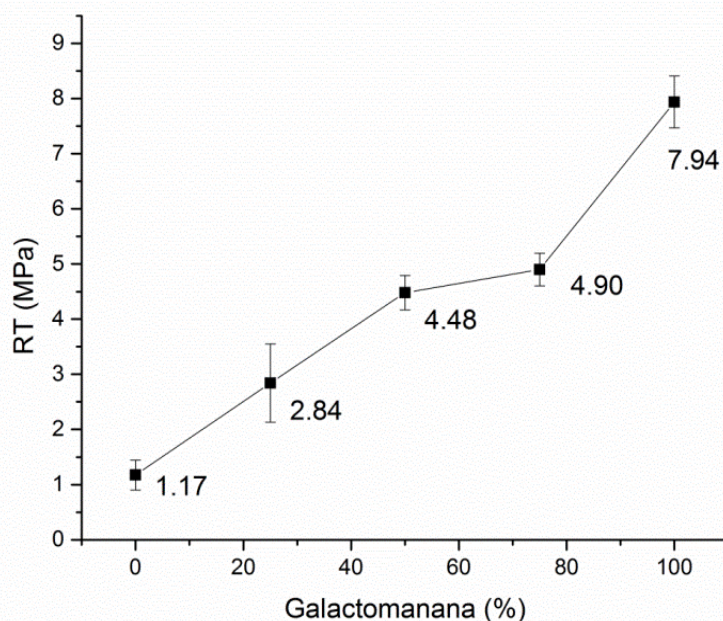
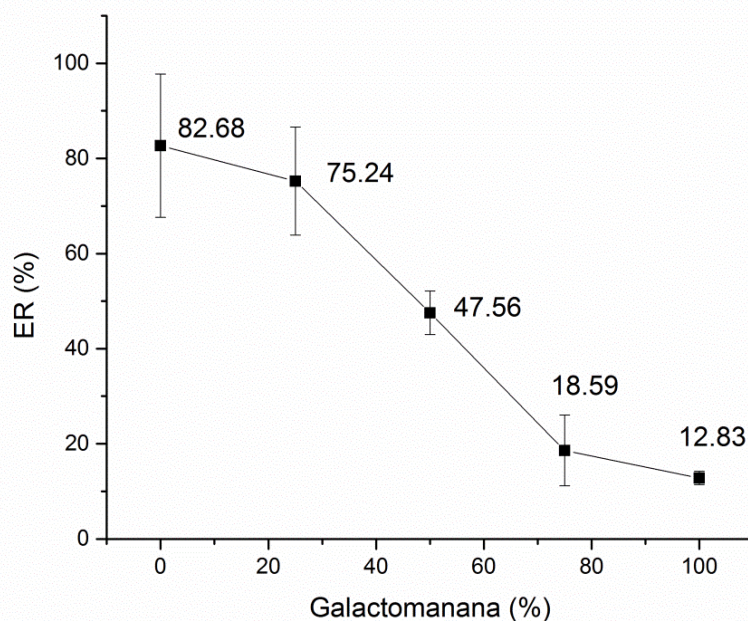
### 5.1.2. Ensaios mecânicos

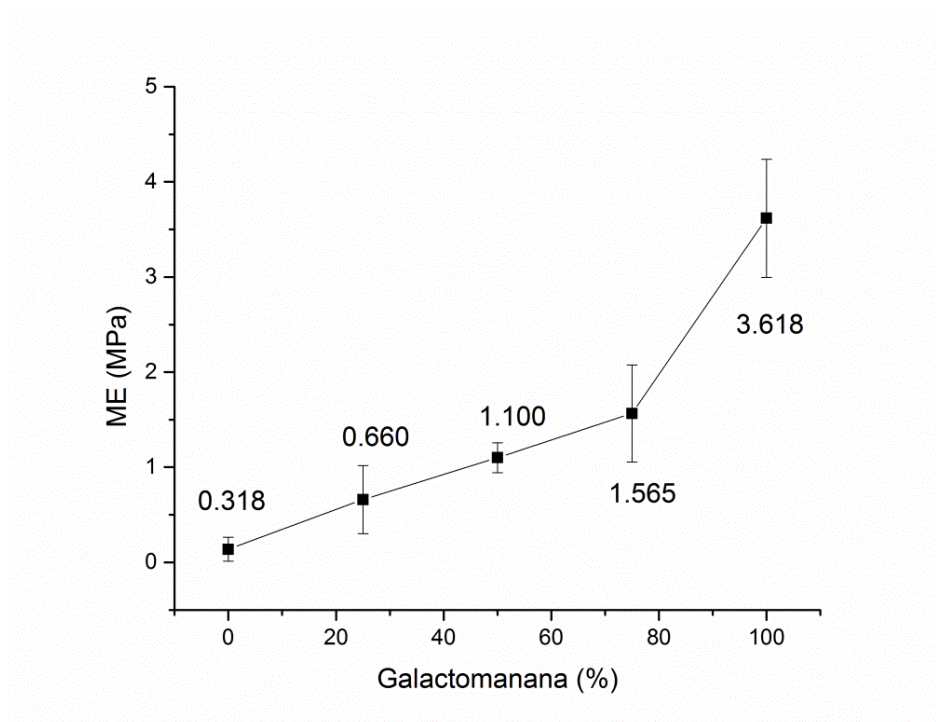
A partir dos ensaios de tensão pode-se observar que a galactomanana melhorou as propriedades mecânicas dos filmes. O filme de galactomanana apresentou o maior valor de resistência à tração, mostrando um aumento de 576% em relação ao filme de gelatina, porém apresentou menor valor de alongação. O filme de gelatina se mostrou um filme bastante plástico apresentando maior valor de alongação na ruptura (82,68%). O filme de gelatina e galactomanana nas mesmas proporções apresentou o melhor desempenho geral, quando comparado com os outros ensaios, sendo analisado conjuntamente resistência à tração (RT), alongação na ruptura (ER) e módulo elástico (ME), Figura 15.

A rigidez dos materiais pode ser observada pelo ME, que está relacionado a propriedades intrínsecas do mesmo. O filme de galactomanana obteve o maior valor (3,618 MPa) indicando uma maior rigidez do material. Isso pode ser atribuído a diferença da razão manose/galactose que, em valores elevados, tende a ter ligações intermoleculares mais estáveis, devido a sua baixa natureza ramificada (CERQUEIRA et al., 2009b). Garcia et al (2006) encontram valores de 24,7 MPa para filmes de amido e quitosana. Segundo Osés et al. (2009) foram encontrados valores entre 0,5 – 12 MPa para filmes de proteína do soro do leite e galactomanana extraída da goma mesquita.

De acordo com o estudo, muitos autores têm indicado que blendas de proteína e polissacarídeo exibem mais eficácia nas propriedades mecânicas do que os filmes que contêm proteínas ou polissacarídeos isoladamente (PARRIS et al, 1995; COUGHLAN et al, 2004).

Figura 15: Gráfico com valores, dos filmes de GE e GA, de alongação na ruptura (ER), resistência à tração (RT) e módulo elástico (ME) respectivamente.





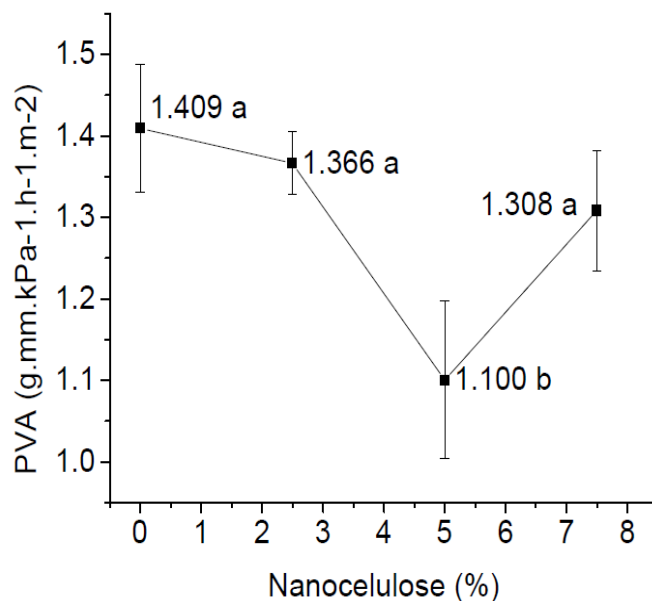
## 5.2. Caracterização do filme obtido da mistura gelatina-galactomanana nas mesmas proporções (GE e GA 1:1), incorporado com nanocelulose.

