

# AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TERMOANALÍTICAS, MICROESTRUTURAIS E MECÂNICAS DOS FILMES PRODUZIDOS POR BASE DE MATRIZ SPI COM INCORPORAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS

*EVALUATION THERMOANALYTICAL, MICROSTRUCTURAL AND  
MECHANICAL PROPERTIES OF FILMS MADE BY SPI'S MATRIX OF THE  
BASE WITH INCORPORATION OF POLYSACCHARIDE*

Angela Maria Picolloto<sup>1</sup> 

Lucidio Molina Filho<sup>2</sup> 

Laís Ravazzi Amado<sup>3</sup> 

Paulo Rodrigo Stival Bittencourt<sup>4</sup> 

Keila de Souza Silva<sup>5</sup> 

**Resumo:** O presente trabalho teve como objetivo principal estudar, avaliar, e comparar, a estabilidade térmica das interações entre proteína de soja isolada com três polissacarídeos ajustados em pHs extremos 3 e 11. Resultados sugeriram que a interação de matrizes filmógenas SPI + alginato se mostrou mais termoresistente, com  $T_{onset} = 67,7$  °C. Tanto a DTG como a DSC

---

<sup>1</sup> Doutora em Física da Matéria Condensada, Bacharel e Licenciada em Física, Departamento de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Campus Umuarama, e-mail: angela.picolloto@gmail.com.

<sup>2</sup> Pós-Doutor em Engenharia e Ciências dos Alimentos, Doutor em Engenharia e Ciências dos Alimentos, Licenciado em Matemática Plena, Departamento de Meio Ambiente, Universidade Estadual de Maringá, Campus Umuarama, e-mail: lmolinaf@hotmail.com.

<sup>3</sup> Doutora em Engenharia e Ciências dos Alimentos, Engenheira em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual Júlio Mesquita Filho, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, e-mail: laisravazziamado@gmail.com.

<sup>4</sup> Pós-Doutor em Química, Doutor em Química, Licenciado em Química, Departamento de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira, e-mail: paulob@utfpr.edu.br.

<sup>5</sup> Pós-Doutora em Engenharia e Ciências dos Alimentos, Doutora em Engenharia e Ciências dos Alimentos, Engenheira de Alimentos. Departamento de Ciências dos Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, e-mail: kssilva@uem.br.

foram sensíveis para identificação das temperaturas de maior cinética da desnaturação. A DSC explorou as temperaturas de agregação térmica superiores à 113,0°C para as soluções na fase pós-desnaturação, com exceção na mistura SPI+pectina. Após a análise dos resultados termoanalíticos das soluções, os filmes preparados foram ajustados em pH 11 e tratados nas temperaturas otimizadas características a partir dos resultados da DTG. Temperaturas de agregação térmica dos filmes foram identificadas nos perfis exotérmicos DSC dos filmes SPI, SPI+pectina, SPI+alginate e SPI + goma alfarroba sugerindo que com o aquecimento pós-desnaturação as ligações covalentes tendem a se formarem. No entanto, devido a pouca variação da entalpia envolvida nestes fenômenos, os resultados sugeriram fragilidade nas ligações químicas após a gelificação das proteínas e misturas nos filmes. As micrografias obtidas indicam alterações morfológicas com a temperatura de tratamento térmico. Resultados das propriedades mecânicas demonstram atenuação da magnitude das propriedades mecânicas com o aquecimento.

**Palavras-chave:** Desnaturação. Estabilidade térmica. Polissacarídeos. Tratamentos térmicos. Microestrutura.

**Abstract:** Main objective of this work was to study, evaluate and compare the thermal stability to interactions thermal analysis of interactions between isolated soy protein and three polysaccharides adjusted at extreme pHs 3 and 11. Results suggested that the interaction of filmogenic matrices SPI + alginate proved to be more heat resistant, with  $T_{\text{onset}} = 67.7$  °C. So much to DTG such as DSC were sensitive to identify the temperatures with the highest denaturation kinetics. DSC explored thermal aggregation temperatures higher than 113 °C for solutions in the post-denaturation phase, with the exception the SPI+pectin mixture. After analyzing the thermoanalytical results of the solutions prepared films were adjusted to pH 11 and treated at the characteristic optimized temperatures from the DTG results. Film thermal aggregation temperatures were identified in the exothermic profiles DSC's from films SPI, SPI+pectin, SPI+alginate and SPI+locust bean gum suggesting that with after-denaturation heating covalent bonds tend to form. However, due to little enthalpy variation involved in these phenomena, The micrographs obtained indicate morphological changes with the heat treatment temperature. Results to mechanical properties demonstrate attenuation from magnitude mechanical's properties with heating.

**Keywords:** Denaturation. Thermal stability. Polysaccharides. Thermal treatments. Microstructure.

# 1 INTRODUÇÃO

Os descartes inadequados de embalagens de origem petroquímica vêm provocando mundialmente um grande problema ambiental. Existem dificuldades de reciclagem da maioria das embalagens sintéticas utilizadas, tanto pelos custos, quanto pela consciência da maioria da população e políticas públicas ineficazes. Sendo assim, a indústria manifesta atualmente interesse em substituir embalagens sintéticas por embalagens biodegradáveis, garantindo simultaneamente a segurança microbiológica e a conservação da qualidade nutricional dos produtos alimentícios processados. Estas questões apresentadas estimularam nas últimas décadas o desenvolvimento de embalagens, filmes e coberturas preparadas a partir de matérias-primas renováveis como os polissacarídeos, proteína e amidos (MALI *et al.*, 2010).

Filmes biodegradáveis desenvolvidos a base da proteína de soja têm se mostrado como uma promissora alternativa de substituição dos filmes sintéticos (de OLIVEIRA *et al.*, 2021; AMADO, SILVA e MAURO, 2019). Proteínas de soja são constituídas por uma estrutura formada por muitos aminoácidos de alto potencial para interações moleculares polares e apolares. Quando a proteína é aquecida a uma temperatura específica haverá alterações conformacionais nas estruturas secundária, terciária e quaternária. Tais mudanças são denominadas desnaturação proteica. A desnaturação das proteínas está associada ao aquecimento, pH dos biocompostos, e interações eletrostáticas. Durante a desnaturação as estruturas terciárias e quaternárias das proteínas 11S (glicina) e 7S ( $\beta$ -conglucina) são rompidas. Entretanto, a resposta das frações 11S e 7S ao tratamento térmico depende da atenuação das forças iônicas que estabilizam as conformações nativas propiciando alterações nas ligações de pontes de hidrogênio, enxofre e interações hidrofóbicas. Estudos atuais sugerem que na proteína de soja, a desnaturação parcial na fração 7S ocorre usualmente em temperaturas superiores à 60 °C e a desnaturação parcial na fração 11S ocorre entre 80°C a 90°C (GARCIA *et al.*, 1997). Porém, estes resultados são diferenciados em conformidade com a concentração da matriz proteica.

O tratamento térmico é primordial para a preparação dos biofilmes. A estabilidade térmica da proteína está vinculada com sua capacidade em

conservação da estrutura nativa (CHEN *et al.*, 2017; IBANOGLUE, 2015, LI *et al.*, 2014). No presente trabalho foram aplicadas duas técnicas experimentais para a caracterização do comportamento térmico de cada amostra, a Análise Térmica (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), sendo que a primeira identifica os resultados das curvas das perdas de massa, e a segunda técnica revela o resultado do fluxo de calor, ambas em função da temperatura.

A partir dos resultados obtidos foi abordado inicialmente o tratamento da Análise Termogravimétrica Derivada (DTG), referente ao estudo da derivada de primeira ordem da curva experimental da perda de massa em função do aquecimento encontrado via TG. Por meio desta avaliação, são caracterizadas as temperaturas  $T_{onset}$ ,  $T_{dec}$  e  $T_{offset}$ . A primeira temperatura caracteriza o início do fenômeno de desnaturação em que ocorre a perda de massa, limitando a estabilidade térmica da amostra. É seguro afirmar que até atingir a temperatura  $T_{onset}$ , a estrutura nativa da amostra permanece conservada (Li *et al.*; 2014) e após até ponto é ativada a desnaturação nos filmes. A  $T_{dec}$  está vinculada a temperatura em que há a maior cinética da perda de massa, ou, decomposição termogravimétrica, e a  $T_{offset}$  demonstra o término do estágio da decomposição termogravimétrica. O pico endotérmico obtido no gráfico da curva DSC é característico do fenômeno de desnaturação dos filmes.

