

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MINAS, METALÚRGICA
E MATERIAIS

BIANCA SANTINON SCOPEL

GELATINA EXTRAÍDA DE RESÍDUO DE COURO CURTIDO AO CROMO POR MEIO
DE HIDRÓLISE ALCALINA ASSISTIDA POR EXPLOSÃO A VAPOR E SUA
APLICAÇÃO EM FILMES POLIMÉRICOS APLICADOS NA AGROINDÚSTRIA

Porto Alegre

2020

BIANCA SANTINON SCOPEL

GELATINA EXTRAÍDA DE RESÍDUO DE COURO CURTIDO AO CROMO POR MEIO
DE HIDRÓLISE ALCALINA ASSISTIDA POR EXPLOSÃO A VAPOR E SUA
APLICAÇÃO EM FILMES POLIMÉRICOS APLICADOS NA AGROINDÚSTRIA

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Ruth Marlene Campomanes Santana

Coorientadora: Profa. Dra. Aline Dettmer

Porto Alegre

2020

BIANCA SANTINON SCOPEL

GELATINA EXTRAÍDA DE RESÍDUO DE COURO CURTIDO AO CROMO POR MEIO
DE HIDRÓLISE ALCALINA ASSISTIDA POR EXPLOSÃO A VAPOR E SUA
APLICAÇÃO EM FILMES POLIMÉRICOS APLICADOS NA AGROINDÚSTRIA

Esta tese foi analisada e julgada e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora designada pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Profa. Dra. Ruth Marlene Campomanes Santana (Orientadora)

Profa. Dra. Aline Dettmer (Coorientadora)

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Mariliz Gutterres (Dra) – UFRGS _____

Prof. Matheus Poletto (Dr) – UCS _____

Dra Bárbara Biduski – UPF _____

PUBLICAÇÕES

Artigos Publicados em Periódicos Qualis A2/A4

SCOPEL, B.S.; PRETTO, G.L.; CORRÊA, J.I.P.; BALDASSO, C.; DETTMER, A.; SANTANA, R. M. C. Starch-Leather Waste Gelatin Films Cross-Linked with Glutaraldehyde. *Journal of Polymers and the Environment* (2020). <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01736-5>

SCOPEL, B.S.; RESTELATTO, D.; BALDASSO, C.; DETTMER, A.; SANTANA, R. M. C. Steam Explosion as Pretreatment to Increase Gelatin Extraction Yield from Chromium Tanned Leather Wastes. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, v. 38, p. 367-373, 2019.

SCOPEL, B.S.; RESTELATTO, D.; BALDASSO, C.; DETTMER, A.; SANTANA, R.M.C. Steam Explosion in alkaline medium for gelatine extraction from chromium-tanned leather wastes: time reduction and process optimization. *Environmental Technology*, 2018.

SCOPEL, B.S.; BALDASSO, C.; DETTMER, A.; SANTANA, R.M.C. Hydrolysis of chromium tanned leather waste: turning waste into valuable materials A Review. *Journal Of The American Leather Chemists Association* v. 113, p. 122-129, 2018.

Depósito de Patente

BR 10 2018 073077 0 - PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA DE RESÍDUOS DE COURO WET BLUE – Depositada em 09/11/2018

Artigos Publicados em Eventos Científicos

SCOPEL, B.S.; BALDASSO, C.; DETTMER, A.; SANTANA, R.M.C. Reticulação de Filmes Poliméricos de Gelatina e Amido pela Adição De Glutaraldeído: Efeito das diferentes condições de secagem. In: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2018, São Paulo. Anais do XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2018.

SCOPEL, B.S.; RESTELATTO, D.; BALDASSO, C.; DETTMER, A.; SANTANA, R.M.C. Extrações sequenciais de gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo: alteração da qualidade do produto e do rendimento do processo. In: Congresso Brasileiro de Química, 2017, Gramado. 57 Congresso Brasileiro de Química, 2017.

SCOPEL, B.S.; RESTELATTO, D.; BALDASSO, C.; DETTMER, A.; SANTANA, R.M.C. Variação do pH e do número de diafiltrações na concentração e purificação (com membrana de ultrafiltração) de gelatina extraída de resíduos de couro curtido ao cromo. In: Congresso Brasileiro de Química, 2017, Gramado. 57 Congresso Brasileiro de Química, 2017.

Dedico este trabalho aos meus pais,
Alfeu e Nivalda, e ao meu esposo,
Fábio, pelo apoio, compreensão e
amor ao longo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e Materiais (PPGE3M) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela estrutura, bolsa de estudos e apoio financeiro à pesquisa. Ao Laboratório de Membranas e Materiais (LAMEM), Laboratório de Polímeros (LPOL) e Laboratório de Energia e Bioprocessos (LEBIO) da Universidade de Caxias do Sul (UCS) pela acolhida e suporte ao longo de todos ensaios experimentais deste trabalho.

Às orientadoras Ruth Santana, Aline Dettmer e Camila Baldasso: obrigada pela oportunidade de trabalhar com vocês ao longo destes quatro anos. Obrigada pelo exemplo dado. Obrigada pelo suporte, apoio, liberdade e confiança depositadas em mim. Que possam continuar com o trabalho de formação acadêmica e humana que realizam com seus orientandos!

Aos membros da Banca que dedicaram seu tempo e contribuíram de maneira essencial nas melhorias deste trabalho.

A todos os colegas e técnicos de laboratório, em especial à Ju, Joce, Dami, Dani P. e Christian pelo auxílio e apoio, mas também pelos cafés e conversas que tornam a caminhada um aprendizado não só técnico, mas de vida. E ao Pablo, for teaching hobbits about irony and singing about phantoms and filling the lab with culture, laugh and broken glass.

Ao Glaiton, não apenas por ter sido o responsável pela adaptação do projeto que resultou no reator de explosão a vapor empregado neste estudo, mas principalmente pela bela amizade! Obrigada moreno pelas conversas, pelos cafés, pelos encontros, pelas cervas, e pela melhor massa que comi na vida (hahahaha)! Vai ficar pra história!

Aos bolsistas de iniciação científica que não apenas se dedicaram imensamente a este trabalho, mas também tornaram-se amigos. Dani R. (e sua bochecha fofa) e Gian (e seu gosto musical impecável - a teacher aqui vai continuar mandando lições do good old rock 'n' roll), vocês possuem minha eterna admiração. São estudantes exemplares, profissionais extremamente competentes e pessoas com um coração gigante.

À amiga Karina (we weren't sisters by birth, but we're soul sisters) que tanto incentivou, ouviu, acolheu, auxiliou e leu (algumas milhares de mensagens). E que também ensinou, não apenas a jogar Ticket to Ride e Sagrada, mas também a me abrir e compartilhar o peso das dores e dificuldades para que ele ficasse mais leve, e também compartilhar as conquistas e alegrias para que elas pudessem se

multiplicar. E que possamos seguir com o ensinamento de Kimmy Shmidt: *Just take in ten seconds at a time. Everything will be okay.*

À amiga Fabiana (first teacher, then friend, now also a partner), que, sem bem saber no início, me ajudou a encontrar um propósito, uma paixão, um dom. Não faltam palavras para descrever o quanto tua amizade é importante pra mim (e elas já foram proferidas e continuarão a ser proferidas muitas vezes, cause yes, you are really important). Mas falta algo sim: ar e tempo para falar tudo que precisamos falar toda vez que nos vemos, e explicação pra tamanha sintonia. I couldn't have asked for a better partner.

Aos meus sogros, Osvaldo e Zilma, por me permitirem fazer parte desta linda família de vocês. Pelo carinho nas horas difíceis, e pela alegria compartilhada nos momentos felizes! De coração, obrigada!

Aos meus nonos e nonas que já nos deixaram: vocês são a base, a fundação, o ensinamento, carinho e amor que carregamos em nossas mentes e almas eternamente! Em especial à Vó Cecília, que mostrou o quanto o amor à vida e aos que nos rodeiam é poderoso, é ele quem opera milagres em nossos corpos e mentes, te amo Vó! E ao Vô, por ter me acolhido como filha, ao César, que é como um irmão para mim, e à Jane, que além de compartilhar da mesma data de aniver e personalidade, foi uma das minha primeiras profes particulares (hahaha) e grande incentivadora ao estudo. Amo vocês!

À minha madrinha, tia Jurema, pela alegria, leveza, amor e carinho que insere nas nossas vidas sempre que nos vemos! Pelas jantas no teu intervalo de trabalho, pelas ligações surpresa apenas para saber “como você está?”. Obrigada tia! Te amo!

Ao meu marido Fábio de Souza, a quem muito admiro, e com quem tenho muito orgulho de dizer que divido não apenas um lar, mas uma vida. Por estar formando uma família comigo, por compartilhar dos ensinamentos, pressões e alegrias comigo. Por saber o quão importante teu apoio sempre foi nesta jornada. Usando as palavras de Freddy Mercury: *I'm caught in a dream, and my dream's come true, it's so hard to believe this is happening to me, an amazing feelin' comin' through. I was born to love you, with every single beat of my heart.* Te amo, e assim continuarei, até sermos dois velhinhos lembrando dos good old days.

Finalmente, aos meus pais, Alfeu e Nivalda. O orgulho, o amor, o carinho e a admiração que tenho por vocês não cabe dentro de mim! E pensar que começamos com a mãe sentada ao meu lado até que todo o tema estivesse perfeito lá nas primeiras séries, e com o pai fazendo milhares cálculos matemáticos de cabeça (aquilo era mágico na minha mente de 6-7 aninhos)! Vocês nunca precisaram me ensinar ou cobrar, pois a mais importante aula que tive na minha vida foi observar vocês conduzindo as suas, e seguir o exemplo. Vocês são meus mestres e maiores incentivadores. Gratidão por ser filha de duas pessoas tão incríveis! Amo muito muito muito vocês!

RESUMO

A hidrólise alcalina de resíduos de couro curtidos ao cromo (RCCC) é um processo que permite a extração de sua porção mais valiosa: a proteína. Entretanto, ele leva tradicionalmente de duas a dez horas para ser concluído. A explosão a vapor, por sua vez, é um processo rápido que pode ser empregado como auxiliar na abertura da estrutura fibrosa do RCCC. Neste trabalho, a hidrólise alcalina do RCCC foi realizada em reator de explosão a vapor com CaO como agente alcalinizante. No processo, três temperaturas e tempos de residência foram testados: 130, 140 e 150°C; 5, 10 e 15 min. A condição ótima de 140°C por 10 min na explosão a vapor resultou em rendimento de extração de 30% e gelatina em solução aquosa de concentração igual a 24,6 g/L e 39 kDa de massa molar. Quando comparado aos métodos tradicionais, a explosão a vapor em meio alcalino reduziu o tempo de processo em 12 a 36 vezes e o teor de cromo na gelatina em 16 a 96 vezes. A purificação da gelatina por diafiltração permitiu uma redução no teor de cinzas de 11,8% (b.s.) para 1,2% (b.s.) e o uso de sulfato de ferro II permitiu a completa redução do cromo VI residual da extração a cromo III. A gelatina purificada e concentrada foi então aplicada, em blenda com amido de milho, na produção de filmes poliméricos para uso agrícola. A fim de reduzir a hidrofobicidade e aumentar a resistência do filme quando aplicado, a gelatina foi reticulada com o uso de glutaraldeído na produção dos filmes. A reticulação aumentou a massa molar média da gelatina, mas dificultou a reorganização das cadeias de gelatina em uma estrutura de tripla hélice, reduzindo a cristalinidade dos filmes. O balanço dos efeitos de redução de cristalinidade e aumento da massa molar fez com que variações na resistência mecânica dos filmes não seguissem uma tendência clara em função dos níveis de reticulação, apresentando-se próximos dos valores obtidos para os filmes não reticulados. Além disso, obteve-se uma redução de até 53% na solubilidade e 69% no grau de inchamento de filmes reticulados. A aplicação dos filmes como fita de plantio foi então testada. A fita produzida com uma camada de filme de amido e gelatina de RCCC sem adição de glutaraldeído, com sementes coladas sobre a mesma, resultou na germinação de plantas com eficiência superior à obtida pelo uso de papel (matéria-prima comumente empregada na produção de fitas de plantio). Sendo assim, neste trabalho desenvolveu-se um processo inovador para extração de gelatina a partir de RCCC, e provou-se a viabilidade técnica de sua aplicação na produção de filmes poliméricos empregados na agricultura.

Palavras-chave: resíduo de couro; gelatina; filmes poliméricos; agricultura.

ABSTRACT

Alkaline hydrolysis of chromium tanned leather wastes (CTLW) is a process that allows the extraction of its most valuable portion: protein. However, traditionally it is a long process, which takes from two to ten hours. In turn, steam explosion is a quick process that can be used to help open the fibrous structure of the CTLW. In this work, the alkaline hydrolysis of the CTLW was carried out in a steam explosion reactor using CaO as the alkalinizing agent. In the process, three temperatures and residence times were tested: 130, 140 and 150°C; 5, 10 and 15 min. The optimum condition, 140°C for 10 min, resulted in an extraction yield of 30% and gelatin solution in a concentration of 24.6 g/L and 39 kDa of molar weight. When compared to traditional methods, the steam explosion in alkaline medium reduced the process time by 12-36 times and the chromium content in gelatin by 16-96 times. Purification of gelatin by diafiltration allowed a reduction in the ash content from 11.8% (bs) to 1.2% (bs) and the use of iron sulfate II allowed a complete reduction of residual chromium VI to chromium III. The purified and concentrated gelatin was then applied, in a blend with corn starch, in the production of polymeric films for agricultural use. In order to reduce hydrophilicity and increase the resistance of the film, the gelatin was cross-linked with the use of glutaraldehyde. The crosslinking made it difficult for the gelatin chains to reorganize themselves in a triple helix structure, reducing the crystallinity of the films; it also caused an increase in their average molar mass. The mechanical strength of the films did not change as a function of the reticulation degree, remaining close to the values obtained for non-crosslinked films. This may have been caused by the balance of the effects of reduced crystallinity and increased molar mass. In addition, a reduction of up to 53% in solubility and 69% in the degree of swelling of reticulated films was obtained. The application of the films as a seed tape was then tested. The seed tape produced with one layer of starch-CTLW gelatin film without the addition of glutaraldehyde, with seeds glued on it, resulted in the germination of plants with greater efficiency than that obtained by using paper (raw material commonly used in the production of seed tapes). Therefore, in this work an innovative process was developed for the extraction of gelatin from CTLW, and its application in the production of polymeric films used in agriculture proved to be feasible.

Keywords: leather waste; gelatin; polimeryc films; agriculture.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estrutura do colágeno: sequência de aminoácidos, cadeia α , moléculas de tropocolágeno, fibrila e fibra de colágeno	34
Figura 2 - Estrutura dos principais aminoácidos que compõem a cadeia do colágeno – glicina (Gly), Prolina (Pro), e Hidroxiprolina (Hyp).....	35
Figura 3 - Estrutura dos principais aminoácidos responsáveis pela ligação entre cromo e colágeno durante o curtimento.	35
Figura 4 - Complexo cromo-colágeno.....	37
Figura 5 - Esquema apresentando os principais tipos de hidrólise de RCCC e seus respectivos produtos.	41
Figura 6 – Alteração na conformação das cadeias de gelatina quando submetidas ao aquecimento e resfriamento em meio aquoso.....	51
Figura 7 - (a) Fórmula química estrutural da amilose e (b) fórmula química estrutural da amilopectina, ambas cadeias poliméricas formadoras do grão de amido.....	53
Figura 8 - Representação da reação de reticulação da gelatina com glutaraldeído.	64
Figura 9 – Fluxograma do processo de extração de gelatina a partir de resíduos de couro curtido ao cromo (RCCC): da moagem à extração de gelatina. Segue para as próximas etapas apenas a gelatina proveniente do melhor processo de extração (corrente 17)	70
Figura 10 – Fluxograma do processo de extração de gelatina a partir de resíduos de couro curtido ao cromo (RCCC): das múltiplas extrações à redução do Cromo (VI) para Cromo (III).	71
Figura 11 - Foto do reator de explosão a vapor utilizado no presente trabalho (A) e esquematização do reator (B): (1) boiler, (2) digestor, (3) válvula de descarga, (4) tanque de descarga, (5) painel de controle de temperaturas	73
Figura 12 - Extração de gelatina: A) RCCC após explosão a vapor em meio alcalino + água a 100°C; B) sistema de filtração a vácuo em operação com gelatina separada no Kitassato; C) aparência do RCCC após explosão a vapor durante processo de filtração; D) aparência do RCCC após explosão a vapor no final do processo de filtração, dando origem à denominada torta sólida residual do processo.....	76
Figura 13 – Módulo de membrana empregada na ultrafiltração e diafiltração de gelatina: (1) tanque de alimentação/concentrado; (2) bomba; (3) manômetro de entrada; (4) membrana; (5) permeado; (6) manômetro de saída.	78

Figura 14 - Produção da solução filmogênica a partir da gelatina de RCCC.: A) água deionizada, gelatina de RCCC e amido de milho antes de serem misturados; B) aspecto da mistura dos três componentes, em banho maria, antes de atingir a temperatura de gelatinização do amido de milho; C) aspecto da mistura dos três componentes, em banho maria, após atingir a temperatura de gelatinização do amido de milho.	86
Figura 15 - Placas empregadas na secagem dos filmes.	87
Figura 16 - Fitas de plantio contendo sementes de a) alface, b) rabanete, c) repolho; produzidas por selagem com filmes AC(0,0) - amido + gelatina comercial (esquerda superior); AC(3,0) - amido + gelatina comercial + glutaraldeído (direita superior); AR(0,0) - amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo (esquerda centro); AR(3,0) - amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo + glutaraldeído (direita centro); papel (inferior).	93
Figura 17 - Fitas de plantio contendo sementes de a) alface, b) rabanete, c) repolho; produzidas com cola branca usando, respectivamente, de cima para baixo: filme AR(3,0) - amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo + glutaraldeído; AR(0,0) - amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo; AC(3,0) - amido + gelatina comercial + glutaraldeído; AC(0,0) - amido + gelatina comercial; papel.....	93
Figura 18 – a) Fitas posicionadas na profundidade adequada antes do plantio; b) Estufa utilizada no teste de germinação	94
Figura 19 - Interior da estufa de plantio com as floreiras para teste de germinação e os potes com terra e fitas empregado para visualização da deterioração dos filmes.	95
Figura 20 - Amostras de resíduo de couro curtido ao cromo, proveniente de processo de rebaixamento de couro Wet Blue, empregado na extração de gelatina: antes do processo de moagem (esquerda) e após o processo de moagem (direita).	98
Figura 21 – Termogravimetria das amostras de RCCC antes e após pré-tratamento por explosão a vapor a 130°C com 5 min de residência, 130°C com 15 min de residência, 150°C com 5 min de residência e 150°C com 15 min de residência..	102
Figura 22 - Caracterização da gelatina em meio aquoso obtida a partir da hidrólise alcalina de RCCC após pré-tratamento por explosão a vapor: teor de proteína, viscosidade, e razões entre os resultados.	105
Figura 23 - Caracterização da gelatina em meio aquoso obtida a partir da hidrólise alcalina de RCCC após pré-tratamento por explosão a vapor: teor de cromo, pH, massa seca e cinzas.	106
Figura 24 - Análise de desejabilidade para determinação da melhor condição de pré-tratamento por explosão a vapor para posterior extração de gelatina de RCCC por hidrólise alcalina ...	110

Figura 25 - RCCC após explosão a vapor em meio alcalino.....	112
Figura 26 - Gelatina extraída de RCCC após hidrólise alcalina em reator de explosão a vapor.	114
Figura 27 - Caracterização da gelatina em meio aquoso obtida a partir da explosão a vapor em meio alcalino de RCCC e extração de gelatina com água aquecida: teor de cromo, pH, massa seca e cinzas.....	115
Figura 28 - Caracterização da gelatina em meio aquoso obtida a partir da explosão a vapor em meio alcalino de RCCC e extração de gelatina com água aquecida: teor de proteína, viscosidade, e razões entre os resultados.....	116
Figura 29 - Análise de desejabilidade para determinação da melhor condição de explosão a vapor em meio alcalino para extração de gelatina de RCCC	120
Figura 30 – Coloração obtida após a reação da difelincarbazida com o cromo presente na gelatina tratada com sulfato de ferro (III) em imagem a (não tratada) e imagem b (com ajuste de contraste de cor) para amostras tratadas, respectivamente, da esquerda para a direita, com 1, 2, 3, 4, 6, 8 e 10 mg/L de FeSO ₄	128
Figura 31 – Distribuição da massa molar da gelatina do RCCC	131
Figura 32 – Distribuição da massa molar da gelatina comercial.....	131
Figura 33 - Gelatina extraída de RCCC após 24 h a 4°C.	133
Figura 34 – Termograma de DSC do amido de milho em água para determinação da temperatura de gelatinização.	133
Figura 35 – Da esquerda para a direita, filmes produzido com: gelatina comercial e amido, AC(0,0); gelatina comercial, amido e glutaraldeído, AC(3,0); gelatina extraída do RCCC e amido, AR(0,0); gelatina extraída do RCCC, amido e glutaraldeído, AR(3,0).....	134
Figura 36 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho e glicerol sem glutaraldeído (A(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.....	134
Figura 37 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho e glicerol com glutaraldeído (A(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.	135
Figura 38 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina comercial e glicerol sem glutaraldeído (C(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X e 1000X.	135
Figura 39 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina comercial e glicerol com glutaraldeído (C(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X e 1000X.	135

Figura 40 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho, gelatina comercial e glicerol sem glutaraldeído (AC(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 400X e 1000X.....	136
Figura 41 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho. gelatina comercial e glicerol com 1,5% de glutaraldeído (AC(1,5)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 400X e 1000.....	136
Figura 42 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho. gelatina comercial e glicerol com 3,0% de glutaraldeído (AC(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 400X e 1000.....	136
Figura 43 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina de RCCC e glicerol sem glutaraldeído (R(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 1000X.	137
Figura 44 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina de RCCC e glicerol com glutaraldeído (R(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 1000X.	137
Figura 45 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina de RCCC não purificada e glicerol com um aumento de 1000X.....	138
Figura 46 - MO das amostras produzidas a partir de amido, gelatina de RCCC e glicerol sem glutaraldeído (AR(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.	138
Figura 47 - MO das amostras produzidas a partir de amido, gelatina de RCCC e glicerol com 1,5% de glutaraldeído (AR(1,5)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.	138
Figura 48 - MO das amostras produzidas a partir de amido, gelatina de RCCC e glicerol com 3,0% de glutaraldeído (AR(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.	138
Figura 49 - Cor dos filmes produzidos a partir de gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.	140
Figura 50 - Cor dos filmes produzidos a partir da blenda de amido (A) e gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.....	140
Figura 51 – Espectro de UV-Vis de filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.....	141

Figura 52 - Espectro UV-Vis dos filmes produzidos a partir da blenda de amido (A) e gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.	141
Figura 53 – Espectros DRX dos filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) e de suas blendas, com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.	143
Figura 54 – Isotermas de sorção de água para filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.	151
Figura 55 – Isoterma de sorção de água para filmes produzidos a partir das blendas de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.	151
Figura 56 - Termograma para as amostras produzidas a partir de amido sem adição de glicerol ou glutaraldeído (BA), com adição de glicerol (A(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (A(3,0)) : (a) TG e (b) DTG).	152
Figura 57 - Termograma para glicerol.....	153
Figura 58 - Termograma para as amostras produzidas a parti de gelatina comercial e de RCCC sem adição de glicerol ou glutaraldeído (BC e BR, respectivamente), com adição de glicerol (C(0,0) e R(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (C(3,0) e R(3,0)).....	154
Figura 59 - Termograma para as amostras produzidas a partir de gelatina comercial (C) e de RCCC (R) em blendas com amido (A). O percentual de glutaraldeído presente na formulação (0, 1,5 e 3,0%) é indicado entre parênteses.	155
Figura 60 - FTIR para as amostras produzidas a partir de amido sem adição de glicerol ou glutaraldeído (BA), com adição de glicerol (A(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (A(3,0))......	157
Figura 61 – Espectros de FTIR para as amostras produzidas a parti de gelatina comercial e de RCCC sem adição de glicerol ou glutaraldeído (BC e BR, respectivamente), com adição de glicerol (C(0,0) e R(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (C(3,0) e R(3,0)).	159
Figura 62 – Espectros de FTIR para as amostras produzidas a partir de gelatina comercial (C) e de RCCC (R) em blendas com amido (A). O percentual de glutaraldeído presente na formulação (0, 1,5 e 3,0%) é indicado entre parênteses.	160
Figura 63 - Tan Delta das amostras produzidas a partir de amido e glicerol (A(0,0)) e amido, glicerol e 3% de glutaraldeído (A(3,0))......	161

Figura 64 - Tan Delta das amostras produzidas a parti de gelatina comercial e de RCCC com adição de glicerol (C(0,0) e R(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (C(3,0) e R(3,0)).	162
Figura 65 - Tan Delta das as amostras produzidas a partir de gelatina comercial (C) e de RCCC (R) em blendas com amido (A). O percentual de glutaraldeído presente na formulação (0, 1,5 e 3,0%) � indicado entre parênteses.	164
Figura 66 - Módulo de armazenamento das amostras produzidas a parti de gelatina comercial e de RCCC com adição de glicerol (C(0,0) e R(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (C(3,0) e R(3,0)).	166
Figura 67 – Módulo de armazenamento das amostras produzidas a partir de gelatina comercial (C) e de RCCC (R) em blendas com amido (A). O percentual de glutaraldeído presente na formulação (0, 1,5 e 3,0%) � indicado entre parênteses.	167
Figura 68 – Deteriora�o dos filmes 1 dia após início dos testes.	169
Figura 69 - Deteriora�o dos filmes 2 dias após início dos testes.	169
Figura 70 - Deteriora�o dos filmes 6 dias após início dos testes.	170
Figura 71 - Deteriora�o dos filmes 10 dias após início dos testes.	170
Figura 72 - Deteriora�o dos filmes 16 dias após início dos testes.	170
Figura 73 - Temperatura média dentro da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio dupla produzida com seladora	171
Figura 74 - Umidade média dentro da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio dupla produzida com seladora	172
Figura 75 - Temperatura média fora da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio dupla produzida com seladora	172
Figura 76 – Teste de germina�o em andamento com fita de plantio dupla produzida com seladora.	175
Figura 77 - Temperatura média dentro da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio simples produzida com cola branca.	176
Figura 78 - Umidade média dentro da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio simples produzida com cola branca.	176
Figura 79 - Temperatura média fora da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio simples produzida com cola branca.	176
Figura 80 - Brotos em desenvolvimento durante o teste	178
Figura 81 - Filme de gelatina de RCCC e amido de milho (<i>esquerda</i>), com adição de lactose (<i>centro</i>), e com adição de glutaraldeído (<i>direita</i>).	202

Figura 82 – Bolhas em filme produzidos com amido de milho, gelatina comercial, glicerol e lactose, após reticulação a 105°C.202

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização de resíduo de couro curtido ao cromo proveniente do processo de rebaixe analisado por diferentes autores.....	40
Tabela 2 - Condições apresentadas na literatura para a hidrólise alcalina de RCCC.....	43
Tabela 3 – Caracterização proteína obtida em meio aquoso a partir das condições de hidrólise alcalina de RCCC apresentadas na Tabela 2.	44
Tabela 4 - Marcas comerciais de filmes fabricados com o uso de amido e empregados como cobertura de solo e respectivas propriedades mecânicas.....	54
Tabela 5 - Codificação e condições às quais as amostras de RCCC foram submetidas durante seu pré-tratamento por explosão a vapor para posterior hidrólise alcalina.	74
Tabela 6 - Codificação e condições às quais as amostras de RCCC foram submetidas durante o processo de explosão a vapor em meio alcalino.....	76
Tabela 7 - Volumes de permeado/concentrado/água deionizada envolvidos nos processos de diálise e diafiltrações.	79
Tabela 8 – Diferentes teores de sulfato de ferro (II) testados na redução do cromo (VI) para cromo (III) na gelatina extraída do RCCC	80
Tabela 9 – Planejamento experimental usado para estudar o efeito da reticulação promovida pelo glutaraldeído em filmes poliméricos produzidos a partir de amido, gelatina de RCCC e gelatina comercial.....	85
Tabela 10 - Planejamento experimental usado para estudar o efeito da reticulação promovida por diferentes concentrações de glutaraldeído em filmes poliméricos produzidos a partir da blenda de amido e gelatina de RCCC ou gelatina comercial.	86
Tabela 11 - Caracterização do RCCC empregado na extração de gelatina.	97
Tabela 12 – Distribuição granulométrica do RCCC antes e após processo de moagem.....	98
Tabela 13 - Caracterização do RCCC após pré-tratamento por explosão a vapor.	100
Tabela 14 – Dados obtidos a partir da análise de termogravimetria das amostras avaliadas.	101
Tabela 15 - Balanço de massa para o pré-tratamento do RCCC por explosão a vapor.....	103
Tabela 16 - Balanço de massa global para o processo de hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor.....	108