### 5.2.1. Ensaio de permeabilidade

O gráfico da Figura 16 mostra que a permeabilidade do filme de GE e GA 1:1 foi diminuindo conforme adicionou-se nanocelulose, tendo o filme com concentração de 5% o menor valor da PVA. De forma geral a incorporação de nanocelulose foi eficiente para diminuir a permeabilidade de água dos filmes. Azeredo et al. (2009) encontraram valores de 1,67 – 2,66 g.mm/ m<sup>2</sup>.h.kPa para filmes de purê de manga, e, assim como no presente trabalho, os valores também tenderam a diminuir com a adição de nanocelulose.

Figura 16: Valores da PVA de filmes de GE e GA 1:1 incorporados com nanocelulose.





As letras diferentes indicam valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0.05$  teste de Tukey).

Os valores obtidos de permeabilidade indicaram que a adição de nanocelulose ao filme de GE e GA 1:1 aumentou a barreira ao vapor de água dos filmes, mostrando que a presença de nanocelulose dificulta a passagem das moléculas de água diminuindo o processo de difusão, ou seja, diminuindo a permeabilidade ao vapor de água resultando em uma melhora nas propriedades de barreira (SANCHEZ-GARCIA et al., 2008; AZEREDO et al., 2012). As interações entre a nanocelulose e a água resultam em rearranjos das moléculas de água na matriz, diminuindo o efeito plastificante (ROOHANI et al., 2008) e aumentando as propriedades de barreira do material (CHEN et al., 2012).

### 5.2.2. Ensaio mecânicos

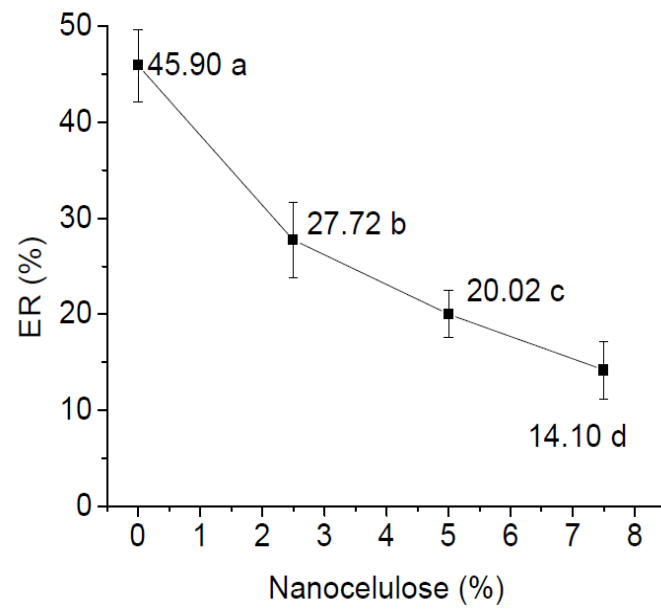
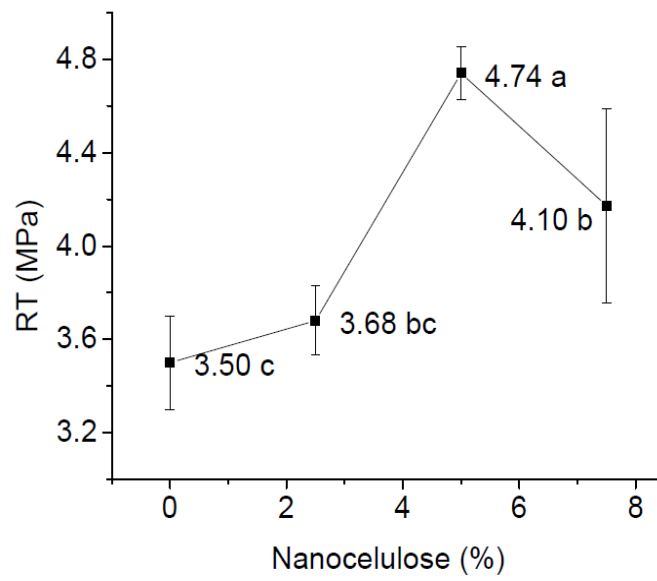
Os resultados de propriedades mecânicas (Figura 17) mostram que a nanocelulose foi eficiente como reforço nas características de resistência a tração e módulo de elasticidade. A resistência à tração aumentou com a adição de 2,5% de nanocelulose mostrando um aumento de 5,1% quando comparado com o filme de GE e GA 1:1 sem nano; no filme com adição de 5% de nanocelulose foi observada uma melhoria de 35,4%. Quando se aumenta a concentração de nanocelulose em 7,5%, pode-se verificar uma diminuição na resistência a tração comparada ao valor achado para o filme incorporado com 5%. O decréscimo da resistência com o

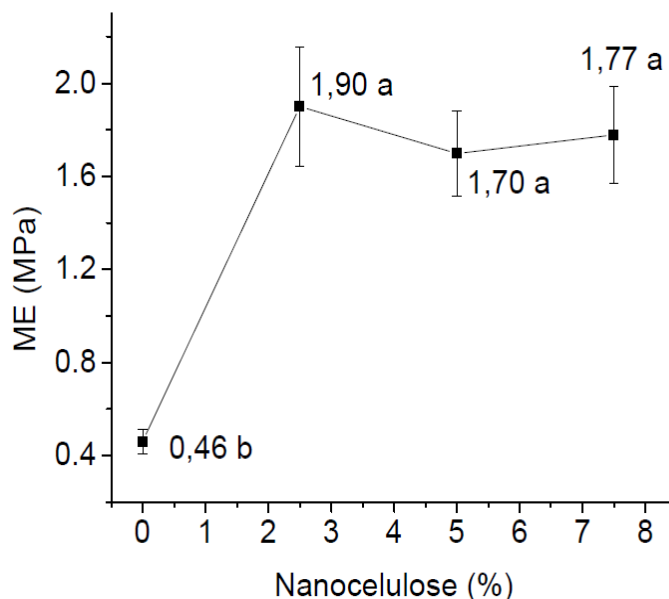
aumento de 7,5% pode estar relacionado à aglomeração das partículas de nanocelulose na matriz (AZEREDO et al., 2009; XU et al., 2006; GARDNER et al., 2008). Esse fato também pode estar relacionado a uma possível reaglomeração dos nanocristais decorrente do aumento da concentração dos nanocristais. Isso é particularmente favorecido para suspensões com potencial zeta não ideal. De acordo com Zhou et al. (2012), uma suspensão é considerada estável/ideal quando apresenta potencial zeta  $> 30\text{mV}$ , em módulo. No presente trabalho a nanocelulose utilizada apresenta potencial zeta no limite  $|30\text{mV}|$ , justificando essa hipótese. Uma possível reaglomeração de nanocristais faz com que a tensão não seja distribuída igualmente, promovendo pontos de concentração de tensões e conseqüentemente diminuindo a resistência mecânica do material.

O módulo elástico, por sua vez, aumentou significativamente desde a adição de 2,5% de nanocelulose (sem diferenças entre as diferentes concentrações). A alongação foi prejudicada pela adição de qualquer concentração de nanocelulose, o que se explica pelo aumento na cristalinidade do material, causando uma diminuição na tensão de ruptura (SURYANEGARA et al., 2009). Azeredo et al., (2009) encontraram valores próximos de tensão máxima para filmes de purê de manga reforçado com nanocelulose. A nanocelulose distribuída uniformemente na matriz polimérica é fundamental para a melhoria das propriedades mecânicas dos nanocompósitos, promovendo a formação das ligações de hidrogênio entre os polímeros e a nanocelulose, o que proporciona uma maior transferência da tensão das cadeias da matriz polimérica para os cristais de celulose (SANCHEZ-GARCIA et al., 2008).

Figura 17: Gráficos de propriedades mecânicas, dos filmes de GE e GA incorporados com nanocelulose, de resistência à tração (RT), de alongação na ruptura (ER), e módulo elástico (ME) respectivamente.