O presente trabalho teve como objetivo principal estudar a otimização da estabilidade térmica e analisar o comportamento térmico das matrizes filmógenas preparadas a base de proteína isolada de soja (SPI) e das misturas proteico-polissacarídicas, pectina, alginato e goma alfarroba (LBG) ajustados nos pHs 3 e 11.

Entre os biopolímeros naturais, a proteína de soja e os polissacarídeos são muito abundantes, renováveis, e a soja é de fácil cultivo nos férteis solos paranaenses. Industrialmente é importante conhecer a temperatura de estabilidade térmica e a  $T_{offset}$  porque a partir deste ponto os filmes desnaturam. No entanto, devido às variações térmicas e mudanças das propriedades químicas entre os filmes, as moléculas que constituem as matrizes podem apresentar distintos arranjos que influem em suas estruturas morfológicas propriedades mecânicas (SILVA *et al.*, 2018; SUI *et al.*, 2016).

As caracterizações encontradas por ensaios mecânicos neste estudo foram (tensão,  $\sigma$ , deformação,  $\epsilon$ , e módulo de Young, E). A maioria dos filmes produzidos à base de SPI+polissacarídeos combinam de modo geral os comportamentos elástico e plástico. A tensão mede a força aplicada por unidade de área. A deformação avalia o limite quantitativo necessário para que o material não sofra ruptura, enquanto que o módulo de Young examina o ponto limite para que o comportamento elástico do filme seja preservado (DÍEZ-PASCUAL, DÍEZ-VICENTE, 2014). Logo, o módulo de Young é obtido diretamente a partir da inclinação da curva de tensão vs. deformação na região elástica.

Após a caracterização do comportamento térmico, os filmes das misturas SPI+polissacarídeos ajustados no pH 11 foram confeccionados em temperaturas otimizadas próximas às temperaturas do comportamento térmico durante a desnaturação. A microestrutura morfológica e as propriedades encontradas por ensaios mecânicos (módulo de Young, alongamento e tensão) foram analisadas com a finalidade de se obter as propriedades otimizadas. Os resultados encontrados por estas técnicas foram interpretados com base nas mudanças nas interações intermoleculares entre as matrizes filmógenas considerando as temperaturas limites do fenômeno de desnaturação e as alterações das estruturas das matrizes proteico-polissacarídeos.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Preparação das soluções das misturas proteicas-polissacarídicas**

A solução controle (SPI) foi preparada com 16,2 g de proteína de soja isolada (SPI, MAXSOY Alimentos LTDA) diluída em 163,8 ml de água destilada e 0,6 g de glicerina (Gly 99,5%; Synth) por dez minutos a 1500 rpm no equipamento de agitação eletromagnética com aquecimento (Marconi, SL 95). A solução foi amornada à 65 °C durante a agitação para a solubilização da proteína.

A solução da matriz proteica-pectina foi produzida a partir da homogeneização da solução controle SPI com 3 g de pectina. Esta mistura foi agitada por 10 minutos a 1500rpm e aquecida a 50°C. As formulações proteica-

alginato e proteica-goma alfarroba (LBG) foram fabricadas similarmente. Na solução controle SPI foi incorporada mais 0,6g dos polissacarídeos. A mistura foi aquecida a 80°C por 10 minutos sem agitação. A goma alfarroba (LBG) foi gentilmente concedida pela empresa (GRINDSTED® LBG 246, São Paulo-BR), e o alginato foi doado pela empresa DANISCO. Após as medições, o pH das soluções foi ajustado em 3 com HCL e 11 com NaOH.

## **2.2 Técnicas termoanalíticas**

### **2.2.1. Análise Térmica Diferencial (DTG)**

As amostras foram caracterizadas com auxílio da técnica de Análise Térmica (TG) no equipamento de análises simultânea de alta resolução (STA 6000 *Simultaneous Thermal Analyzer PerkinElmer Frontier*) a temperatura controlada no intervalo entre 50°C a 250°C na taxa de aquecimento de 20 °C/min. Dez microlitros de cada amostra foram introduzidos no cadinho aberto de platina ródio previamente. O gás de arraste aplicado foi o nitrogênio, na taxa de vazão de 30 ml/min.

Resultados dos testes foram conhecidos por meio de perfis gráficos da perda de massa (em %) durante o aquecimento em função da temperatura controlada (PICOLLOTO *et al.*, 2022; BERNAL *et al.*, 2002). Em seguida, após a obtenção dos gráficos foi aplicada a derivada de primeira ordem da Análise Termogravimétrica Diferencial (DTG), possibilitando assim estudar as temperaturas dos estágios de decomposição termogravimétrica para o início da reação,  $T_{onset}$ , temperatura de maior cinética da decomposição termogravimétrica associada a desnaturação térmica,  $T_{dec}$ , e temperatura de término do estágio de decomposição,  $T_{offset}$ , para as misturas poliméricas. A temperatura  $T_{dec}$  é exibida nos perfis como a temperatura de inflexão.

### **2.2.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

Além da variação termogravimétrica, o equipamento opera a leitura do fluxo de calor entre a amostra e a referência, o que consiste no princípio fundamental do DSC (CANEVAROLO, 2017). Foram utilizadas as mesmas condições experimentais para TG. A diferença do fluxo entre a amostra e a

referência surge, revelando a natureza de absorção ou liberação de calor no sistema devido aos efeitos térmicos intrínsecos da amostra estudada nas condições experimentais submetidas (IONASHIRO, 2004). Por meio do sinal resultante, é encontrada a curva característica do fluxo de calor ( $q$ ), medido em mW/mg, em função da temperatura. Durante o aquecimento, as transições de fase de primeira ordem podem ser observadas nos perfis das soluções por meio das concavidades dos picos. A temperatura de desnaturação resultante nos picos DTG é associada ao pico endotérmico do perfil DSC (representado pela concavidade orientada para cima). Nas misturas proteicas, os eventos exotérmicos demonstrados pela concavidade orientada para baixo nos picos DSC são associadas a temperatura de agregação térmica,  $T_{aggre}$ . A variação da entalpia das transições físicas de desnaturação e agregação são calculadas por meio da integral da área dos picos característicos.

### **2.3 Preparação dos filmes para análise de microestrutura e características mecânicas**

Foram preparadas as seguintes matrizes filmógenas: proteína isolada de soja (SPI – 5%), glicerina (2%) em duas diferentes temperaturas de tratamento térmico, de 58°C e 88°C, as misturas, SPI (5%), glicerina (2%) mais pectina (2%) aquecidas a banho de 54°C e 78°C, SPI (5%) glicerina (2%) com alginato (2%) nas temperaturas de tratamento térmico de 68°C, 88°C, e 115°C, e por fim, SPI (5%), glicerina (2%) mais goma alfarroba (2%) submetidas a banhos de aquecimento nas temperaturas de 63°C, 88°C, e 106°C. Todas as amostras foram ajustadas em pH 11. Estas temperaturas pré-estabelecidas correspondem principalmente aos resultados das temperaturas de desnaturação  $T_{onset}$  e  $T_{offset}$ .

### **2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi reproduzida em Microscópio Eletrônico de Varredura de bancada, (SEI modelo Quanta 250) operando com uma diferença de potencial 5kV. As microestruturas foram ampliadas 1000 vezes. Previamente as medidas, todas as amostras foram metalizadas com partículas de ouro em equipamento à vácuo. As amostras estavam fixadas em

um suporte metálico com auxílio de fita carbono condutiva sob vácuo por cinco minutos.