Tabela 17 - Balanço de massa para cromo e proteína (medida por NTK) para o processo de hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor	109
Tabela 18 - Caracterização do RCCC após explosão a vapor em meio alcalino.....	111
Tabela 19 - Balanço de massa para a explosão a vapor em meio alcalino de RCCC.....	113
Tabela 20 - Balanço de massa global para o processo extração de gelatina por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguida de extração com água	118
Tabela 21 - Balanço de massa para cromo e proteína (medida por NTK) para extração de gelatina por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguida de extração com água ...	119
Tabela 22 – Comparação entre as duas gelatinas produzidas na condição ótima dos dois processos de extração estudados neste trabalho	121
Tabela 23 - Caracterização da gelatina obtida na primeira, segunda e terceira extração sequencial a partir de RCCC explodido em meio alcalino de acordo com o teor massa seca, cinzas e pH.....	123
Tabela 24 - Caracterização da gelatina obtida na primeira, segunda e terceira extração sequencial a partir de RCCC explodido em meio alcalino de acordo com o teor de cromo. .	123
Tabela 25 - Caracterização da gelatina obtida na primeira, segunda e terceira extração sequencial a partir de RCCC explodido em meio alcalino de acordo com o teor de proteína	124
Tabela 26 - Caracterização da gelatina e concentrado antes e após concentração por ultrafiltração e diafiltrações em pH 7,5 e 10,5.	125
Tabela 27 - Redução percentual das massas de proteína, cromo, massa seca e cinzas na gelatina e concentrado antes e após o processo de concentração e diafiltrações em pH 7,5 e 10,5.....	126
Tabela 28 - Teor de metais presentes na gelatina de RCCC antes e após processo final de concentração e purificação.	127
Tabela 29 - Teor de massa seca e cinzas para as matérias-primas empregadas na produção dos filmes poliméricos.	130
Tabela 30 - Propriedades mecânicas dos filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.	144

Tabela 31 - Propriedades mecânicas dos filmes produzidos a partir das blendas de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.....	145
Tabela 32 – Propriedades de interação com a água para filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.	147
Tabela 33 - Propriedades de interação com a água para filmes produzidos a partir das blendas de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.....	148
Tabela 34 – Temperaturas característica extraídas dos ensaios de termogravimetria.....	156
Tabela 35 - Resultado dos testes de germinação para a fita de plantio dupla produzida com seladora.....	173
Tabela 36 - Resultado dos testes de germinação para a fita de plantio simples produzida com cola branca.....	177
Tabela 37 - Codificação das amostras e condições empregadas no processo de extração de gelatina com água aquecida a partir de RCCC explodido em meio alcalino	198
Tabela 38 - Teor de proteína e cromo para amostras de gelatina extraídas em três condições diferentes a partir de RCCC explodido em meio alcalino	198
Tabela 39 - Codificação e composição da solução filmogênica empregada para a produção de filmes poliméricos..	201
Tabela 40 - Propriedades dos filmes de gelatina de RCCC ou comercial, amido de milho e glicerol, com ou sem a adição de agentes reticulantes (lactose e glutaraldeído).....	203
Tabela 41 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (massa seca, cinzas e pH) do RCCC pré-tratado.....	205
Tabela 42 – Caracterização da gelatina extraída por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor	206
Tabela 43 - Teor de proteína extraída e de cromo solubilizado na gelatina extraída por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor	206
Tabela 44 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis	

resposta (teor de proteína, cromo total e hexavalente, massa seca, teor de cinzas, viscosidade de pH) da gelatina extraída por hidrólise alcalina a partir do RCCC pré tratado.	206
Tabela 45 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (massa seca, cinzas e pH) na explosão a vapor de RCCC em meio alcalino.	207
Tabela 46 – Caracterização da gelatina extraída por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino	208
Tabela 47 - Teor de proteína extraída e de cromo solubilizado na gelatina extraída por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino	208
Tabela 48 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (teor de proteína, cromo total e hexavalente, massa seca, teor de cinzas, viscosidade de pH) da gelatina extraída por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino.	209
Tabela 49 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (massa seca, cinzas e pH) na explosão a vapor de RCCC em meio alcalino.	210
Tabela 50 - Teste de Tukey para avaliação da significância estatística do pH da ultrafiltração e diafiltrações de no teor de NTK da gelatina concentrada.....	210
Tabela 51 - Teste de Tukey para avaliação da significância estatística do número de diafiltrações no teor de cinzas da gelatina concentrada.	210
Tabela 52 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores tipo de polímero e presença/ausência do glutaraldeído para as variáveis resposta (espessura, resistência à tração, alongamento na ruptura, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, umidade na monocamada e inchamento) avaliadas nos filmes poliméricos produzidos com amido, gelatina comercial ou gelatina de RCCC (um dos três polímeros apenas), com e sem o uso de glutaraldeído como agente reticulante.....	211
Tabela 53 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores tipo de gelatina e percentual de glutaraldeído para as variáveis resposta (espessura, resistência à tração, alongamento na ruptura, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, umidade na monocamada e inchamento) avaliadas nos filmes poliméricos produzidos com a blenda amido	

e gelatina comercial ou gelatina de RCCC, com diferentes concentrações de glutaraldeído (0,0; 1,5; 3,0%) como agente reticulante211

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Aplicações testadas e/ou sugeridas para os produtos da hidrólise alcalina de RCCC.	47
Quadro 2 - Tipo de amido, gelatina, plastificante e demais componentes empregados na produção de filmes de amido e gelatina.	56
Quadro 3 – Relação entre alterações nas propriedades mecânicas de filmes de amido e gelatina e mudanças realizadas no seu processamento ou composição.	59
Quadro 4 - Relação entre alterações nas propriedades de interação com água de filmes de amido e gelatina e mudanças realizadas no seu processamento ou composição.	60

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

A - Amido

ASTM - American Society for Testing and Materials

BA – amostra branco de amido

BC – amostra branco de gelatina comercial

BR – amostra branco de gelatina de RCCC

C – Gelatina comercial

DMA - Análise Dinâmico-Mecânica

DRX – Difraco de Raios X

DTG – Termogravimetria derivada

EVA - Explosão a vapor em meio alcalino.

EV+HA - Explosão a vapor seguida de hidrólise alcalina

FTIR - espectroscopia de Infravermelhos com transformadas de Fourier

M0 - Umidade na monocamada molecular

MO – Microscopia ótica

\bar{M}_n - Massa molar numérica média

\bar{M}_w - Massa molar ponderal média

\bar{M}_w/\bar{M}_n – polidispersão

\bar{M}_z - massa molar z média

NTK - Nitrogênio total Kjeldahl

OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development

Pva - Permeabilidade ao vapor de gua

R – Gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo

RCCC – resíduo de couro curtido ao cromo

SMEWW - Standard Methods for Examination of Water and Wastewater

Tg – Temperatura de transio vítrea

TG – Análise termogravimétrica

Tm – Temperatura de fusão

Tva - Taxa de transmissão de vapor de gua

UV-Vis – Ultravioleta-Visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	30
2. OBJETIVOS	32
2.1. OBJETIVO GERAL.....	32
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
3. REFERENCIAL TEÓRICO	33
3.1. COURO	33
3.1.1. Pele e colágeno	33
3.1.2. Processamento da pele animal em couro	36
3.1.2.1. <i>Curtimento com sais de cromo (III)</i>	36
3.1.3. Resíduos de couro curtido ao cromo	37
3.1.3.1. <i>O cromo</i>	37
3.1.3.2. <i>Disposição e aproveitamento de RCCC</i>	38
3.1.3.3. <i>Composição do RCCC</i>	39
3.2. HIDRÓLISE DE RCCC	40
3.2.1. Hidrólise alcalina e extração de gelatina	42
3.2.2. Aplicações dos produtos da hidrólise de RCCC	46
3.2.3. Explosão a Vapor de RCCC	48
3.3. PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DE GELATINA	48
3.4. FILMES POLIMÉRICOS	49
3.4.1. A gelatina como matéria prima para produção de filmes poliméricos	50
3.4.2. O amido como matéria prima para a produção de filmes poliméricos	52
3.4.3. Filmes poliméricos de amido e gelatina	54
3.4.3.1. <i>Composição</i>	55
3.4.3.2. <i>Condições de produção</i>	57
3.4.3.3. <i>Propriedades mecânicas</i>	58
3.4.3.4. <i>Propriedades de interação com água</i>	59

3.4.3.5. Propriedades térmicas	61
3.4.3.6. Cristalinidade	62
3.4.3.7. Aplicação	62
3.4.3.8. Reticulação de amido e gelatina.....	63
3.4.4. Filmes poliméricos aplicados na agricultura	64
3.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E INOVAÇÕES	66
4. MATERIAIS E MÉTODOS	68
4.1. MATERIAIS	68
4.1.1. Extração e purificação de gelatina	68
4.1.2. Produção de filmes poliméricos.....	69
4.2. EXTRAÇÃO DE GELATINA DE RCCC.....	69
4.2.1. Moagem do RCCC	72
4.2.2. Explosão a vapor – descrição do funcionamento do sistema.....	72
4.2.3. Extração de gelatina por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor	74
4.2.4. Extração de gelatina por explosão a vapor em meio alcalino de RCCC seguida de extração com água.....	75
4.2.5. Determinação do número de extrações sequenciais a serem empedadas na extração de gelatina de RCCC submetido a explosão a vapor em meio alcalino.....	77
4.2.6. Concentração e purificação da gelatina	77
4.2.7. Conversão do cromo hexavalente residual da gelatina em cromo trivalente	79
4.2.8. Caracterização do Resíduo de Couro Curtido ao Cromo.....	80
4.2.9. Caracterização do RCCC pré-tratado por meio de explosão a vapor e da torta residual do processo	81
4.2.10. Caracterização da gelatina.....	81
4.3. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS	83

4.3.1.	Caracterização da matéria-prima.....	83
4.3.2.	Produção dos filmes poliméricos.....	84
4.3.3.	Caracterização dos filmes poliméricos	87
4.3.3.1.	<i>Espessura.....</i>	87
4.3.3.2.	<i>Solubilidade</i>	87
4.3.3.3.	<i>Isotermas de sorção de água e umidade na monocamada</i>	88
4.3.3.4.	<i>Permeabilidade ao vapor de água.....</i>	89
4.3.3.5.	<i>Grau de inchamento.....</i>	89
4.3.3.6.	<i>Propriedades Mecânicas</i>	90
4.3.3.7.	<i>Análise termogravimétrica.....</i>	90
4.3.3.8.	<i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier.....</i>	90
4.3.3.9.	<i>Microscopia óptica</i>	91
4.3.3.10.	<i>UV-Vis.....</i>	91
4.3.3.11.	<i>Cor</i>	91
4.3.3.12.	<i>Difração de Raios X.....</i>	91
4.3.3.13.	<i>Análise Dinâmico-Mecânica.....</i>	91
4.4.	TESTE DE APLICAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS COMO FITAS DE PLANTIO – TESTE DE GERMINAÇÃO.....	92
4.4.1.	Tempo necessário para deterioração dos filmes no solo	95
4.5.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	96
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	97
5.1.	CARACTERIZAÇÃO DO RCCC.....	97
5.2.	EXTRAÇÃO, CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DA GELATINA DE RCCC	99
5.2.1.	Extração de gelatina por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor.....	99
5.2.1.1.	<i>Pré-tratamento por explosão a vapor.....</i>	99
5.2.1.2.	<i>Hidrólise alcalina</i>	104

5.2.2.	Extração de gelatina por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguida de extração com água.....	111
5.2.3.	Escolha entre os processos de extração de gelatina	121
5.2.4.	Determinação do número de extrações sequenciais a serem empegadas na extração de gelatina de RCCC submetido à explosão a vapor em meio alcalino....	122
5.2.5.	Concentração e purificação da gelatina	124
5.2.6.	Conversão do cromo hexavalente residual na gelatina em cromo trivalente	128
5.2.7.	Processo final de extração de gelatina de RCCC.....	129
5.3.	FILMES POLIMÉRICOS DE AMIDO E GELATINA	130
5.3.1.	Caracterização da matéria-prima.....	130
5.3.2.	Aspectos visuais dos filmes	134
5.3.3.	Microscopia óptica nos filmes.....	134
5.3.4.	Cor e UV-VIS nos filmes.....	139
5.3.5.	DRX nos filmes	142
5.3.6.	Propriedades mecânicas de tração dos filmes.....	144
5.3.7.	Solubilidade, permeabilidade ao vapor de água, inchamento e isotermas de sorção de água dos filmes	147
5.3.8.	Análise termogravimétrica – TGs dos filmes.....	152
5.3.9.	FTIR dos filmes.....	157
5.3.10.	DMA dos filmes.....	161
5.4.	TESTE DE APLICAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS COMO FITAS DE PLANTIO	168
5.4.1.	Tempo de desintegração do filme no solo.....	169
5.4.2.	Teste com fita de plantio dupla produzida com seladora	171
5.4.3.	Teste com fita de plantio simples produzida com cola branca	175
6.	CONCLUSÕES.....	179
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	181

APÊNDICE A - DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO COM O USO DE ÁGUA AQUECIDA DE GELATINA DE RCCC SUBMETIDO A EXPLOSÃO A VAPOR EM MEIO ALCALINO.....	198
APÊNDICE B – TESTES PRELIMINARES PARA DETERMINAÇÃO DO AGENTE RETICULANTE (GLUTARALDEÍDO OU LACTOSE) A SER EMPREGADO NA PRODUÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS DE GELATINA E AMIDO.....	200
APÊNDICE C –ANÁLISE ESTATÍSTICA DO PRÉ-TRATAMENTO DO RCCC POR EXPLOSÃO A VAPOR.....	205
APÊNDICE D – RESULTADOS TABELADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DA EXTRAÇÃO DE GELATINA POR HIDRÓLISE ALCALINA DE RCCC PRÉ-TRATADO POR EXPLOSÃO A VAPOR.....	206
APÊNDICE E –ANÁLISE ESTATÍSTICA DA CARACTERIZAÇÃO DO RCCC APÓS EXPLOSÃO A VAPOR EM MEIO ALCALINO	207
APÊNDICE F – RESULTADOS TABELADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DA EXTRAÇÃO DE GELATINA POR EXPLOSÃO A VAPOR DE RCCC EM MEIO ALCALINO SEGUIDA DE EXTRAÇÃO COM ÁGUA	208
APÊNDICE G –ANÁLISE ESTATÍSTICA DA CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DA GELATINA PELO USO DE ULTRAFILTRAÇÃO/DIAFILTRAÇÃO	210
APÊNDICE H –ANÁLISE ESTATÍSTICA DA PRODUÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS	211

1. INTRODUÇÃO

Em torno de 30% das 44.400 toneladas de serragem e pó de couro curtido ao cromo geradas anualmente no Rio Grande do Sul ainda são destinadas a aterros industriais (METZ, 2016). São mais de 13.000 toneladas de resíduo que poderiam gerar mais de 5000 toneladas de gelatina anualmente.

O reaproveitamento de resíduos produzidos pela indústria coureira, especialmente a extração de proteína deste resíduo (muitas vezes na forma de gelatina), vem sendo alvo de pesquisas há anos. O processo de extração, entretanto, não evoluiu consideravelmente desde o final da década de 90.

A tecnologia atualmente utilizada emprega processos de hidrólise alcalina em meio aquecido (a não mais de 90°C) para a obtenção de gelatina com baixo teor de cromo a partir dos resíduos de couro curtido ao cromo (RCCC). Este processo de hidrólise possui duração de pelo menos 2h, o que diminui capacidade produtiva de instalações empregadas para tal função e aumenta custos do processo, tornando-o pouco atrativo. Devido a esses fatos, se faz interessante o desenvolvimento de um novo método de extração de gelatina a partir de resíduos de couro.

A utilização de um processo auxiliar que acelera a hidrólise pode reduzir o tempo de extração da gelatina. A explosão de vapor é amplamente conhecida e usada como pré-tratamento de biomassa lignocelulósica para produção de etanol. Contudo, o uso de explosão de vapor para melhorar a hidrólise de RCCC é pouco explorado. A literatura apenas indica seu uso na extração de proteínas do RCCC previamente imerso em meio alcalino por períodos que variam de um a três dias (CHEN *et al.*, 2015). Portanto, mesmo que a explosão de vapor já tenha sido testada para extração de proteínas de RCCC, ela não reduziu o tempo do processo devido ao longo períodos de imersão necessário. O uso da explosão a vapor em meio alcalino, reduzindo o tempo de extração para períodos que variam de 5 a 15 min configura um importante avanço na viabilização deste processo na indústria.

A aplicação desta gelatina na obtenção de produtos de maior valor agregado, ainda que citada, é pouco estudada. Devido a sua origem, um resíduo, a gelatina do RCCC não deve ser aplicada na indústria alimentícia. O caráter biodegradável da gelatina associado ao elevado teor de nitrogênio (nutriente) tornam esta matéria-prima adequada para aplicação na agricultura, inclusive sem a necessidade de remoção dos materiais a partir dela obtidos do solo, visto que sua degradação liberaria nutrientes para as culturas.

As misturas de amido e gelatina têm sido estudadas para a produção de filmes poliméricos há mais de três décadas. As vantagens deste material recaem especialmente no fato de ser biodegradável e produzido a partir de fontes renováveis. No entanto, filmes de gelatina e amido são altamente hidrofílicos, especialmente quando utilizada gelatina extraída de RCCC, devido à sua menor massa molar, resultante dos processos de extração mais agressivos necessários não apenas para rompimento das ligações colágeno-colágeno, mas também rompimento das ligações cromo-colágeno. Um outro ponto falho é a falta de estudos com aplicações práticas dos filmes de amido e gelatina de RCCC.

Dentro do contexto aqui apresentado, entende-se que a produção de polímeros biodegradáveis para aplicações agrícolas a partir de amido de milho e gelatina extraída de RCCC vem ao encontro das necessidades tanto da indústria coureira como da indústria de polímeros. Ainda mais do que os interesses das indústrias, ela traça uma rota de produção mais sustentável e se torna uma alternativa aos polímeros sintéticos oriundos do petróleo.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um processo inovador de extração de gelatina de resíduos de couro curtido ao cromo (RCCC) por hidrólise alcalina empregando-se a técnica de explosão a vapor como auxiliar no processo e desenvolver, a partir da gelatina extraída, filmes poliméricos, visando sua aplicação na agricultura.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Obter gelatina de elevada massa molecular, com baixo teor de cromo e sais em um menor tempo de processo por meio de hidrólise alcalina de RCCC assistida por explosão a vapor (em meio neutro ou alcalino);
- b. Concentrar e purificar a gelatina de RCCC, removendo-se sais, em especial os de cromo, empregando-se membrana de ultrafiltração;
- c. Estudar diferentes formulações de filmes poliméricos de gelatina de RCCC em blenda com amido de milho, com e sem a adição de glutaraldeído como agente reticulante, a fim de definir, em especial com base nas propriedades mecânicas e de interação com água, as composições mais adequadas para uso na agricultura;
- d. Testar a viabilidade da aplicação na agricultura dos filmes produzidos a partir das formulações escolhidas conforme o item *c*

3. REFERENCIAL TEÓRICO

Nesta seção são apresentados os aspectos teóricos que dão o embasamento necessário para este trabalho e justificam sua inovação. A seção 3.1 discute a matéria-prima aqui empregada, o resíduo de couro curtido ao cromo, enfatizando sua geração na produção coureira, composição e estrutura. Segue-se na seção 3.2 descrevendo o processo empregado na extração de gelatina deste resíduo: a hidrólise. Por fim, na seção 3.3, é abordada a produção e aplicação de filmes poliméricos a partir da gelatina em blendas formadas com amido.

3.1. COURO

O emprego do couro como vestimenta humana, na forma de peles, data do período pré-histórico (MOREIRA; TEIXEIRA, 2003; QUILLERIET, 2004). A indústria coureira encontrava-se já estabelecida na época do Código de Hamurabi (1795 - 1750 a.C.), quando o código 274 estabeleceu salários a serem pagos para curtidores (COVINGTON, 2015). Hoje, ela se apoia no consumo de carnes e atua como uma verdadeira indústria de agregação de valor e de reciclagem: transforma o resíduo de pele da indústria alimentícia em um dos produtos mais desejados e empregados no mundo (COVINGTON, 2015; PATI; CHAUDHARY; SUBRAMANI, 2014).

Entretanto, apenas 20-25% (65% quando se trata da produção de solados) da massa total de pele animal salgada é transformada em couro, o que torna a indústria do couro uma considerável geradora de resíduos. Estima-se que, em um ano, 6 milhões de toneladas de pele crua salgada sejam processadas para a produção de couro, o que implica na geração de milhões de toneladas de resíduos mundialmente (IPTS, 2013).

3.1.1. Pele e colágeno

Peles de origem bovina, de ovelhas, de porcos e de cabras representam, respectivamente, 65%, 15%, 11% e 9% do total de peles empregadas na produção do couro mundialmente (LEATHERCOUNCIL, 2008). No Brasil, 93% das peles empregadas na produção de couro são de origem bovina (METZ, 2016).

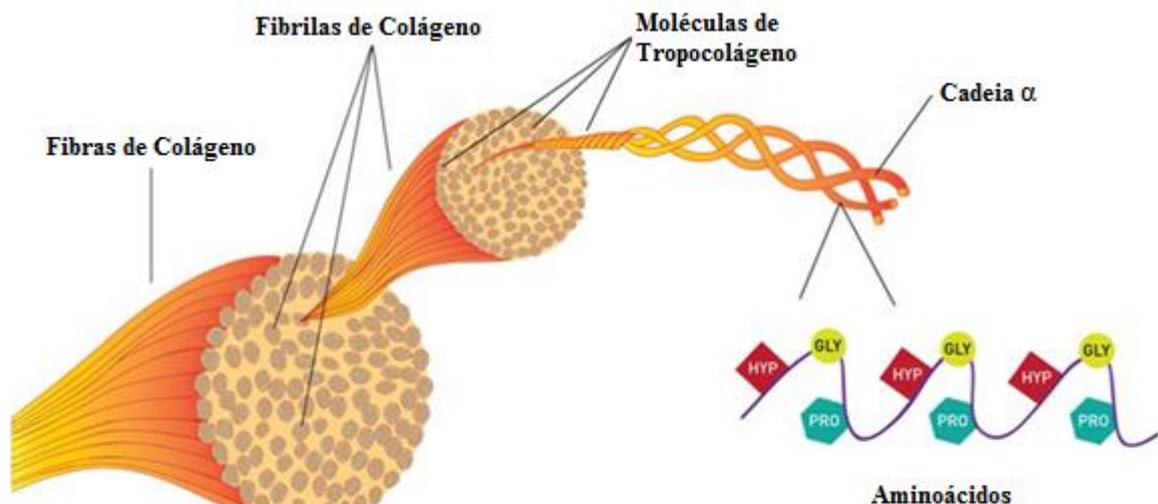
A pele dos mamíferos é formada por três camadas. A epiderme é a camada mais externa, representa 1% da pele animal e é removida durante o curtimento. A hipoderme é a camada inferior da pele, igualmente removida no processo de produção de couro. A derme é a camada

intermediária, representa em torno de 85% da espessura da pele bovina e é a camada de interesse para o processo de curtimento. Ela é formada por um tecido tridimensional de fibras de proteína de colágeno (GUTTERRES, 2004).

Cadeias α formadas por aminoácidos e estruturadas na forma de uma tripla-hélice configuram a estrutura do colágeno. As ligações que se formam entre os aminoácidos formadores das cadeias α são chamadas de ligações peptídicas. Elas ocorrem entre um átomo de carbono do grupo carboxila ($-\text{COOH}$) de um aminoácido e o átomo de nitrogênio do grupo amina de outro ($-\text{NH}_2$). A estabilização da tripla-hélice de colágeno se dá pela presença de ligações de hidrogênio e ligações hidrofóbicas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017; WOLF, 2003).

Cada uma das cadeias α do colágeno é formada por pelo menos 1000 aminoácidos. Estas cadeias formam moléculas de tropocolágeno que, por sua vez, se agregam na forma de fibrilas com diâmetro de 10 a 300 nm. Por fim, as fibrilas unem-se para formar a fibra insolúvel de colágeno, com diâmetro que varia de 0,5 a 3,0 μm (PARENTEAU-BAREIL; GAUVIN; BERTHOD, 2010). Tal conformação é apresentada na Figura 1.

Figura 1- Estrutura do colágeno: sequência de aminoácidos, cadeia α , moléculas de tropocolágeno, fibrila e fibra de colágeno

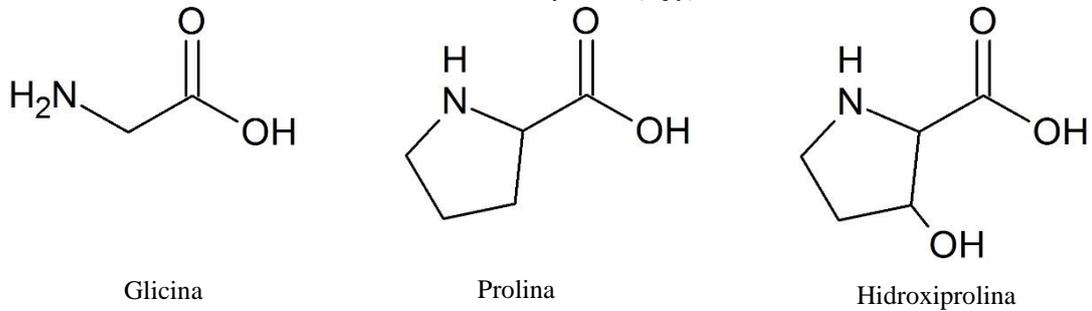


Fonte: (PARENTEAU-BAREIL; GAUVIN; BERTHOD, 2010)

A sequência de aminoácidos que define a estrutura do colágeno é formada por $(\text{Gly-X-Y})_n$, sendo Gly a glicina, e X e Y quaisquer aminoácidos. Sequências de glicina, prolina e hidroxiprolina (Gly-Pro-Hyp) são os tripleteos mais comuns nas cadeias de colágeno (12%), enquanto Gly-Pro-X e Gly-X-Hyp representam 44% dos tripleteos. Os 44% restantes são

formados por sequências Gly-X-Y (RAMSHAW; WERKMEISTER; GLATTAUER, 1995). A Figura 2 apresenta a estrutura química dos três aminoácidos supracitados.

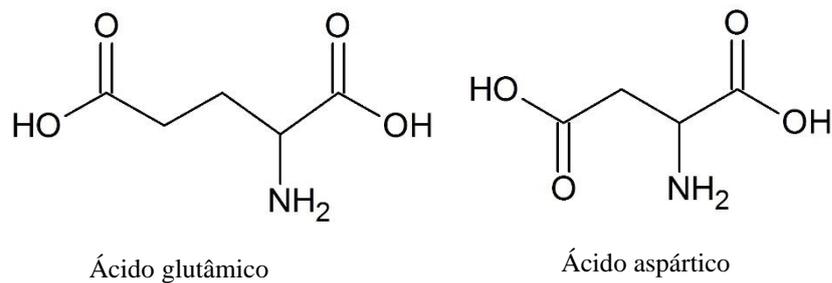
Figura 2 - Estrutura dos principais aminoácidos que compõem a cadeia do colágeno – glicina (Gly), Prolina (Pro), e Hidroxiprolina (Hyp).



Fonte: o autor

Grupos carboxila livres (aproximadamente 73 a cada 1000 resíduos) estão presentes na cadeia de colágeno principalmente devido à existência de ácido glutâmico e ácido aspártico em sua composição (GUTTERRES, 2004; MANCOPES *et al.*, 2008; WOLF, 2003). Estes ácidos, apresentados na Figura 3, apresentam papel fundamental nas reações químicas que englobam o curtimento da pele e sua transformação em couro (COVINGTON, 2015).

Figura 3 - Estrutura dos principais aminoácidos responsáveis pela ligação entre cromo e colágeno durante o curtimento.



Fonte: o autor

3.1.2. Processamento da pele animal em couro

O couro é formado pela derme da pele animal, fisicamente e quimicamente modificada por um processo denominado curtimento. Diferentemente da pele, o couro é um material imputrescível, mais resistente a agentes como umidade, calor e micro-organismos. Ainda que curtentes à base de taninos e de sais de alumínio, zircônio e titânio possam ser empregados, os sais de cromo (III) ainda são os mais eficientes e mais usados na indústria, visto que conferem melhores propriedades ao produto final (SREERAM; RAMASAMI, 2003; SUNDAR *et al.*, 2011).

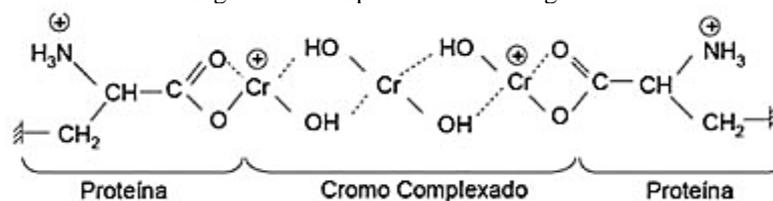
3.1.2.1. Curtimento com sais de cromo (III)

A pele animal após o abate precisa ser preservada a fim de evitar putrefação, o que em geral é feito com o uso de cloreto de sódio (COVINGTON, 2015). O processamento da pele preservada é dividido em três etapas: a ribeira, o curtimento e o acabamento.

A ribeira consiste na limpeza química e mecânica da pele antes do curtimento, além do preparo das fibras para a etapa de curtimento, o que é realizado por meio de diversas sub-etapas. Inicia-se pelo pré-descarne, removendo-se mecanicamente da pele animal materiais aderidos à mesma, como tecido adiposo. No remolho devolve-se à pele a umidade perdida pelo uso do cloreto de sódio. Na sequência, elimina-se quimicamente (com o uso de hidróxido de cálcio e sais do íon sulfeto) estruturas que não deverão estar presentes no produto final acabado: pelos e a epiderme. No descarne elimina-se mecanicamente tecido subcutâneo e gordura. O hidróxido de cálcio é removido da pele na desencalagem e a purga elimina quimicamente restos de epiderme, pelo e gordura. Por fim, com o uso de ácidos (como o sulfúrico e o fórmico), prepara-se as fibras para a penetração do agente curtente (COVINGTON, 2015; MANCOPES *et al.*, 2008).