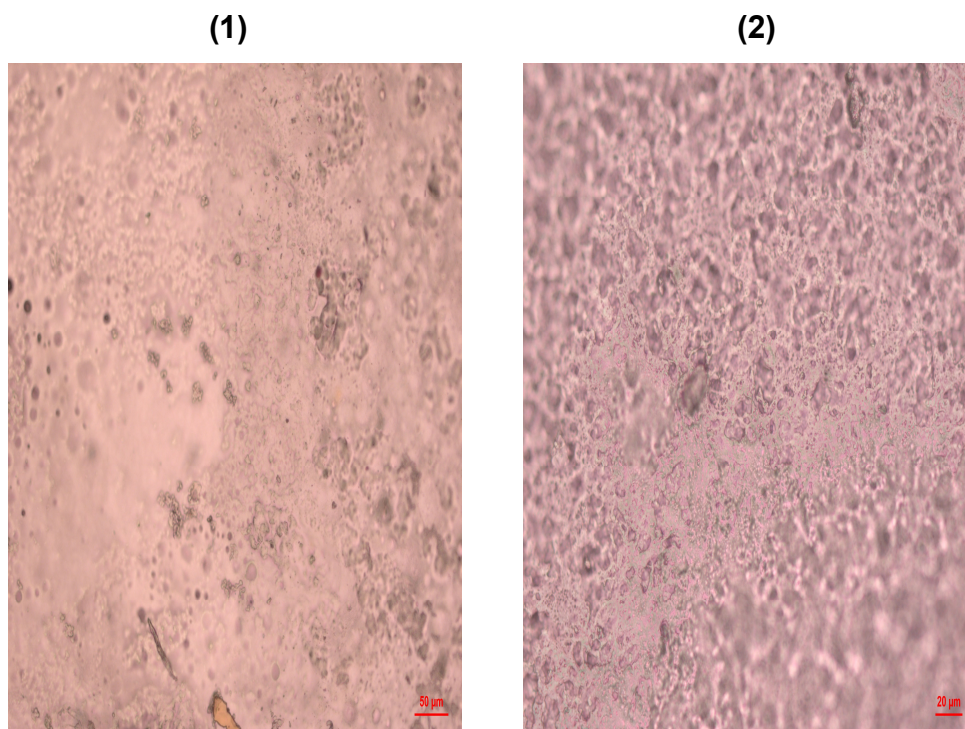
As letras diferentes indicam valores com diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0.05$  teste de Tukey).

### 5.2.3. Microscopia óptica

A homogeneidade dos filmes GE e GA 1:1 sem e com 5% de nanocelulose foi observada na foto de microscopia óptica (Figura 18). Percebe-se que a mistura filmogênica pura apresenta boa homogeneização, apresentando pequenos grumos distribuídos irregularmente, possivelmente associados à galactomanana devido a uma parcial dissolução, porque mesmo sendo solúvel em água sua dissolução é demorada, pois o contato da goma com a água cria uma situação de aglomeração da galactomanana dificultando o processo.

No filme GE e GA 1:1 com 5% de nanocelulose é possível observar alterações na microestrutura dos filmes mostrando que a incorporação de nanocelulose no material, mesmo em quantidades pequenas, provoca mudanças na superfície do filme, tornando-a mais rugosa, aumentando a quantidade de ondulações e cumes (PEREDA et al., 2011)

Figura 18: Micrografia óptica dos filmes de GE e GA 1:1 sem incorporação de nanocelulose (1) e com incorporação de 5% de nanocelulose (2).



#### **5.2.4. Microscopia eletrônica de varredura**

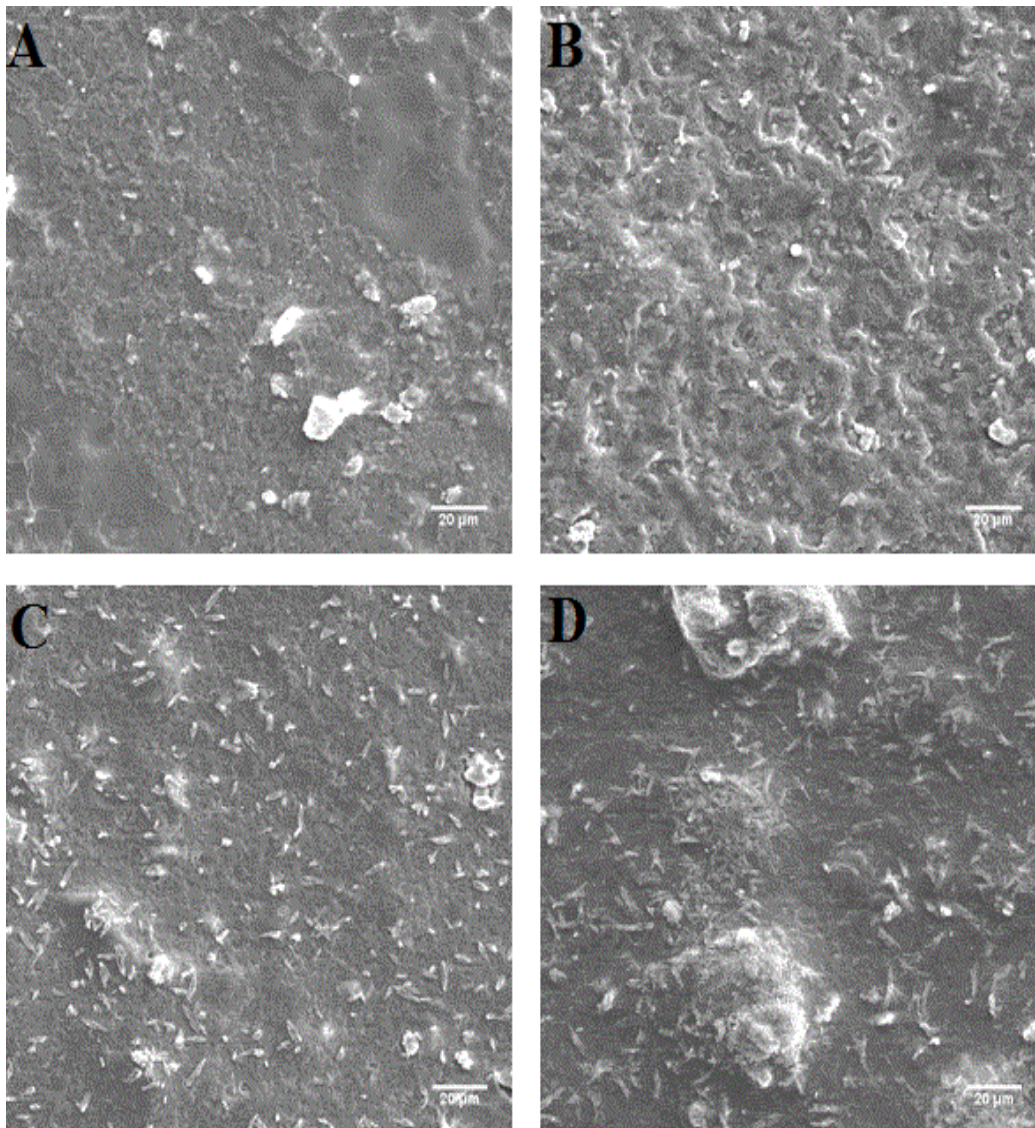
A morfologia dos filmes reforçados com nanocelulose foi investigada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Observa-se que ocorreu homogeneização parcial entre a gelatina e galactomanana, notando possíveis grumos de galactomanana no filme puro. A incorporação de nanocelulose provocou alterações na microestrutura dos filmes mostrando que mesmo incorporando uma pequena quantidade, houve mudanças na superfície dos filmes tornando-as mais rugosas, aumentando a quantidade de ondulações e cumes como também foi relatado por Pereda et al. (2011) para filmes de caseinato de sódio reforçado com nanocelulose.

A adição de nanocelulose a uma matriz polimérica aumenta a tortuosidade do caminho a ser percorrido pelos permeantes nessa matriz, o que dificulta a passagem de vapores de água e outros gases, ocorrendo uma melhora nas propriedades de barreira do material (SANCHEZ-GARCIA et al., 2008)

Na Figura 19 nota-se a presença de microcristais de celulose nos filmes incorporados, constatando a parcial cristalinidade da nanocelulose. À medida que a concentração aumenta, a presença dessa celulose microcristalina aumenta, sendo possível verificar aglomeração da mesma no filme incorporado com 7,5%. Essa

constatação possivelmente justifica a redução na melhora das propriedades mecânicas e de barreira dos filmes incorporados com 7,5%.

Figura 19: Imagens do microscópio eletrônico de varredura da secção transversal dos filmes de GE e GA 1:1 puro (A); GE e GA 1:1 com 2,5% (B); GE e GA 1:1 com 5% (C) e GE e GA 1:1 com 7,5% nanocelulose (D).