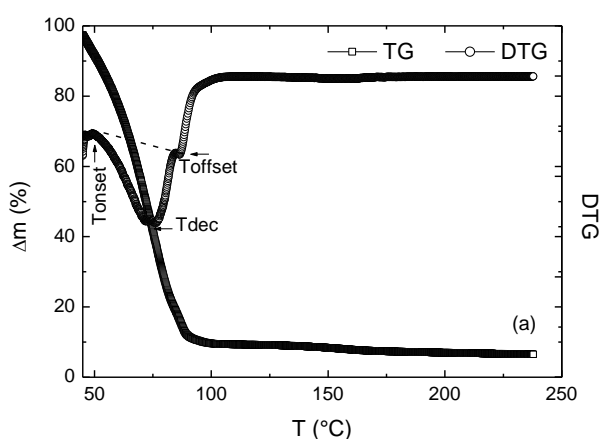
## 2.5 Determinação das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes (tensão, deformação e módulo de elasticidade) foram coletadas de acordo com o método padrão ASTM D882-09 (ASTM, 2009) utilizando um modelo de máquina de teste universal da Instron 3367 (Instron Corporation, Norwood, MA, EUA), equipado por uma célula de carga de 1 kN. Os filmes foram recortados em amostras retangulares ( $15 \times 2,5 \text{ cm}^2$ ). A separação inicial foi igual a 100 mm e a velocidade foi estabelecida em 50 mm/min. Os testes foram repetidos em triplicatas.

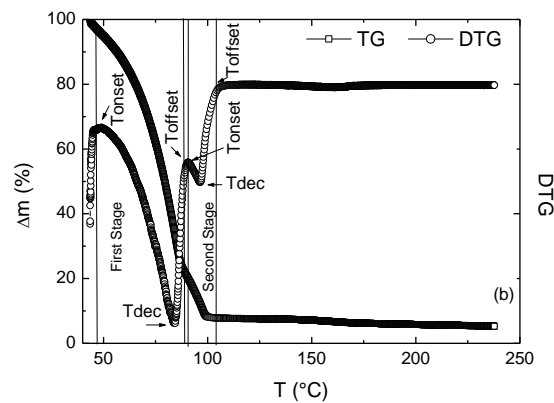
## 2 RESULTADOS

### 3.1 Análises Termogravimétricas

A figura 1 apresenta as curvas TG e DTG das soluções ajustadas em pHs 3 e 11.



**Figura 1.a.** Perfis TG e DTG de solução SPI ajustada em pH 3.

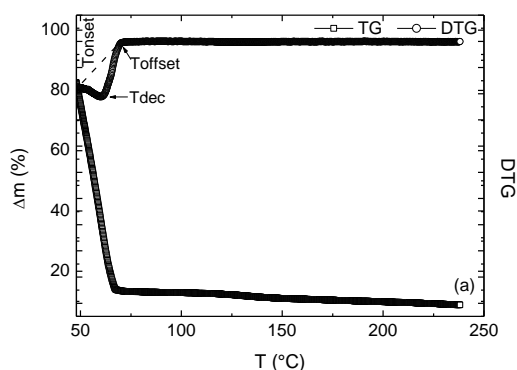


**Figura 1.b.** Perfis TG e DTG de solução SPI ajustada em pH 11.

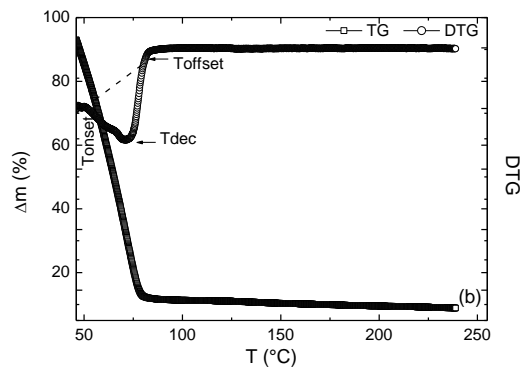
Os resultados dos perfis TG e DTG sugerem que ocorreu somente um estágio de decomposição termogravimétrica na solução controle ajustada em pH 3 (Figura 1.a) entre o intervalo de  $T_{onset} = 55,1^{\circ}\text{C}$  à  $T_{offset} = 84,2^{\circ}\text{C}$ . O pico da decomposição foi evidenciado na temperatura de  $77,7^{\circ}\text{C}$ . Entretanto, o comportamento térmico foi diferenciado na solução SPI regulada no pH mais elevado, sendo identificado um estágio secundário de decomposição. Resultados sugerem que nos estágios primários são evidentes a completa desnaturação da fração 7S ( $\beta$ -conglucina) e parcial da fração 11S (glicina), enquanto que em estágios secundários são sugeridos que a desnaturação da fração 11S pode ter sido completa. As curvas DTG são muito sensíveis a resposta dos limites da estabilidade térmica, no entanto não foi possível, por meio da técnica, identificar o ponto específico de início da desnaturação de 11S, mas foi possível obter objetivamente os comportamentos das temperaturas no processo da desnaturação, desde a formação do fenômeno até a temperatura final do processo. Na amostra controle ajustada em pH 11, as curvas DTG indicaram por meio de interpolação as temperaturas  $T_{onset}$  e  $T_{offset}$  no primeiro estágio de decomposição são,  $57,3^{\circ}\text{C}$  e  $88,4^{\circ}\text{C}$ , e no segundo estágio a desnaturação foi estabelecida entre o intervalo de  $91,0^{\circ}\text{C}$  a  $102,1^{\circ}\text{C}$ . As temperaturas de inflexão nos dois estágios encontradas foram  $83,5^{\circ}\text{C}$  e  $92,9^{\circ}\text{C}$  respectivamente.

Os resultados instigam a ponderar que é necessária a aplicação de temperaturas mais elevadas na solução controle SPI no pH superior para desnaturação da proteína de soja. O ajuste do pH influi na interação química entre os dissulfetos e nas interações físicas eletrostáticas e hidrofóbicas entre os compostos. Portanto, as referidas interações possivelmente se fortaleceram no SPI ajustado por pH 11, gerando maior resistência ao calor aplicado para que surgisse o processo de desnaturação nas estruturas terciárias e quaternárias da proteína de soja. Os resultados encontrados por TG das amostras examinadas revelaram que a perda de massa inicial entre temperatura ambiente e 250 °C foi igual a 100 % para SPI ajustada em pH inferior, e a primeira decomposição gravimétrica apresentou massa residual equivalente a 3,54 % no final do primeiro estágio, e 1,34 % no final do segundo estágio na SPI ajustada em pH 11. A temperatura de desnaturação da proteína tende a aumentar na medida que o pH é intensificado devido a maior força de repulsão eletrostática entre as moléculas (WIJAYA, 2017).

As curvas TG e DTG das misturas SPI+pectina estão apresentadas na Figura 2. O pico de inflexão (62,8°C) foi contemplado na curva DTG da mistura proteico-pectina ajustada em pH 3. O intervalo de decomposição termogravimétrica exibido no gráfico ficou estabelecido entre 50,4°C e 66,6°C. O intervalo de decomposição foi atribuído a interação de SPI com a pectina. A massa residual após a decomposição foi equivalente a 1,94 % aproximadamente da massa original. A desnaturação gerada pelo aquecimento é um processo irreversível (IBARRA-MOLERO, SANCHES-RUIZ; 2018).



**Figura 2.a.** Perfis TG e DTG de solução mistura proteico-pectina ajustada em pH 3.



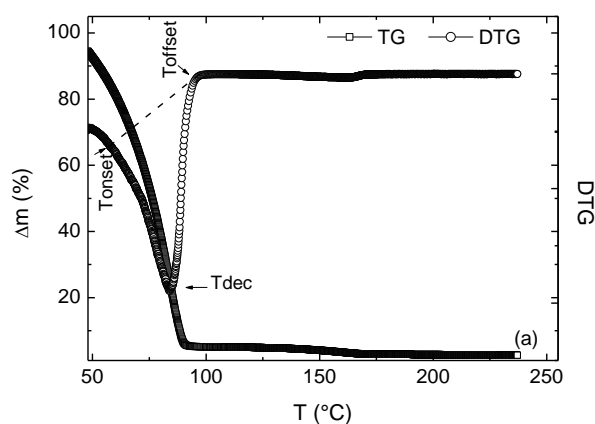
**Figura 2.b.** Perfis TG e DTG de solução mistura proteico-pectina ajustada em pH 11.