O curtimento consiste na estabilização química das cadeias de colágeno da pele pela ação do curtente, formando o denominado couro *wet-blue*. Ele se baseia na formação de um complexo binuclear de cromo ligado aos grupos carboxílicos dos ácidos aspártico e glutâmico (MANCOPES *et al.*, 2008). A reação entre o colágeno e o complexo de cromo III está apresentada na Figura 4.

Figura 4 - Complexo cromo-colágeno



Fonte: (RIBEIRO; YUAN; MORELLI, 2011)

Por fim, o couro *wet-blue* passa pelo acabamento molhado. Previamente são feitos ajustes de espessura no processo denominado rebaixe e conferidas as propriedades finais do couro como cor, impermeabilidade, textura e maciez por meio de alguns processos como o recurtimento, tingimento, engraxe e amaciamento (METZ, 2016). E após secagem e pré-acabamento, o couro é submetido a tratamentos de superfície para acabamento final.

3.1.3. Resíduos de couro curtido ao cromo

Os resíduos de couro curtido ao cromo (RCCC), que contém cromo na forma trivalente, são gerados principalmente nas etapas de recorte, rebaixe e lixamento, todas fazem parte da etapa de acabamento do couro. Elas geram, respectivamente, aparas, serragem e pó de couro curtido ao cromo (CABEZA *et al.*, 1998c; METZ, 2016; SUNDAR *et al.*, 2011). No Brasil, devido à presença de cromo, o RCCC é classificado como resíduo perigoso segundo a NBR 10.004 de 2004 (ABNT, 2004) e, caso descartado e não reaproveitado, necessita ter por destino final um aterro para resíduos industriais perigosos.

No Estado do Rio Grande do Sul são geradas, anualmente, mais de 44.400 toneladas de serragem e pó de couro curtido ao cromo. Aproximadamente 47% deste resíduo é aproveitado para fabricação de adubo por meio de hidrólise, 24% para a fabricação de reconstituído de couro (solas e palmilhas, entre outros) e 30% é destinado a aterros industriais (METZ, 2016).

3.1.3.1. O cromo

Ainda que o cromo (III) (estado de oxidação do cromo empregado no curtimento do couro) não seja considerado um elemento essencial para plantas, ele é um elemento traço essencial para animais (RICE; BRIDGEWATER, 2012). Tratando-se de seres humanos, a

deficiência em cromo III pode estar associada a problemas cardíacos, metabólicos e diabetes (ERTANI *et al.*, 2017).

O estado hexavalente do cromo é tóxico para humanos, animais e para a vida aquática. Ele pode produzir tumores nos pulmões quando inalado e induz a sensibilização da pele instantaneamente (ASTM, 2017).

No Brasil, de acordo com a NBR 10.004 (ABNT, 2004), um resíduo é considerado tóxico se, em ensaio de lixiviação, apresentar contaminantes em concentrações superiores aos valores constantes no anexo F. Para o cromo (neste caso cromo total, ou seja, a soma do cromo trivalente e hexavalente), o limite de concentração em lixiviado é de 5,0 mg/L. Os resíduos de couro curtido ao cromo são diretamente listados no Anexo B da referida norma como “resíduo perigoso de fonte específica” e citados como tóxicos.

Por outro lado, não existe limite de teor de cromo III em fertilizantes orgânicos, e o limite para o cromo VI nestes materiais é de 2 mg por quilograma de fertilizante, segundo a Instrução Normativa Nº 7 de 12 de abril de 2016 (MAPA, 2016). Para fertilizantes organominerais classe B (produzidos a partir de subprodutos industriais), o limite para cromo total é de 200 mg por quilograma de fertilizante e, em substratos para plantas, este limite chega a 500 mg por quilograma de produto segundo a Instrução Normativa da Secretaria de Defesa Agropecuária Nº 27 de 05 de junho de 2006 (MAPA, 2006).

3.1.3.2. Disposição e aproveitamento de RCCC

De acordo com pesquisas bibliográficas realizadas por Pati; Chaudhary e Subramani (2014) e Pringle; Barwood e Rahimifard (2016), são diversas as alternativas de reaproveitamento do RCCC. O tratamento térmico do RCCC (incineração, gaseificação e pirólise) leva principalmente à produção de energia, assim como o processamento biológico (compostagem, fermentação microbiana, digestão anaeróbia). O processamento químico (hidrólise ácida, alcalina ou enzimática) permite a aplicação da proteína presente no resíduo de couro na produção de polímeros, borracha, fertilizantes e colas/adesivos. O cromo obtido deste último processo pode ser utilizado na produção de pigmentos ou no próprio curtimento.

Ainda há a possibilidade de aplicação do RCCC como adsorvente no tratamento de efluentes contendo corantes (GOMES; PICCIN; GUTTERRES, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2007; PICCIN *et al.*, 2013; PICCIN *et al.*, 2016). O tratamento térmico do RCCC pode gerar cinzas

posteriormente empregadas na fabricação de ligas ferro cromo carbono (WENZEL *et al.*, 2012) e de sulfato básico de cromo (DETTMER *et al.*, 2010a; b).

A disposição do RCCC em aterros e seu tratamento térmico são práticas frequentemente consideradas inadequadas visto que, em atmosfera oxidante, podem converter o cromo trivalente em hexavalente (CATALINA *et al.*, 2006; CATALINA *et al.*, 2010; IULTCS, 2008; KOLOMAZNIK *et al.*, 2008; MATYASOVSKY *et al.*, 2011). Empregos direto do resíduo na produção de materiais compósitos ou como fertilizante podem igualmente não ser considerados os processos mais adequados devido a altos custos e preocupação com questões ambientais, em especial a disposição dos materiais pós uso e a adição de altas concentrações de cromo III no solo (CABEZA *et al.*, 1998c). Conforme apontado por Ertani *et al.* (2017), em condições favoráveis de pH e presença de MnO₂, existe a possibilidade de o cromo III ser oxidado a VI. Além disso, em altas concentrações, o próprio cromo III pode ser tóxico para os organismos vivos.

No caso de fertilizantes, entretanto, caso o resíduo tenha passado por processos de remoção do cromo, seu emprego pode ser uma alternativa adequada de suprimento de nitrogênio ao solo (COELHO *et al.*, 2015; LIMA *et al.*, 2010).

3.1.3.3. *Composição do RCCC*

A composição dos produtos obtidos a partir do RCCC depende da composição do resíduo, que varia com o tipo de pele empregada e com os parâmetros de curtimento. A composição do RCCC empregado em alguns estudos é apresentada na Tabela 1.

O uso de RCCC de diferentes origens pode resultar na falta de reprodutibilidade de um processo. Comparações entre processos que empregam diferentes RCCC, portanto, devem ser cuidadosas.

Tabela 1 - Caracterização de resíduo de couro curtido ao cromo proveniente do processo de rebaixe analisado por diferentes autores.

pH	Cr ₂ O ₃ (%) ^a	Umidade (%)	Cinzas (%) ^a	NTK (%) ^a	Gordura (%) ^a	Referência
4,39	--	6-10	13	18,4	2,1	(AFTAB <i>et al.</i> , 2006)
3,5	4,7	54,1	9,9	15,0	--	(GAIDAU <i>et al.</i> , 2009)
3,8	4,21±0,03	53,51±0,28	14,32±0,10	14,54±0,48	0,09±0,01	(TAYLOR <i>et al.</i> , 1992)
						A ^b
4,2	4,28±0,09	53,47±1,04	8,40±0,48	14,56±0,24	1,51±0,36	(TAYLOR <i>et al.</i> , 1992)
						B ^c
3,6	3,99±0,11	51,47±0,36	14,95±0,37	14,13±0,16	1,79±0,22	(TAYLOR <i>et al.</i> , 1992)
						C
3,45±0,01	3,27±0,38	53,12±0,62	10,33±0,40	16,45±0,72	0,65±0,06	(TAYLOR <i>et al.</i> , 1998a)A ^d
3,87±0,05	3,01±0,24	50,52±0,54	10,52±0,29	16,59±2,74	0,86±0,17	(TAYLOR <i>et al.</i> , 1998a)B ^d
3,34	2,74	53,58±0,20	7,38±0,50	14,47±3,30	--	(DETTMER <i>et al.</i> , 2014b)
	4,5	31,0	11,0	20,0		(MOKREJS <i>et al.</i> , 2007)
3,55±0,15	2,7±0,3	51,5±0,10	8,5±0,1	14,5±3,3	--	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)

^a Em base seca

^b Amostras provenientes de um curtume tradicional

^c Amostras provenientes de um curtume com alto esgotamento de cromo

^d Amostras obtidas do mesmo curtume, mas de diferentes tambores

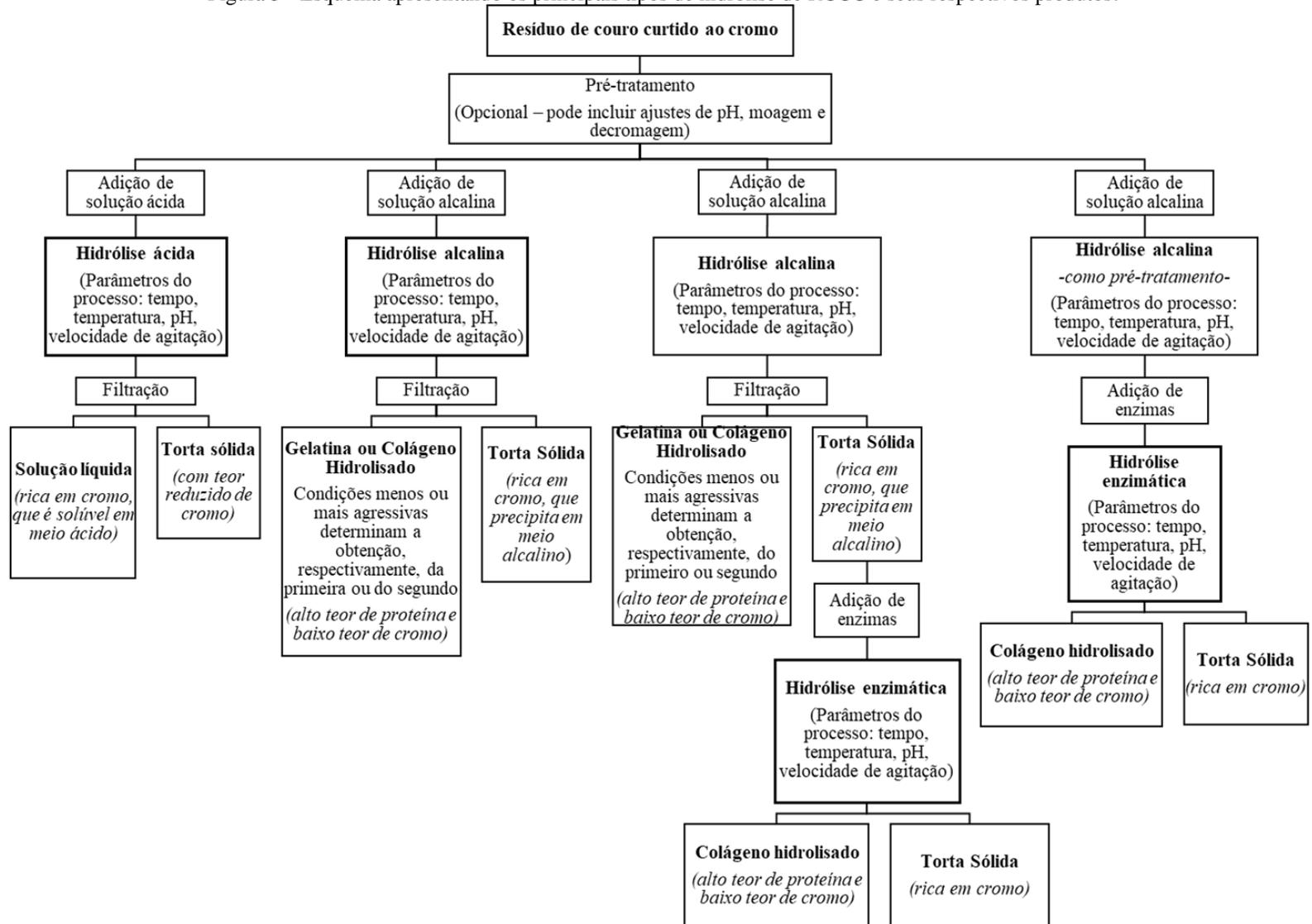
NTK = Nitrogênio Total Kjeldahl

3.2. HIDRÓLISE DE RCCC

A hidrólise do RCCC consiste na quebra das ligações que dão estabilidade à estrutura do colágeno. Nela, as ligações cruzadas entre moléculas de tropocolágeno e as ligações do complexo cromo-colágeno precisam ser rompidas, o que ocorre em meio aquoso com o emprego de temperatura e agentes químicos (FRIESS, 1998; MANCOPEs *et al.*, 2008). São três os principais tipos de hidrólise: ácida, alcalina e enzimática, conforme apontado pelo esquema da Figura 5.

A hidrólise ácida produz um líquido rico em cromo e uma torta sólida com baixo teor de metal. Ela pode ser realizada, por exemplo, em soluções de ácido sulfúrico, clorídrico, cítrico ou acético, por períodos que variam de 2 h a 6 dias e a temperaturas de 23 a 70°C (BELTRÁN-PRIETO *et al.*, 2011; FERREIRA *et al.*, 2010; MALEK; HACHEMI; DIDIER, 2009). Recuperações de até 60% do cromo do RCCC foram obtidas por Ferreira *et al.* (2010). O hidrolisado rico em cromo pode ser empregado no recurtimento ou engraxe de couros (TAHIRI *et al.*, 2004).

Figura 5 - Esquema apresentando os principais tipos de hidrólise de RCCC e seus respectivos produtos.



Fonte: o autor.

A hidrólise alcalina de RCCC geralmente resulta em dois produtos: gelatina ou colágeno hidrolisado em meio aquoso, e torta sólida rica em cromo (CABEZA *et al.*, 1998b). Conforme mencionado na Figura 5, além de configurar um processo por si só, ela também é empregada como uma etapa inicial da hidrólise enzimática, podendo ou não seus produtos serem recuperados antes do processo envolvendo enzima.

A hidrólise enzimática, por sua vez, geralmente é realizada em duas etapas: o processo químico alcalino seguido da adição de enzimas. Neste caso, obtém-se gelatina na primeira etapa e colágeno hidrolisado na segunda. A principal diferença entre o colágeno hidrolisado e a gelatina é sua massa molar, que varia de 15-50 kg/mol para o primeiro, e de 50-200 kg/mol para a segunda (CABEZA *et al.*, 1998c; DETTMER *et al.*, 2014a; KOLOMAZNIK *et al.*, 2008). Alcalases e proteases são as enzimas mais empregadas. O controle de temperatura e pH é fundamental a fim de manter a atividade das enzimas. Além do tempo da hidrólise alcalina (de 2 a 6 h), tem-se a adição do tempo do processo enzimático (de 1,5 a 24 h) (DETTMER *et al.*, 2014a; KOLOMAZNIK *et al.*, 2008; MU *et al.*, 2003; TAYLOR *et al.*, 1998b). Aumentam-se, assim, os custos com o processo em comparação com a hidrólise alcalina. Tem-se, porém, um maior rendimento em termos de extração de proteína (TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000).

3.2.1. Hidrólise alcalina e extração de gelatina

Nesta seção serão apresentados trabalhos nos quais a hidrólise alcalina do RCCC resultou na obtenção de gelatina em meio aquoso e torta sólida residual do processo. Ressalta-se, entretanto, que a hidrólise alcalina de RCCC pode ser empregada como forma de solubilização do colágeno e do cromo, sem preocupação com a qualidade da proteína extraída e, inclusive, objetivando que a mesma seja hidrolisada (degradada) (FERREIRA *et al.*, 2014; WIONCZYK *et al.*, 2011c).

A Tabela 2 apresenta 32 diferentes condições reportadas na literatura para a hidrólise alcalina de RCCC e, a Tabela 3, a caracterização da proteína obtida a partir de cada uma destas.

Conforme observado nas Tabelas 2 e 3, alguns dos fatores que afetam diretamente a hidrólise alcalina são: tipo e massa de agente alcalinizante, pH, temperatura e tempo do processo.

Tabela 2 - Condições apresentadas na literatura para a hidrólise alcalina de RCCC.

Tratamento	Massa de RCCC (g)	Volume de água/solução (mL)	Agente alcalinizante	pH	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Velocidade de agitação (rpm)	Fonte	
A	1000	5000	MgO – 6%	8 a 9	72	6	16 (tambor)	(CABEZA <i>et al.</i> , 1998c; TAYLOR <i>et al.</i> , 1998b)	
B	-	-	CaO	7,8 / 10,1 / 11,0 / 11,3 / 11,8	90	10	-	(TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000)	
C	-	-	-	-	65 / 75 / 85 / 95	-	-	(TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000)	
D	-	-	-	-	-	2 / 4 / 8 / 12	-	(TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000)	
E	100	1000	CaO – 10 g	-	98	3 / 6 / 24	-	(MU <i>et al.</i> , 2003)	
F	100	1000	MgO – 10 g	-	98	3 / 6 / 24	-	(MU <i>et al.</i> , 2003)	
G	100	1000	NaOH – 10 g	-	98	3 / 6 / 24	-	(MU <i>et al.</i> , 2003)	
H	100	1000	CaO/NaOH	11	79-80	3,5	-	(MU <i>et al.</i> , 2003)	
I	Torta resultante do tratamento H	100	CaO – 2 g	--	97-99	3 a 4	-	(MU <i>et al.</i> , 2003)	
J	(processo repetido 4 vezes, empregando sempre torta obtida do processo anterior)	100	1000	CaO – 10 g	-	98	3	-	(MU <i>et al.</i> , 2003)
K	50	250	NaOH / MgO	9	70	15	60	(DETTMER <i>et al.</i> , 2014a)	
L	50	250	CaO – 2 g	-	70	6	180	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)	
M	50	250	CaO – 4 g	-	70	6	180	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)	
N	50	250	MgO – 2 g	-	70	6	180	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)	
O	50	250	MgO – 4 g	-	70	6	180	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)	

O sinal “-“ indica que o parâmetro em questão não foi fornecido pelos autores

Tabela 3 – Caracterização proteína obtida em meio aquoso a partir das condições de hidrólise alcalina de RCCC apresentadas na Tabela 2.

Tratamento	Cromo (mg/L)	NTK (g/L)	pH	Cinzas (% base seca)	Massa seca (%)	Massa molar (kg/mol)	Rendimento da extração de proteína (%)	Fonte
A	12,5	17,35	9,1	17,33	3,54	47% > 85 22% >50 e < 85 31% < 50	30	(CABEZA <i>et al.</i> , 1998c; TAYLOR <i>et al.</i> , 1998b)
B	0,25 (pH 7,8) 3,4 (pH 10,1) 3,5 (pH 11,0) 16,5 (pH 11,3) 23,3 (pH 11,8)	11,0 (pH 7,8) 13,5 (pH 10,1) 15,0 (pH 11,0) 29,9 (pH 11,3) 32,4 (pH 11,8)	-	-	-	-	-	(TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000)
C	≈ 0,2 (65°C) ≈ 0,7 (75°C) ≈ 2 (85°C) ≈ 7 (95°C)	≈ 5,7 (65°C) ≈ 6,5 (75°C) ≈ 9,0 (85°C) ≈ 15 (95°C)	-	-	-	-	-	(TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000)
D	< 0,1 (2 h) ≈ 0,1 (4 h) ≈ 0,6 (8 h) ≈ 10 (12 h)	≈ 13 (2 h) ≈ 17 (4 h) ≈ 21 (8 h) ≈ 27 (12 h)	-	-	-	16,6 (2 h) 13,9 (4 h) 9,2 (8 h) 8,4 (12 h)	-	(TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000)
E	-	-	-	-	-	-	46,5 (3h) 68,0 (6h) 69,5 (24h)	(MU <i>et al.</i> , 2003)
F	-	-	-	-	-	-	38,6 (3h) 59,8 (6h) 65,4 (24h)	(MU <i>et al.</i> , 2003)
G	-	-	-	-	-	-	48,2 (3h) 69,8 (6h) 71,9 (24h)	(MU <i>et al.</i> , 2003)
H	-	17,4	6	6,3	-	40 – 110	-	(MU <i>et al.</i> , 2003)
I	-	16,9	6	8,2	-	10 – 50	-	(MU <i>et al.</i> , 2003)
J	-	-	-	-	-	-	75 (na segunda extração, não aumentando nas extrações sequenciais)	(MU <i>et al.</i> , 2003)
K	0,396% (NaOH) 0,133% (MgO)	n.d. (NaOH) 0,35% (MgO)	-	-	-	-	-	(DETTMER <i>et al.</i> , 2014a)
L	38,7	9,4	11,6	12,2	6,7	-	48,7	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)
M	0,44	10,8	13,8	11,7	7,9	Molécula degradada	74,5	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)
N	< 0,04	2,2	9,2	21,6	2,4	-	9,2	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)
O	< 0,04	2,1	9,9	25,5	2,3	-	8,3	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)

O sinal “-“ indica que o parâmetro em questão não foi analisado pelos autores; n.d. = Não detectado; Valores indicados como aproximados (≈) foram retirados de gráficos

Conforme apresentado nas Tabelas 2 e 3, Mu *et al.* (2003) obtiveram maior rendimento com o uso de CaO e NaOH quando comparado ao uso de MgO (todos empregados na mesma proporção). Scopel *et al.* (2016) também obtiveram maior rendimento de extração com o uso de CaO como agente alcalinizante em comparação com o MgO. Entre os agentes alcalinizantes empregados na hidrólise de RCCC, o CaO parece ser o mais adequado. Ao comparar CaO com MgO, por exemplo, o custo do primeiro é menor, além deste ser um alcalinizante mais forte (menores massas de CaO são necessárias para atingir determinado pH se comparado ao MgO). A suspensão formada pelo CaO em meio aquoso pode adsorver partículas de $\text{Cr}(\text{OH})_3$, facilitando sua remoção por filtração e reduzindo os teores de cromo na proteína em meio aquoso (MU *et al.*, 2003; SCOPEL *et al.*, 2016; TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000). O NaOH, por sua vez, pode levar a um rápido aumento de pH e consequente digestão do colágeno, reduzindo sua massa molar (MU *et al.*, 2003).

Com relação ao pH do processo, a fim de reduzir teores de cromo na proteína em meio aquoso, valores inferiores a 11 deveriam ser empregados (TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000). Scopel *et al.* (2016), entretanto, encontraram valores inferiores de cromo para a proteína obtida em pH 13,8 em comparação à obtida em pH 11,6. Contudo, o elevado pH resultante do emprego de 4 g de CaO para 25 g de RCCC (em base seca) levou à degradação da proteína. Niculescu *et al.* (2009) indicam uma razão ideal entre massa de agente alcalinizante e de RCCC: duas partes de CaO para uma parte de cromo no resíduo, em massa. De acordo com os autores, nestas condições, todo o cromo precipita junto à torta sólida.

O tempo do processo de hidrólise alcalina também altera as características dos produtos. De acordo com Ting-Da; Chun-Ping e Fei (2000), a hidrólise alcalina do RCCC ocorre em duas etapas. Na primeira, OH^- penetra nas fibras do resíduo após impregnação e inchamento, e então ocorre o rompimento das ligações cruzadas entre o colágeno e o cromo III. Sendo assim, longos períodos de hidrólise - acima de 8 h de acordo com Ting-Da; Chun-Ping e Fei (2000), ou períodos de 24 h de acordo com Mu *et al.* (2003), não aumentam o rendimento em termos de extração de gelatina e resultam em maior dissolução do cromo III e aumento no grau de degradação da proteína. A Tabela 3 mostra que um aumento em seis vezes no tempo do processo apenas dobrou a concentração de proteína medida como NTK (TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000), enquanto que para outros autores, o aumento do tempo de processo de 6 para 24 h praticamente não alterou o rendimento em termos de extração de proteína (MU *et al.*, 2003).

O emprego de maiores temperaturas aumenta o rendimento de extração de proteína. Entretanto, a maior energia fornecida também resulta na sua degradação e em maior massa de

cromo solubilizada (SCOPEL *et al.*, 2016; TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000; WIONCZYK *et al.*, 2011a). O aumento na extração de proteína e consequente aumento na concentração de cromo no meio com um aumento de temperatura é mostrado na Tabela 3, conforme obtido por Ting-Da; Chun-Ping e Fei (2000).

Ainda sobre rendimentos, conforme indicado nas Tabelas 2 e 3, valores de extração de proteína maiores do que 75% não são obtidos mesmo em condições agressivas como a realização de quatro hidrólises sequenciais a 98°C e por 3 h, com adições de óxido de cálcio a cada nova etapa. Mu *et al.* (2003) indicam que isto decorre da hidrólise incompleta do RCCC. A reação incompleta pode derivar da presença de aminoácidos apolares, hidrofóbicos em meio alcalino, que não permitem penetração da água em sua estrutura e impedem a hidrólise. A presença de ligações covalentes entre aminoácidos alcalinos e aminoácidos com grupos hidroxil, apenas rompidas em meio ácido, também contribuem para menores rendimentos. Por fim, Mu *et al.* (2003) apontam a oxolação dos complexos de cromo (III) – que ocorre em condições alcalinas e leva à formação de ligações cruzadas com grupos carboxila – como a terceira causa à hidrólise incompleta, visto que o processo resulta em complexos metálicos macromoleculares insolúveis.

A torta residual da hidrólise alcalina de RCCC é apontada na literatura como fonte de sais de cromo. Estes sais são majoritariamente obtidos pela dissolução do cromo em meio ácido (pH<3) aquecido (>60°C) e geralmente objetivam a produção de sais de curtimento (CABEZA *et al.*, 1998a; CABEZA *et al.*, 1998b; KOLOMAZNIK *et al.*, 1999; TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000). A fim de produzir sais de melhor qualidade, a matéria orgânica (proteína, em especial) remanescente na torta residual da hidrólise pode ser precipitada (CABEZA *et al.*, 1998a; CABEZA *et al.*, 1998b), oxidada (JANACOVA *et al.*, 2006) ou removida por processos enzimáticos sequenciais (KUPEK *et al.*, 2002). Ainda há a possibilidade de obtenção de sais de cromo por meio do tratamento térmico (em meio não oxidante a fim de evitar a conversão do cromo trivalente em hexavalente) da torta residual da hidrólise (KOCUREK *et al.*, 2015).

3.2.2. Aplicações dos produtos da hidrólise de RCCC

São dois os principais produtos oriundos da hidrólise alcalina de RCCC: torta sólida e proteína (na forma de gelatina ou colágeno hidrolisado). Condições mais agressivas de hidrólise resultam na redução da massa molar do produto proteico, dando origem ao colágeno

hidrolisado. Condições mais brandas preservam a estrutura da proteína e formam a gelatina. O Quadro 1 apresenta aplicações sugeridas e testadas para estas frações.

Quadro 1 - Aplicações testadas e/ou sugeridas para os produtos da hidrólise alcalina de RCCC.

Aplicação	Sugerida/ Testada	Referência
Gelatina		
Cosméticos, adesivos, fotografia, impressão, microencapsulação, filmes, acabamento do couro	Sugerida	(CABEZA <i>et al.</i> , 1998c)
Microencapsulação	Testada	(CABEZA <i>et al.</i> , 1999)
Alimentação animal	Sugerida	(TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000)
Cosméticos, adesivos, fotografia, impressão	Sugerida	(AFTAB <i>et al.</i> , 2006)
Cosméticos, adesivos, fotografia, impressão, encapsulação, filmes	Sugerida	(CATALINA <i>et al.</i> , 2006)
Géis, adesivos, fotografia, impressão	Sugerida	(MOKREJS <i>et al.</i> , 2007)
Acabamento do couro	Testada	(CATALINA <i>et al.</i> , 2010)
Filmes	Testada ¹	(CATALINA <i>et al.</i> , 2011)
Alimentação de aves	Testada	(PAUL <i>et al.</i> , 2013)
Filmes	Testada	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2016)
Colágeno hidrolisado		
Fertilizante orgânico, polímeros biodegradáveis para agricultura (fitas de plantio produzidas com PVA), adesivos, aditivo no concreto	Testada	(KOLOMAZNÍK <i>et al.</i> , 1999)
Agente de recurtimento	Testada	(CANTERA <i>et al.</i> , 2002)
Filmes	Sugerida	(LANGMAIER <i>et al.</i> , 2005)
Pré-curtente	Testada	(ASLAN; GULUMSER; OCAK, 2006)
Aditivo em alimentação animal, fertilizante, adesivos, inibidores de corrosão	Sugerida	(MOKREJS <i>et al.</i> , 2007)
Hidrogéis	Testada	(LANGMAIER <i>et al.</i> , 2008)
Filmes	Testada	(MOKREJS <i>et al.</i> , 2008)
Recurtimento	Testada	(AFŞAR <i>et al.</i> , 2008)
Biofertilizante foliar	Testada	(GAIDAU <i>et al.</i> , 2009)
Microencapsulação	Testada	(OCAK, 2012; OCAK; ASLAN; GULUMSER, 2011)
Base para floculantes de poliacrilamida	Testada	(LI; XUE; DING, 2015)
Adesivos	Testada	(GRZYBOWSKI, 2016)
Alimentação de aves	Testada	(CHAUDHARY; PATI, 2016)
Sais de cromo (extraídos da torta remanescente da hidrólise)		
Pigmentos para vidro, fabricação de tijolos resistentes ao calor, cromato alcalino	Sugerida ²	(KOLOMAZNÍK <i>et al.</i> , 1999)
Agente de curtimento	Testada	(CABEZA <i>et al.</i> , 1998a)
Agente de curtimento	Sugerida	(TING-DA; CHUN-PING; FEI, 2000)

¹ Apenas reticulação dos filmes testada

² Apenas fabricação de cromato alcalino testada

3.2.3. Explosão a Vapor de RCCC

A explosão a vapor pode ser definida como um processo adiabático capaz de converter energia térmica em mecânica (JUNPENG *et al.*, 2016). De maneira geral, em uma explosão a vapor a biomassa é tratada com vapor aquecido sob pressão seguida de uma descompressão explosiva da biomassa (para pressão atmosférica) que resulta na ruptura de sua rígida estrutura fibrosa. A liberação de pressão repentina desfibrila, por exemplo, agrupamentos celulósicos (STELTE, 2013).