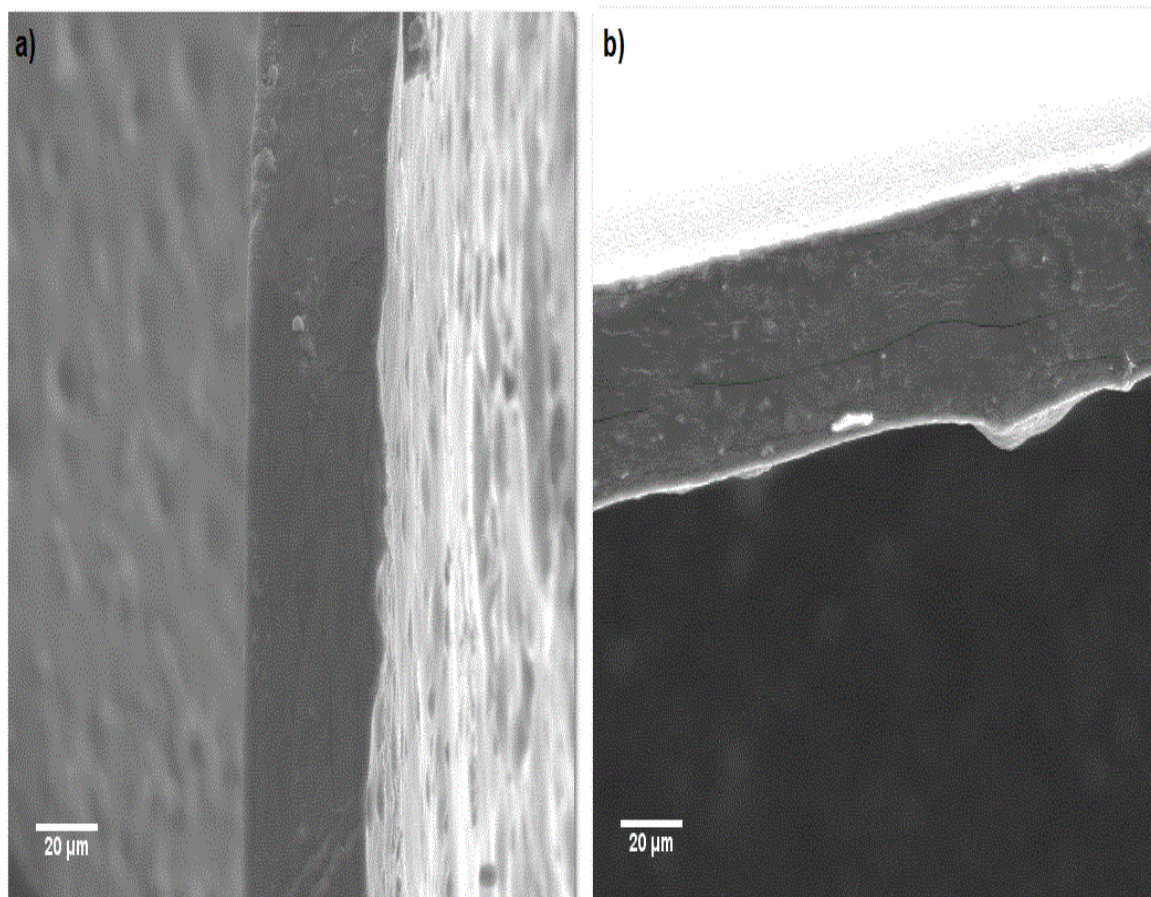


Outros resultados obtidos pela análise de MEV foram as micrografias da seção transversal dos filmes GE e GA 1:1 que são apresentadas na Figura 20. Pelas análises das imagens da seção transversal dos filmes observa-se que a estrutura do mesmo é densa e homogênea, porém percebem-se pequenas rachaduras na estrutura. Essas imperfeições podem estar relacionadas às condições de conservação da amostra ou a problemas durante a secagem pelo uso de



temperatura elevada (PEREDA et al.; 2011). Também é possível notar ondulações e rugosidades pelos materiais.

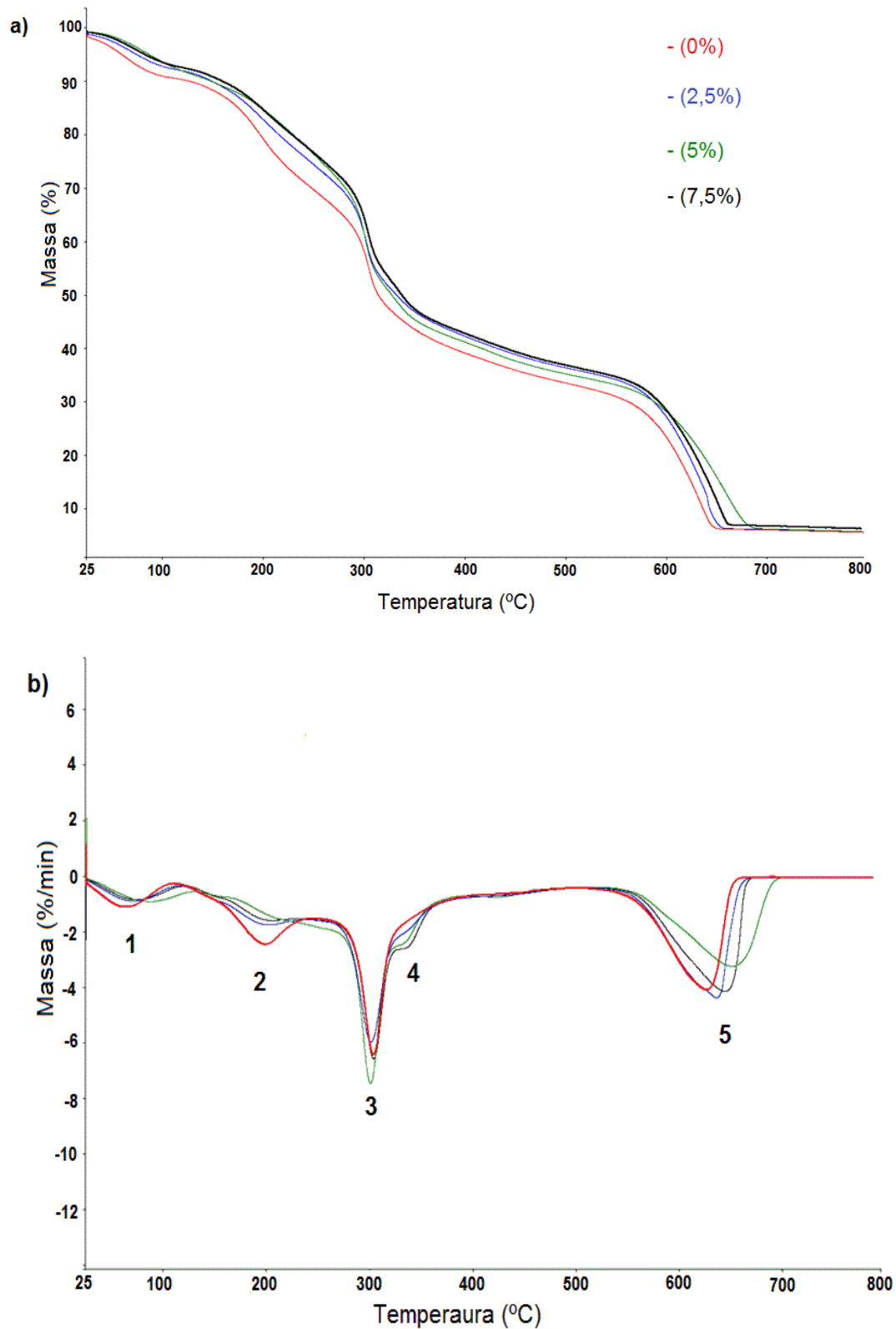
Figura 20: Imagens do microscópio eletrônico de varredura em filmes de GE e GA 1:1 sem nanocelulose a) e GE e GA 1:1 com 5% de nanocelulose b).



### 5.2.5. Análise termogravimétrica

A Figura 21 mostra a TG para os filmes de GE e GA 1:1 sem e com nanocelulose nas concentrações de 2,5; 5 e 7,5%. A partir das curvas, observa-se o comportamento de degradação térmica dos filmes com cinco estágios de perda de massa.

Figura 21: Curvas de TG (a) e DTG (b) dos filmes de GE e GA 1:1 sem e com nanocelulose.



Observa-se, no primeiro evento, uma perda mássica em torno de 100°C associada à evaporação de água livre absorvida pelos filmes. No segundo evento, a perda de massa em torno de 161,94°C está relacionada à degradação inicial das

proteínas e glicerol presentes no filme (AHMAD et al., 2012). No terceiro evento, em torno de 279°C ocorreu uma perda de massa de 26,4%, que é atribuído à decomposição do polissacarídeo (VENDRUSCOLO et al., 2009). O quarto evento, visto apenas nos filmes incorporados com nanocelulose, iniciado em torno de 320°C corresponde à degradação dos cristais de celulose não sulfatados, possuindo uma maior estabilidade térmica. Um quinto evento, iniciando em torno de 564,50°C, esta associado à continuação da degradação do polímero juntamente com a degradação de outros componentes presentes na amostra (LI, et. al., 2009; WANG; DING; CHENG, 2007; MORAIS, et. al., 2013; TEIXEIRA, et. al., 2010).

Para os filmes de GE e GA 1:1 incorporados com 2,5; 5 e 7,5% de nanocelulose, foram observadas, no segundo evento, as temperaturas iniciais de degradação térmica 180,69°C; 190,85°C e 182,21°C respectivamente, como pode ser verificado na Tabela 2.