Na Figura 2.b são mostradas as temperaturas associadas aos estágios de decomposição termogravimétrica da mistura SPI com a pectina. No estágio de decomposição, a desnaturação adveio no intervalo entre 53,8°C à 78,0 °C. A temperatura no ponto de inflexão, 76,4 °C é atribuída a maior cinética da reação de decomposição termogravimétrica. A estabilidade térmica da interação proteico-pectina é inferior à da amostra SPI ajustada pH similar. Este resultado sugestiona que a desnaturação dos filmes desenvolvidos a base da matriz controle tem resistência otimizada ao aquecimento, ou seja, há necessidade de maior demanda de energia para transformar o filme SPI em uma matriz ``mais plástica`` em comparação aos filmes de base produzidos pela interação proteica-pectina. De acordo com os perfis ilustrados, a degradação térmica no intervalo de temperatura encontrado na interação proteica-pectina ajustada em pH 3 é inferior tanto ao da amostra controle SPI regulada no pH equivalente, como da solução SPI + pectina ajustada no pH superior, sugestionando que a pectina favoreceu a redução da temperatura de degradação, e que o pH inferiu no fenômeno. Este resultado mostra que a pectina reagiu imediatamente sobre as moléculas e compostos da SPI. Os únicos estágios de decomposição nas misturas corroboram que a desnaturação das frações 7S e 11S foram completadas integralmente. A  $T_{onset}$  é uma importante característica na determinação da estabilidade do material para produtos que passem por processos de tratamento térmico. A massa residual na solução SPI + pectina encontrada foi de aproximadamente 9,27%.

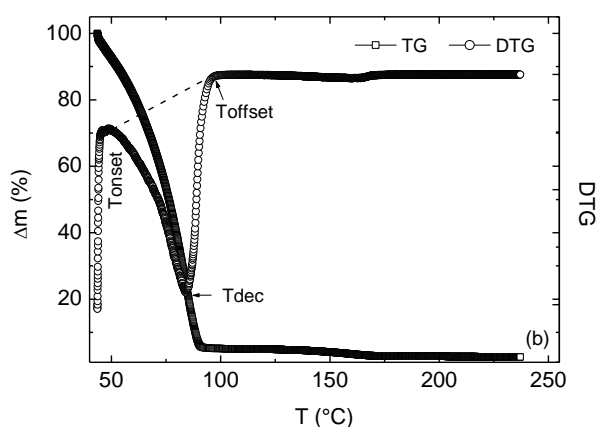
A pectina é um polissacarídeo aniônico carboxilado de alto peso molecular constituído majoritariamente por metil éster do grupo das metoxilas (AMADO *et al.*, 2019, OLIVEIRA *et al.*, 2016). As reações químicas entre glicina e compostos de graus de metoxilação da pectina influíram na estabilidade nativa das soluções. As interações entre a pectina surgem entre as ligações dos aminoácidos glicina e os grupos de amins da proteína ( $\text{NH}_3^+$ ) e o grupo carboxila livre de pectina ( $\text{COO}^-$ ). A interação eletrostática depende do  $\text{pH}_{\text{zeta}}$ . A interação eletrostática da mistura proteico-pectina é negativa devido a repulsão entre os grupos  $-\text{NH}_3^+$ , aperfeiçoando a estabilidade da fase nativa das biomoléculas (JARAMILLO *et al.*, 2017).

As figuras 3.a e 3b evidenciam as curvas termogravimétricas das misturas SPI + alginato. A curva DTG da Figura 3.a realçou o processo de degradação térmica na solução proteico-alginato ajustado em pH 3. O intervalo da decomposição observado foi determinado entre as temperaturas  $T_{\text{onset}}$  e  $T_{\text{offset}}$ , 58,1°C à 90,9°C respectivamente. A temperatura de pico da decomposição foi observada em 86,7°C. A decomposição gravimétrica residual foi inferior à 5%. O estágio de decomposição foi único, sugerindo novamente que a decomposição termogravimétrica estava associada a desnaturação das frações 7S e 11S. A mistura SPI + alginato tendeu a ser levemente mais resistente termicamente em relação a amostra controle SPI. O comportamento similar foi observado na interação proteica-alginato ajustada em pH 11.

A decomposição termogravimétrica foi atribuída a evaporação dos compostos das misturas devido o rompimento das ligações intermoleculares e intramoleculares entre as pontes de hidrogênio e enxofre na matriz SPI e decomposição das ligações químicas instáveis do alginato. O aquecimento afetou as ligações eletrostáticas e clivagem da ligação covalente entre as ligações peptídicas e do polissacarídeo. A perda de massa residual após a decomposição termogravimétrica correspondeu a 4,88% aproximadamente após o estágio de decomposição.



**Figura 3.a.** Perfis TG e DTG de solução mistura proteico-alginato ajustada em pH 3.



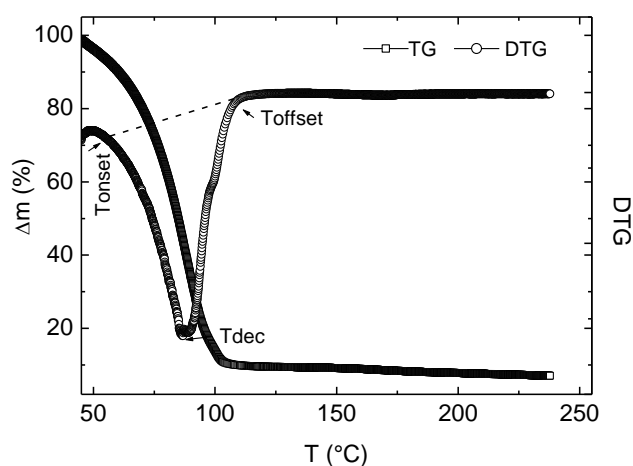
**Figura 3.b.** Perfis TG e DTG de solução mistura proteico-alginato ajustada em pH 11.

A curva DTG (Figura 3.b) indicou que as interações entre SPI com alginato ajustado no pH 11 foram termoestáveis até 67,7 °C, o pico da decomposição foi observado na temperatura de 98,5 °C, e  $T_{offset} = 115$  °C. Este comportamento térmico sugere melhor estabilidade da mistura SPI+alginato, em comparação ao filme controle. A matriz SPI manifestou boa interação com os íons de cálcio do alginato.

O alginato é constituído por ácido carboxílico e agrupa as sequências de ácidos gulurônico e manurônicopropiciandoa interação mútua entre os íons de alginato com os de sódio (ZHAO *et al.*, 2009). Assim como a pectina, o alginato

é um polissacarídeo portador de cargas negativas. Estudos recentes mostraram que o potencial zeta entre as misturas em pH superiores a 7 é repulsiva, desse modo, os resultados nos levam a concluir que as ligações químicas entre a matriz proteica e os polissacarídeos estão influenciando significativamente no comportamento térmico da desnaturação das soluções. A mistura SPI+alginate demanda mais energia para desnaturar em comparação ao filme controle, o que significa melhor termoresistência desta mistura a aplicação de calor. A mistura ajustada em pH superior foi mais resistente a aplicação de calor do que a interação SPI+alginate ajustado em pH 3.

O comportamento térmico de degradação termogravimétrica da solução SPI + LBG obtida por extrapolação, está apresentada na Figura 4.



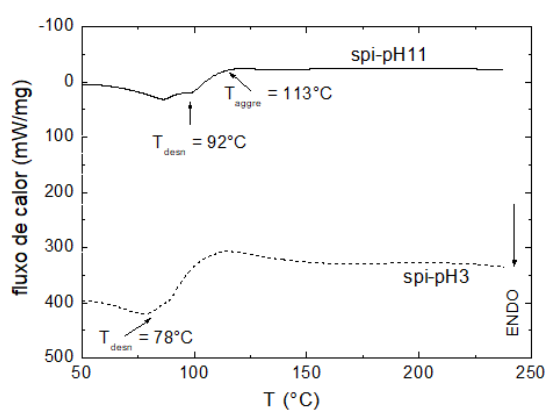
**Figura 4.** Perfis TG e DTG de solução ajustada SPI + LBG ajustada em pH 11.