Este é um processo amplamente conhecido e empregado como pré-tratamento de biomassa lignocelulósica. Ele costuma atuar como substituto a agentes químicos e como pré-tratamento para hidrólise enzimática, aumentando seu rendimento, razão pela qual é empregado na produção de etanol (SCHOLL *et al.*, 2015; SINGHA; SUHAGB; DHAKAC, 2015).

Também há registros do emprego de explosão a vapor como pré-tratamento na produção de celulose nanofibrilada a partir de resíduos da indústria do tabaco (TUZZIN *et al.*, 2016) e para aumentar o rendimento de produção de biometano a partir de *Miscanthus lutarioriparius* (LI *et al.*, 2016), entre outras diversas aplicações.

O emprego de explosão a vapor como pré-tratamento de RCCC, entretanto, é pouco explorado na literatura. Tem-se na literatura citações de seu uso para extração de proteína de RCCC pré-tratado por imersão em meio alcalino por períodos que variam de um a três dias (CHEN *et al.*, 2015). Seu uso também é reportado como pré-tratamento do resíduo de couro a fim de melhorar o rendimento da produção de biogás a partir deste. Neste caso, vapor saturado a 130 e 150°C, com tempos de residência no reator igual a 10 e 20 min foram testados. Os autores verificaram que o tratamento por explosão a vapor do RCCC aumentou o volume de biogás gerado, em especial quando realizado em condições mais agressivas (150°C e 20 min) (BAVARESCO; PERONDI; DETTMER, 2015).

3.3. PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DE GELATINA

A gelatina comercial deriva tipicamente de matéria-prima bovina e suína, em especial ossos, pele e cartilagem. Sua produção é dividida em seis etapas: pré-tratamento, extração, purificação, esterilização, secagem e moagem. Ela ocorre principalmente por dois processos: ácido (produz gelatina do tipo A) ou alcalino (produz gelatina do tipo B). No processo alcalino, a matéria-prima é submetida por longos períodos de tempo (dias) a um meio alcalino (em geral

de óxido de cálcio ou hidróxido de sódio). No processo ácido, este pré-tratamento é mais curto (um ou dois dias), e ocorre em meio ácido (em geral ácido sulfúrico). A posterior extração da gelatina é conduzida em água a temperaturas variáveis de 50 a 90°C. A purificação do produto é realizada por filtração seguida de desmineralização. O material é então concentrado em evaporadores a vácuo, esterilizado (a aproximadamente 140°C por 20 s), resfriado, extrudado, seco em túneis de ar e moído. A gelatina produzida pelo processo alcalino apresenta massa molar que geralmente varia de 20 a 200 kg.mol⁻¹ (GENNADIOS, 2002; WOLF, 2003).

Tradicionalmente, após o processo de extração, a gelatina é filtrada e passa por colunas de troca iônica para sua purificação/desmineralização e, finalmente, é concentrada em evaporadores a vácuo. O uso de processos de concentração/purificação por membranas, entretanto, é uma vantajosa alternativa. Eles reduzem os custos com energia empregada na evaporação da gelatina, diminuem sua degradação térmica, visto que o uso da membrana não requer altas temperaturas, além de aumentar o grau de pureza do produto final ao operar o sistema no modo de diafiltração (adição de água deionizada para a solubilização e consequente remoção dos sais) (SAXENA *et al.*, 2009; SIMON *et al.*, 2002).

Com relação à gelatina extraída de RCCC, há na literatura o registro do uso de resinas de troca iônica para sua purificação (CABEZA *et al.*, 1998c; KANAGARAJ *et al.*, 2006; WIONCZYK *et al.*, 2011b). Os autores Wionczyk *et al.* (2011c) chegaram a remoções de até 99% do teor de cromo na proteína extraída de RCCC com o uso da resina Aliquat 336 (sal quaternário de amônio). Já Cabeza *et al.* (1998c) conseguiram uma redução no teor de cinzas de 17,33% para 0,55% (em massa, base seca), por meio do processo de troca iônica. A concentração de cromo, entretanto, não foi expressivamente reduzida pelos últimos autores: de 12,5 ppm para 11,8 ppm. Ainda que eficaz na redução do teor de cinzas ou remoção de cromo, a troca iônica não permite a concentração da gelatina.

3.4. FILMES POLIMÉRICOS

Filmes poliméricos são produzidos principalmente pela técnica de extrusão e aplicados majoritariamente em embalagens, sacolas plásticas e na agricultura. Tradicionalmente, os filmes poliméricos são produzidos a partir de poli(tereftalato de etileno), polietileno de baixa densidade, polietileno de baixa densidade linear, polietileno de alta densidade, polipropileno e poli(cloreto vinila) (ABIPLAST, 2015; ABIPLAST, 2017).

Na pesquisa por novas composições de filmes poliméricos de fonte natural, entretanto, a técnica mais comumente aplicada é a de *casting* (ACOSTA *et al.*, 2015; AL-HASSAN; NORZIAH, 2012; ALVES *et al.*, 2015; ARVANITOYANNIS *et al.*, 1997; FAKHOURY *et al.*, 2012). Nesta técnica, a matéria-prima sólida é solubilizada em meio líquido (mais comumente água) com o emprego de temperatura e agitação. A solução é então resfriada para ser espalhada. Este espalhamento pode ser realizado com um instrumento que auxilie no controle da espessura do material ou simplesmente vertendo-se a solução, por exemplo, em uma placa de Petri, controlando-se então a espessura pela relação entre volume de solução, massa seca e área de espalhamento. Durante a secagem, a formação do filme ocorre pela evaporação do solvente (GENNADIOS, 2002; MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

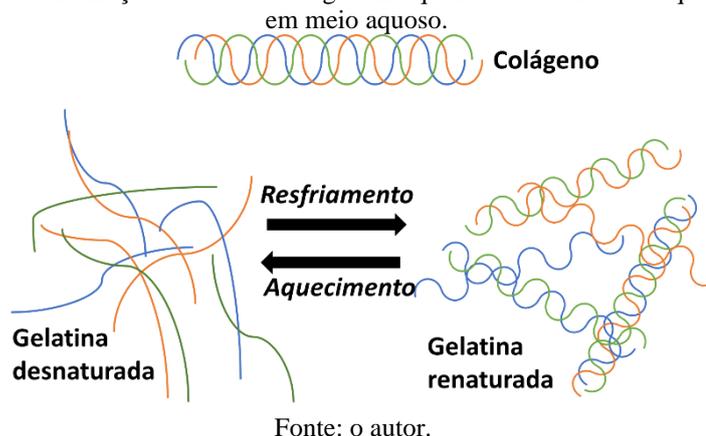
3.4.1. A gelatina como matéria prima para produção de filmes poliméricos

A gelatina é o produto da desnaturação e da hidrólise parcial das cadeias de colágeno. Ela é considerada um biopolímero atrativo que apresenta como potenciais benefícios seu baixo custo de produção (em larga escala) e fácil degradação (SIFUENTES-NIEVES *et al.*, 2015).

Na produção de gelatina, a tripla hélice do colágeno é quebrada pelo rompimento das ligações de hidrogênio e das forças de Van der Waals, ao que se segue a dissociação das moléculas de colágeno em outras menores (GENNADIOS, 2002; GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2009; WOLF, 2003). Na gelatina, a tripla hélice do colágeno pode se dissociar na forma de três cadeias α separadas, de um par de cadeias ligadas de forma covalente (cadeia β) mais uma cadeia α , ou como uma única cadeia γ , formada pela ligação covalente de três cadeias poliméricas.

Quando aquecidas em meio aquoso, as moléculas de gelatina se distribuem de forma randômica, sem organização específica. Quando resfriadas, elas podem voltar a adquirir a estrutura de hélice presente no colágeno, conforme indicado na Figura 6 (YANNAS, 1972). A temperatura em que esta transição (denominada hélice-novelo) ocorre depende da origem, da composição, do método de extração, da concentração e do pH da gelatina (DÍAZ-CALDERÓN *et al.*, 2017). Ahsan e Rao (2017) apresentam temperatura de transição hélice-novelo para gelatina de porco de aproximadamente 25°C em diferentes pHs. Já Mhd Sarbon; Badii e Howell (2013) encontraram 26°C para a temperatura de transição de gelatina bovina e 31°C para gelatina extraída de frango.

Figura 6 – Alteração na conformação das cadeias de gelatina quando submetidas ao aquecimento e resfriamento em meio aquoso.



Na produção de filmes poliméricos, as cadeias de gelatina, desnaturadas no aquecimento para a formação da solução filmogênica, também podem se associar novamente na forma de tripla hélice. Isto acontece quando a secagem dos filmes de gelatina ocorre a temperaturas abaixo da temperatura de transição hélice-novelo. A formação desta estrutura é semelhante ao evento da cristalização em polímeros sintéticos. Maiores tempos de secagem incorrem no mesmo processo de renaturação da gelatina. Temperaturas de secagem baixas e tempos maiores, portanto, levam à produção de filmes com propriedades mecânicas mais semelhantes às de materiais cristalinos (maior resistência à tração e menor alongamento na ruptura) (DAI; LIU, 2006).

Existem relatos do uso de gelatina e colágeno hidrolisado extraídos de RCCC para a produção de filmes poliméricos. Catalina *et al.* (2011) estudaram as alterações das propriedades térmicas, de inchamento em água e mudanças na massa molecular de filmes com a reticulação da gelatina. Langmaier *et al.* (2006) trataram da reticulação de colágeno hidrolisado com epícloridina, estudando o grau de reticulação em diferentes formulações, que poderiam então ser aplicadas na produção de filmes poliméricos. Dang; Shan e Chen (2018), por sua vez, estudaram a produção de filmes poliméricos de gelatina de RCCC com β -ciclodextrina, avaliando a viscosidade da mistura, interação química, morfologia, inchamento, propriedades mecânicas e biodegradabilidade dos filmes.

3.4.2. O amido como matéria prima para a produção de filmes poliméricos

O amido é o segundo polissacarídeo natural mais abundante em plantas superiores e representa sua maior reserva de carboidratos. Ele pode ser extraído de diversas fontes, como o cereais, raízes, tubérculos e frutas.

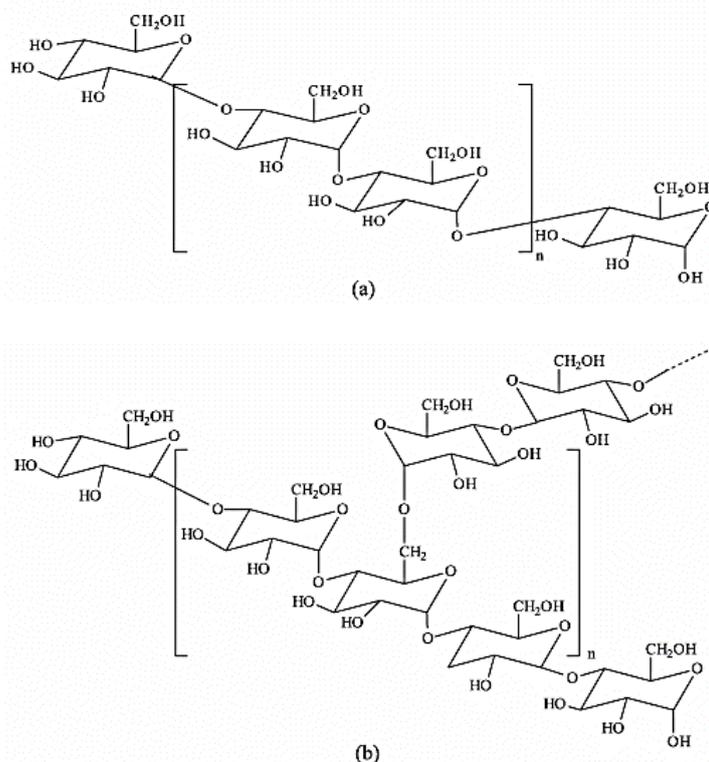
O amido se apresenta na forma de grãos formados por duas macromoléculas à base de glicose: a amilose e a amilopectina (NAGULESWARAN *et al.*, 2014). A amilose (Figura 7a) é um polímero de cadeia linear formado por unidades de glicose unidas por aproximadamente 99% de ligações glicosídicas α -1,4 e 1% de ligações glicosídicas α -1,6. A sua massa molar varia de 1×10^5 a 1×10^6 g.mol⁻¹. A amilopectina (Figura 7b), por sua vez, é um polímero ramificado formado por unidades de glicose ligadas através de aproximadamente 95% de ligações glicosídicas α -1,4 e 5% de ramificações α -1,6. A sua massa molar varia de 1×10^7 a 1×10^9 g.mol⁻¹. O mero formador de ambas (resíduo de glicose) possui massa molar igual a 162 g.mol⁻¹ (OATES, 1997; TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

O amido é um polímero natural semi-cristalino. Há a indicação de que as cadeias principais da amilopectina são responsáveis pela fase cristalina do grânulo de amido, enquanto as regiões amorfas são formadas pelos pontos de ramificação da amilopectina e possivelmente pelas cadeias de amilose. Entretanto, alguns autores trazem em seus trabalhos indícios da formação de duplas-hélices de amilose ou amilose-amilopectina, que também comporiam a fase cristalina do grânulo (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

O teor de amilose do amido de milho nativo (sem modificações químicas) varia de acordo com a fonte botânica e variedade genética estudada, tendo sido encontrados valores de 24% a 27,8% (NAGULESWARAN *et al.*, 2013; WEBER; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009).

A partir do amido pode-se obter um material termoplástico por meio de dois processos diferentes: fusão e gelatinização. Na gelatinização é adicionado teor de água superior a 90%, enquanto que na fusão o amido é aquecido na presença de menor teor de água. Em ambos são aplicadas altas temperaturas a fim de romper os grânulos de amido e alterar sua estrutura, originalmente semicristalina, para uma estrutura amorfa (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Figura 7 - (a) Fórmula química estrutural da amilose e (b) fórmula química estrutural da amilopectina, ambas cadeias poliméricas formadoras do grão de amido



Fonte: (CORRADINI et al., 2005).

A gelatinização do amido começa pelas regiões amorfas, onde as ligações de hidrogênio são mais fracas. A amilose então é lixiviada do grânulo e, por fim, ocorre a solubilização das moléculas de amido. Ainda que haja uma temperatura característica do pico do processo de gelatinização, ele ocorre em uma faixa de temperatura que é característica das diferentes fontes e tipos de amido (SINGH *et al.*, 2003). Para o amido de milho, Fakhouri *et al.* (2015) empregaram como temperatura de gelatinização 85°C e Qiu *et al.* (2016) encontraram temperatura de 72°C.

Após a gelatinização, durante o resfriamento do amido gelatinizado, bem como durante seu armazenamento, as cadeias de amilose e amilopectina tendem a se reorganizar em um estado ordenado, cristalino. Esta alteração de estrutura é conhecida como retrogradação (ELIASSON, 2006). O avanço da retrogradação altera as propriedades dos materiais formados através da gelatinização do amido e é característica do envelhecimento do material.

Na formação de filmes poliméricos, as duas frações do amido (a amilose e a amilopectina) possuem diferentes cinéticas de retrogradação, que são dependentes da temperatura e da umidade relativa durante o processo de secagem. A recristalização da amilose é de cinética mais rápida do que a da amilopectina (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Na ausência de plastificante, as cadeias de amilopectina tendem a permanecer no estado amorfo, enquanto que as de amilose apresentam grau de cristalinidade próximo aos 35%. Na presença do plastificante, o grau de cristalização da amilose se mantém próximo aos 35% independentemente da umidade relativa ambiente. A amilopectina, por sua vez, tem sua cristalização favorecida, na presença de plastificante, em maiores umidades relativas, indo de polímero amorfo quando em 0% de umidade relativa, até valores próximos de 35% de cristalinidade em 100% de umidade relativa (RINDLAV-WESTLING *et al.*, 1998; ZHANG; HAN, 2010).

O aumento na temperatura de secagem também interfere nas propriedades dos filmes. Maiores temperaturas aceleram o processo de secagem, diminuindo o tempo durante o qual as cadeias possuem mobilidade para se reorganizarem em estrutura semicristalina. Isto torna a secagem mais rápida do que a retrogradação. Assim, filmes obtidos em maiores temperaturas de secagem (consequentemente em menor tempo) são menos cristalinos do que aqueles obtidos em menores temperaturas de secagem (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

Destaca-se o emprego de amido para a produção industrial de filmes biodegradáveis. A Tabela 4 apresenta algumas marcas comerciais de polímeros à base de amido quem podem ser usados na fabricação de filmes poliméricos utilizados na produção de sacolas, embalagens de alimentos, na agricultura, etc, e suas respectivas propriedades mecânicas.

Tabela 4 - Marcas comerciais de filmes fabricados com o uso de amido e empregados como cobertura de solo e respectivas propriedades mecânicas

Produto	Bioplast 500	Mater-Bi	Biomind
Fabricante	Biotec	Novamont	Cabopol
Composição	Contém amido de batata	À base de amido de milho	À base de amido de milho
Resistência à tração ^a (MPa)	29	20 – 40	20 – 30
Alongamento na ruptura ^a (%)	250	100 – 300	300 – 500

Fonte: Biotec (2016); Novamont (2016); Cabopol (2016)

Notas:

^a De acordo com a ISO 527

3.4.3. Filmes poliméricos de amido e gelatina

A produção de filmes poliméricos a partir da blenda de amido e gelatina é realizada há pelo menos 30 anos (ARVANITTOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998b; ARVANITTOYANNIS *et al.*,

1997). O seu estudo iniciou a fim de aliar em um único polímero as propriedades de materiais produzidos de proteínas e de polissacarídeos. Após três décadas, esta blenda ainda é alvo de pesquisas (AL-HASSAN; NORZIAH, 2017; GARCIA *et al.*, 2017; GARCIA *et al.*, 2018; MORENO *et al.*, 2018; MORENO *et al.*, 2017; PODSHIVALOV *et al.*, 2017; SCOPEL *et al.*, 2019; SCOPEL *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2017a; WANG *et al.*, 2017b). Dá-se destaque aqui para os trabalhos de Scopel *et al.* (2019); Scopel *et al.* (2016) que antecederam a pesquisa realizada neste doutorado e empregam a gelatina extraída de RCCC (por um método diferente do aqui empregado, sem explosão a vapor e purificação da gelatina) em blenda com amido de milho.

O uso de amido na produção de materiais poliméricos é justificado por seu baixo custo e ampla disponibilidade comercial. Proteínas, como a gelatina, por sua vez, costumam resultar em materiais poliméricos de melhores propriedades mecânicas e, se aplicadas na agricultura degradando-se no solo, maior teor de nutrientes (AUNG *et al.*, 2018).

As propriedades dos filmes de amido e gelatina dependem da natureza da matéria-prima, da proporção entre os dois componentes, da adição de outros polímeros, componentes ou plastificantes à blenda, e das condições de produção.

3.4.3.1. Composição

Além de gelatina e amido, todas as composições estudadas possuem um terceiro componente em comum: um plastificante. As ligações de hidrogênio formadas entre átomos de N e O com átomos de H representam forças intermoleculares fortes que conferem caráter rígido (baixa elasticidade) aos materiais poliméricos (CANEVAROLO JR., 2006). Elas levam à necessidade de adição de agentes plastificantes aos materiais produzidos a partir de amido e gelatina.

O Quadro 2 apresenta algumas das composições estudadas na produção de filmes de amido e gelatina. Algumas das propriedades alteradas pelas diferentes composições aqui apresentadas são citadas nos próximos itens deste trabalho.

Quadro 2 - Tipo de amido, gelatina, plastificante e demais componentes empregados na produção de filmes de amido e gelatina.

Gelatina	Amido	Plastificante	Demais componentes	Fonte
Grau alimentício	Solúvel	Glicerol, sorbitol, sucrose		(ARVANITTOYANNIS <i>et al.</i> , 1997)
Tipo B	De mandioca	Açúcar invertido, sucrose	Óleo de soja, fosfato de sódio, propileno glicol	(VEIGA-SANTOS <i>et al.</i> , 2007)
Tipo A	Lipofílico	Sorbitol	Ácidos graxos (palmítico, láurico, cáprico, caprílico, capróico, ou mirístico)	(FAKHOURI <i>et al.</i> , 2009)
Tipo B	De mandioca	Glicerol		(TONGDEESOONTORN <i>et al.</i> , 2012)
Tipo A	De mandioca nativo ou amido acetilado e reticulado	Glicerol e sorbitol		(FAKHOURY <i>et al.</i> , 2012)
De peixe	De sagu	Glicerol e sorbitol		(AL-HASSAN; NORZIAH, 2012)
Comercial	De batata modificado (70 – 75% de amilopectina), amido de milho modificado (70% de amilose)	Glicerol	-	(SOLIMAN; FURUTA, 2014)
Tipo A	De milho nativo, ceroso (100% amilopectina) e ceroso modificado	Glicerol e sorbitol	-	(FAKHOURI <i>et al.</i> , 2015)
Bovina tipo A	De mandioca	Glicerol	Mono e diglicerídeos de ácidos graxos	(ACOSTA <i>et al.</i> , 2015)
Bovina	De milho	Glicerol	Nanocristais de celulose	(ALVES <i>et al.</i> , 2015)
Bovina tipo A	De mandioca	Glicerol	Óleo de casca de canela, óleo de cravo e óleo de orégano	(ACOSTA <i>et al.</i> , 2016)
De peixe	De sagu	Glicerol	Transglutaminase	(AL-HASSAN; NORZIAH, 2017)
De resíduo de couro curtido ao cromo (não desmineralizada) ou comercial grau alimentício	De milho	Glicerol	-	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2017)
Bacteriológica	De milho	Glicerol	Nanopartículas de Óxido de Grafeno	(AFSHAR; BANIASADI, 2018)
Tipo A	De milho, esterificado	Glicerol		(SHI; TAO; CUI, 2018)
De pele de peixe	De batata	Glicerol	Óleo essencial de lavanda e ágar da Dinamarca	(JAMROZ; JUSZCZAK; KUCHAREK, 2018)
Gelatina reciclada de origem bovina	De mandioca	Glicerol		(CHAVES DA SILVA <i>et al.</i> , 2018)
Grau alimentício	De mandioca	Sorbitol	Quitosana	(SILVA <i>et al.</i> , 2019)

Plastificantes são compostos de baixa massa molar que podem formar ligações de hidrogênio e estabelecer interações do tipo força de van der Waals com as cadeias poliméricas, reduzindo com isto as interações existentes entre estas. Isto torna maior a mobilidade das cadeias, aumentando a flexibilidade e alongamento dos filmes, mas diminuindo sua resistência à tração. Para alguns plastificantes, o caráter hidrofílico pode aumentar a solubilidade e a permeabilidade ao vapor de água dos filmes. Em baixas concentrações, os plastificantes interagem com grupos OH do amido, reduzindo sua interação com a água. Em altas concentrações, porém, o efeito é o oposto, resultando em uma maior interação com a água. A água é um plastificante natural para amido e gelatina, o caráter hidrofílico dos plastificantes aumenta ainda mais a sorção de água dos filmes, intensificando ainda mais o efeito de plastificante (GENNADIOS, 2002).

3.4.3.2. Condições de produção

De um modo geral, para obtenção dos filmes de amido de milho e de gelatina, a solução filmogênica é produzida com 2 a 10% de massa seca (que compreende o somatório das massas de amido, gelatina e plastificante) em água. Empregam-se proporções variadas de amido e gelatina, e aplica-se plastificante em teores que variam de 10 a 30% em massa em função do somatório das massas de amido e gelatina (ACOSTA *et al.*, 2015; AL-HASSAN; NORZIAH, 2012; ARVANITTOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998a; ARVANITTOYANNIS *et al.*, 1997; FAKHOURY *et al.*, 2012).

Com relação ao processamento, a gelatina é diluída em água com agitação constante em temperaturas que variam de 40 a 100°C por períodos de 10 a 30 min. O amido é gelatinizado em água com agitação constante a temperaturas que variam de 85 a 95°C por 15 a 30 min. As duas soluções são então misturadas e o plastificante é adicionado (ACOSTA *et al.*, 2015; AL-HASSAN; NORZIAH, 2012; FAKHOURY *et al.*, 2012).

O filme é então formado pela técnica de espalhamento. Diferentes temperaturas, umidades relativas e tempos de secagem são empregados. Al-Hassan e Norziah (2012), assim como Fakhoury *et al.* (2012) mantiveram a temperatura em 25°C por 24 h para secagem dos filmes. Alves *et al.* (2015) empregaram temperatura de 25°C e 50% de umidade relativa. Acosta *et al.* (2015) realizaram o processo à temperatura de 25°C e umidade relativa de 45% por 48 h.

Arvanitoyannis *et al.* (1997) utilizaram duas temperaturas: 20°C e 60°C, levando, respectivamente, uma semana e 6 h para completa secagem dos filmes.

Após a secagem, os filmes são armazenados em condições constantes de temperatura e umidade relativa antes de serem analisados. A primeira varia, de acordo com os autores estudados, de 23 a 30°C e a segunda de 52 a 75% (ACOSTA *et al.*, 2015; AL-HASSAN; NORZIAH, 2012; FAKHOURY *et al.*, 2012; VEIGA-SANTOS *et al.*, 2007).

3.4.3.3. *Propriedades mecânicas*

O Quadro 3 apresenta algumas alterações estudadas na composição de filmes de amido e gelatina e os resultados obtidos em termos de propriedades mecânicas. A resistência à tração de filmes formados pela blenda de polissacarídeos e proteínas pode aumentar em comparação a filmes de polissacarídeos e filmes de proteínas produzidos isoladamente. Isso ocorre devido à formação de ligações de hidrogênio entre os grupamentos OH⁻ do amido e NH₃⁺ da gelatina (ARVANIToyANNIS *et al.*, 1997).

Os valores de resistência à tração e alongamento na ruptura dependem diretamente da composição empregada nos filmes. Em geral, ao aumentar-se uma das propriedades, diminui-se a outra. Fakhouri *et al.* (2009) encontraram valores de resistência à tração que variaram de aproximadamente 40 a 100 MPa e alongamento na ruptura de aproximadamente 3 a 14%. Fakhoury *et al.* (2012) reportam valores de resistência à tração de 64,29 a 170,31 MPa e de alongamento na ruptura de 3,87 a 11,52%. Arvanitoyannis *et al.* (1997), por sua vez, produziram filmes com resistência à tração de 35,1 a 60,5 MPa e alongamento na ruptura de 1,2 a 44,7%.

Quadro 3 – Relação entre alterações nas propriedades mecânicas de filmes de amido e gelatina e mudanças realizadas no seu processamento ou composição.

Alteração estudada	Resistência à tração	Alongamento na ruptura	Fonte
Aumento no teor de plastificantes (glicerol ou sorbitol, sucrose ou açúcar invertido)	Reduz	Aumenta	(ARVANITTOYANNIS <i>et al.</i> , 1997; VEIGA-SANTOS <i>et al.</i> , 2007)
Aumento na temperatura de secagem	Reduz	Reduz	(ARVANITTOYANNIS <i>et al.</i> , 1997)
Adição de fosfato de sódio ou óleo de soja	Reduz	Aumenta	(VEIGA-SANTOS <i>et al.</i> , 2007)
Adição de ácidos graxos	Reduz	Aumenta	(FAKHOURY <i>et al.</i> , 2009)
Aumento no teor de gelatina	Aumenta	Reduz	(TONGDEESOONTORN <i>et al.</i> , 2012)
Aumento no teor de gelatina	Aumenta	Aumenta (quando glicerol é o plastificante)	(FAKHOURY <i>et al.</i> , 2012)
Uso de sorbitol ao invés de glicerol como plastificante	Aumenta	-	(FAKHOURY <i>et al.</i> , 2012)
Uso de amido de mandioca acetilado e reticulado ao invés de amido nativo	-	Aumenta	(FAKHOURY <i>et al.</i> , 2012)
Uso de sorbitol ao invés de glicerol como plastificante	Aumenta	Reduz	(AL-HASSAN; NORZIAH, 2012)
Aumento no teor de gelatina	Aumenta (até proporção amido:gelatina = 4:1)	-	(AL-HASSAN; NORZIAH, 2012)
Adição de mono e diglicerídeos de ácidos graxos	Reduz	Aumenta	(ACOSTA <i>et al.</i> , 2015)
Adição da enzima transglutaminase	Aumenta	Reduz	(AL-HASSAN; NORZIAH, 2017)
Uso de gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo, não desmineralizada, ao invés de gelatina comercial	Reduz	Aumenta	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2017)
Aumento na temperatura de secagem	Reduz	Aumenta	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2017)

3.4.3.4. Propriedades de interação com água

Apesar de atuarem com propriedades de barreira a gases (O₂ e CO₂), filmes de gelatina, e também os de amido, possuem alta permeabilidade ao vapor de água, o que configura uma das maiores restrições à aplicação dos filmes de amido e gelatina (ARVANITTOYANNIS *et al.*,

1997). Esta hidrofiliçidade dos filmes também resulta em valores elevados de solubilidade. O Quadro 4 apresenta algumas alterações estudadas na composição de filmes de amido e gelatina e os resultados obtidos em termos de propriedades de interação com água.