Tabela 2: Temperatura inicial de degradação dos filmes e suas respectivas perdas de massa.

Filme	$T_{onset}$	$\Delta y$
<b>GE e GA puro</b>	161,94°C	19,5%
<b>GE e GA com 2,5% de NC</b>	180,69°C	12%
<b>GE e GA com 5% de NC</b>	190,85°C	11,12%
<b>GE e GA com 7,5% de NC</b>	182,21°C	13,38%

Essas temperaturas estão relacionadas à degradação térmica da proteína e do glicerol observadas na curva referente à blenda de gelatina e galactomanana pura. Observou-se que a incorporação de nanocelulose no filme aumentou a estabilidade térmica do mesmo em 18,7°C; 29°C e 20,7°C respectivamente, mostrando que o filme de GE e GA 1:1 com 5% de nanocelulose apresentou o melhor resultado. Mandal e Chakrabarty (2013) utilizaram nanocelulose do bagaço da Cana de açúcar como reforço em filmes de Poli(álcool vinílico) (PVOH) e encontraram temperatura de degradação do nanocompósito em torno de 200 a 400°C, onde foi suposto que essa temperatura de decomposição no intervalo citado

foi aumentada possivelmente devido à formação de ligações de hidrogênio entre a matriz de PVOH e a nanocelulose incorporada.

### **5.2.5. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)**

Os espectros observados para os filmes apresentam picos correspondente à amida A ( $\sim 3301 \text{ cm}^{-1}$ ), amida I ( $\sim 1639 \text{ cm}^{-1}$ ), amida II ( $\sim 1451 \text{ cm}^{-1}$ ) que são bandas características das proteínas (HASHIM et al., 2010). A amida A corresponde ao estiramento do grupo N-H e também ao estiramento vibracional de grupos hidroxilas, a amida I representa o estiramento da ligação C=O e a amida II o estiramento de C-N (LÓPEZ-FRANCO, et. al., 2013; LUO et al., 2012). As bandas em  $818 \text{ cm}^{-1}$  e  $867 \text{ cm}^{-1}$  são atribuídas às ligações das unidades anoméricas da galactose e da manose, respectivamente (CERQUEIRA et al., 2012; PEREDA et al., 2011). A banda de  $1032 \text{ cm}^{-1}$  corresponde à vibração de alongamento do grupo C-O da ligação C-O-C. Já a banda em  $1243 \text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao módulo de tensão angular vibracional C-O (MAITI et al., 2013). A região entre  $1350$  a  $1450 \text{ cm}^{-1}$  está relacionada a deformações simétricas dos grupos COH e CH<sub>2</sub> e a banda  $1549 \text{ cm}^{-1}$  é associada à vibração da amida II causada pela deformação das ligações N-H (AHMAD et al., 2012). A existência da banda em torno de  $1639 \text{ cm}^{-1}$  também corresponde às moléculas de água adsorvidas na nanocelulose não cristalina, pois essa banda no espectro da nanocelulose pura confirma a parcial cristalinidade da nanocelulose (NKAFAMIYA et al., 2011). A banda  $2928 \text{ cm}^{-1}$  pode estar relacionada ao grupamento CH, em especial do grupo CH<sub>2</sub> ( ANDREUC CETTI et al., 2012).

A banda em  $3301 \text{ cm}^{-1}$  para o filme sem nanocelulose sofreu um leve deslocamento quando incorporada nanocelulose nos filmes, apresentando picos em torno de  $3307 \text{ cm}^{-1}$ ,  $3310 \text{ cm}^{-1}$  e  $3309 \text{ cm}^{-1}$  para os filmes incorporados com concentrações de 2,5; 5 e 7% respectivamente. Nota-se uma redução na banda em torno de  $1549$  para os filmes incorporados com nanocelulose. Também é possível verificar uma redução na intensidade das bandas correspondentes a  $2928 \text{ cm}^{-1}$  e  $1451 \text{ cm}^{-1}$  nos filmes incorporados com nano. Possivelmente, esses deslocamentos das bandas e suas diminuições na intensidade estão associados às interações entre a matriz polimérica e a nanocelulose como pode ser verificado na Figura 22.

Mandal; Chakrabarty (2013) avaliaram as interações nos filmes de PVOH incorporados com nanocelulose do bagaço da cana de açúcar e verificaram a



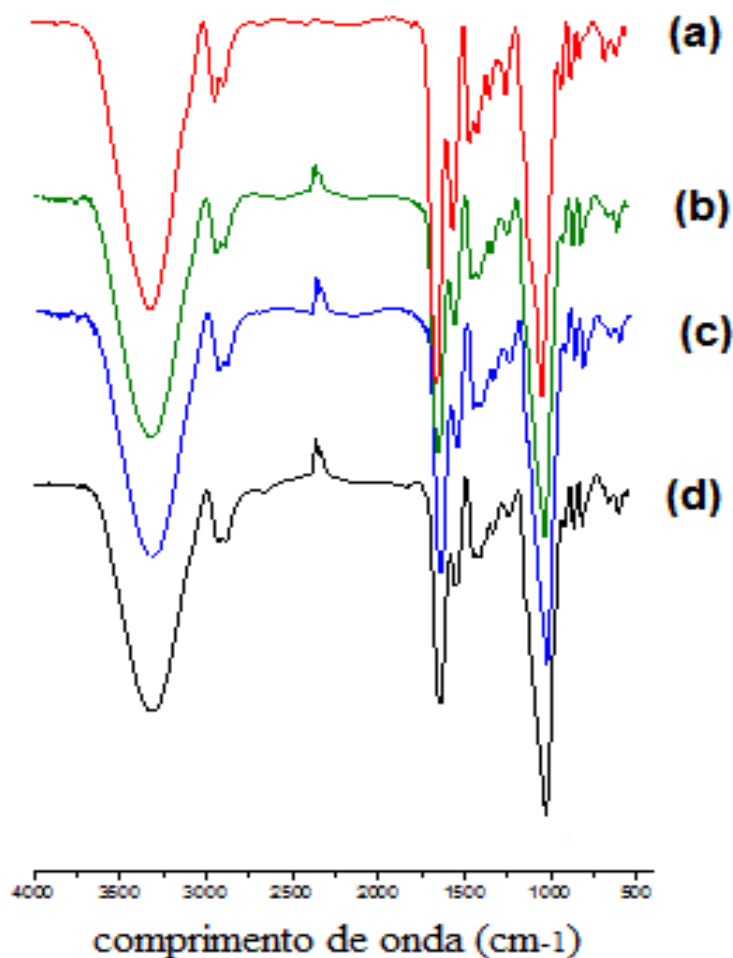
redução de bandas de absorção do PVOH com o aumento da proporção de nanocelulose, possivelmente devido à interação entre a nanocelulose e o PVOH.

Tabela 3: Atribuições das ondas do espectro de FTIR.

<b>Comprimento de onda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Grupamento</b>	<b>Atribuição</b>
3301	N-H/OH (estiramento)	Gelatina/ celulose/ água
1639	C=O (estiramento)	Gelatina/ galactomanana
1451	C-N (estiramento)	Gelatina
818	Unidade anomérica da galactose	Galactomanana
867	Unidade anomérica da manose	Galactomanana
1032	C-O (vibração de alongamento)	Celulose/ Gelatina/ galactomanana
1243	C-O (tensão angular vibracional)	Celulose/ Gelatina/galactomanana
1350-1450	COH/CH <sub>2</sub> (deformações simétricas)	Gelatina
1549	N-H (deformação)	Gelatina
2928	CH (estiramento vibracional)	Celulose/Gelatina

---

Figura 22: Espectro de FTIR para filmes de GE e GA 1:1 sem (a) e com 2,5% (b); 5% (c) e 7,5% (d) de nanocelulose.



A partir das análises dos espectros, é possível sugerir que a inclusão de nanocelulose nos filmes de GE e GA 1:1 não causou modificações na estrutura dos filmes, atuando entre as cadeias poliméricas sem formar nenhum tipo de ligação covalente com a estrutura do polímero.