O intervalo da desnaturação abrangeu os limites de temperaturas  $T_{onset}$  e  $T_{offset}$ , 62,6 °C, a 105,5 °C, e a maior cinética da decomposição foi identificada no pico à 93,0 °C. A interação eletrostática entre SPI+LBG é neutra. A estabilidade térmica tendeu a ser levemente superior à do filme controle. A goma alfarroba tem uma estrutura química de compacta ramificação. A massa residual obtida por meio da curva TG após a decomposição correspondeu a 3,7%. Não houve preparo da mistura SPI-LBG ajustada em pH 3 porque não foi formado filme desta mistura neste pH, possivelmente porque as interações intermoleculares

não atingiram as magnitudes de forças intermoleculares suficientes para formar ligações.

Portanto, comparando o comportamento térmico entre as amostras, observa-se que a solução proteica-alginato tem resistência térmica otimizada com a aplicação de calor. As misturas ajustadas em pH superior também apresentaram decomposição em temperaturas superiores em comparação as mesmas interações reguladas em pH 3. Altas temperaturas propiciam a ruptura nas estruturas tridimensionais das proteínas, favorecendo o processo de desnaturação desta e das misturas SPI com polissacarídeos (ZHANG *et al.*, 2016).

A Figura 5 apresenta os perfis DSC das soluções SPI dos controles.

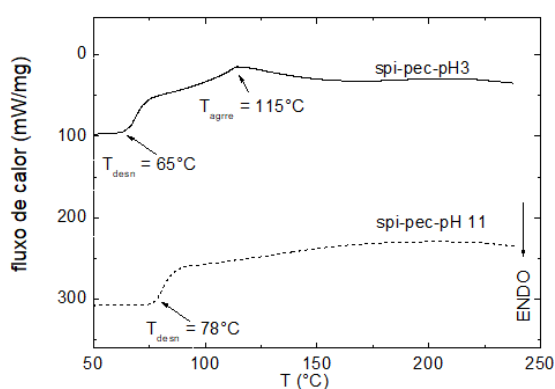


**Figura 5.** Perfis DSC das SPIs controle.

Por meio das curvas experimentais DSC, é possível captar as temperaturas vinculadas a desnaturação e agregação térmica para as soluções controles. Os picos endotérmicos dos perfis de fluxo de calor são representados graficamente por meio da concavidade orientada para cima, e observadas para as duas soluções, nas temperaturas de 78°C para SPI ajustada em pH 3, e 92°C para SPI ajustada em pH 11. As temperaturas de desnaturação, são aproximadamente coincidentes com os pontos de inflexão obtidos nas curvas DTG (Figuras 1.a e 1.b). No entanto, o perfil DSC se mostrou sensível para detecção da temperatura de agregação térmica para solução SPI regulada em pH 11, observada por meio do pico exotérmico (cujas concavidade é acentuadamente orientada para baixo, na representação gráfica). O fenômeno de agregação térmica pode ser explicado, devido a desnaturação da fração 11S

da  $\beta$ -conglucina da proteína não ser completamente solubilizada durante o aquecimento, e a perda de massa residual de água existente no glicerol e no plastificante. A cinética de agregação térmica, e a estrutura dos compostos agregados é regida pela repulsão entre as moléculas parcialmente desnaturadas da SPI e de modo geral, dependem do pH, que controla a carga líquida resultante da proteína e da força iônica, que limita e atenua as interações eletrostáticas, pois a repulsão eletrostática tende a aumentar com o pH e a temperatura (NELSON e COX, 2002; DURAND, GIMEL e NICOLAI, 2002).

A Figura 6 exibe os perfis DSC das soluções proteico-pectina ajustadas em pH 3 e 11.

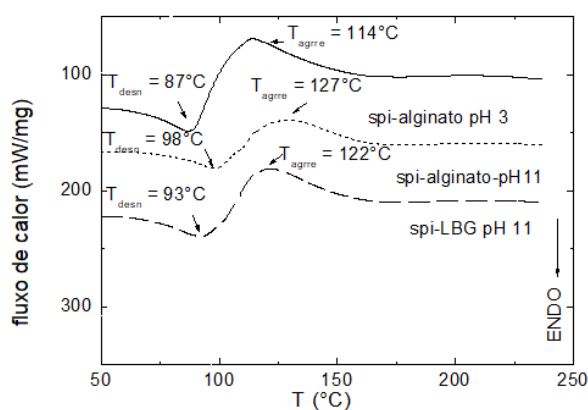


**Figura 6.** Perfis DSC das misturas SPI-pectina.

Os perfis evidenciaram as temperaturas de desnaturalização equivalentes a 65°C e 78°C para as soluções interagentes SPI + pectina ajustada nos pHs 3 e 11 respectivamente. Na curva da mistura ajustada em pH 3 ainda pode ser compreendida a temperatura de agregação térmica (115°C). O fenômeno de agregação é cinético e pode ser explicado porque não houve completa ruptura de ligações das frações da  $\beta$ -conglucina e glicina, e elevada atração eletrostática. A técnica DSC é amplamente sensível a observação da temperatura de agregação. As ligações químicas e físicas entre as proteínas e polissacarídeos sofrem desnaturalização pelo aquecimento porque com o aumento da agitação molecular as ligações atrativas entre as pontes de hidrogênio e enxofre se rompem, alteando a conformação espiral das macromoléculas. A redução da  $T_{desn}$  nas interações SPI+pectina em relação as amostras controles

SPI apontam que a pectina pode ter atuado como um lubrificante das cadeias poliméricas, estimulando as ramificações e conseqüentemente a flexibilidade e mobilidade molecular da mistura. A viscosidade da amostra é reduzida com o aquecimento propiciando a transição de fase na desnaturação das estruturas terciárias e quaternárias.

A Figura 7 mostra os perfis DSC das soluções SPI + alginato ajustadas em pHs 3 e 11, e da interação SPI+LBG. As temperaturas obtidas para a desnaturação e agregação térmica estão apresentadas no gráfico.



**Figura 7.** Perfis DSC das misturas SPI-alginato e SPI+LBG.

Os resultados sugerem que as interações dos polissacarídeos modificaram o comportamento térmico das soluções. As variações da estabilidade térmica e temperatura de pico da decomposição termogravimétrica estão relacionadas aparentemente às mudanças nas estruturas da proteína produzidas pela incorporação dos polissacarídeos. Estas alterações na estrutura da proteína podem reproduzir as mudanças conformacionais com o aquecimento das matrizes, gerando a ruptura das ligações intermoleculares de menor energia que mantém a conformação da proteína e interrompem a continuidade da matriz proteica induzindo, a variação nas estruturas termicamente estáveis (LI *et al.*, 2014).

As variações das entalpias ( $\Delta H$ ) endotérmicas e exotérmicas foram estudadas quantitativamente diretamente por meio da integração dos picos DSCs, cujos resultados estão descritos na Tabela 1. O sinal negativo de  $\Delta H$  convencionalmente representa o evento endotérmico para absorção de energia

térmica durante a desnaturação, e o sinal positivo está associado a transição exotérmica da agregação. Fisicamente  $\Delta H$  significa a medida da energia térmica necessária para que aconteça os fenômenos de transição de fase de primeira ordem, e está intrinsecamente vinculado com a estabilidade. Quando a proteína de soja é aquecida, as pontes de enxofre (dissulfetos) são rompidas por meio das reações endotérmicas, o que significa que a desnaturação foi provocada pelo rompimento da estrutura terciária, e o rompimento das ligações hidrofóbicas pode gerar as reações exotérmicas. Os resultados apontaram que em módulo, que as variações da entalpias de transição de desnaturação são superiores as  $\Delta H$  de agregação, isto é, maior energia térmica é absorvida para desnaturar, do que liberada na fase pós-desnaturação.