A ligação C-N (energia de ligação igual a 70 kcal/mol) presente nos aminoácidos que formam a cadeia principal da gelatina é uma ligação mais fraca que a ligação C-C (energia de ligação igual a 83 kcal/mol). Ela sofre facilmente hidrólise em contato com a água (CANEVAROLO JR., 2006).

Quadro 4 - Relação entre alterações nas propriedades de interação com água de filmes de amido e gelatina e mudanças realizadas no seu processamento ou composição.

Alteração estudada	Permeabilidade ao vapor de água	Solubilidade	Fonte
Aumento no teor de plastificantes (glicerol ou sorbitol ou sucrose)	Aumenta	-	(ARVANITOYANNIS <i>et al.</i> , 1997)
Aumento na temperatura de secagem	Aumenta	-	(ARVANITOYANNIS <i>et al.</i> , 1997)
Adição de ácidos graxos	Pode reduzir (até concentrações de 15 a 25% m/m)	Pode aumentar (ácido caprílico e láurico)	(FAKHOURI <i>et al.</i> , 2009)
Aumento no teor de gelatina	-	Reduz	(TONGDEESOONTORN <i>et al.</i> , 2012)
Aumento no teor de gelatina	Aumenta	Aumenta	(FAKHOURI <i>et al.</i> , 2015; FAKHOURY <i>et al.</i> , 2012)
Uso de sorbitol ao invés de glicerol como plastificante	Aumenta	-	(AL-HASSAN; NORZIAH, 2012)
Uso de sorbitol ao invés de glicerol como plastificante	Aumenta	Aumenta	(FAKHOURI <i>et al.</i> , 2015)
Uso de amido de milho nativo ao invés do ceroso ou ceroso modificado	-	Reduz	(FAKHOURI <i>et al.</i> , 2015)
Adição de mono e diglicerídeos de ácidos graxos	Reduz	-	(ACOSTA <i>et al.</i> , 2015)
Adição de nanocristais de celulose	Reduz	-	(ALVES <i>et al.</i> , 2015)
Adição de óleos essenciais	Reduz	-	(ACOSTA <i>et al.</i> , 2016)
Adição da enzima transglutaminase	Aumenta	Reduz	(AL-HASSAN; NORZIAH, 2017)
Uso de gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo, não desmineralizada, ao invés de gelatina comercial	Aumenta	Aumenta	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2017)
Aumento na temperatura de secagem	-	Aumenta	(SCOPEL <i>et al.</i> , 2017)

Valores de solubilidade (em água por 24 h) encontrados por outros autores variam de aproximadamente 19 a 46% (FAKHOURI *et al.*, 2009), 20,81 a 39,51 (FAKHOURY *et al.*, 2012). Já Scopel *et al.* (2017) indicam solubilidades que variam de 12 a 45%.

A permeabilidade ao vapor de água variou de 2,12 a 4,95 g mm m⁻² d⁻¹ kPa⁻¹ (em ambiente com umidade controlada a 75% e empregando CaCl₂ como dessecante) (FAKHOURI *et al.*, 2009) e de 3,59 a 7,45 g mm m⁻² d⁻¹ kPa⁻¹, nas mesmas condições descritas anteriormente (FAKHOURY *et al.*, 2012). Scopel *et al.* (2017) apresentam valores de permeabilidade ao vapor de água de 12 a 23 g mm m⁻² d⁻¹ kPa⁻¹ (em sistema ajustado para umidade interna e externa ao filme de 0 e 75%, respectivamente).

3.4.3.5. *Propriedades térmicas*

A cristalinidade parcial de filmes de gelatina, derivada da organização das cadeias polipeptídicas na forma de tripla hélice, resulta na presença de uma temperatura de fusão (T_m) dos filmes. O mesmo ocorre com o amido que, devido ao processo de retrogradação, adquire características de polímero semi-cristalino. Tem-se, portanto, duas temperaturas características em filmes de amido e gelatina: a de transição vítrea (T_g) e a de fusão (T_m).

Com relação à T_m da blenda de amido e gelatina, Tongdeesoontorn *et al.* (2012) notaram que a mesma foi menor se comparada aos polímeros usados individualmente. Os mesmos reportaram aumento da T_g com em função do aumento no teor de gelatina empregado, estando os dois fenômenos relacionados com a interação entre os dois polímeros.

O emprego ou aumento no teor de plastificantes reduz a temperatura de transição vítrea (T_g) da blenda amido e gelatina. Ele penetra entre as cadeias poliméricas, resultando em ligações de hidrogênio entre amido e plastificante ou amido e água (cujo teor nos filmes aumenta com a adição de plastificantes), diminuindo assim a densidade de ligações de hidrogênio entre as cadeias de amido e gelatina (ARVANITOYANNIS *et al.*, 1997), reduzindo a T_g.

Os filmes de amido e gelatina secos em temperaturas mais elevadas resultam em uma redução mais rápida do volume de água presente no sistema, o que leva as cadeias poliméricas a se encontrarem em um estado de maior empacotamento, impedindo que áreas de ligações intermoleculares cresçam. Já a menor temperatura de secagem permite maior mobilidade às cadeias, que formam maior número de ligações intermoleculares, tornando o polímero mais

rígido e, assim, aumentando a Tg dos filmes secos a menores temperaturas quando comparada à dos filmes secos em maiores temperaturas (ARVANITOYANNIS *et al.*, 1997).

Al-Hassan e Norziah (2012) apresentam valores de Tg para filmes de amido e gelatina que variam de 41 a 62°C. Já Arvanitoyannis *et al.* (1997) encontraram valores que variaram entre 33 e 74 °C. Com relação à Tm, segundo estudos de Al-Hassan e Norziah (2012), esta varia entre 129 e 158°C. Já Tongdeesoontorn *et al.* (2012) encontraram valores que variaram de 111 a 149 °C.

3.4.3.6. *Cristalinidade*

A cristalinidade em polímeros vem de uma estrutura periódica em três dimensões obtida pela organização de estruturas helicoidais com eixos posicionados paralelamente uns aos outros. Estruturas estas então empacotadas lateralmente de forma regular (STROBL, 2007).

A cristalização do amido deve-se à reorganização das suas cadeias moleculares de amilose e amilopectina durante a secagem e envelhecimento do mesmo após rompimento do grânulo e distribuição randômica destas cadeias no processo de gelatinização (RINDLAV-WESTLING *et al.*, 1998; ROMERO-BASTIDA *et al.*, 2015). Por sua vez, a gelatina, quando resfriada após dissolução em meio aquoso aquecido, recobra parcialmente a estrutura de tripla hélice do colágeno, o que lhe confere seu grau de cristalinidade (DAMMAK; LOURENÇO; SOBRAL, 2019; WANG *et al.*, 2017a).

A incorporação de gelatina na matriz do amido reduz as forças intermoleculares entre as cadeias de amido e reduz parcialmente a cristalinidade deste, assim como a incorporação de amido a filmes de gelatina reduz a reconstituição da estrutura de tripla hélice desta. Assim, a interação entre os dois polímeros resulta em uma redução no grau de cristalinidade da blenda (TONGDEESOONTORN *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2017a).

3.4.3.7. *Aplicação*

Filmes poliméricos de amido e gelatina são comumente estudados para aplicações na indústria alimentícia, na forma de embalagens (ACOSTA *et al.*, 2015; AL-HASSAN; NORZIAH, 2017; ARVANITOYANNIS; NAKAYAMA; AIBA, 1998b; FAKHOURI *et al.*, 2009; ZHONG; XIA, 2008). A adição de substâncias como óleos essenciais e etil lauril arginato pode conferir

propriedades antifúngicas aos filmes de amido e gelatina empregados como embalagens para alimentos (ACOSTA *et al.*, 2016; MORENO *et al.*, 2017).

Há também registro de estudos onde filmes de amido e gelatina são aplicados na biomedicina, especialmente em sistemas de liberação de drogas (GARCIA *et al.*, 2017; GARCIA *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2013). Por fim, cita-se a possibilidade de emprego de filmes de amido e gelatina na agricultura (SCOPEL *et al.*, 2017).

3.4.3.8. Reticulação de amido e gelatina

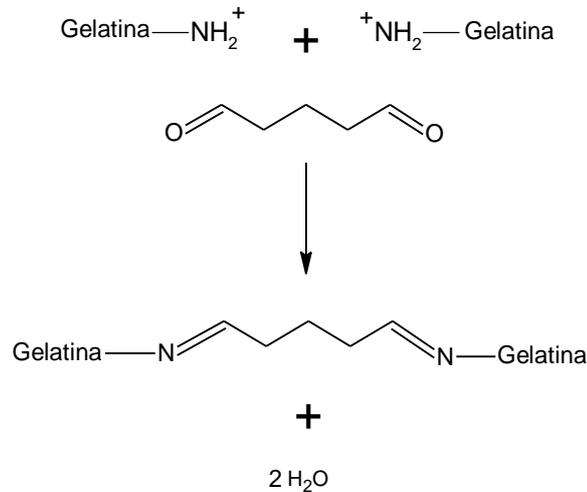
De acordo com de Paoli (2008), polímeros formados, por exemplo, por amido e gelatina, são caracterizados por serem polímeros hidrobiodegradáveis. Nestes, a hidrólise da molécula polimérica leva à formação de moléculas menores usadas como nutrientes por microorganismos. Segundo os autores, este aspecto implica na utilização destes polímeros apenas em aplicações em que não haja contato com água, o que limita seu uso.

Uma das maneiras de diminuir a interação de filmes de amido e gelatina com água é por meio de sua reticulação. Dentre os estudos aqui previamente apresentados sobre a produção de filmes de amido e gelatina, apenas três destacam os efeitos da reticulação dos filmes. Martucci e Ruseckaite (2009a) e Martucci e Ruseckaite (2009b) indicam a redução na biodegradação dos filmes reticulados e Al-Hassan e Norziah (2017) apresentam maior resistência mecânica e menor solubilidade dos filmes reticulados com transglutaminase.

Além do processo citado com transglutaminase, a reticulação da gelatina pode ser realizada por meio da adição de agentes químicos como o tereftaladeído (BISCARAT *et al.*, 2015) e glutaraldeído – mais amplamente estudado na reticulação de colágeno para aplicações biomédicas (RAMSHAW, 2016; SILVIPRIYA *et al.*, 2015). Lactose, um subproduto da extração de proteína a partir do soro de leite (BALDASSO *et al.*, 2016), também pode ser empregada nesta reticulação (ETXABIDE *et al.*, 2016; ETXABIDE *et al.*, 2017; ETXABIDE *et al.*, 2015). Em todos os estudos citados, a formação de ligações cruzadas resultou em uma menor solubilidade/menor hidrofobicidade do material em questão.

A reticulação promovida pelo glutaraldeído ocorre devido às ligações entre grupamentos amina da gelatina e hidroxila do glutaraldeído, conforme apresentado na Figura 8 (ENGLERT *et al.*, 2007). Há também o registro de reticulação de cadeias de amido pelo glutaraldeído (PHROMSOPHA; BAIMARK, 2014).

Figura 8 - Representação da reação de reticulação da gelatina com glutaraldeído.



Fonte: o autor

3.4.4. Filmes poliméricos aplicados na agricultura

De acordo com a Agriculture, Plastics and Environment Europe (APE, 2015a), o polietileno representa 60% (aproximadamente 502.000 toneladas) do total dos polímeros usados na agricultura. Apenas 43% dos materiais poliméricos de agricultura usados na Europa são recolhidos do solo, sendo que metade deste percentual é reciclado. Visto que o polietileno não é um material biodegradável, presume-se que haja um acúmulo de quantidade substancial deste material no meio ambiente.

Em vista da problemática apresentada pelo uso de polietileno como cobertura de solo, filmes poliméricos biodegradáveis vêm sendo estudados como alternativa para uso na agricultura. Poli(ácido lático) (PLA), blendas de copoliéster e amido são alguns dos materiais empregados na produção destes filmes (LI *et al.*, 2014; TOUCHALEAUME *et al.*, 2015).

A origem da gelatina empregada na produção dos filmes poliméricos deste trabalho (resíduo contendo cromo) limita as aplicações na indústria de alimentos e na indústria de polímeros com aplicação médica. A aplicação deste polímero na agricultura, por outro lado, surge como uma alternativa viável. Pati e Chaudhary (2015) testaram o uso de proteína hidrolisada extraída de RCCC em plantação de soja. Nogueira *et al.* (2010) indicaram que o colágeno extraído de RCCC com adição de fósforo e potássio é uma promissora alternativa aos fertilizante NPK tradicionais. Oliveira *et al.* (2008) concluíram em seu estudo que RCCC, após extração do cromo, atuou como uma fonte de nitrogênio para capim-elefante semelhante ao nitrogênio obtido por fertilizantes minerais.

Duas aplicações foram então levantadas como possíveis para os filmes aqui produzidos: cobertura de solo e fita de plantio. A preferência por uma ou outra aplicação depende das propriedades dos filmes obtidos.

Coberturas de solo são filmes aplicados sobre o solo de cultivo com perfurações que permitem o plantio e crescimento dos cultivos. Elas são aplicadas em cultivos agrícolas a fim de manter a umidade do solo, regular sua temperatura e controlar o crescimento de ervas daninhas (TOUCHALEAUME *et al.*, 2015). As coberturas poliméricas têm sido usadas desde o século XX. O aumento na produtividade e a diminuição no uso de herbicidas e pesticidas são alguns dos resultados obtidos a partir desta prática (BRIASSOULIS, 2007).

Em estudo de Dang; Shan e Chen (2016) foi avaliado o emprego de cobertura de solo líquida (em *spray*) produzidos a partir de gelatina degradada (obtida de resíduos de couro curtido ao cromo) e de amido de milho oxidado. Os autores reportaram boa propriedade de retenção de água no solo e melhora no crescimento de mudas de canola, se comparado ao solo sem aplicação da cobertura de solo em *spray*.

Fitas de plantio consistem em fitas às quais sementes são afixadas na distância e quantidade adequada ao crescimento de uma determinada cultura. Após a produção, elas são enroladas para armazenamento. Fitas de plantio facilitam e agilizam o plantio, além de garantir tratamento individual das sementes e distribuição homogênea de micronutrientes. O plantio consiste na abertura de um sulco na terra e aplicação da fita, que é desenrolada no sulco e então coberta por terra. As fitas são geralmente produzidas a partir de fibras de celulose (MILLINGTON, 2018; NICOLSI, 2016). Não encontrou-se na literatura citação do uso de gelatina na produção de fitas de plantio. Entretanto, devido ao teor de nitrogênio presente na mesma, a fita de plantio contendo gelatina, ao ser degradada no solo, poderia inclusive fornecer nutriente para as culturas plantadas. Ela configura, assim, uma possível aplicação para os filmes produzidos a partir de amido e gelatina do RCCC.

Com relação aos efeitos de uma possível concentração de cromo residual da gelatina extraída de RCCC no solo, enquanto que o Cr VI possui elevada mobilidade no solo, o Cr III possui baixa mobilidade, sendo fortemente adsorvido por partículas do solo; ele ganha apenas uma mobilidade parcial em solos ácidos. Assim, nem todo o cromo presente em fertilizantes (ou nos filmes poliméricos) torna-se disponível para as plantas ou é transferido para a solução do solo (onde a maior parte das reações químicas do solo ocorrem) (ERTANI *et al.*, 2017). De acordo com Ciavatta e Sequi (1989), quando avaliado o uso de RCCC como fertilizante em um experimento de 300 dias, apenas um percentual de 0,5 a 2,0% do cromo presente no resíduo

tornou-se disponível ao solo ou plantas (cromo extraído do solo pelo uso de água ou de um agente quelante, o EDTA). De acordo com os autores, isto ocorre mesmo havendo degradação constante da matéria orgânica do resíduo e, portanto, constante liberação de Cr, que acaba sendo insolubilizado no solo.

Assim como no solo, em água o Cr III tende a precipitar-se em elevados valores de pH e ganha maior solubilidade em pH ácido, enquanto que o Cr VI é solúvel em todas as faixas de pH. Ainda que não seja comum, a conversão do Cr III em Cr VI pode ocorrer no solo quando em condições ambientais favoráveis – pH ácido e presença de MnO₂ (ERTANI *et al.*, 2017).

Ainda que o Cr III seja um nutriente essencial para o ser humano e outros animais, atuando no controle de níveis de açúcares e lipídeos no sangue (BHATTACHARYA; MISRA; HUSSAIN, 2016), em elevadas concentrações ele apresenta um grau de toxicidade moderada. O Cr VI, por sua vez, é classificado como elemento de toxicidade extrema por inalação ou ingestão, além de ser um composto cancerígeno (EPA, 2000). Em nenhum de seus estados de oxidação o Cr é um elemento essencial às plantas. O Cr VI e, quando em elevadas concentrações, também o Cr III, é tóxico, prejudicando a germinação, crescimento de raízes e desenvolvimento de folhas em plantas (ERTANI *et al.*, 2017). Sendo assim, salienta-se a importância de manter-se a concentração de Cr III na gelatina extraída do RCCC o mais baixa o possível para sua aplicação na agricultura.

3.5. CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E INOVAÇÕES

Esta revisão da literatura, além de prover o embasamento teórico para entendimento desta pesquisa, fornece as evidências necessárias para caracterização da inovação presente neste trabalho.

Conforme aqui apresentado, tem-se registro de apenas um processo de extração de gelatina de RCCC empregando-se explosão a vapor (CHEN *et al.*, 2015). Não há, entretanto, preocupação alguma com o tempo de processo neste registro, visto que o resíduo passa por pré-tratamento que pode durar de um a três dias antes da realização da explosão a vapor. Além disso, não são fornecidos dados mais detalhados das condições empregadas nem da caracterização do produto obtido.

Em trabalho realizado por nosso grupo de pesquisa resultou em processo de extração de gelatina (por hidrólise alcalina) longo (6 h) que, quando de alto rendimento (48,7%) associa-se com alta solubilização de cromo para a gelatina (38,7 mg/L) e que quando apresenta baixa

solubilização de cromo para a gelatina ($<0,04$ mg/L), torna-se um processo de baixo rendimento (9,2%) (SCOPEL *et al.*, 2016).

O uso da explosão a vapor na extração de gelatina de RCCC, sem longo período de imersão do resíduo em meio aquoso alcalino, consiste no primeiro aspecto inovador aqui abordado. Ela poderá atuar como pré-tratamento para posterior hidrólise alcalina (a fim de aumentar o rendimento do processo) ou como processo principal de hidrólise do RCCC para posterior extração da gelatina (a fim de reduzir o tempo de processo e manter elevados rendimentos).

O estudo prévio da blenda de amido e gelatina extraída de RCCC, iniciado em trabalhos (da mesma autora) que precedem esta pesquisa, foi realizado com a gelatina sem qualquer tipo de purificação (SCOPEL *et al.*, 2017). A gelatina obtida na pesquisa atual, após remoção de sais, deverá formar blendas poliméricas com o amido de milho com propriedades diferentes das anteriormente obtidas. Isto caracteriza, portanto, o segundo aspecto inovador deste trabalho.

Devido à origem da gelatina (resíduo), aplicações mais técnicas (e não ligadas à produção de embalagens para alimentos) são as mais adequadas para este material. A aplicação como cobertura de solo apresenta vantagens como o emprego de matéria-prima biodegradável (não havendo necessidade de remoção da cobertura após o uso, mas apenas sua mistura com o solo) e a possibilidade de o nitrogênio proveniente da proteína atuar como nutriente no solo. Entretanto, a viabilidade técnica desta aplicação depende diretamente da obtenção de filmes menos hidrofílicos e, portanto, que sofram menos os efeitos provocados pela umidade presente no solo. Uma das maneiras apresentadas para redução da hidrofiliabilidade de blendas de amido e gelatina é a reticulação das cadeias poliméricas. Ainda que estudos específicos sobre reticulação de gelatina com glutaraldeído existam na literatura, estudos das alterações das propriedades de filmes poliméricos produzidos com a blenda amido e gelatina e este agente reticulante não foram encontrados. Tem-se então o terceiro aspecto inovador deste trabalho. A obtenção de filmes ainda solúveis, mesmo após reticulação, configura uma oportunidade para o teste dos mesmos como fitas de plantio. Neste caso, há também possibilidade de o nitrogênio proveniente da proteína atuar como nutriente no solo perante a degradação da fita.

Por fim, ainda que filmes poliméricos de amido, ou contendo amido, já tenham sido produzidos e aplicados como cobertura de solo, não há o registro de uso de filmes de amido e gelatina de RCCC para tal fim. O mesmo ocorre com as fitas de plantio, que são tradicionalmente produzidas a partir de fibras de celulose solúveis. A aplicação aqui proposta, portanto, confere o quarto aspecto inovador do presente trabalho.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo apresenta os materiais e métodos empregados nos três processos abordados neste trabalho: extração, concentração e purificação de gelatina a partir de RCCC; produção de filmes poliméricos a partir da gelatina de RCCC e comercial; e aplicação dos filmes na agricultura.

Os ensaios aqui apresentados foram realizados no Laboratório de Energia e Bioprocessos (LEBIO), Laboratório de Polímeros (LPOL), Laboratório de Operações Unitárias (LAOP), Laboratório de Membranas e Materiais (LAMEM), Laboratório Central de Microscopia Prof. Israel Baumvol (LCMIC), Laboratório de Caracterização de Materiais (LCMat) e Laboratório de Química e Fertilidade do Solo (LQFS), pertencentes à Universidade de Caxias do Sul (UCS). Os ensaios de massa molar foram realizados pelo Laboratório de Cromatografia por Exclusão de Tamanho (LASEC) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

4.1. MATERIAIS

4.1.1. Extração e purificação de gelatina

O RCCC empregado na extração de gelatina foi obtido junto à empresa Peles Pampa (Portão – RS – Brasil). Ele é proveniente do processo de rebaixe do couro tipo *wet blue*. Foi coletado, homogeneizado e armazenado (ao abrigo da luz e em embalagens fechadas) volume de resíduo de um único lote suficiente para a execução de todas as etapas deste trabalho. O agente alcalinizante usado na hidrólise foi o óxido de cálcio grau PA (Cinética, Brasil).

As ultrafiltrações/diafiltrações foram realizadas com membrana Polyflux 17 L. Ela é uma membrana tubular de ultrafiltração produzida a partir de Polyamix (poliamida, poliétersulfona e polivinilpirrolidina), com área superficial de 1,7 m² e ponto de corte de aproximadamente 20 kDa. O pH da gelatina foi ajustado com ácido cítrico grau PA (Cinética, Brasil). Foi empregada água deionizada nas diafiltrações. Por fim, a conversão de Cr VI em Cr III foi realizada com sulfato de ferro II grau PA (NEON, Brasil).

4.1.2. Produção de filmes poliméricos

Gelatina extraída do RCCC, gelatina comercial incolor sem sabor de grau alimentício (Refeisucos, Brasil) e amido de milho nativo não modificado (Refeisucos, Brasil) foram empregados na produção de filmes poliméricos. Os filmes foram plastificados com glicerol grau P.A. (Cinética, Brasil) e reticulados com glutaraldeído 50% (Neon, Brasil).

4.2. EXTRAÇÃO DE GELATINA DE RCCC

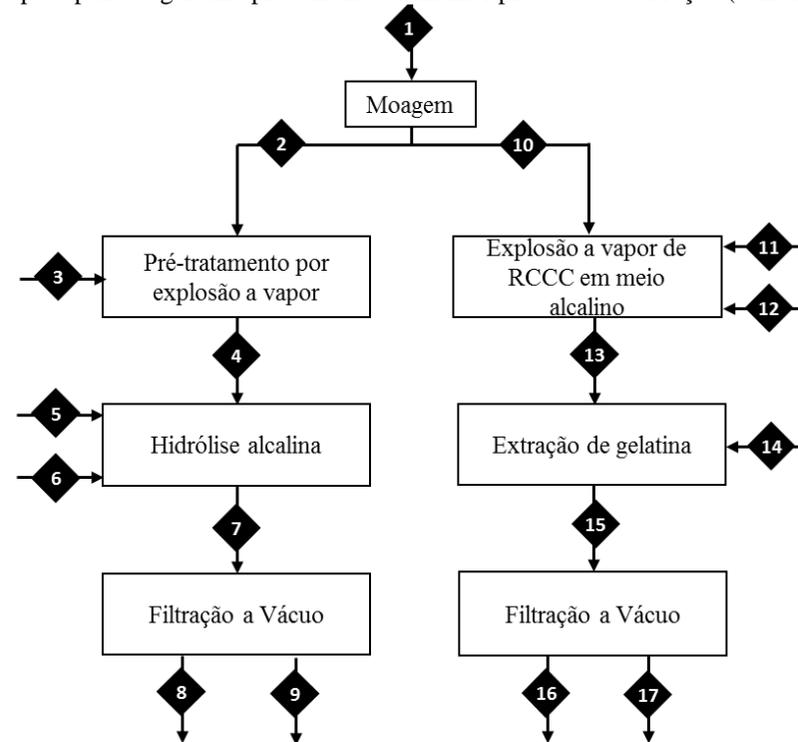
As Figuras 09 e 10 apresentam um fluxograma simplificado do processo de extração de gelatina do RCCC.

Dois métodos foram testados neste trabalho empregando explosão a vapor como auxiliar no rompimento das ligações cruzadas cromo-colágeno e colágeno-colágeno para a produção de gelatina. A diferença entre ambos consistiu no papel da explosão a vapor. No primeiro método, a explosão a vapor configurou um pré-tratamento do RCCC, que foi posteriormente hidrolisado em meio alcalino em *shaker*. No segundo método, a hidrólise alcalina do RCCC ocorreu dentro do próprio reator de explosão a vapor.

As diferentes condições testadas dentro de cada um dos dois processos de extração de gelatina possuíam como principal objetivo determinar uma condição ótima. Tal condição consiste naquela que melhor atende aos requisitos abaixo citados, avaliados no software *Statistica*, na função desejabilidade, indicando:

- a. Rendimento do processo: maior é melhor
- b. Teor de proteína medido pelo método de Lowry: maior é melhor
- c. Qualidade da gelatina – medida em termos do grau de degradação: menor grau de degradação é melhor, portanto é desejável:
 - i. Maior razão Lowry/NTK
 - ii. Maior razão Viscosidade/NTK
 - iii. Maior viscosidade

Figura 9 – Fluxograma do processo de extração de gelatina a partir de resíduos de couro curtido ao cromo (RCCC): da moagem à extração de gelatina. Segue para as próximas etapas apenas a gelatina proveniente do melhor processo de extração (corrente 17)

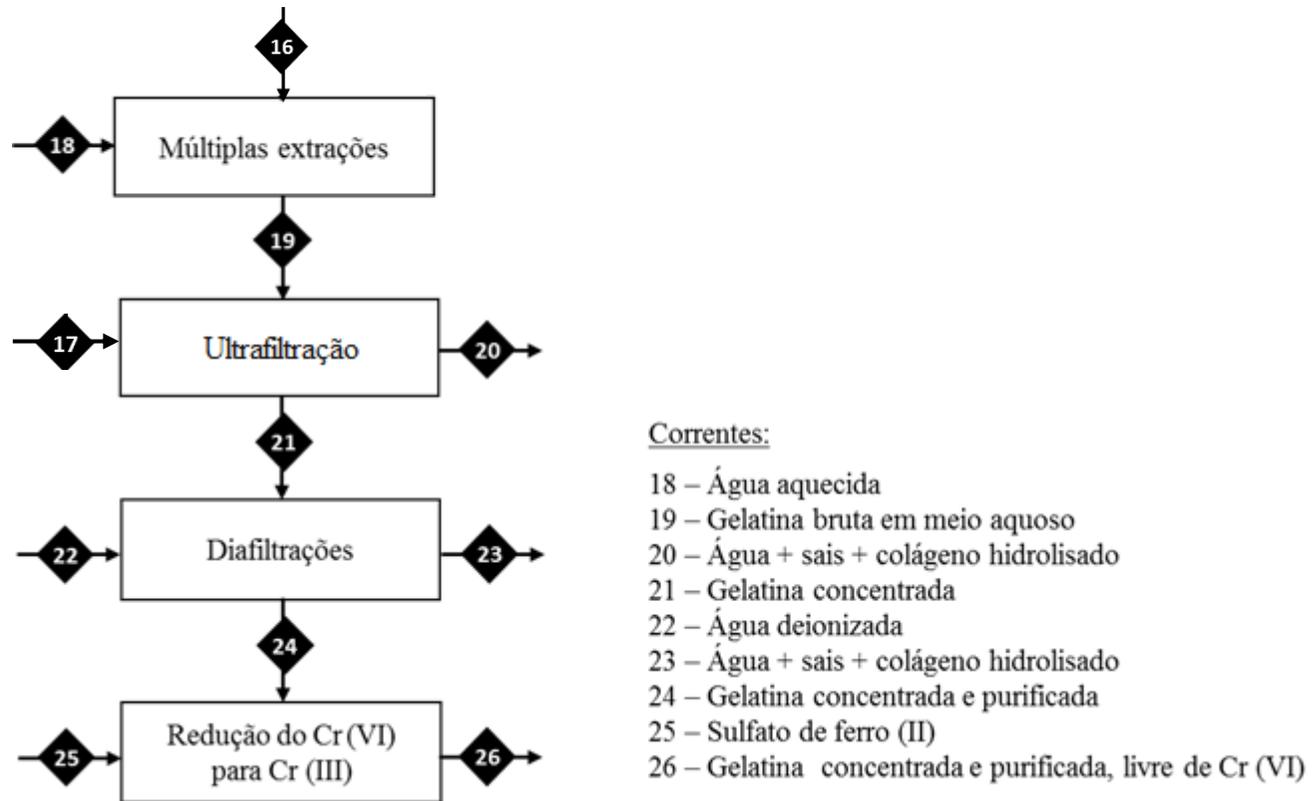


Correntes:

- | | |
|---|--|
| 1 – RCCC | 10 – RCCC moído |
| 2 – RCCC moído | 11 – Vapor de água |
| 3 – Vapor de água | 12 – Óxido de cálcio |
| 4 – RCCC pré-tratado por explosão a vapor | 13 – RCCC hidrolisado (mistura gelatina + torta sólida + água) |
| 5 – Óxido de cálcio | 14 – Água deionizada aquecida |
| 6 – Água deionizada | 15 – RCCC hidrolisado (mistura gelatina + torta sólida + água)
(<i>teor de água superior à corrente 13</i>) |
| 7 – RCCC hidrolisado (mistura gelatina + torta sólida + água) | 16 – Torta sólida |
| 8 – Torta sólida | 17 – Gelatina bruta em meio aquoso |
| 9 – Gelatina bruta em meio aquoso | |

Fonte: o autor

Figura 10 – Fluxograma do processo de extração de gelatina a partir de resíduos de couro curtido ao cromo (RCCC): das múltiplas extrações à redução do Cromo (VI) para Cromo (III).