### 5.2.7. Opacidade

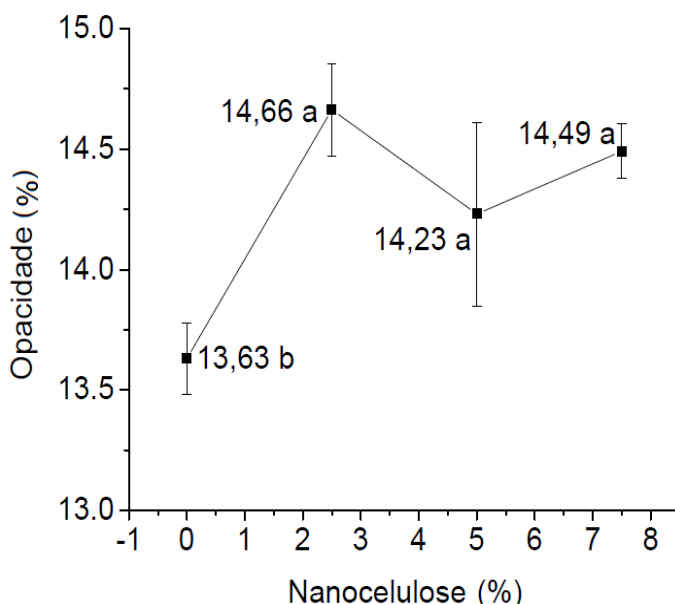
A opacidade é uma medida estabelecida através da transparência de um filme: um valor maior de opacidade significa uma menor transparência. O aumento na opacidade do filme ocorre a partir da dispersão de luz produzida pelas partículas de celulose completamente distribuídas na matriz polimérica (PEREDA et al., 2011).

A opacidade dos filmes incorporados com nanocelulose quando comparado ao filme sem nanocelulose apresentou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ), porém

com o aumento da concentração observa-se que os valores de opacidade não são afetados, supostamente devido à dispersão dos nanocristais que não foi tão boa. Casariego et al. (2009) obtiveram valores de 8,23 % para filmes de quitosana, e mostraram que esses valores não eram afetados pelo aumento da incorporação de micro/nano partículas de argila (MNC).

A Figura 23 mostra o gráfico representativo da opacidade de filmes de gelatina e galactomanana sem e com nanocelulose nas concentrações de 2,5; 5 e 7,5% .

Figura 23: Gráficos com valores de opacidade para filmes de GE e GA 1:1 com e sem nanocelulose.



### 5.2.8. Calorimetria exploratória diferencial

Um dos critérios para a avaliação da miscibilidade em blendas é a análise da transição vítrea ( $T_g$ ). Sob este critério, uma blenda é considerada miscível quando apresenta uma única transição vítrea situada em uma faixa de temperatura intermediária às transições dos componentes puros (CASSU; FELISBERTI, 2005).

A temperatura de transição vítrea é aquela na qual se inicia o movimento de segmentos da cadeia polimérica, fazendo com que o material passe de um estado vítreo para um estado mais maleável, tendo-se uma transição de segunda ordem, portanto um processo acompanhado de variação de capacidade calorífica da

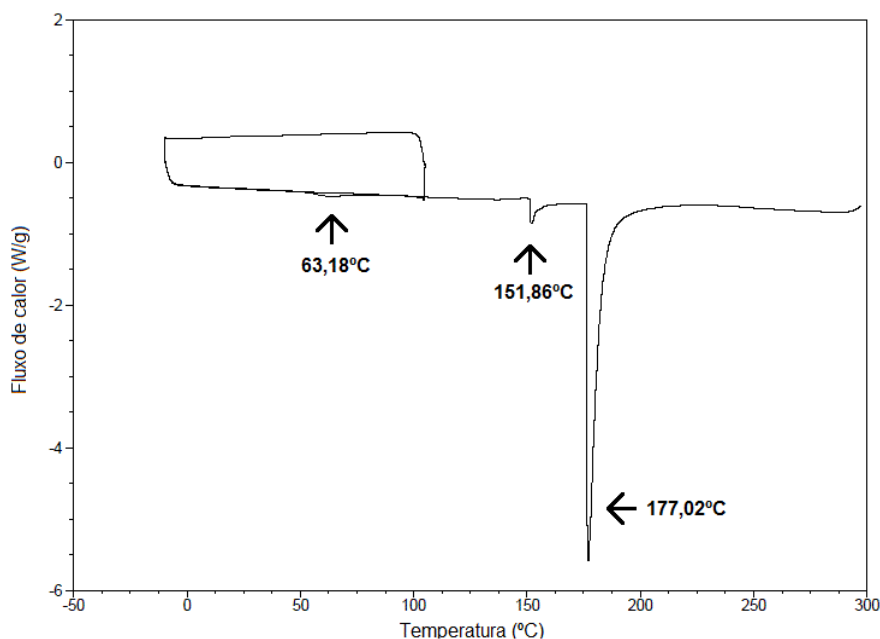
amostra, que se manifesta como variação da linha base da curva DSC (CANEVAROLO, 2004).

No primeiro ciclo de aquecimento é observado o evento endotérmico na temperatura de 63,18°C e está relacionado à transição da estrutura de tripla-hélice para a estrutura espiral (sol-gel), que é a estrutura de origem na solução água/gelatina antes da secagem (CHIOU et al., 2008), ou seja, caracteriza a temperatura de fusão da gelatina.

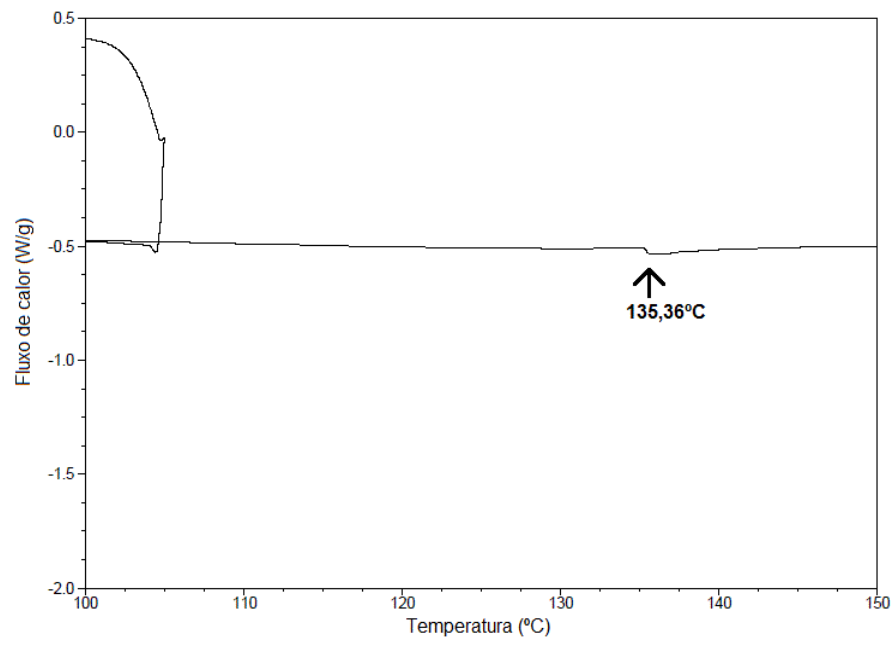
No segundo ciclo observa-se uma mudança na linha de base em torno 135,36°C para o filme de GE e GA 1:1 sem nanocelulose. Esse valor é intermediário aos valores achados para os filmes puros de gelatina e galactomanana que apresentaram valores de  $T_g$  de 135,84°C e 134,17°C respectivamente, indicando a formação de blends biopoliméricas. Também no segundo ciclo é possível visualizar dois eventos endotérmicos na temperatura de 151,86 °C e 177,02 °C que possivelmente podem ser relacionados ao ponto de fusão dos materiais gelatina e galactomanana respectivamente. Os resultados podem ser verificados na Figura 24.

Figura 24: Termograma do filme de GE e GA 1:1 sem nanocelulose (1) e  $T_g$  do filme de GE e GA 1:1 sem nanocelulose (2).

1)



2)



## 6. CONCLUSÃO

Foi possível obter filmes à base de gelatina de resíduos da tilápia e galactomanana extraída da algaroba, adicionados de nanocristais de celulose obtidos a partir das vagens da algaroba pela técnica de *casting*. Os filmes se apresentaram visualmente com boa aparência e manuseáveis.

Os nanocristais de celulose incorporados nos filmes de GE e GA foram eficientes na melhoria da propriedade de barreira (redução da PVA), da estabilidade térmica e da resistência à tração, tendo o filme com concentração de 5% apresentado os melhores resultados. A adição de nanocelulose aumentou o módulo elástico desde a adição de 2,5%, porém a alongação foi prejudicada pela adição de qualquer concentração de nano.

A análise de microscopia ótica permitiu verificar que o filme elaborado com a mistura filmogênica incorporada com 5% de nanocelulose apresenta alterações na microestrutura quando comparado com o filme puro. A análise de MEV permitiu observar a aglomeração dos nanocristais à medida que se aumentou a concentração.

A análise de DSC indica que os filmes obtido da mistura GE e GA 1:1 formou uma blenda biopolimérica.

Na análise de FTIR é possível verificar o deslocamento e a redução de algumas bandas ao incorporar NC aos filmes. A opacidade aumentou com a incorporação de NC, porém os valores não mudaram significativamente com a variação da mesma.