**Tabela 1.** Variação da entalpia de desnaturação e de agregação térmica.

| Amostras             | $\Delta H_{\text{desn}}$ (kJ/kg) | $\Delta H_{\text{aggre}}$ (kJ/kg) |
|----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
|                      | endo                             | exo                               |
| SPI pH 11            | -15,43 ± 0,17                    | 3,48 ± 0,01                       |
| SPI pH 3             | -17,69 ± 0,13                    | -----                             |
| SPI + pectina pH 11  | -8,50 ± 0,14                     | -----                             |
| SPI + pectina pH 3   | -12,75 ± 0,12                    | 1,03 ± 0,01                       |
| SPI + alginato pH 11 | -5,88 ± 0,05                     | 4,29 ± 0,05                       |
| SPI + alginato pH 3  | -14,61 ± 0,11                    | 7,65 ± 0,04                       |
| SPI + LBG pH 11      | -7,22 ± 0,04                     | 6,83 ± 0,05                       |

Após a caracterização termoanalítica das soluções foram produzidos filmes das matrizes filmógenas proteica-polissacarídicas ajustadas em pH 11 porque as soluções do menor pH não formaram filmes, enquanto que estudos antecessores revelam que filmes desenvolvidos no pH 11 apresentam as melhores propriedades em comparação aos filmes formados por outros pHs (SILVA *et al.*, 2020, SILVA *et al.*, 2015).

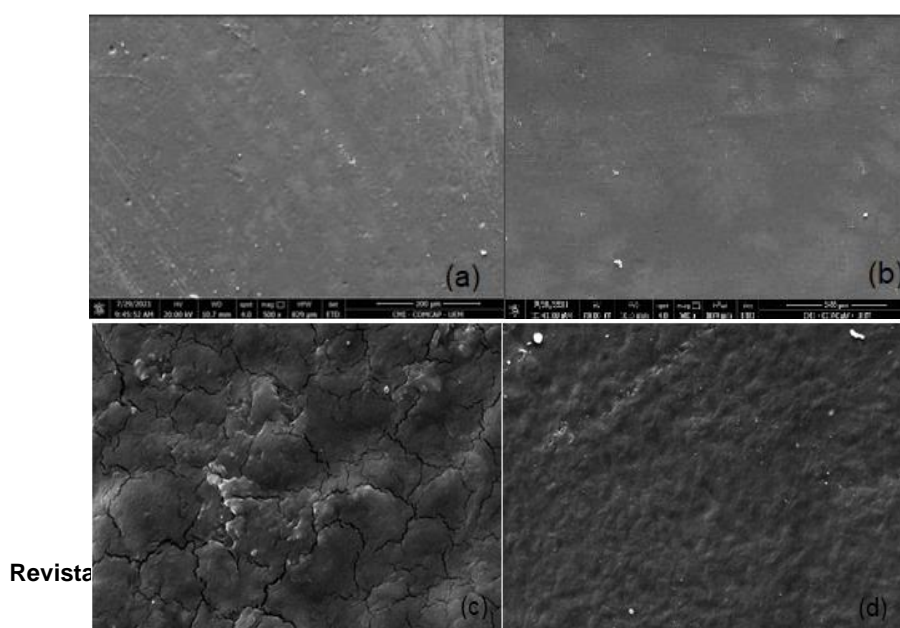
Segundo a proposta de estudo, os filmes preparados foram condicionados a tratamento térmico em banho maria nas temperaturas  $T_{\text{onset}}$  e  $T_{\text{offset}}$ , com exceções dos filmes SPI+ Alginato e SPI+ LBG, também produzidos na

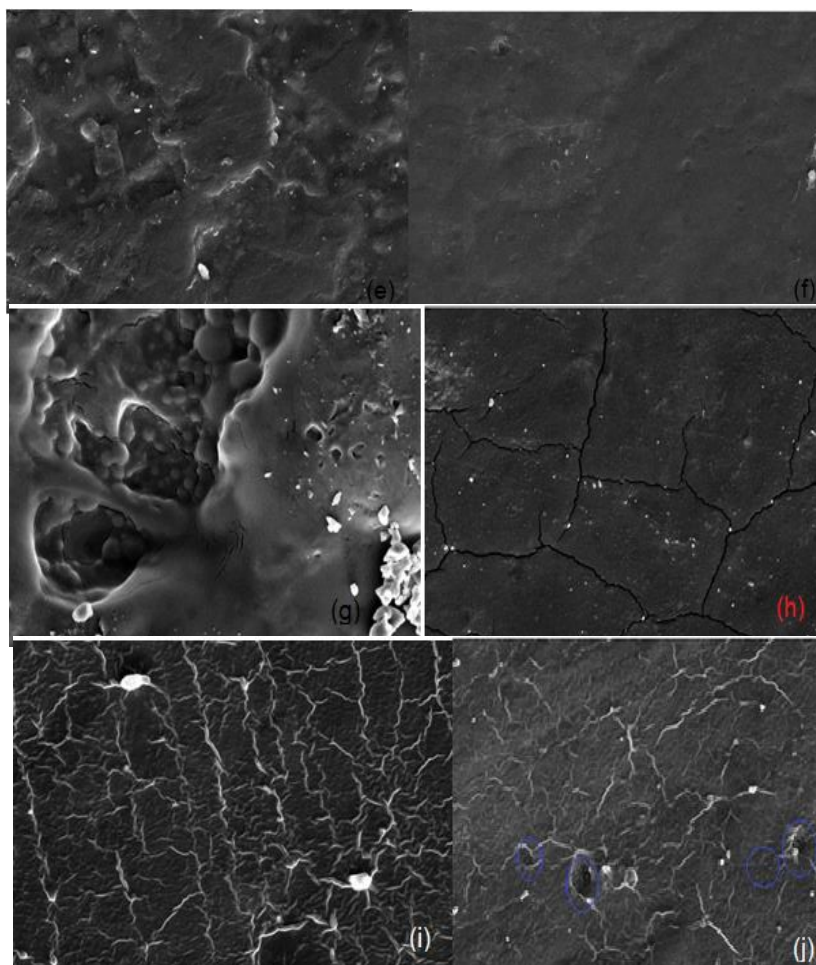
temperatura de desnaturação. Nos demais filmes (SPI e SPI + pectina) não foram produzidos filmes na temperatura de decomposição porque as mesmas são muito próximas das  $T_{\text{offset}}$ , e não foi possível formar filme padrão de proteína de soja isolada com o tratamento superior a  $90^{\circ}\text{C}$ , possivelmente devido a volatilização dos principais compostos após o primeiro estágio de decomposição.

### 3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Após a caracterização do comportamento térmico das interações proteico-polissacarídeos, os filmes ajustados em pH 11 foram desenvolvidos a tratamentos térmicos de temperaturas aproximadas às  $T_{\text{onset}}$  e  $T_{\text{offset}}$ . Em consequência da termoresistência superior apresentada, os filmes com interação de SPI e alginato, SPI e LBG foram produzidos também na temperatura  $T_{\text{offset}}$ . Na Figura 8, as micrografias dos filmes proteicos (controle) e proteico-polissacarídeos tratados em diferentes temperaturas foram apresentadas. As micrografias foram realizadas com aumento de mil vezes de amplitude para que as diferenças morfológicas pudessem ser visualizadas entre os filmes.

De acordo com a microfotografia exposta na Figura 8.a e 8.b foi observado que no filme de proteína de soja (controle) apresentou superfície homogênea, regular e contínua, indicando que a mistura SPI e plastificante interagiram e dispersaram homogeneamente na continuidade da matriz. Não foram observadas alterações na micrografia com o aumento da temperatura do tratamento térmico.





**Figura 8.** Micrografias superficiais dos filmes a) SPI tratado à 58°C b) SPI aquecido à 88°C.c) SPI + pectina – tratamento à 54°C. d) SPI+pectina com aplicação de calor em 78°C. e) SPI+alginato submetido a tratamento de 68°C. f) SPI + alginato aquecido à 88°C. g) SPI + alginato tratado à 115°C. h) SPI + LBG tratado à 63°C i) SPI+LBG com tratamento de 88°C. j) SPI + LBG tratado à 106°C.

Filmes confeccionados por matriz SPI + pectina apresentaram superfície mais heterogênea em comparação aos filmes controle. Nas Figuras 8.c e 8.d, foi plausível considerar que o tratamento térmico mais brando (54°C) favoreceu a formação de microfissuras na superfície do filme que não foram identificadas em filmes tratados a 78°C.