Fonte: o autor

Em seguida, as duas melhores condições de extração de gelatina (uma de cada um dos diferentes processos testados) foram comparadas a fim de determinar qual seria a mais adequada tendo em vista os seguintes aspectos:

- a. Tempo de processo: menor é melhor;
- b. Eficiência de extração de gelatina: maior é melhor;
- c. Qualidade da gelatina – medida em termos do grau de degradação: menor grau de degradação é melhor;
- d. Teor de cromo dissolvido na gelatina: menor é melhor.

Apenas a gelatina produzida através do processo ótimo (explosão a vapor em meio alcalino com vapor saturado a 140°C e tempo de residência de 10 min) seguiu para as etapas indicadas na Figura 10. A seguir, as etapas empregadas na extração e purificação de gelatina são detalhadas.

4.2.1. Moagem do RCCC

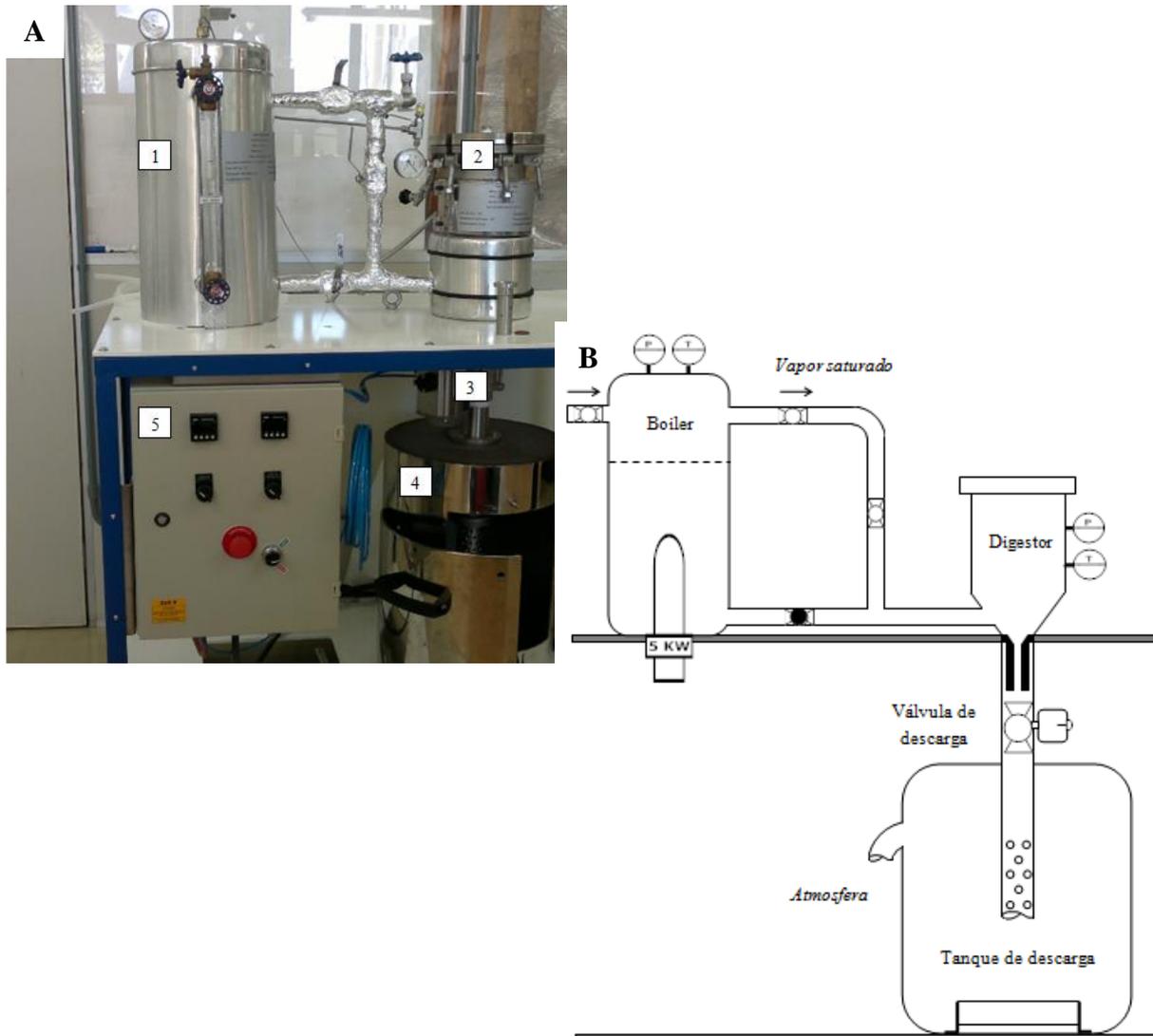
O RCCC foi previamente moído em sistema de facas a fim de torna-lo mais homogêneo e de aumentar sua área superficial. Aproximadamente 100 g do resíduo foram inseridas no sistema e moídas por 1 min. Aparas com mais de aproximadamente 7 mm de largura, por serem de difícil moagem, foram removidas do processo, que representou menos de 5% da massa total do RCCC.

4.2.2. Explosão a vapor – descrição do funcionamento do sistema

A Figura 11 apresenta uma foto e um desenho representativo do reator de explosão a vapor utilizado neste trabalho. Tuzzin *et al.* (2016) foi o responsável pelo projeto do equipamento que se encontra nas dependências do LEBIO - UCS. A operação do sistema inicia-se com aquecimento da água do boiler até a temperatura de vapor desejada. Concomitantemente, aquece-se a camisa do digestor até 105°C ± 5°C a fim de evitar-se que, ao entrar em contato com as paredes do digestor, o vapor gerado no boiler condense. Atingidas as temperaturas desejadas, a válvula de descarga é fechada, a amostra alimentada no digestor e sua tampa superior fechada. Abre-se a válvula que permite a passagem do vapor saturado do boiler para o digestor, que permanece aberta pelo tempo de permanência da amostra dentro do

boiler. Após este tempo, a válvula de vapor saturado é fechada e, em seguida, a válvula de descarga aberta, liberando o conteúdo do digestor para o tanque de descarga, que se encontra a pressão atmosférica. A amostra do RCCC, após explosão, era recolhida do tanque de descarga e armazenada em frascos fechados, a aproximadamente 4°C, para posterior processamento.

Figura 11 - Foto do reator de explosão a vapor utilizado no presente trabalho (A) e esquematização do reator (B): (1) boiler, (2) digestor, (3) válvula de descarga, (4) tanque de descarga, (5) painel de controle de temperaturas



Fonte: adaptado de Tuzzin *et al.* (2016).

4.2.3. Extração de gelatina por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor

Nesta metodologia, a explosão a vapor foi empregada como pré-tratamento do RCCC com o objetivo de abrir sua estrutura fibrosa, facilitando a extração de gelatina e, portanto, aumentando o rendimento do processo posterior de hidrólise.

Todos os testes de explosão a vapor foram realizados com 100 g de RCCC, aproximadamente, 50 g em base seca. A temperatura de vapor saturado, a pressão de vapor e o tempo de residência no digestor são apresentados na Tabela 5. A faixa de temperatura (130 a 150°C) e de tempo (5 a 15 min) do processo foi determinada por meio de testes prévios, que indicaram que temperaturas/tempos mais baixos não resultavam em melhorias no processo de extração de gelatina e temperaturas/tempos mais altos resultavam na degradação da gelatina posteriormente extraída.

Os ensaios de explosão a vapor foram realizados em triplicata. Para fins de comparação, uma amostra em branco não sofreu o processo de explosão a vapor, indo diretamente para o processo de hidrólise alcalina. Esta amostra está identificada como Branco (EV+HA).

As condições de ensaio descritas na Tabela 5, com exceção da amostra em branco, seguiram um planejamento experimental do tipo 2^k sem ponto central. Neste planejamento, $k = 2$ fatores: temperatura de vapor saturado e tempo de residência no digestor. A pressão de vapor de água saturado não caracterizou uma variável independente do processo visto que ela está intrinsecamente ligada à temperatura de vapor saturado.

Tabela 5 - Codificação e condições às quais as amostras de RCCC foram submetidas durante seu pré-tratamento por explosão a vapor para posterior hidrólise alcalina.

Código da amostra ¹	Temperatura de vapor de água saturado (°C)	Pressão de vapor de água saturado (bar) ²	Tempo de residência no digestor (min)
Branco(EV+HA)	--	--	--
130/5(EV+HA)	130	2,5	5
130/15(EV+HA)	130	2,5	15
150/5(EV+HA)	150	4,5	5
150/15(EV+HA)	150	4,5	15

¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/Tempo de residência no digestor processo de extração de gelatina. Sendo que: EV+HA= Explosão a vapor seguida de hidrólise alcalina.

² valor aproximado medido pelo manômetro

Posteriormente, na hidrólise alcalina, foi empregada uma massa total de RCCC pré-tratado por explosão a vapor equivalente a 25 g de massa seca deste material, 2 g de CaO e água suficiente para que a massa final a ser hidrolisada fosse igual a 302 g. A mistura foi hidrolisada em *shaker* de agitação orbital (MA 832, Marconi, Brasil) a 70°C, por 6 h e 180 rpm de agitação. Tais condições de hidrólise alcalina seguem a metodologia descrita por Scopel *et al.* (2016).

A mistura resultante da hidrólise foi separada em duas frações, torta sólida e gelatina em meio aquoso, por filtração a vácuo.

4.2.4. Extração de gelatina por explosão a vapor em meio alcalino de RCCC seguida de extração com água

Nesta metodologia de extração de gelatina, o processo de hidrólise do RCCC ocorreu dentro do reator de explosão a vapor, eliminando-se a hidrólise alcalina realizada em *shaker*.

A explosão a vapor foi realizada com 100 g de RCCC (aproximadamente 50 g em base seca) e 4 g de CaO. A razão entre massa seca de RCCC e massa de CaO foi igual à empregada na hidrólise alcalina do RCCC pré-tratado por explosão a vapor.

A temperatura de vapor saturado, a pressão de vapor e o tempo de residência no digestor empregados nos testes são apresentados na Tabela 6. Os ensaios de explosão a vapor foram realizados em triplicata. As condições de ensaio descritas na Tabela 6 seguiram um planejamento experimental do tipo 3^k . Neste planejamento, $k = 2$ fatores: temperatura de vapor saturado e tempo de residência no digestor. A pressão de vapor de água saturado não caracterizou uma variável independente do processo visto que ela está intrinsecamente ligada à temperatura de vapor saturado.

A sigla EVA indica que as amostras são provenientes do processo de explosão a vapor em meio alcalino. Após explosão a vapor, as amostras foram armazenadas sob refrigeração (a aproximadamente 4°C) para posterior extração de gelatina com água quente.

A faixa de temperatura (130 a 150°C) e de tempo (5 a 15 min) do processo foi determinada por meio de testes prévios, que indicaram que temperaturas/tempos mais baixos não resultavam em melhorias no processo de extração de gelatina e temperaturas/tempos mais altos resultavam em degradação da gelatina posteriormente extraída.

Tabela 6 - Codificação e condições às quais as amostras de RCCC foram submetidas durante o processo de explosão a vapor em meio alcalino

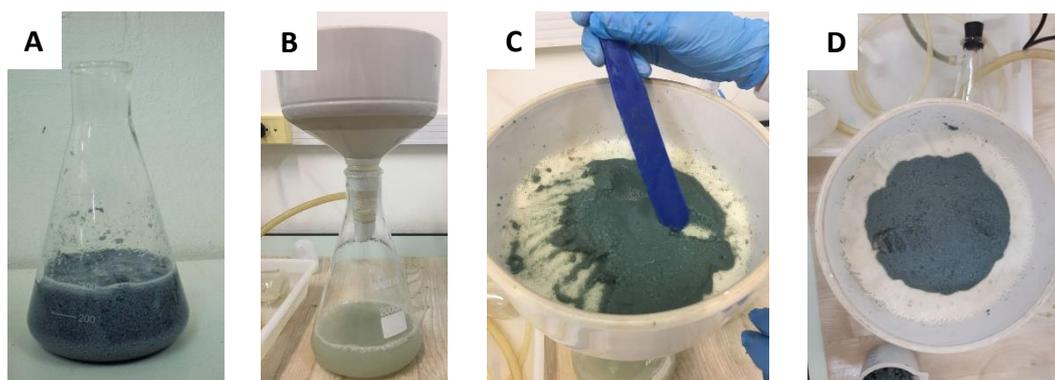
Código da amostra ¹	Temperatura de vapor de água saturado (°C)	Pressão de vapor de água saturado (bar) ²	Tempo de residência no digestor (min)
130/5(EVA)	130	2,5	5
130/10(EVA)	130	2,5	10
130/15(EVA)	130	2,5	15
140/5(EVA)	140	3,5	5
140/10(EVA)	140	3,5	10
140/15(EVA)	140	3,5	15
150/5(EVA)	150	4,5	5
150/10(EVA)	150	4,5	10
150/15(EVA)	150	4,5	15

¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/Tempo de residência no digestor processo de extração de gelatina. Sendo que: EVA= Explosão a vapor em meio alcalino.

² Aproximada – marcada pelo manômetro

O RCCC tratado por explosão a vapor em meio alcalino foi ambientado a 45°C, adicionada água deionizada a 100°C até que a massa total do sistema fosse de 302 g. A mistura foi agitada por 3 min e a separação das duas frações resultantes (torta sólida e gelatina em meio aquoso) foi realizada por filtração a vácuo. A Figura 12 apresenta imagens do processo descrito.

Figura 12 - Extração de gelatina: A) RCCC após explosão a vapor em meio alcalino + água a 100°C; B) sistema de filtração a vácuo em operação com gelatina separada no Kitassato; C) aparência do RCCC após explosão a vapor durante processo de filtração; D) aparência do RCCC após explosão a vapor no final do processo de filtração, dando origem à denominada torta sólida residual do processo



Fonte: o autor

A condição de extração de gelatina com água quente (empregando água a 100°C e agitação por 3 min) foi determinada a partir de testes prévios, conforme descrito no Apêndice A deste trabalho. Tais testes avaliaram o rendimento do processo de extração e a qualidade (grau de degradação) da gelatina extraída perante às condições de tempo e temperatura utilizadas.

4.2.5. Determinação do número de extrações sequenciais a serem empregadas na extração de gelatina de RCCC submetido a explosão a vapor em meio alcalino

O teste de extrações sequenciais (assim como a concentração e purificação da gelatina) foi realizado apenas para o processo considerado como o processo ótimo de extração de gelatina. Conforme será posteriormente detalhado na seção de Resultados e Discussão, esta condição foi a de explosão a vapor de RCCC em meio alcalino a 140°C por 10 min.

A realização de uma única extração de gelatina com água a partir do RCCC submetido a explosão a vapor em meio alcalino não remove por completo a proteína solúvel presente no mesmo. Testou-se então a extração de gelatina com uma, duas e três extrações sequenciais.

As extrações sequenciais foram realizadas repetindo-se o processo de extração com água quente. O RCCC submetido a explosão a vapor em meio alcalino foi ambientado a 45°C, adicionados 180 mL de água a 100°C e filtrado a vácuo, separando gelatina da torta residual. Este processo foi repetido por mais duas vezes.

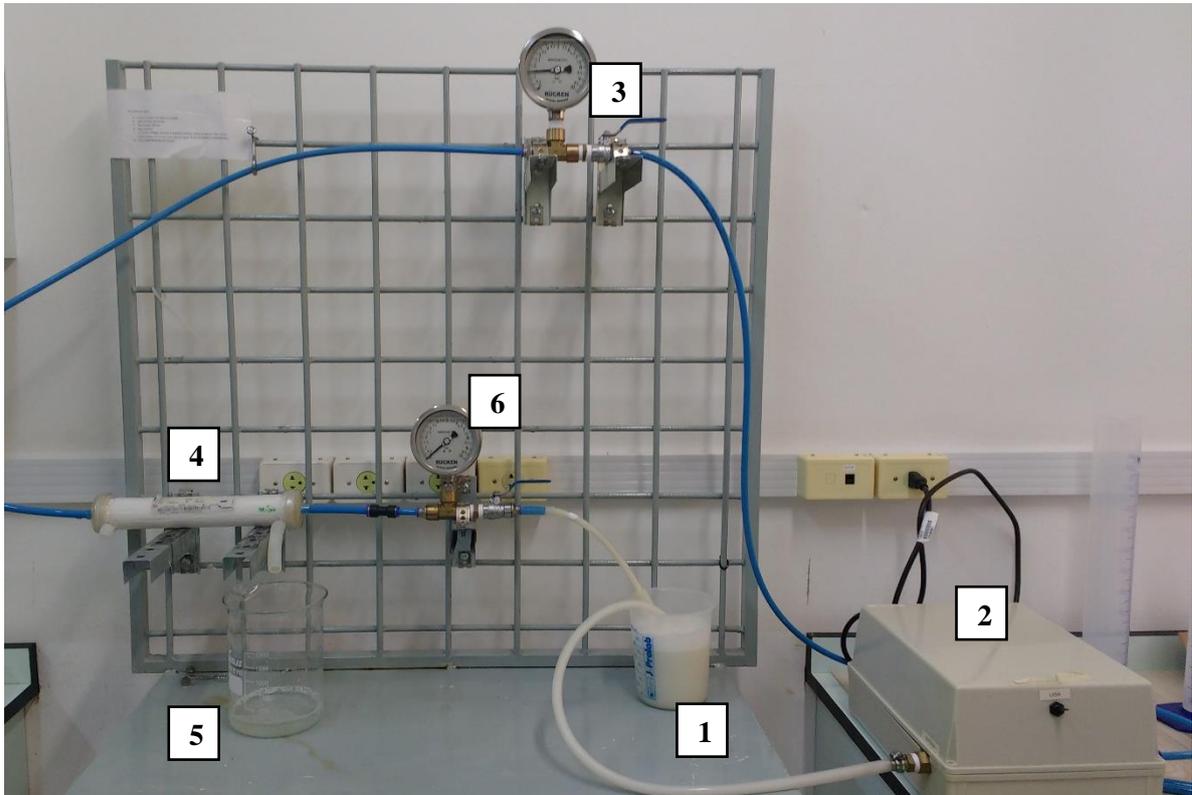
A avaliação do número de extrações sequenciais foi feita baseando-se no aumento do rendimento de extração de gelatina (desejável), o aumento no teor de cromo extraído (indesejável) e a diminuição da qualidade da gelatina extraída (indesejável).

4.2.6. Concentração e purificação da gelatina

A ultrafiltração foi empregada na concentração da gelatina, seguida de um processo de diafiltração, com a mesma membrana, para purificação. A Figura 13 apresenta o módulo usado no processo.

A passagem pelo módulo de membrana inicia pela inserção de um recipiente com a amostra inicial em meio aquoso no local indicado como “tanque de alimentação/concentrado”. A amostra é então succionada pela bomba, passando pela membrana. Partículas maiores do que os poros da membrana (gelatina não degradada) voltam ao concentrado. Substâncias menores do que os poros da membrana (água, sais e colágeno hidrolisado) permeiam e são coletadas no permeado. O sistema recircula o concentrado até que seja atingida a condição desejada (medida como redução de volume de concentrado ou como volume coletado no permeado).

Figura 13 – Módulo de membrana empregada na ultrafiltração e diafiltração de gelatina: (1) tanque de alimentação/concentrado; (2) bomba; (3) manômetro de entrada; (4) membrana; (5) permeado; (6) manômetro de saída.



Fonte: o autor

Para a concentração, 1500 mL de gelatina foram recirculados até redução a $\frac{1}{4}$ do volume original, eliminando-se os $\frac{3}{4}$ restantes no permeado. Para a realização das diafiltrações, adicionou-se ao concentrado água deionizada o equivalente a três vezes o volume de concentrado resultante do processo anterior. A água adicionada solubilizou os sais presentes no concentrado e permitiu a eliminação dos mesmos no permeado, purificando a gelatina. Foram realizadas três diafiltrações em sequência a fim de verificar até qual diafiltração ocorria diminuição significativa no teor de sais da gelatina. Os volumes de permeado, concentrado e água deionizada envolvidos no processo estão descritos na Tabela 7.

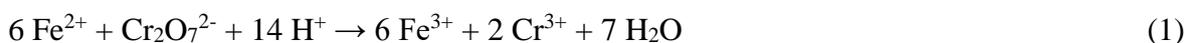
Tabela 7 - Volumes de permeado/concentrado/água deionizada envolvidos nos processos de diálise e diafiltrações.

Processo	Volume de água adicionada (mL)	Volume de concentrado alimentado (mL)	Volume total alimentado (mL)	Volume de permeado (mL)	Volume de concentrado (mL)	Volume de concentrado removido para caracterização (mL)
Ultrafiltração (concentração)	0	0	1500	1125	375	50
Diafiltração 1	975	325	1300	975	325	50
Diafiltração 2	825	275	1100	825	275	50
Diafiltração 3	675	225	900	225	225	225

A concentração e purificação da gelatina foi realizada em duas diferentes condições de pH (ajustados na gelatina em meio aquoso antes do início do processo): pH 10,5 (não houve necessidade de ajustes, visto que é o pH em que a gelatina é extraída), e pH 7,5 (ajustado com ácido cítrico). Estas variações visaram verificar a possibilidade de obter maior aumento da concentração de gelatina e maior redução no teor de cromo e sais em um dos valores de pH.

4.2.7. Conversão do cromo hexavalente residual da gelatina em cromo trivalente

A conversão do cromo hexavalente residual na gelatina foi obtida com sulfato de ferro II. O cromo hexavalente reage com sulfato de ferro II formando cromo trivalente, de acordo com a reação da Equação 1:



As massas de FeSO_4 indicadas na Tabela 8 foram testadas para a redução do cromo VI em III de 10 mL de gelatina. A faixa de massas aqui testada foi determinada em testes preliminares de redução do cromo, empregando-se massas maiores e menores de FeSO_4 do que as aqui apresentadas. O FeSO_4 foi diluído a 100 mg/L em água. Em cada ensaio, o volume de solução de FeSO_4 indicado na Tabela 8 foi adicionado à gelatina em temperatura ambiente e o sistema foi agitado por 5 min.

A presença de cromo VI residual na amostra foi indicada pela formação do complexo de coloração rosa do metal com a difenilcarbazida. Para a ocorrência de tal reação foram adicionados às amostras 1,0 mL de ácido fosfórico 50% (v/v) e 0,4 mL de difenilcarbazida 0,25% (m/v, em acetona).

Tabela 8 – Diferentes teores de sulfato de ferro (II) testados na redução do cromo (VI) para cromo (III) na gelatina extraída do RCCC

Amostra	Volume de solução de 100 mg/L de FeSO ₄ adicionado em 10 mL de gelatina (mL)	Massa de FeSO ₄ adicionada em 10 mL de gelatina (mg)	Massa equivalente de FeSO ₄ a ser adicionada a 1L de gelatina (mg)
1FeSO ₄	0,1	0,01	1
2FeSO ₄	0,2	0,02	2
3FeSO ₄	0,3	0,03	3
4FeSO ₄	0,4	0,04	4
6FeSO ₄	0,6	0,06	6
8FeSO ₄	0,8	0,08	8
10FeSO ₄	1,0	0,10	10

4.2.8. Caracterização do Resíduo de Couro Curtido ao Cromo

O RCCC foi caracterizado de acordo com seu teor de umidade, cinzas, cromo, pH e nitrogênio, além de ter sido submetido à análise térmica e à caracterização quanto à granulometria.

O teor de umidade foi determinado por meio de secagem da amostra a 100°C por 16 h de acordo com a *American Society for Testing and Materials (ASTM)*, método D3790 – 79 (*Standard test method for volatile matter –moisture- of leather by oven drying*). Foram realizadas seis medições de umidade do RCCC.

O teor de cinzas, por sua vez, foi determinado por meio de calcinação da amostra, previamente seca a 600°C por 4 h, de acordo com metodologia ASTM D2617 – 12: *Standard test method for total ash in leather*. Foram realizadas seis medições de teor de cinzas do RCCC.

O teor de cromo no RCCC foi determinado, em triplicata, segundo o método ASTM D2807-17a: *Standard test method for chromic oxide in leather – perchloric acid oxidation*. Alíquotas de 3 g de RCCC foram calcinadas a 600°C por 6 h para as cinzas resultantes serem digeridas com ácido nítrico, clorídrico e perclórico em chapa de aquecimento, ocorrendo então a oxidação do Cr⁺³ a Cr⁺⁶. A solução resultante do processo teve seu teor de cromo, representado como óxido de cromo III, determinado por iodometria por meio da titulação da amostra com tiosulfato de sódio 0,1 N empregando-se amido como indicador.

O pH do RCCC foi determinado pela imersão do RCCC em água (5 g do resíduo para 100 mL de água destilada), seguida de 4 h de agitação e determinação do pH resultante da

mistura. O ensaio foi realizado em triplicata de acordo com a ASTM D6657 – 16: *Standard test method for pH of wet blue*.

O teor de nitrogênio no RCCC foi determinado na forma de nitrogênio total Kjeldahl (NTK) por meio do método semi-micro Kjeldahl. A digestão da amostra e conversão do nitrogênio orgânico em amoniacal foi realizada com o auxílio de catalisadores ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Na_2SeO_3 e Na_2SO_4) em meio ácido (com ácido sulfúrico) a 350°C . A posterior destilação do extrato foi realizada em meio básico pela adição de NaOH, convertendo o nitrogênio amoniacal em amônia, fixada com ácido bórico e titulada com H_2SO_4 .

A temperatura de degradação do RCCC foi determinada por termogravimetria. Uma alíquota de 10 mg de amostra foi submetida a um aquecimento de 20 a 600°C a uma taxa de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ em atmosfera de nitrogênio. A análise foi realizada em um analisador térmico simultâneo (STA) (Jupiter 449, Netzsch, Alemanha).

A distribuição granulométrica do RCCC antes e após a moagem foi determinada em agitador eletromagnético (Tamis, Brasil) com peneiras da série Tyler (6, 10, 14, 20, 28 e 35 *mesh*). O ensaio foi realizado em triplicata com 45 g de RCCC previamente seco a 105°C até massa constante, mantendo-se a amostra no agitador por 30 min, em agitação máxima.

4.2.9. Caracterização do RCCC pré-tratado por meio de explosão a vapor e da torta residual do processo

O RCCC pré-tratado por explosão a vapor foi caracterizado de acordo com seu teor de umidade e cinzas, análises realizadas em triplicata, e teve seu comportamento sob aquecimento (temperatura de degradação) caracterizado seguindo-se a mesma metodologia empregada para o RCCC.

A torta sólida residual do processo de extração de gelatina foi caracterizada de acordo com seu teor de umidade e cinzas, em triplicata, seguindo-se as mesmas metodologias empregadas para a caracterização do RCCC

4.2.10. Caracterização da gelatina

A gelatina foi caracterizada de acordo com seu pH, massa seca, cinzas, viscosidade, teor de cromo (total e hexavalente) e proteína (pelos métodos de NTK e Lowry). Todas análises foram realizadas em triplicata.

O pH da gelatina foi medido com pHmetro (86502, AZ, Taiwan) logo após o processo de extração. As medições foram realizadas em volumes de 50 mL de amostra.

O teor de massa seca foi determinada por meio da secagem de aproximadamente 5 g de amostra a 105°C em estufa (DeLeo, Brasil) até massa constante. A massa seca de gelatina foi então submetida a aquecimento a 600°C em mufla por 2 h para determinação do teor de cinzas. As medidas de massa foram realizadas em balança analítica (AYU220, Shimadzu, Japão).

A viscosidade da gelatina foi determinada a 25°C empregando-se um viscosímetro Ubbelohd N° 1 para líquidos transparentes, seguindo-se metodologia ASTM D446-12 (*Standard specifications and operating instructions for glass capillary kinematic viscometers*).

O teor de proteína da gelatina foi determinado por duas diferentes metodologias: como nitrogênio total pelo método Kjeldahl (NTK) (seguindo-se a mesma metodologia apresentada para o RCCC); e como proteína total pelo método de Lowry (LOWRY; ROSEBROUGH; A.L. FARR, 1951).

Para o método de Lowry, preparou-se solução de sulfato de cobre pentahidratado e citrato de sódio (5 g/L e 10 g/L, respectivamente), originando o Reagente A. Seguiu-se pelo preparo de uma solução de carbonato de sódio e hidróxido de sódio (20 g/L e 4 g/L, respectivamente), originando o Reagente B. A mistura de 1 mL de Reagente A com 50 mL de Reagente B resultou no Reagente C. A uma alíquota de 1 mL de amostra foram adicionados 5 mL de Reagente C. A mistura ficou em repouso por 10 min e, então, foi adicionado a ela 0,5 mL de folin ciocalteu 2N 1:1 (v/v). A mistura foi agitada, mantida em repouso por 30 min e, posteriormente, teve sua absorbância medida em espectrofotômetro (Ionlab IL-226) em 750 nm. A quantificação de proteína foi realizada por equação obtida a partir de curva de calibração ($R^2 > 0,999$) produzida com albumina do soro bovino (BSA) na faixa de concentrações de 0,1 a 0,5 g/L.