## **7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Buscar a otimização da forma de incorporação de nanocristais nos filmes de gelatina e galactomanana, como também a adição de outros materiais, visando melhoria expressiva das propriedades de barreira, mecânicas, bem como a funcionalização dos filmes, através de radiação ultravioleta combinada com ozônio.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, M. et al. Physico- mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 189-199, 2012.
- ALMEIDA, P.F.; VANALLE, R.M.; SANTANA, J.C.C. Produção de gelatina: uma perspectiva competitiva para a cadeia produtiva de frango de corte. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 14, n. 1, p. 63-76, 2012.
- ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. **Food Research International**, v. 42, p. 1113–1121, 2009.
- ANDREUCCETTI, C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis a base de gelatina, plastificantes hidrofóbicos e surfactantes naturais**. 2010. 244 f. Doutorado em Alimentos e Nutrição. – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- ANDREUCCETTI, C. et al. Functional properties of gelatin- based films containing *Yucca schidigera* extract produced via casting, extrusion and blown extrusion processes: A preliminary study. **J. Food Eng.**, v. 113, n. 1, p. 33-40, 2012.
- ARVANITTOYANNIS, I. S. Formation and properties of collagen and gelatin films and coatings. In A. Gennadios (Ed.), **Protein-based films and coatings**. Boca Raton: CRC Press Lancaster EUA, p. 275-304, 2002.
- ASTM E96-00, **Annual book of American Standard Testing Methods**, ASTM, Philadelphia, 2000.
- ASTM D638-01, **Annual book of American Standard Testing Methods**. ASTM, Philadelphia, 2001.
- AVENA-BUSTILLOS, R. J. et al. Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films. **J. Food Sci.**, v. 71, n. 4, p. E202-E207, 2006.
- AZEREDO, H. M. C. Nanocomposites for food packaging applications. **Food Research International.**, v. 42, p. 1240–1253, 2009.
- AZEREDO, H. M. C. et al. Nanocomposite Edible Films from Mango Puree Reinforced with Cellulose Nanofibers. **J. Food Sci.**, v. 74, n. 5, p. N31-N35, 2009.
- AZEREDO, H. M. C. et al. Nanoreinforced alginate- acerola puree coatings on acerola fruits. **J. Food Eng.**, v. 113, n. 4, p. 505-510, 2012.
- AZERO, E. G.; ANDRADE, C.T. Extração e caracterização da galactomanana de sementes de *caesalpinia pulcherrima* **Polímeros**, v. 9, n. 2, p. 54, 1999.



BATISTA, J. A. **Desenvolvimento, Caracterização e Aplicações de Biofilmes a Base de Pectina, Gelatina e Ácidos Graxos em Bananas e Sementes de Brócolos**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

BENTO, J. F.; MAZZARO, I.; SILVA, L. M. A.; MOREIRA, R. A.; FERREIRA, M. L. C.; REICHER, F.; PETROWICZ, C. L. O. Diverse patterns of cell wall mannan/galactomannan occurrence in seeds of the Leguminosae. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, p. 192–199, 2013.

BORDIGNON, A. C. **Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, 2010.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; MEURER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagem tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1391-1396, 2001.

BRAGA, A. P. et al. Composição química da vagem de algarobeira (*Prosopis juliflora*, (SW) DC) submetida a diferentes tratamentos térmicos. **Revista caatinga**, v. 22, n. 1, p. 257-263, 2009.

BRASIL. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura Brasil. **Ministério da Pesca e Aquicultura**. [S.l.]. 2010.

BRASIL. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura Brasil**. Ministério da Pesca e Aquicultura. [S.l.]. 2011.

CANEVAROLO JR., Sebastião. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. 1 ed. São Paulo, Artliber Editora, 2004.

CASARIEGO, A. et al. Chitosan/clay films properties as affected by biopolymer and clay micro/ nanoparticles concentrations. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 7, p. 1895-1902, 2009.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Comportamento dinâmico-mecânico e relaxações em polímeros e blendas poliméricas. **Quím. Nova**, v.28, n.2, p. 255-263, 2005.

CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura da Água Doce**. FUNEP, Jaboticabal, 1992.

CERQUEIRA, M. A. et al. Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. **J. Food Eng.**, v. 94, n. 3-4, p. 372-378, 2009a.

CERQUEIRA, M. A. et al. Extraction, purification and characterization of galactomannans from non- traditional sources. **Carbohydr. Polym.**, v. 75, n. 3, p. 408-414, 2009b.

CERQUEIRA, M. A. et al. Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food Applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 662-671, 2011a.

CERQUEIRA, M. A. et al. Structural and thermal characterization of galactomannans from non- conventional sources. **Carbohydr. Polym.**, v. 83, n. 1, p. 179-185, 2011b.

CERQUEIRA, M. A. et al. Effect of glycerol and corn oil on physicochemical properties of polysaccharide films - A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 27, n. 1, p. 175-184, 2012.

CHEN, D. et al. Biocomposites reinforced with cellulose nanocrystals derived from potato peel waste. **Carbohydr. Polym.**, v. 90, n. 1, p. 709-716, 2012.

CHIOU, B.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; BECHTEL, P. J.; JAFRI, H.; NARAYAN, R.; IMAMA, S. H.; GLENN, G. M.; ORTS, W. J. Cold water fish gelatin films: Effects of cross-linking on thermal, mechanical, barrier, and biodegradation properties. **European Polymer Journal**, v. 44, p. 3748–3753, 2008.

CHO, S.M.; GU, Y.S.; KIMA, S.B. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 221–229, 2005.

CORRADINI, E. **Desenvolvimento de blendas poliméricas de zeína e amido de milho**. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Interunidades em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo, 2004.

COUGHLAN, K.; SHAW, N.B.; KERRY, J.F.; KERRY, J.P. Combined Effects of Proteins and Polysaccharides on Physical Properties of Whey Protein Concentrate–based Edible Films. **Journal of food Science**, v. 69, n. 6, p. 271-275, 2004.

CREIGHTON, T. E. Proteins, Structures and Molecular Properties. **Freeman and Company**. New York, USA. 507 p. 1996.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In **Active Food Packaging**. **Blackie Academic & Professional**, ed. Rooney, M, 1995.

DAI, C. A.; CHEN, Y. F.; LIU, M. W. Thermal properties measurements of renatured gelatin using conventional and temperature modulated differential scanning calorimetry. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 99, p. 1795–1801, 2006.

DAVANÇO, T. **Desenvolvimento e Caracterização de Biofilmes à base de Gelatina, Triacetina, Ácido esteárico ou Ácido capróico e Surfactantes**. 2006. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

FAO. **World Review of fisheries and aquaculture**. Food and Aquaculture Organization of The United Nations. Rome, 2012.

FRANCHETTI; MARCONATO. Polímeros biodegradáveis – uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

FREITAS, D. D. G. C. et al. The sensory acceptability of a tilapia (*Oreochromis niloticus*) mechanically separated meat-based spread. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, n. 2, p. 166-173, 2012.

GARCIA, M. A.; PINOTTI, A.; ZARITZKY, N. E. Physicochemical, Water Vapor Barrier and Mechanical Properties of Corn Starch and Chitosan Composite Films. **Starch-Journal**, v. 58, p. 453–463, 2006.

GARDNER, D. J. et al. Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. **J. Adhes. Sci. Technol**, v. 22, p. 545-567, 2008.

GIMÉNEZ, B. et al. Storage of dried fish skins on quality characteristics of extracted gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.19, p. 958-963, 2004.

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.16, n. 1, p. 25-34, 2002.

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1813-1827, 2011.

HASHIM, D. M. et al. Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. **Food Chemistry**, v. 118, p. 856–860, 2010.

HUNTER ASSOCIATES LABORATORY (Reston, Estados Unidos). **Universal software versions 3.2 and above**: User's manual: manual version 1.5. Reston,1997.

ITO, E. N.; PESSAN, L. A.; HAGE JR, E. Análise do desenvolvimento morfológico da blenda polimérica PBT/ABS durante as etapas de mistura por extrusão e moldagem por injeção. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 14, n 2, p. 83-92, 2004.

KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 23 p. 563–576, 2009.

KOCH, C. Structural nanocrystalline materials: an overview. **Journal of Materials Science**, v.42, p. 1403-1414, 2007.

KROCHTA, J. M. E MULDER-JOHNSON, C. Edible and Biodegradable Polymer Films: Challenges and Opportunities. **Food technology**, v. 51, p. 61-74, 1997.

KUBITZA, F. Tilápias na Bola de Cristal - **Revista Panorama da Aquicultura**. v.17, n.99, p.14-21, 2007.

KUBITZA, F. Tilápias: qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. Part.I - **Revista Panorama da Aquicultura**. v.10, n. 59, p. 44-53, 2000.

LEUENBERGER, B. H. Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 5, p. 356-361, 1991.