As microfotografias de filmes SPI + alginato tratado termicamente a 68 e 88°C (Figuras 8.e, 8.f) demonstraram superfície com poucas rugosidades e sem

rachaduras. O aumento da temperatura para 115°C resultou em aumento da rugosidade da superfície do filme (Figura 8g).

Os filmes produzidos com matriz SPI+LBG (Figuras 8.h, 8.i e 8.j) apresentaram superfícies rugosas com presença de rachaduras em filmes feitos com tratamento térmico da temperatura inferior (63°C).

### **3.3 Determinação das propriedades mecânicas**

As propriedades medidas com o ensaio mecânico (tensão, deformação e módulo de Young) estão apresentadas na Tabela 2. A tensão,  $\sigma$ , representa a resistência interna a ruptura do filme quando uma força externa é aplicada sobre um corpo por unidade de área. A deformação,  $\epsilon$ , é definida como a variação de uma dimensão qualquer desse corpo, por unidade da mesma dimensão, quando exposta a aplicação de uma força externa. Trata-se da habilidade de um material de se deformar até a ruptura. O módulo de Young,  $E$ , é também reconhecido como módulo de elasticidade indica a rigidez do filme (ASTM INTERNATIONAL, 2012).

Os resultados sugeriram que a tensão foi atenuada com o aumento da temperatura de tratamento na maioria dos filmes produzidos. A perda de resistência se explicou pela redução da elasticidade das cadeias das matrizes poliméricas com o desenrolamento das ligações relacionadas as rupturas das pontes de hidrogênio e enxofre. A aplicação de calor pode ter gerado um desarranjo na rede polimérica, intensificando a flexibilidade do filme, provocando conseqüentemente uma redução a tração. Os filmes SPI (controle) foram mais resistentes do que todos os filmes compostos com exceção do filme SPI + LBG tratado termicamente a 106°C que apresentou aproximadamente o dobro da tração em comparação ao controle. O aumento da tensão de ruptura no filme elaborado com a mistura proteico – goma alfarroba na temperatura  $T_{offset}$ , pode ser resultado das transições durante o fenômeno de agregação térmica, reforçando a formação dos pontos de ligação entre as cadeias.

**Tabela 2.** Determinação das propriedades mecânicas dos filmes.

| Amostras                                 | $\sigma$ (MPa)  | $\epsilon$ (%)     | E (%)             |
|--|-----------------|--------------------|-------------------|
| SPI -58°C ( $T_{on\ set}$ )              | 4,16 $\pm$ 0,77 | 177,17 $\pm$ 35,40 | 33,25 $\pm$ 7,27  |
| SPI -88°C ( $T_{off\ set}$ )             | 3,71 $\pm$ 0,81 | 210,92 $\pm$ 49,87 | 22,14 $\pm$ 6,23  |
| SPI+pectina -54°C<br>( $T_{on\ set}$ )   | 1,69 $\pm$ 0,36 | 28,76 $\pm$ 5,31   | 22,33 $\pm$ 5,61  |
| SPI+pectina -78°C<br>( $T_{off\ set}$ )  | 0,93 $\pm$ 0,39 | 9,44 $\pm$ 4,06    | 19,40 $\pm$ 3,09  |
| SPI+alginato-68°C<br>( $T_{on\ set}$ )   | 0,57 $\pm$ 0,16 | 10,72 $\pm$ 2,18   | 9,14 $\pm$ 2,71   |
| SPI+alginato -88°C<br>( $T_{dec}$ )      | 3,65 $\pm$ 0,47 | 61,61 $\pm$ 13,11  | 33,38 $\pm$ 4,22  |
| SPI+alginato-115°C<br>( $T_{off\ set}$ ) | 3,01 $\pm$ 0,80 | 48,05 $\pm$ 11,63  | 31,29 $\pm$ 10,07 |
| SPI+LBG-63°C<br>( $T_{on\ set}$ )        | 3,18 $\pm$ 0,71 | 90,13 $\pm$ 22,63  | 20,04 $\pm$ 4,67  |
| SPI+LBG-88°C<br>( $T_{dec}$ )            | 3,15 $\pm$ 0,60 | 58,56 $\pm$ 11,69  | 28,73 $\pm$ 8,22  |
| SPI+LBG-106°C                            | 7,13 $\pm$ 1,13 | 54,40 $\pm$ 12,20  | 84,33 $\pm$ 16,84 |

De acordo com os resultados expostos na Tabela 2, a deformação,  $\epsilon$ , foi ampliada nos filmes tratados na temperatura de desnaturação. No filme SPI + pectina o resultado encontrado foi oposto. Com o aquecimento, a interação entre as cadeias poliméricas tendeu a reduzir e enfraquecer as interações biomoleculares, modificando a estrutura conformacional da proteína, e consequentemente amplificando a mobilidade entre os filmes tornando-os mais extensíveis (ROCHA *et al.*, 2014). A redução das interações poliméricas resultou em aumento da mobilidade molecular e a elevação da deformação. A adição de alginato e LBG não favoreceu as propriedades de deformação dos filmes em comparação a amostra controle SPI, visto que reduziu entre 3 e 4 vezes a intensidade da deformação. A atenuação na deformação dos filmes apresentou magnitude próxima a 22,3 vezes menor comparando o filme controle SPI tratado a 88°C com o filme desenvolvido a partir da mistura proteica-pectina tratado a 78°C. As propriedades de  $\sigma$  e  $\epsilon$  no filme SPI+pectina foram atenuadas com o aumento da temperatura do tratamento térmico.

Em relação ao Módulo de Young, os resultados indicaram uma ligeira tendência de redução da magnitude nos filmes que apresentaram menor tensão nos filmes SPI, SPI+pectina, e comportamento oposto, caracterizando E superior nos filmes tratados a temperaturas superiores nos filmes SPI+alginato e SPI+LBG. O módulo de Young é um indicador de rigidez do filme, quanto maior a magnitude mais rígido é o material, cujos resultados se mostraram adequadas as análises do MEV. O módulo de Young é influenciado pela tensão e a deformação dos materiais. Filmes mais rígidos apresentam menor intensidade deste módulo. No intervalo de confiança, o módulo de Young no filme de matriz SPI+pectina não representou significativa modificações entre o desenvolvido na temperatura de 54°C e 78°C, porém, E foi reduzido aproximadamente 62,8 % no filme SPI tratado a 88°C em contraste ao filme controle banhado a 58°C, e em contraposição, E se elevou superior a 364,1% no filme proteico-alginato tratados a 88°C e 115°C em comparação ao filme da mesma mistura aquecido na temperatura  $T_{onset}$ . O módulo de Young foi ampliado cerca de 43,4 % no filme SPI+LBG banhado a 88°C em relação ao mesmo filme desenvolvido a 63°C. O módulo de Young da amostra SPI+LBG tratada a 106°C, apresentou magnitude três vezes superior em relação ao filme aquecido na temperatura mais próxima da desnaturação.

Examinando os resultados de tensão e deformação foi indicado que filmes com as melhores propriedades mecânicas foram encontradas com tratamento térmico a temperaturas inferiores a 78°C. No entanto, o filme controle SPI produziu melhores propriedades mecânicas em comparação as misturas da proteína de soja com polissacarídeo. Mecanicamente não ocorreu diferença relevantemente significativa nos filmes SPI+alginato e SPI+LBG. A temperatura e as interações podem influenciar nas características dos filmes formados por biopolímeros. A matriz de filmes de SPI é constituída por interações que são catalisadas pelo aquecimento, o que o influi na ruptura das ligações envolvidas (de dissulfeto, de hidrogênio e hidrofóbicas). Entretanto, cada fração proteica tem uma diferente temperatura, e quando a temperatura aplicada é muito superior à de desnaturação os filmes podem apresentar propriedades inferiores produzidas pela agregação da fração que foi desnaturada. O aquecimento para

desenvolver os filmes foi uma condição relevante para a atenuação da tensão e aumento da deformação dos filmes de SPI e misturas SPI+polissacarídeos tratados termicamente.