O teor de cromo hexavalente na gelatina foi determinado pelo método colorimétrico da 1,5-difenilcarbazida de acordo com a ASTM D 1687 – 17 (Standard test methods for chromium in water – method A). Foram adicionados 0,2 mL de 1,5-difenilcarbazida 0,25 % (m/v, em acetona) e 0,5 mL de ácido fosfórico 50% (v/v) a 5 mL de amostra. A coloração rosa formada pela complexação do cromo VI pela 1,5-difenilcarbazida tem sua intensidade lida, após 15-30 min de descanso da amostra, em espectrofotômetro empregando-se comprimento de onda de 540 nm. A quantificação de cromo foi realizada por equação obtida a partir de curva de calibração ($R^2 > 0,999$) produzida com dicromato de sódio diluído de forma a obter soluções de cromo VI na faixa de concentrações de 0,1 a 5,0 mg/L.

Para a determinação do cromo total, as amostras de gelatina foram diluídas em água em proporção de 1:10. O cromo III presente na amostra foi oxidado a cromo VI sob aquecimento em chapa (20 min) com o uso de 0,8 mL de NaOH (0,1 mol/L) e 0,1 mL de peróxido de hidrogênio P.A. 35% para cada 20 mL de amostra. A amostra oxidada foi então resfriada e analisada seguindo-se a metodologia de quantificação de cromo VI (ASTM D 1687 – 92).

Também foi realizado ensaio para determinação do teor de cromo ligado à cadeia polipeptídica da gelatina e o teor de cromo solúvel na gelatina. Este ensaio se baseou no fato de a proteína em meio aquoso precipitar quando misturada com acetona gelada, o que não ocorre com o cromo solubilizado no meio. A precipitação da proteína a partir da gelatina em meio aquoso deve, portanto, separar o cromo solúvel (presente no sobrenadante) do cromo ligado à proteína (presente no precipitado). Para tal ensaio, 50 mL de gelatina foram misturados a 60 mL de acetona gelada (-4°C) a fim de precipitar a proteína. A mistura foi centrifugada a fim de separar a gelatina precipitada (precipitado) do sobrenadante. O precipitado foi redissolvido em 50 mL de água deionizada (a fim de dissolver cromo solúvel nele presente) e, novamente, a proteína foi precipitada com 60 mL de acetona gelada e a mistura separada por centrifugação. O segundo precipitado foi redissolvido em 50 mL de água e todas as frações resultantes do processo (sobrenadantes da primeira e segunda precipitação e precipitado final) foram analisados de acordo com metodologia de determinação de cromo total.

As concentrações de alumínio, cálcio, ferro, magnésio e sódio na gelatina foram determinadas seguindo-se metodologia do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMEWW) – Métodos 3111B – em espectrofotômetro de absorção atômica (Modelo Analyst 200, Perkin Helmer, EUA) por absorção atômica de chama direta de ar-acetileno. As amostras foram previamente digeridas com ácido nítrico e clorídrico de acordo com o Método 3030-E do SMEWW.

4.3. PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS

4.3.1. Caracterização da matéria-prima

Os ensaios de caracterização da matéria-prima foram todos realizados em triplicata. O teor de umidade do amido de milho e das gelatinas foi determinado pela secagem de 5 g das amostras a 105°C em estufa (modelo A35ED, DeLeo, Brasil) até massa constante. A medição

das massas das amostras em balança analítica (Modelo AUY220, Shimadzu, Japão) antes e após a secagem permitiu o cálculo da umidade das mesmas.

O teor de cinzas do amido foi determinado de acordo com a norma ASTM D2617-2017. Alíquotas de 5 g de amostra previamente secas foram submetidas a 600°C em forno do tipo mufla (modelo 1963, Fornitec, Brasil) por 4 h. A medição das massas das amostras em balança analítica antes e após terem sido calcinadas permitiu o cálculo do teor de cinzas, em base seca. Metodologia semelhante foi empregada na medição do teor de cinzas da gelatina, ajustando-se apenas o tempo do ensaio para 2 h, conforme indicado por Cabeza et al. (1998).

A massa molar da gelatina foi determinada por cromatografia por permeação em gel em equipamento Viscotek GPC Max VE-2001, com o uso de colunas 2SB-807 HQ e 2SB-806M HQ. NaNO₃ em solução aquosa foi empregado como fase móvel a 0,5 mL/min e 35°C.

A temperatura de gelatinização do amido foi determinada por meio de calorimetria diferencial de varredura (DSC), realizada em um instrumento de análise simultânea TG/DSC (STA, Jupiter 449, Netzsch, Alemanha). 2,5 g de amido foram dispersados em 100 mL de água deionizada e uma amostra desta dispersão foi disposta em cadinho de alumina com tampa. A dispersão foi então aquecida de 20 a 120°C a uma taxa de 10°C/min em atmosfera de nitrogênio, de acordo com metodologia apresentada por Karlsson & Eliasson (2003).

O teor de amilose do amido foi determinado pelo método espectrofotométrico recomendado por Martínéz & Cuevas (1989). Neste método, o amido é gelatinizado em meio alcalino na presença de álcool etílico. O meio é posteriormente acidificado e nele é adicionada solução de iodo, com o qual a amilose forma complexos de coloração azul. A leitura das absorvâncias das amostras foi realizada em espectrofotômetro (Modelo SP 22, Biospetro, Brasil) em comprimento de onda de 600 nm. Para o cálculo da concentração de amilose, uma curva de calibração ($R^2 > 0,999$) foi construída a partir de amilose pura. O teor de amilopectina foi calculado por diferença, considerando-se o somatório de amilose e amilopectina igual a 100%.

4.3.2. Produção dos filmes poliméricos

O Apêndice B trata dos ensaios realizados e aspectos levados em consideração na determinação do agente reticulante a ser empregado na produção dos filmes poliméricos: glutaraldeído ou lactose. No corpo deste trabalho, apenas os ensaios realizados com o glutaraldeído (agente reticulante escolhido para tal fim) são apresentados.

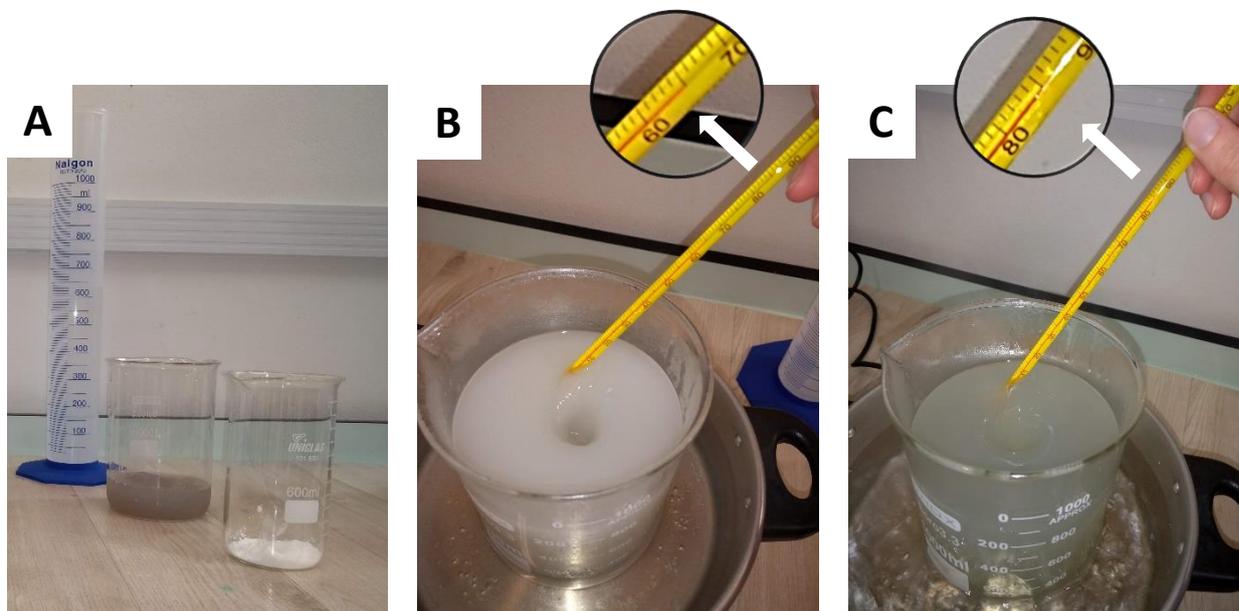
A avaliação da reticulação dos filmes de amido de milho e gelatina (comercial e de RCCC) pela ação do glutaraldeído foi realizada, primeiramente, verificando-se o efeito do agente reticulante individualmente sobre cada polímero citado, conforme planejamento apresentado na Tabela 9.

Tabela 9 – Planejamento experimental usado para estudar o efeito da reticulação promovida pelo glutaraldeído em filmes poliméricos produzidos a partir de amido, gelatina de RCCC e gelatina comercial.

Amostra	Principal Polímero	Concentração de glutaraldeído (% m/m)
A(0,0)	Amido	0,0
R(0,0)	Gelatina de RCCC	0,0
C(0,0)	Gelatina Comercial	0,0
A(3,0)	Amido	3,0
R(3,0)	Gelatina de RCCC	3,0
C(3,0)	Gelatina Comercial	3,0

Para tal, 6 g (em base seca) do polímero (amido, ou gelatina comercial, ou gelatina do RCCC) foram misturados em um total de 213 mL de solução filmogênica (volume completado com água deionizada) e aquecidos por 15 min a 85-90°C (temperatura necessária para gelatinização do amido) sob agitação de 150 rpm pelos primeiros 5 min, 100 rpm pelos 5 min seguintes e 50 rpm nos últimos 5 min (a redução da velocidade de agitação evitou a formação de bolhas na solução). O glicerol foi adicionado após o tempo final de agitação. A solução filmogênica foi resfriada até 25°C para posterior adição do glutaraldeído. O processo é apresentado na Figura 14.

Figura 14 - Produção da solução filmogênica a partir da gelatina de RCCC.: A) água deionizada, gelatina de RCCC e amido de milho antes de serem misturados; B) aspecto da mistura dos três componentes, em banho maria, antes de atingir a temperatura de gelatinização do amido de milho; C) aspecto da mistura dos três componentes, em banho maria, após atingir a temperatura de gelatinização do amido de milho.



Fonte: o autor

Deu-se sequência ao trabalho pela avaliação do efeito de diferentes concentrações do agente reticulante sobre as blendas de gelatina comercial e amido de milho, e de gelatina de RCCC e amido de milho, conforme Tabela 10. Todas as formulações foram produzidas em triplicata. Para tal, 4 g (em base seca) de gelatina (comercial ou de RCCC) e 2 g de amido de milho (em base seca) foram misturados em um total de 213 mL de solução filmogênica (volume completado com água deionizada). A solução foi produzida seguindo a metodologia apresentada acima.

Tabela 10 - Planejamento experimental usado para estudar o efeito da reticulação promovida por diferentes concentrações de glutaraldeído em filmes poliméricos produzidos a partir da blenda de amido e gelatina de RCCC ou gelatina comercial.

Amostra	Tipo de Gelatina	Concentração de glutaraldeído (% m/m)
AR(0,0)	Gelatina de RCCC	0,0
AC(0,0)	Gelatina Comercial	0,0
AR(1,5)	Gelatina de RCCC	1,5
AC(1,5)	Gelatina Comercial	1,5
AR(3,0)	Gelatina de RCCC	3,0
AC(3,0)	Gelatina Comercial	3,0

A solução filmogênica foi espalhada em placa de vidro (577 cm² de área) revestida com Teflon. Para que a solução filmogênica não escorresse, bordas removíveis, também revestidas com Teflon, foram fixadas na placa. Os filmes foram secos a 21°C (± 3°C) em umidade relativa de 60% (± 7%). O material foi armazenado em umidade relativa constante de 60% (mantida com solução saturada de nitrato de magnésio em ambiente fechado) até sua caracterização.

Figura 15 - Placas empregadas na secagem dos filmes.



Fonte: o autor

A fim de ter-se um branco, para as análises de FTIR e TG, foram também produzidas amostras contendo apenas os polímeros - amido, gelatina comercial e gelatina do RCCC – chamadas de BA, BC e BR, respectivamente. Elas passaram pelo mesmo processo de dispersão em água, aquecimento, resfriamento e espalhamento que as demais amostras.

4.3.3. Caracterização dos filmes poliméricos

4.3.3.1. Espessura

A espessura dos filmes foi determinada com o uso de um medidor de espessura de camadas (Modelo 345, Elcometer), capaz de medir espessuras variáveis de 0 a 12.500 µm com precisão de 2,5 µm. Foram realizadas 20 medições para cada amostra de filme.

4.3.3.2. Solubilidade

O ensaio de solubilidade foi realizado por meio de adaptação do método de (FAKHOURY *et al.*, 2012). Quatro amostras de cada filme, de dimensões iguais a 2 x 2 cm, foram secas em dessecador por 48 h para determinação de sua massa seca inicial. Elas foram então colocadas

em recipiente com 70 mL de água deionizada e agitadas em *shaker* de agitação orbital (MA 832, Marconi, Brasil) a 90 rpm por 24 h a 27°C. Após, as amostras foram novamente secas em dessecador (por 72 h) para determinação de sua massa final. O percentual de massa perdida durante as 24 h de agitação em meio aquoso corresponde à solubilidade do filme. As medidas de massa foram realizadas em balança analítica (Modelo AUY220, Shimadzu, Japão).

4.3.3.3. *Isotermas de sorção de água e umidade na monocamada*

Para a determinação das isotermas de sorção de água dos filmes, seis soluções salinas saturadas foram empregadas na manutenção de umidade constante em seis diferentes recipientes a 20°C seguindo metodologia da norma ASTM E 104-02: acetato de potássio (23%), carbonato de potássio (43%), brometo de sódio (60%), cloreto de sódio (75%), cloreto de potássio (85%) e sulfato de potássio (98%)

Amostras de 2 x 3 cm foram colocadas em recipientes de vidro previamente pesados, e então depositadas em cada um dos 6 recipientes com umidade controlada. A massa das amostras foi medida de 5 em 5 dias até o equilíbrio (variação de massa menor do que 0,0010 g). Após atingir o equilíbrio, as amostras foram secas a 105°C até massa constante para determinação de sua umidade de equilíbrio. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Os valores de umidade de equilíbrio em base seca foram então graficados em função da umidade relativa em valores decimais para obtenção das isotermas de sorção de água. O ajuste dos dados foi realizado no software Origin Pro 6.5 por meio de regressão não linear utilizando o modelo de Guggenheim-Anderson-deBoer (GAB), indicado na Equação (1):

$$U_e = \frac{M_0 \cdot C \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w)(1 - k \cdot a_w + C \cdot k \cdot a_w)} \quad (1)$$

Sendo U_e a umidade de equilíbrio (g água.g filme seco⁻¹), M_0 a umidade na monocamada molecular (g água.g filme seco⁻¹), C a constante de Guggenheim, relacionada à sorção na monocamada, k o fator de correção, relacionado à sorção na monocamada e a_w a atividade de água (umidade relativa decimal).

4.3.3.4. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (Pva) foi determinada em triplicata de acordo com o método descrito na norma ASTM E96-16. Em recipientes plásticos com 2,5 cm de diâmetro de abertura foram colocados 7 g de sílica gel 4-8 mm. As aberturas dos recipientes foram então cobertas com amostras dos filmes poliméricos, de forma que qualquer processo de transferência de massa de dentro para fora ou de fora para dentro do sistema ocorresse apenas através do filme. Esta célula de medida foi colocada em câmara de teste com umidade relativa controlada a 75% por meio de solução saturada de cloreto de sódio a 20°C e pressão atmosférica.

O fluxo de vapor no sistema ocorre de fora para dentro dos recipientes. A massa de água absorvida pela sílica (e, portanto, transferida através do filme) foi determinada pesando-se a célula de medida a cada 1,0 h por 8 h. (maiores tempos de medição foram previamente testados e resultaram nos mesmos valores de Pva). Utilizando-se dos dados de tempo e de pesagens das células de medida calculou-se, por regressão linear, a taxa de transmissão de vapor de água (Tva), conforme a Equação (2):

$$Tva = \frac{G}{tA} \quad (2)$$

onde Tva é a taxa de transmissão de vapor de água (g/dm²), G é a variação de massa da célula de medida (g), t é o tempo transcorrido durante G (dias - d) e A é a área superficial de transferência de massa do filme (m²).

A Pva foi então calculada de acordo com a Equação (3).

$$Pva = \frac{Tva \cdot x}{S(R_1 - R_2)} \quad (3)$$

onde Pva é a permeabilidade ao vapor de água do filme (gmm/dm²kPa), x é a espessura do filme (mm), S é a pressão de vapor (kPa) de água na temperatura do ensaio, 20°C, e R₁ e R₂ são as umidades relativas da câmara de teste (75%) e do interior da célula de medição (0%), respectivamente.

4.3.3.5. Grau de inchamento

Amostras de filmes secas com dimensões de 2x2 cm foram pesadas e, em seguida, submersas em água deionizada a 23°C. Após 5 h, os filmes foram retirados da água, cujo excesso foi removido ao posicionar-se as amostras sobre material absorvente. Os filmes foram

novamente pesados. O grau de inchamento, determinado em triplicata, foi calculado em função do percentual de massa de água absorvida em função da massa inicial do corpo de prova.

4.3.3.6. *Propriedades Mecânicas*

O método ASTM D882-2018 foi empregado na determinação da resistência à tração e alongamento na ruptura. Para cada filme, cinco corpos de prova de 2 x 10 cm foram armazenados a temperatura de $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $50 \pm 10\%$ (em ambiente com solução saturada de nitrato de magnésio) por pelo menos 40 h. Os corpos de prova foram então ensaiados em um máquina de testes universais (Emic, Modelo DL2000, Brasil) sendo submetidos a uma velocidade de ensaio de $25 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ com célula de carga com capacidade de 20 kN.

4.3.3.7. *Análise termogravimétrica*

A análise termogravimétrica dos filmes foi realizada em instrumento de análise térmica simultânea (Modelo Jupiter 449, Netzsch, Alemanha). Alíquotas de 10 mg das amostras, mantidas por 5 dias em dessecador antes da análise, foram submetidas a uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em atmosfera de nitrogênio ($50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) de 20 a 600°C .

4.3.3.8. *Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier*

As análises de FTIR foram realizados em triplicata em um espectrômetro de infravermelho com Transformada de Fourier (Nicolet IS10 Termo Scientific). O equipamento foi operado no modo de reflexão total atenuada (ATR) utilizando cristal de diamante. Foram realizadas 32 varreduras com uma resolução de 2 cm^{-1} na faixa de número de onda de 450 a 4000 cm^{-1} . A fim de evitar aparecimento de bandas de OH^{-} de água, as amostras foram secas a 60°C em estufa à vácuo por pelo menos 12h antes da realização das análises.

4.3.3.9. *Microscopia óptica*

Os filmes foram avaliados por microscopia óptica empregando-se microscópio trinocular com óptica infinita plana (TNB-40T-PL, Opton) com aumento de 40, 100, 400 e 1000 vezes.

4.3.3.10. *UV-Vis*

Os espectros de absorbância no UV-Vis dos filmes foram obtidos em um espectrofotômetro modelo EVOLUTION 60 da Thermo Scientific na faixa de 200 a 550 nm, Utilizou-se um suporte para filme e realizou-se a análise em triplicata.

4.3.3.11. *Cor*

A determinação de cor foi realizada em triplicata em espectrofotômetro Hunter Lab, com a sobreposição de seis corpos de prova de dimensões 3 x 3 cm.

4.3.3.12. *Difração de Raios X*

A análise de difração de raios X foi realizado em difratômetro de raios X (Shimadzu XRD-6000), à temperatura ambiente, nos ângulos de 2° a 40° e com passo de 0,03°.

4.3.3.13. *Análise Dinâmico-Mecânica*

Para os ensaios de DMA, amostras retangulares de aproximadamente 5,3 mm de largura e 2 cm de comprimento previamente acondicionadas a uma umidade relativa de 60% foram utilizadas. O ensaio foi conduzido com clamp de tração, a 1 Hz, com amplitude de 0,1% a uma taxa de 3°C/min de -20°C até início da fusão do polímero (aprox. 100 – 110°C). A Tg foi determinada como a temperatura máxima do pico do tan delta.

4.4. TESTE DE APLICAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS COMO FITAS DE PLANTIO – TESTE DE GERMINAÇÃO

O objetivo do teste de aplicação dos filmes foi verificar se fitas de plantio produzidas com gelatina (comercial e extraída de resíduos de couro curtido ao cromo) e amido de milho, reticuladas com glutaraldeído e não reticuladas, prejudicam/melhoram a germinação de sementes de alface, rabanete e repolho. Ressalta-se aqui que este é um teste preliminar. Uma avaliação completa realizada sob a perspectiva da agronomia, levando em consideração as necessidades específicas das culturas testadas permitirá uma conclusão definitiva sobre a melhor forma de aplicação dos filmes.

Empregou-se uma adaptação da norma que avalia a toxicidade de compostos dispostos no solo e seus efeitos sobre a germinação de determinadas culturas. A norma em questão é a OECD-208 (2006) Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. Na norma original, o material cuja toxicidade deseja-se testar é misturado ao solo onde sementes são plantadas. Na adaptação aqui empregada, as sementes ficaram em contato direto com as fitas de plantio de gelatina e amido. As fitas de plantio produzidas a partir das formulações abaixo foram empregadas:

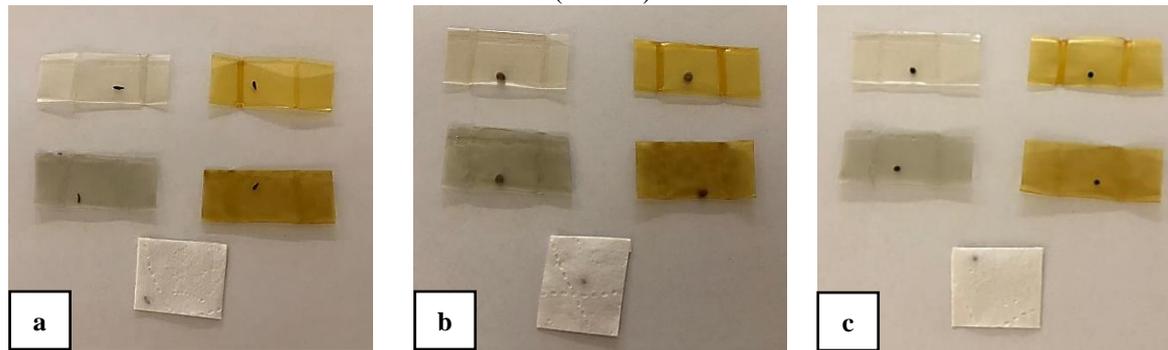
- a. AR(0,0) – amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo
- b. AR(3,0) – amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo + glutaraldeído
- c. AC(0,0) – amido + gelatina comercial
- d. AC(3,0) – amido + gelatina comercial + glutaraldeído
- e. Papel (tipo toalha com espessura de 0,05 mm)

Foram utilizadas sementes de alface, rabanete e repolho. As sementes adquiridas possuíam pelo menos 95% de percentual de germinação. A seleção das culturas foi realizada baseando-se nas indicações feitas pela norma adotada e no período do ano em que foi realizado o teste: março/abril.

Terra de jardim não adubada (conforme solicitação de norma) foi homogeneizada e peneirada em peneira 9 mesh Tyler. A terra empregada possui 45% m/v de argila, 11% m/v de areia e 44% m/v de silte, sendo classificado como Solo Tipo 3 – franco argiloso. Ainda, o pH do solo utilizado é igual a 5,0, e ele possui, em mg/dm³, teores de cálcio igual a 1040, potássio igual a 858, magnésio igual a 194, cobre igual a 7,1, zinco igual a 7,6, boro igual a 0,4, manganês igual a 24,1, sódio igual a 22,2. O teor de matéria orgânica é de 3,2%.

Em um primeiro teste, as sementes foram posicionadas entre duas camadas de filmes, que foram então seladas com uso de uma seladora (marca Araujo) para que as sementes pudessem ficar de fato contidas entre as duas camadas. As fitas produzidas com papel tiveram suas bordas coladas. A Figura 16 apresenta as fitas produzidas com a seladora.

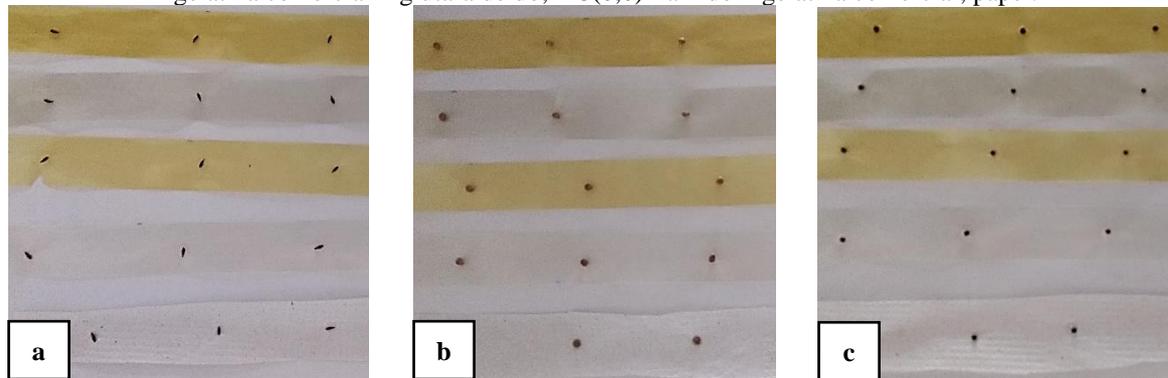
Figura 16 - Fitas de plantio contendo sementes de a) alface, b) rabanete, c) repolho; produzidas por selagem com filmes AC(0,0) - amido + gelatina comercial (esquerda superior); AC(3,0) - amido + gelatina comercial + glutaraldeído (direita superior); AR(0,0) - amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo (esquerda centro); AR(3,0) - amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo + glutaraldeído (direita centro); papel (inferior).



Fonte: o autor

Em um segundo teste, as sementes foram posicionadas sobre uma camada de filme ou papel e fixadas com auxílio de cola branca lavável. A Figura 17 apresenta as fitas produzidas com cola.

Figura 17 - Fitas de plantio contendo sementes de a) alface, b) rabanete, c) repolho; produzidas com cola branca usando, respectivamente, de cima para baixo: filme AR(3,0) - amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo + glutaraldeído; AR(0,0) - amido + gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo; AC(3,0) - amido + gelatina comercial + glutaraldeído; AC(0,0) - amido + gelatina comercial; papel.



Fonte: o autor

Cinco sementes de cada cultura foram plantadas para cada uma das 4 diferentes formulações de filmes de amido e gelatina testadas. Adicionalmente, cinco sementes de cada cultura foram plantadas usando uma fita de plantio feita de papel (a fim de comparar com fitas de papel disponíveis comercialmente) e sem fita de plantio alguma (grupo de controle).

As sementes foram posicionadas na profundidade indicada para plantio (0,5 cm para alface, 2,0 cm para rabanete e 1,0 cm para repolho) em floreiras com aproximadamente 2 kg de terra cada, conforme Figura 18. As floreiras tiveram seu fundo furado para evitar acúmulo de água e foram posicionadas em uma estufa que recebeu aproximadamente 5 h diárias de sol direto. As sementes foram regadas conforme necessidade, mantendo-se a terra sempre úmida, mas não encharcada.

Figura 18 – a) Fitas posicionadas na profundidade adequada antes do plantio; b) Estufa utilizada no teste de germinação



Fonte: o autor

O teste com as fitas produzidas com seladora durou 22 dias, enquanto que o realizado com as fitas produzidas com cola durou 19 dias. Ambos obedeceram ao requisito da norma que pede de 14 a 21 dias de teste após a germinação de 50% das sementes do grupo de controle. Durante o teste, foi realizado o controle de temperatura interna e externa à estufa e umidade interna.

Após o período do teste, as plantas que germinaram foram colhidas. Os seguintes aspectos foram avaliados para determinar se o uso da fita de plantio teve algum efeito sobre a germinação das culturas:

- a. Tempo necessário até a germinação;
- b. Percentual de sementes germinadas;
- c. Percentual de brotos sobreviventes ao período de teste;
- d. Massa úmida da planta;
- e. Massa seca da planta (determinada por secagem das plantas em estufa a 55°C até massa constante);
- f. Altura da planta;

4.4.1. Tempo necessário para deterioração dos filmes no solo

Quando utilizadas as fitas de plantio, a germinação e o desenvolvimento das plantas, inclusive de suas raízes, podem ter relação direta com o tempo necessário para que o filme se deteriore no solo, liberando a semente e permitindo brotação e enraizamento. É necessário, portanto, que uma estimativa deste tempo seja determinada.

Em potes plásticos separados, Figura 19, foram enterradas as fitas de plantio, com e sem sementes, na mesma terra utilizada no teste de germinação. Diariamente os filmes foram removidos da terra e a deterioração dos mesmos foi avaliada visualmente.

Figura 19 - Interior da estufa de plantio com as floreiras para teste de germinação e os potes com terra e fitas empregado para visualização da deterioração dos filmes.