Li, R.; Fei, J.; Cai, Y.; Li, Y.; Feng, J.; Yao, J.; Cellulose whiskers extracted from mulberry: A novel biomass production. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 94–99, 2009.

LÓPES-FRANCO, Y. L. et al. Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite seeds (*Prosopis* spp.). *Food Hydrocolloids*, v. 30, p. 656-660, 2013.

LUO, Z. Y.; WANG, S. R.; GUO, X. J. Selective pyrolysis of Organosolv lignin over zeolites with product analysis by TG- FTIR. **J. Anal. Appl. Pyrolysis**, v. 95, p. 112-117, 2012.

MAIA L. H.; PORTE A.; SOUZA, V. F. B. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira à umidade e oxigênio. **CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 1, jan./jun. 2000.

MAITI, S. et al. Preparation and characterization of nano- cellulose with new shape from different precursor. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, n. 1, p. 562-567, 2013.

MANDAL, A.; CHAKRABARTY, D. Studies on the mechanical, thermal, morphological and barrier properties of nanocomposites based on poly( vinyl alcohol) and nanocellulose from sugarcane bagasse. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 2013.

MANO, E. B. Polímeros como materiais de engenharia. **Edgard Blücher**, São Paulo, p.113-131, 1991.

MARENGONI, N. G. et al. Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador**, v. 10, n. 1, p. 168-176, 2009.

McCORMICK, R. Exploiting the Novel Properties of Pectin and gelatin Gels. **Prepared Foods**, v. 5, p. 204-205, 1987.

MENESES, C. T. **Estudo da cristalização de nanopartículas de NiO por difração e absorção de raios-X**. Doutorado em Física – Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Extracting conditions for megrim (*Lepidorhombus boscii*) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin. **J. Food Sci.**, v. 65, n. 3, p. 434-438, 2000.

MORAIS, J. P. S. et al. Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, p. 229-235, 2013.

MOREIRA, H.L.M. **Análise da estrutura de populações e diversidade genética de estoques de reprodutores de tilápia do Nilo Genética de estoques de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estimadas por microssatélite**. 1999. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Celular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1999.

NASCIMENTO, D. M. et al. Thermal and structural characteristics of waste derived biomass for potential application in nanomaterials. **Isnapol**, 2010.

NKAFAMIYA, I, et al. Swelling behaviour of konkoli (maesopsis eminii) galactomannan hydrogels. **International Research Journal of Plant Science**, v. 2, p. 78-86, 2011.

NORLAND, R.E. Fish gelatin. In: VOIGHT, M.N.; BOTTA, J.K. (Eds.) *Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability*. Lancaster: Technomic, p.325-333, 1990.

OLIVEIRA, M. R. et al. Estudo das Condições de Cultivo da Algaroba e Jurema Preta e Determinação do Poder Calorífico. **Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 14, p. 93-104, 1999.

OSSES, J. et al. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. **J. Food Eng.**, v. 92, n. 1, p. 56-62, 2009.

PARRIS, N. et al. Composition Factors Affecting the Water Vapor Permeability and Tensile Properties of Hydrophilic Films. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, p. 1432-1435, 1995.

PEREDA, M. et al. Polyelectrolyte films based on chitosan/olive oil and reinforced with cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers.**, v. 101, p. 1018– 1026, 2013.

PEREDA, M. et al. Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. **J. Food Eng.**, v. 103, n. 1, p. 76-83, 2011.

PEREIRA, A. L. S. **Nanocelulose do pseudocaule da bananeira**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará.

PESSATTI, M. L. Aproveitamento dos subprodutos do pescado. Relatório final de ações prioritárias ao desenvolvimento da pesca e aquicultura no Sul do Brasil. **Convênio Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**, Universidade do Vale do Itajaí: MA/SARC, n. 003/2000. 2001.

PINHEIRO, A. C. et al. Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares Pinheiro. **Boletim de biotecnologia**, 2010.

POLLARD, M. A. et al. Characterization of galactomannans isolated from legume endosperms of Caesalpinioideae and Faboideae subfamilies by multidetection aqueous SEC. **Carbohydr. Polym.**, v. 79, n. 1, p. 70-84, 2010.

PROMMAKOOL, A. et al. Whey protein- okra polysaccharide fraction blend edible films: Tensile properties, water vapor permeability and oxygen permeability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 2, p. 362-369, 2011.

RIISPOA. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Seção VI – Conservas, Artigo 433, 1997.

RIBASKI, J. et al. Algaroba (Prosopis juliflora): árvore de uso múltiplo para a região semiárida brasileira. Colombo: **Embrapa Florestas**, v. 240, 2009.

ROOHANI, M. et al. Cellulose whiskers reinforced polyvinyl alcohol copolymers nanocomposites. **Eur. Polym. J.**, v. 44, n. 8, p. 2489-2498, 2008.

SAMIR, M. et al. Cellulose nanocrystals reinforced poly(oxyethylene). **Polymer**, v. 45, n. 12, p. 4149-4157, 2004.

SANCHEZ-GARCIA, M. D.; GIMENEZ, E.; LAGARON, J. M. Morphology and barrier properties of solvent cast composites of thermoplastic biopolymers and purified cellulose fibers. **Carbohydr. Polym.**, v. 71, n. 2, p. 235-244, 2008.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine Handbook, Theory and Industrial Practice**. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Germany, 2007.

SEMENOVA, M. G. Thermodynamic analysis of the impact of molecular interactions on the functionality of food biopolymers in solution and in colloidal systems. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 23-45, 2007.

SHREVE, R. N.; BRINK, Jr. **Indústrias de Processos Químicos**. Guanabara dois, 4ªEd., 1980.

SILVA, D. J.; D'ALMEIDA, M. L. O. Nanocristais de celulose. **O Papel**, v. 70, n. 7, p. 34-52, 2009.

SILVA, R. et al. Aplicações de fibras lignocelulósicas na química de polímeros e em compósitos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 661-671, 2009.

SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S.; ROSA, M. D. Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. 634-643, 2008.

SRINIVASA, P.C.; THARANATHAN, R.N. Chitin/Chitosan — Safe, Ecofriendly Packaging Materials with Multiple Potential Uses. **Food Reviews International**, v. 23, n. 1, p. 53-72, 2007.

SRIVASTAVA, M.; KAPOOR, V.P. Seed galactomannans: an overview. **Chemistry and Biodiversity**, v. 2, n. 3, p. 295-317, 2005.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C, B. **Organic Chemistry**. 7. ed. New York: John Wiley & Sons, 1258 p. 2000.

SURYANEGARA, L.; NAKAGAITO, A. N.; YANO, H. The effect of crystallization of PLA on the thermal and mechanical properties of microfibrillated cellulose- reinforced PLA composites. **Compos. Sci. Technol.**, v. 69, n. 7-8, p. 1187-1192, 2009.

TEIXEIRA, E. M. et al. Nanofibras de algodão obtidas sob diferentes condições de hidrólise ácida. **Polímeros**, 2010.

TONZANI, S. **Journal of Applied Polymer Science**, v.126, 2012.

TONHI, E.; PLEPIS, A. M. G. Obtenção e caracterização de blendas colágeno quitosana. **Quím. Nova**, v.25, n.6a, p. 943-948, 2002.

UTRACKI, L. A. Polymer alloys and blends: thermodynamics and rheology. **Hanser Publishers**, Nova Iorque, 1989.

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**, v. 19, p. 899–907, 2005.

VENDRUSCOLO, C. W. et al. Physicochemical and mechanical characterization of galactomannan from *Mimosa scabrella*: Effect of drying method. **Carbohydr. Polym.**, v. 76, n. 1, p. 86-93, 2009.

VIDOTTI, R.M.; GONÇALVES, G.S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. **Instituto de Pesca**, 2006.

VOET, D.; VOET, J. **Biochemistry**. John Wiley & Sons, inc. 4ed, 2011.

XU, Y. X.; REN, X.; HANNA, M. A. Chitosan/clay nanocomposite film preparation and characterization. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 99, n. 4, p. 1684-1691, 2006.

WANG, N.; DING, E.; CHENG, R.; Thermal degradation behaviors of spherical cellulose nanocrystals with sulfate groups. **Polymer**, v. 48, p. 3486-3493, 2007.

YOO, S. R.; KROCHTA, J. M. Whey protein- polysaccharide blended edible film formation and barrier, tensile, thermal and transparency properties. **J. Sci. Food Agric.**, v. 91, n. 14, p. 2628-2636, 2011.

ZARBIN, A. J. G., Química de (nano)materiais. **Química Nova**, v. 30, p.1469-1479, 2007.

ZHOU, Y. M.; FU, S.Y.; ZHENG, L.M.; ZHAN, H.Y. Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films, **Express Polymer Letters**, v. 6, p. 794 – 804, 2012.