## 4 CONCLUSÃO

Os métodos termoanalíticos TG/DTG e DSC apresentaram desempenho eficaz para caracterizar o comportamento térmico de degradação e agregação térmica das amostras. O tratamento térmico das soluções filmogênicas foi essencial para otimizar a preparação dos filmes e coberturas ativas. As soluções proteico-alginato e proteico-LBG revelaram melhorada termoresistência, sugerindo que embalagens produzidas por estes biocompostos podem suportar temperaturas de tratamento superiores à 80°C, otimizando a qualidade térmica do produto final. Resultados das propriedades termoanalíticas com as soluções ajustadas em pH 11 apresentaram melhor performance em comparação aos filmes de pH 3. No entanto, os resultados demonstraram que misturas proteica-pectina desnaturam em temperaturas inferiores ao SPI. As microestruturas mais homogêneas e coesas puderam ser detectadas nos filmes tratados nas temperaturas iniciais da desnaturação, e uma adequada explicação deste resultado é que com o aquecimento as interações da SPI com o glicerol podem ter se atenuado reduzindo a viscosidade e enfraquecendo as propriedades mecânicas conseqüentemente. A adição dos polissacarídeos na matriz SPI desfavoreceu a performance de tensão e deformação mecânica dos filmes, assim como tratamento dos mesmos em temperaturas superiores a  $T_{onset}$ . Com a aplicação do calor a elasticidade das cadeias das matrizes poliméricas foi ampliada, deformando os filmes e provocando o desenrolamento e ruptura das ligações entre as pontes dissulfetos e de hidrogênio.

As embalagens produzidas por SPI e por misturas proteico-alginato e proteico-alfarroba demonstraram adequadas propriedades térmicas, microestruturas e mecânicas para aplicações industriais. Nas embalagens ativas confeccionadas pelas misturas SPI + pectina a resistência térmica e o comportamento térmico da desnaturação demonstrou desempenho inferior ao do filme controle, assim como as propriedades mecânica, sugerindo que a

incorporação da pectina reduz o bom desempenho das características físico-química dos filmes.

## 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e Fundação Araucária pelo apoio financeiro, ao Complexo de Centrais de Apoio À Pesquisa (COMCAP) e Sistema FINEP pelo acesso ao laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura e ao Laboratório de Análises Térmicas e Espectrométricas de Combustíveis e Materiais (LATECOM – UTFPR Medianeira).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADO, L. R.; SILVA, K. S.; MAURO, M. A. Effects of interactions between soy protein isolate and pectin on properties of soy protein-based films. **Journal of Applied Polymer Science (online)**, v. 1, p. 48732, 2019.

ASTM INTERNATIONAL. ASTM D882-12, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, West Conshohocken, PA, 2012.

BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T.; CAVALHEIRO, E. T. G. Influence of some experimental parameters on the results of differential scanning calorimetry - DSC. **Química Nova**, v. 25, n.5, p. 849-855. 2002.

CANEVAROLO, S. V. J. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. 1ª edição. Editora Artliber. São Carlos. 448p. 2017.

CHEN, Y. C.; SMITH, T.; HICKS, R. H.; DOEKHIE, A.; KOUMANOV, F.; WELLS, S. A.; EDLER, K. J. van den ELSEN, J.; HOLMAN, G. D.; MARCHBANK, J. J.; SARTBAEVA, A. Thermal stability, storage and release of proteins with tailored fit in silica. **Scientific Reports**, v. 24, n. 7, p. 46568, 2017.

de OLIVEIRA, M. M. G.; SILVA, K. S.; MAURO, M. A. Evaluation of Interactions Between Carboxymethylcellulose and Soy Protein Isolate and their Effects on the Preparation and Characterization of Composite Edible Films. **Food Biophysics**, v. 16, p. 214-228, 2021.

DÍEZ-PASCUAL, A. M.; DÍEZ- VICENTE, A. L. Poly (3-hidroxi-butirato)/ZnO bionanocompositos com propriedades mecânicas, barreiras e antibacterianas melhoradas. **International Journal of Molecular Sciences**, v.15, n.6, p.10950-73, 2014.

DURAND, D.; GIMEL, J. C.; NICOLAI, T. Aggregation, gelation and phase separation of heat denatured globular proteins. **Physica A: Statistical Mechanics and its Applications**, v. 304, p. 253-265, 2002.

GARCÍA, M. C.; TORRE, M.; MARINA, M. L.; LABORDA, F. Composição e caracterização de soja e produtos relacionados. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.37, n.4, p.361-91. 1997.

IONASHIRO, M., G. I. **Fundamentos da Termogravimétrica, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial**. São Paulo. Giz Editorial: p.82. 2004.

IBANOGLUE, E. Effect of hydrocolloids on the thermal denaturation of proteins, **Food Chemistry**, v.90, p. 621-626, 2015.

IBARRA-MOLERO, B., SANCHES-RUIZ, J. M. **Desnaturação Irreversível de Proteínas**. In: Roberts, G., Watts, A. (eds) *Enciclopédia de Biofísica*. Springer, Berlim, Heidelberg, p. 1-5, 2018.

JARAMILLO, C.; OCHOA-YEPES, O.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. **Carbohydrate Polymers**, v. 176, p. 187–194, 2017.

LI, S.; WEI, Y.; FANG, Y.; ZHANG, W.; ZHANG, B. Estudo DSC sobre as propriedades térmicas dos isolados de proteína de soja/mistura de amido de milho. **Journal Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 1633-1638. 2014.

MALI, S.; GROSSMAN, M. V.; YAMASHITA, F. Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 137-156, 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 3ª edição. Editora Sarvier, São Paulo. 975 p, 2002.

OLIVEIRA, C. F.; GIORDANI, D.; LUTCKEMIER, R.; GURAK, P. D.; CLADERA-OLIVERA, F.; MARCZAK, L. D. F. Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. **Food Science and Technology**, v. 71, n. 1, p. 110-115. 2016.

PICOLLOTO, A. M.; ARIATI, A. M.; FRANCISCATO, L. M. S. S.; SANTOS, J. M. A. G.; BITTENCOURT, P. R. S.; CAMARÃO, E. B.; MORITZ, C. M. F. Estabilidade térmica e vaporização do óleo essencial do tomilho. **Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental**, v. 11, n. esp, p. 175-189, 2022.

PICOLLOTO, A. M.; SAKAI, O. A.; SILVA, K. S.; MEDEIROS, K. A. S.; AMADO, L. R.; OLIVEIRA, M. M. G. **Interação entre goma alfarroba e proteína concentrada de filmes compostos biodegradáveis**. *Prática e Pesquisa em*

Ciência e Tecnologia de Alimentos 2. Editora Atena, Ponta Grossa, Cap 10, p. 99-110, 2020.

ROCHA, G. O.; FARIAS, M. G.; CARVALHO, C. W. P.; ASCHENI, J. L. R. Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja. **Polímeros**, v. 24, n. 5, p. 587-595, 2014.

SILVA, K. S.; FONSECA, T. M. R.; AMADO, L. R.; MAURO, M. A. Physicochemical and microstructural properties of when protein isolate based films with addition of pectin. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 122-128, 2018.

SILVA, V. A.; FONSECA, T. R.; SILVA, K. S.; MAURO, M. A. Desenvolvimento e caracterização de biofilmes complexos em diferentes pHs. In: **XXVII Congresso de Iniciação Científica da UNESP**. São José do Rio Preto. v. 1, p. 1-1, 2015.

SUI, C.; ZHANG, W.; YE, F.; LIU, X.; YU, G. Preparation, physical and mechanical properties of soy protein isolate/guar gum composite films prepared by solution casting. **Journal Applied Polymer Science**, v. 33, n. 43382, p. 1-9, 2016.

WIJAYA, W.; PATEL, A. R.; SETIOWATI, A.D.; Van der MEEREN, P. Functional colloids from proteins and polysaccharides for food applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 56–69, 2017.

ZHANG, S.; XIA, C.; DONG, Y.; YAN, Y.; LI, J.; SHI, S. Q., CAI, L. Soy protein isolate-based films reinforced by surface modified cellulose nanocrystal. **Industrial Crops and Products is Ind Crops Products**, v 80, p. 207-213, 2016.

ZHAO, Y.; LI, F.; CARVAJAL, M. T.; HARRIS, M. T. Interactions between bovine serum albumin and alginate: An evaluation of alginate as protein carrier. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 32, n. 2, p. 345-353, 2009.