Fonte: o autor

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com o Software Statistica 10 (Statsoft). A significância estatística dos fatores estudados foi determinada por meio de análise de variância (ANOVA), empregando-se nível de confiança de 95%. A diferença estatística entre médias foi determinada pelo teste de Tukey e, por fim, o ponto ótimo de alguns processos foi determinado por meio da função desejabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DO RCCC

A caracterização do RCCC é apresentada na Tabela 11. A reprodutibilidade dos processos de extração de gelatina depende diretamente das características do RCCC empregado no processo. Diferentes resíduos produzirão diferentes resultados experimentais, o que deve ser levado em consideração em possíveis tentativas de reprodução dos ensaios aqui descritos.

Os resultados apresentados na Tabela 11 estão de acordo com aqueles reportados por outros autores, que encontraram valores de pH entre 2,4 e 4,7, massa seca entre 45,9 e 49,5%, NTK entre 13,0 e 16,6% (em base seca) e Cr₂O₃ entre 2,4 e 4,7% (em base seca) (DETTMER *et al.*, 2014a; GAIDAU *et al.*, 2009; SCOPEL *et al.*, 2016; TAYLOR *et al.*, 1998b; TAYLOR *et al.*, 1992). Apenas o teor de cinzas encontrado para o RCCC aqui empregado (6,54% em base seca) está abaixo da faixa de 7,4 a 14,9% (em base seca) reportada por outros autores (DETTMER *et al.*, 2014a; GAIDAU *et al.*, 2009; SCOPEL *et al.*, 2016; TAYLOR *et al.*, 1998b; TAYLOR *et al.*, 1992).

Tabela 11 - Caracterização do RCCC empregado na extração de gelatina.

Parâmetro	Resultado
pH	3,40 ± 0,1
Massa seca (%)	48,1 ± 0,3
Cinzas (% base seca)	6,54 ± 0,05
Cromo (Cr ₂ O ₃ , % base seca)	4,56 ± 0,29
Nitrogênio (NTK % base seca)	14,6 ± 0,6

A moagem do RCCC resultou em redução de sua granulometria, conforme apresentado na Tabela 12. O diâmetro superficial médio das partículas reduziu de 0,36 para 0,27 mm. Já o percentual de resíduo retido na peneira da série Tyler, *mesh* 6, reduziu de 48,7 para 3,8%, enquanto que o percentual de resíduo que passou pela última peneira, *mesh* 35, aumentou de 8,2 para 53,1%.

Tabela 12 – Distribuição granulométrica do RCCC antes e após processo de moagem.

Peneira Tyler Mesh (abertura em mm)	% Retido	
	RCCC	RCCC moído
6 (3,36)	48,8	3,8
10 (2,38)	19,4	5,7
14 (1,41)	7,6	6,7
20 (0,841)	6,5	9,3
28 (0,592)	5,3	10,8
35 (0,500)	4,1	10,4
Panela	8,2	53,1

A Figura 20 apresenta amostras do RCCC antes e após a moagem. Conseguiu-se, com isso, obter uma matéria-prima mais homogênea para posterior processamento. A homogeneidade da amostra é de primordial importância. Amostras não homogêneas distribuem-se de maneiras diferentes no reator de explosão a vapor, sendo portanto submetidas a diferentes condições de processamento. Isto pode gerar alterações das características da gelatina extraída do RCCC que não são provocadas por diferentes condições de processamento, mas sim pela falta de homogeneidade das amostras. Além disso, a redução do tamanho médio da serragem de RCCC aplicada neste trabalho permite melhor ação do agente alcalinizante e da água durante a hidrólise alcalina do resíduo, visto que a área superficial do mesmo aumenta.

Figura 20 - Amostras de resíduo de couro curtido ao cromo, proveniente de processo de rebaixamento de couro Wet Blue, empregado na extração de gelatina: antes do processo de moagem (esquerda) e após o processo de moagem (direita).



Fonte: o autor

5.2. EXTRAÇÃO, CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DA GELATINA DE RCCC

A caracterização dos produtos obtidos a partir dos dois métodos de extração de gelatina testados será apresentada e discutida nos próximos itens deste trabalho, seguindo-se pela determinação do processo mais adequado de extração de gelatina. Por fim, os resultados obtidos na concentração e purificação da gelatina obtida pelo melhor processo serão apresentados.

5.2.1. Extração de gelatina por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor

A avaliação deste processo de extração de gelatina passa por duas etapas. Primeiramente precisa-se compreender os efeitos da explosão a vapor no RCCC, o que é realizado no item 5.2.1.1. Segue-se, então, para a avaliação da gelatina extraída a partir do resíduo pré-tratado, conforme apresentado no item 5.2.1.2.

5.2.1.1. *Pré-tratamento por explosão a vapor*

A Tabela 13 apresenta a caracterização físico-química do RCCC pré-tratado por explosão a vapor. A análise estatística completa dos resultados apresentados encontra-se no Apêndice C deste trabalho.

O teor de cinzas do RCCC, em base seca, variou após a explosão em 0,6% para mais e 0,4% para menos, se comparado ao RCCC antes do processo. As amostras submetidas à explosão a vapor apenas absorveram água proveniente do vapor. Elas não passam por qualquer processo de separação ou lixiviação, não ocorrendo alteração da composição do resíduo em termos de matéria inorgânica, quando representada em base seca. Mesmo a possível solubilização de compostos inorgânicos na água não deveria, portanto, alterar o teor de cinzas do resíduo. As diferenças reportadas no teor de cinzas, tanto entre as amostras após processo de explosão a vapor, como ao se comparar estas com o RCCC antes do pré-tratamento, podem ocorrer devido à falta de homogeneidade do resíduo empregado ou até mesmo a erros analíticos.

Tabela 13 - Caracterização do RCCC após pré-tratamento por explosão a vapor.

Código da amostra ¹	pH	Massa seca (% m/m)	Cinzas (% m/m, base seca)
RCCC	3,40 ± 0,10	48,1 ± 0,3	6,5 ± 0,05
130/5(EV+HA)	3,30 ± 0,04 ^A	23,4 ± 0,4 ^A	7,0 ± 0,3 ^A
130/15(EV+HA)	3,20 ± 0,01 ^B	17,7 ± 0,6 ^B	6,1 ± 0,5 ^B
150/5(EV+HA)	3,12 ± 0,02 ^{B,C}	17,8 ± 1,3 ^B	7,1 ± 0,2 ^A
150/15(EV+HA)	3,08 ± 0,02 ^C	13,3 ± 1,2 ^C	7,1 ± 0,3 ^A

¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/tempo de residência no digestor (processo de extração de gelatina). Sendo que: EV+HA= Explosão a vapor seguida de hidrólise alcalina.

* Ao avaliar os resultados de uma mesma coluna, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si (p-Valor < 0,05)

O uso de maior temperatura e tempo de residência no pré-tratamento do RCCC por explosão a vapor levou a uma diminuição significativa na massa seca do resíduo. O pré-tratamento mais agressivo provavelmente permitiu uma maior abertura das fibras do RCCC, permitindo que este absorvesse maior teor de água e, conseqüentemente, diminuísse sua massa seca.

Reduções de pH estatisticamente significativas (p-Valor < 0,05) foram verificadas com o aumento da temperatura e tempo de residência do resíduo no reator de explosão a vapor. Hedberg; Lidén e Wallinder (2015) atribuíram a redução de pH de couro curtido ao cromo em meio aquoso aquecido à liberação de constituintes do próprio couro, como ácidos. Zhang *et al.* (2017) reportaram reduções de pH de couro em meio aquoso devido ao efeito de “descurtimento” (quando as ligações cruzadas entre o cromo III e as cadeias proteicas são quebradas, revertendo o processo de curtimento) causado por um processo de biodeterioração empregando-se *Penicillium* sp. Isto liberaria cromo III para a solução e exporia os grupos carboxílicos dos ácidos glutâmico e aspártico, que são os principais grupos ligantes envolvidos no processo de curtimento de pele, causando redução no pH. Ainda de acordo com os mesmos autores, o descurtimento também reduziria a estabilidade térmica do RCCC. Isto pode ser observado nas curvas termogravimétricas da Figura 21 e na Tabela 14. Eles mostram uma redução na temperatura referente à perda de 25% da massa com o aumento do tempo e da temperatura de residência do RCCC no processo de explosão a vapor, variando a mesma de 325°C para o RCCC sem tratamento até 306°C para o resíduo tratado a 150°C e 15 min.

O primeiro evento de degradação verificado nas curvas TG do RCCC antes e após pré-tratamento por explosão a vapor tem seu pico deslocado para maiores temperaturas quando empregados 150°C no pré-tratamento do RCCC (de ~80 para 108 e 120°C em 5 e 15 min de

tratamento, respectivamente). Isto pode indicar a liberação de compostos de menor massa molar a partir do RCCC quando o resíduo é tratado em maiores temperaturas, compostos cujo evento térmico de degradação ocorre logo após o da evaporação de água.

Ainda, as curvas seguem o padrão apresentado por Banon *et al.* (2016). Elas apresentam um segundo evento de perda de massa (de cinética de decomposição mais rápida) entre 300 e 350°C, seguido por um terceiro evento de decomposição (de cinética de decomposição mais lenta) com taxa máxima a aproximadamente 410°C, detectado na DTG como um ombro. O segundo evento de perda de massa é relatado na literatura como o rompimento das ligações do colágeno, envolvendo sua decomposição em CO₂ bem como compostos NO_x. Já o terceiro evento de perda de massa é atribuído à degradação das cadeias de maior massa molar e dos agentes curtentes (BANON *et al.*, 2016). Quando empregada maior temperatura de pré-tratamento na explosão a vapor (150°C), este ombro aparece mais definido e separado do pico referente ao evento principal de degradação. O mesmo comportamento foi verificado por Banon *et al.* (2016) quando os autores trataram RCCC com NaOH sob condições mais agressivas.

Tabela 14 – Dados obtidos a partir da análise de termogravimetria das amostras avaliadas.

Amostra ¹	T (°C) (25% m/m)	TGA			Massa Residual (%)	DTG	
		%m1	%m2	%m3		Tp1 (°C)	Tp2 (°C)
RCCC	325	4	44	19	33	72	321
130/5(EV+HA)	325	4	44	19	33	82	322
130/15(EV+HA)	320	9	43	16	32	81	321
150/5(EV+HA)	311	10	43	13	34	108	314
150/15(EV+HA)	306	13	43	10	34	120	312

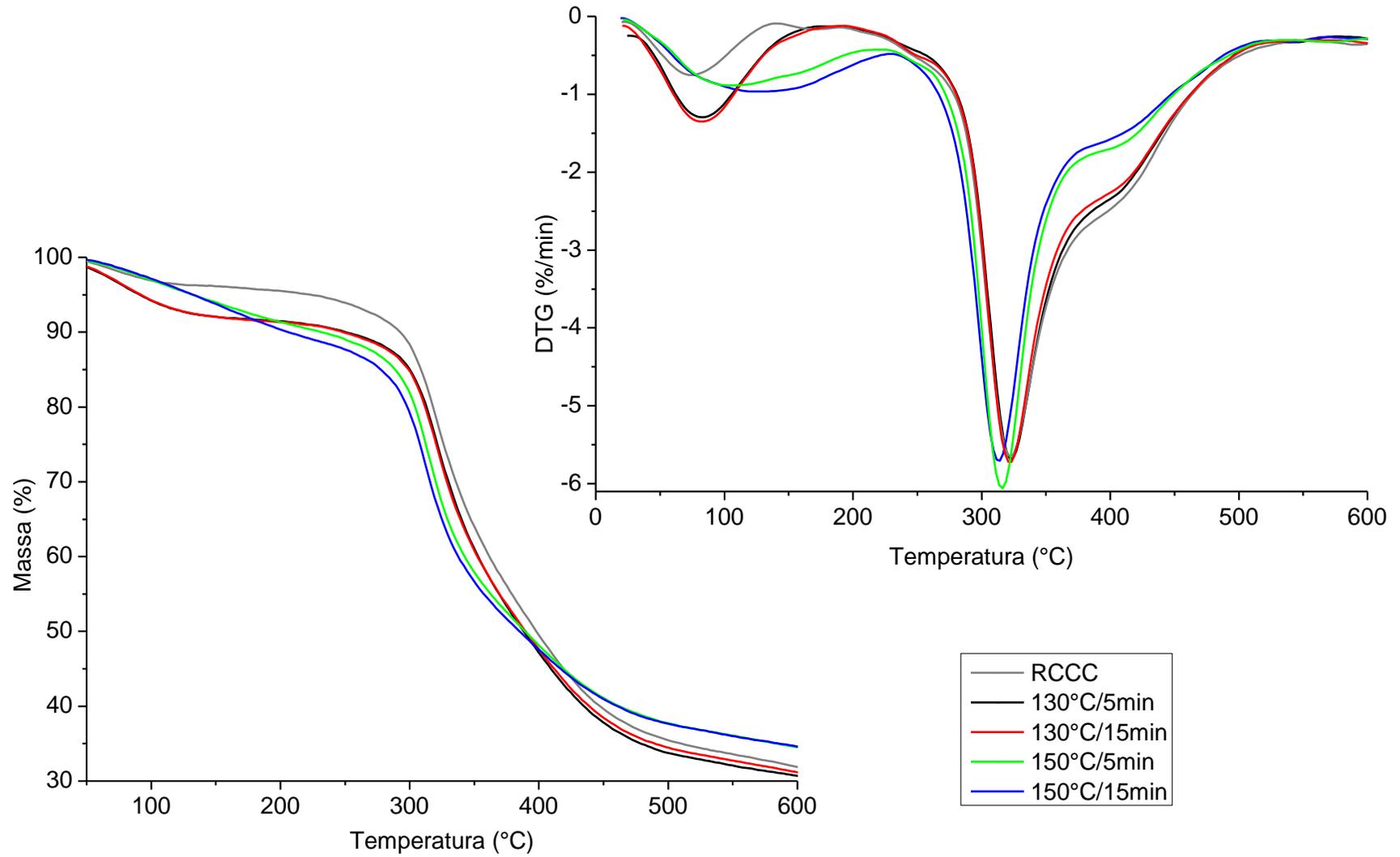
¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/Tempo de residência no digestor processo de extração de gelatina. Sendo que: EV+HA= Explosão a vapor seguida de hidrólise alcalina.

T (25%) = temperatura de perda de 25% da massa da amostra

%m1, %m2 e %m3 = perda de massa no primeiro, segundo e terceiro eventos, respectivamente

Tp1, Tp2 = temperatura do pico do primeiro e segundo eventos de perda de massa (não determinada para o terceiro evento, identificado como um ombro na DTG).

Figura 21 – Termogravimetria das amostras de RCCC antes e após pré-tratamento por explosão a vapor a 130°C com 5 min de residência, 130°C com 15 min de residência, 150°C com 5 min de residência e 150°C com 15 min de residência..



Fonte: o autor

As maiores mudanças em termos de estabilidade térmica do RCCC tratado por explosão a vapor são observadas quando empregada a temperatura de 150°C no tratamento. A amostra sem pré-tratamento e a tratada a 130°C por 5 min por explosão a vapor, especificamente, apresentam a mesma temperatura de perda de 25% de massa. Neste caso, a redução de pH previamente discutida (de 3,40 no RCCC para 3,30 no resíduo pré-tratado a 130°C e 5 min) se deve provavelmente apenas à liberação de ácidos, conforme apontado por Hedberg; Lidén e Wallinder (2015).

Já a redução na temperatura de perda de 25% de massa foi mais pronunciada quando do emprego da temperatura de 150°C na explosão a vapor. As amostras tratadas a 150°C também apresentaram maior variação na temperatura de pico do terceiro evento de perda de massa, que foi igualmente reduzida devido à liberação de compostos de menor massa molar que são degradados a menores temperaturas, levando então a um aumento na perda de massa no primeiro evento térmico.

A Tabela 15 apresenta o balanço de massa para a explosão a vapor do RCCC. Fica ainda mais evidente o aumento na absorção de água do resíduo ao longo do processo quando empregada a maior temperatura e o maior tempo de residência.

Tabela 15 - Balanço de massa para o pré-tratamento do RCCC por explosão a vapor.

Condição de explosão a vapor ¹	ENTRADA				SAÍDA		
	RCCC		Água absorvida na explosão a vapor ³	Total ⁴ (g)	RCCC após explosão a vapor		Total ⁴ (g)
	Água ² (g)	Massa seca ² (g)			Água ² (g)	Massa seca ² (g)	
130/5(EV+HA)	51,9	48,1	105,9	205,9	157,7	48,1	205,9
130/15(EV+HA)	51,9	48,1	172,1	272,1	223,9	48,1	272,1
150/5(EV+HA)	51,9	48,1	170,8	270,8	222,6	48,1	270,8
150/15(EV+HA)	51,9	48,1	261,3	361,3	313,2	48,1	361,3

¹Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/tempo de residência no digestor (processo de extração de gelatina). Sendo que: EV+HA= Explosão a vapor seguida de hidrólise alcalina.

² Valores determinados por métodos analíticos e posterior cálculo

³ Valores determinados apenas por cálculos

⁴ Visto que não há perda de matéria no processo, apenas adição de água, considerou-se a massa seca inicial e final do processo iguais.

Os resultados apresentados para a caracterização do RCCC indicam, portanto, que a estrutura fibrosa do resíduo sofreu alterações. A degradação do resíduo quando submetido à temperatura de 150°C pode ser um indício de posterior degradação da gelatina dele extraída.

5.2.1.2. *Hidrólise alcalina*

A caracterização da gelatina resultante da hidrólise alcalina do RCCC (com ou sem pré-tratamento por explosão a vapor) é apresentada nas Figuras 22 e 23. Os resultados e desvios tabelados e a análise estatística completa se encontram no Apêndice D deste trabalho.

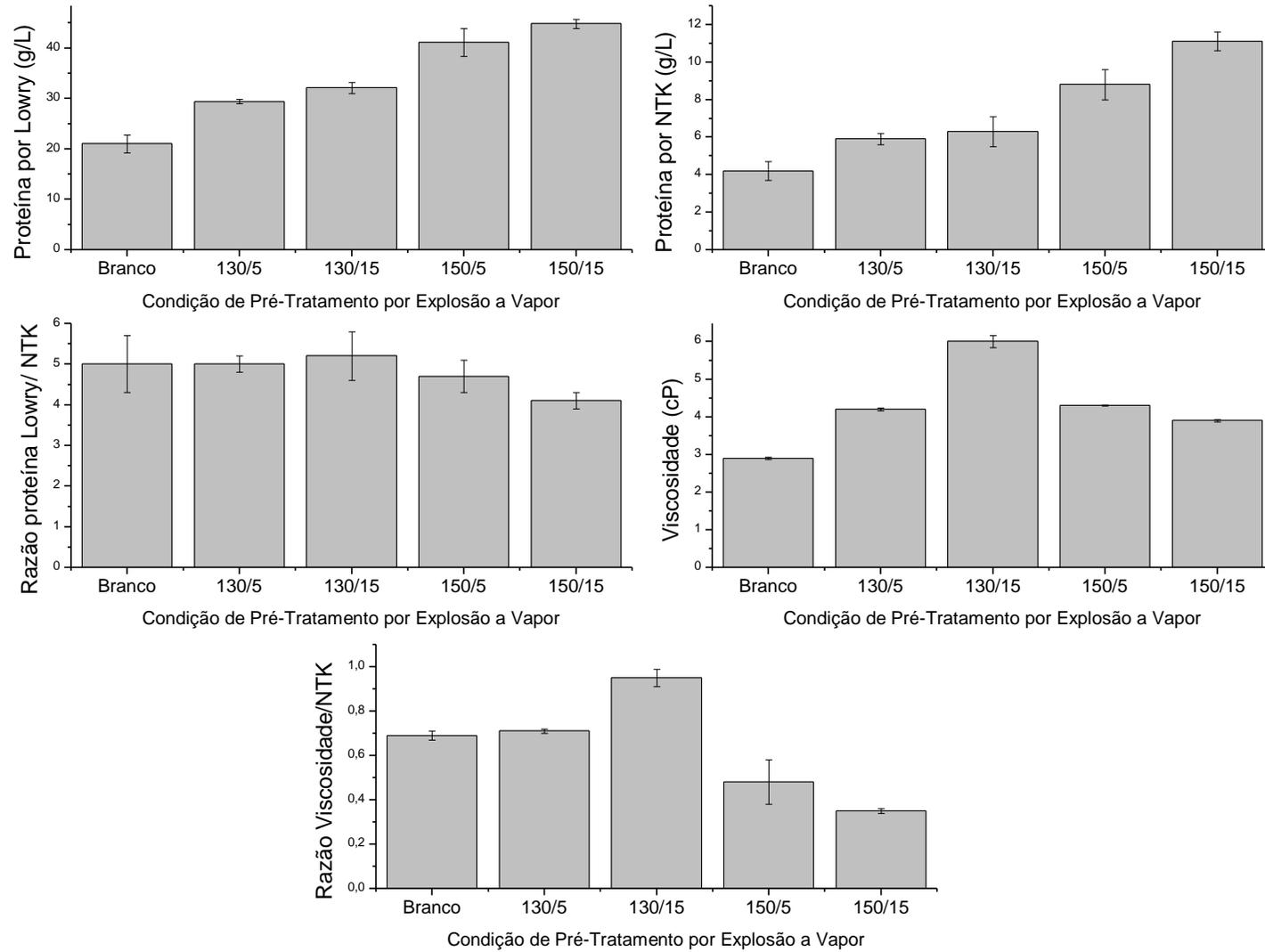
O pH da gelatina não mudou significativamente com a mudança nas condições de explosão a vapor. Isto indica que a alcalinidade foi igual para todas as análises, conforme esperado por ter-se adicionado a mesma massa de alcalinizante em todas as amostras.

O teor de massa seca aumentou para gelatinas extraídas a partir de RCCC pré-tratado na maior temperatura e maior tempo de residência no reator de explosão a vapor. Este aumento está principalmente relacionado à maior extração de proteína, comprovada pelo aumento no teor de NTK e de proteína medida pelo método de Lowry.

O aumento na temperatura resultou em aumento do teor de massa seca e de proteína se comparado ao aumento no tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor. Estes resultados comprovam que condições mais agressivas de pré-tratamento do RCCC por explosão a vapor resultam em maior abertura das fibras do resíduo e até mesmo em um início de rompimento das ligações cruzadas que estabilizam a estrutura do couro. Tais alterações na estrutura do RCCC acabam por permitir a extração de maior teor de proteína no processo. Este é o mesmo princípio apontado por Ting-Da; Chun-Ping e Fei (2000), que reporta maiores rendimentos de extração de proteína (e degradação) em processos realizados a maiores temperaturas.

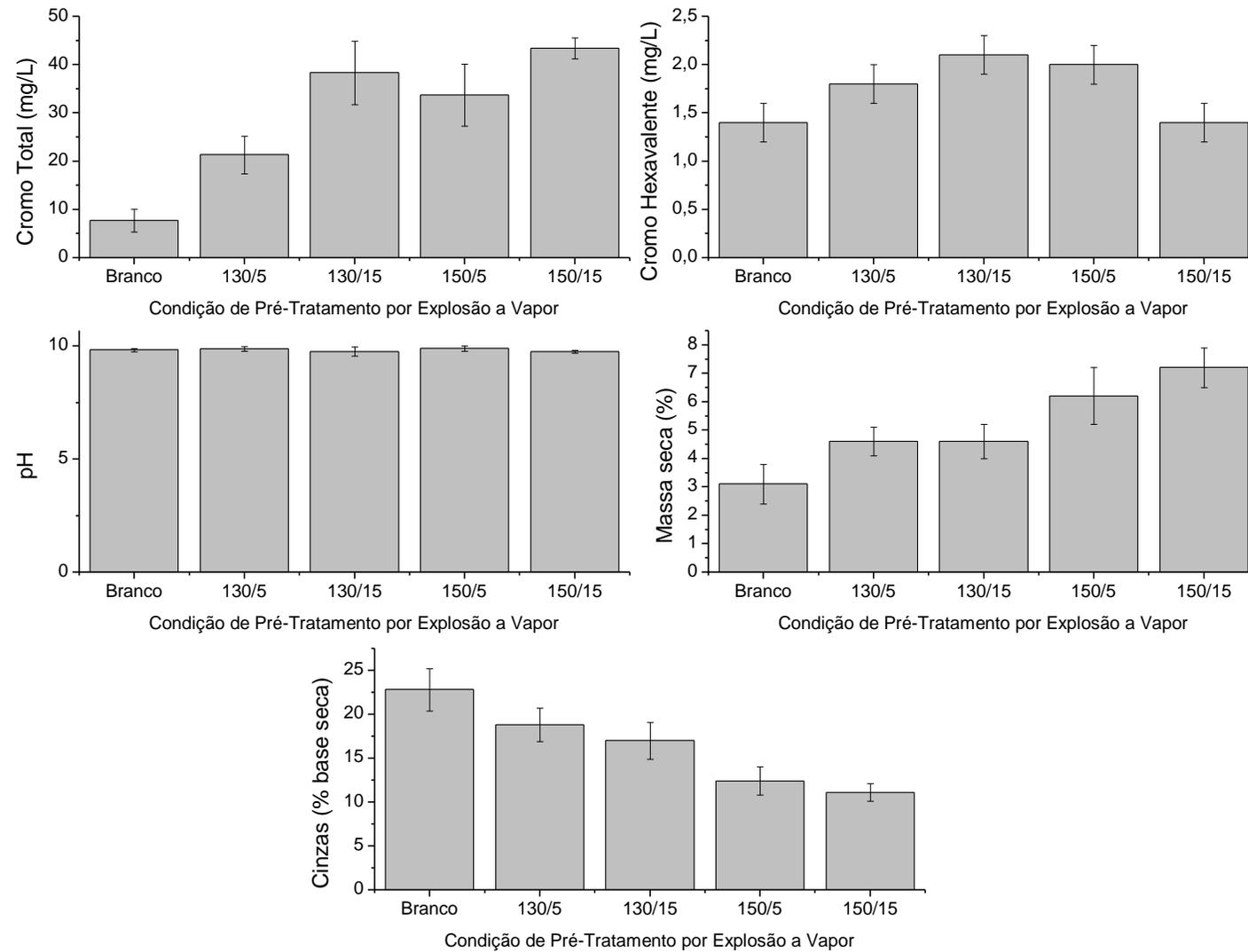
As diferenças encontradas no teor de cinzas das gelatinas extraídas de RCCC pré-tratados sob diferentes condições resultam do fato destes valores serem apresentados em massa seca e devido ao aumento no teor de proteína extraída em condições mais agressivas. Condições mais agressivas do pré-tratamento acarretam em maior rompimento das ligações que estabilizam o RCCC e maior extração de proteína (consequentemente, maior teor de massa seca). Mas elas não aumentam a solubilização dos sais no meio. O percentual de cinzas, em base úmida, não é afetado significativamente pela condição de explosão a vapor, sendo seu valor igual a 0,77%, 0,78%, 0,77%, e 0,80% para, respectivamente, amostras extraídas de RCCC tratado a 130°C/5min, 130°C/15min, 150°C/5min e 150°C/15min. O teor de cinzas em base úmida aumenta, entretanto, significativamente pelo emprego da explosão a vapor no pré-tratamento das amostras, sendo seu valor para gelatina extraída de RCCC sem pré-tratamento igual a 0,71%.

Figura 22 - Caracterização da gelatina em meio aquoso obtida a partir da hidrólise alcalina de RCCCC após pré-tratamento por explosão a vapor: teor de proteína, viscosidade, e razões entre os resultados.



Fonte: o autor

Figura 23 - Caracterização da gelatina em meio aquoso obtida a partir da hidrólise alcalina de RCCCC após pré-tratamento por explosão a vapor: teor de cromo, pH, massa seca e cinzas.



Fonte: o autor

O teor de proteína na gelatina foi determinado por dois diferentes métodos a fim de identificar a possível degradação da gelatina. Enquanto que o método do NTK detecta o teor total de nitrogênio orgânico na gelatina, o método de Lowry mede a combinação de ligações polipeptídicas e de dois aminoácidos triptofano e tirosina, sendo que o triptofano não está presente na gelatina e a tirosina representa em torno de 0,2% de sua composição (SMITH, 2010). Isto indica que o método de Lowry deverá detectar quase que apenas aminoácidos ligados por ligações peptídicas, enquanto que o NTK detecta qualquer átomo de nitrogênio presente na amostra, seja ele parte de uma cadeia longa proteica ou estando livre no meio.

Sabe-se que, para converter o teor de nitrogênio em teor de proteína total na gelatina deve-se multiplicar o mesmo por 5,55 (JONES, 1941). Ao dividir o teor de proteína por Lowry pelo teor de NTK se espera, portanto, encontrar valores próximos a 5,55. A Figura 22 indica, entretanto, valores menores do que 5,55 para a razão Lowry/NTK. Tais valores são um indicativo da degradação da gelatina (quebra das ligações polipeptídicas, e, assim, redução da razão Lowry/NTK), em especial da gelatina extraída de RCCC pré-tratado a 150°C por 5 e 15 min, para o qual a razão Lowry/NTK é reduzida para 4,7 e 4,1, respectivamente.

A viscosidade da gelatina pode ser afetada por diversos fatores. Soluções com maior concentração de gelatina ou gelatinas de Bloom mais elevado apresentam maior viscosidade (CIPER; BODMEIER, 2005; KRISHNAMURTHY *et al.*, 2004). Maiores valores de Bloom indicam que a estrutura das moléculas está mais preservada, ou seja, que sua massa molar é maior e, conseqüentemente, seu grau de hidrólise e degradação é menor. Quebras de cadeias, maiores temperaturas de extração e maiores tempos de extração levam à produção de gelatinas de menor viscosidade (ABRUSCIA *et al.*, 2004).

Para gelatinas de mesma qualidade, espera-se que o aumento na concentração resulte em um aumento proporcional na viscosidade. Ao se avaliar os resultados apresentados na Figura 22, a viscosidade da gelatina aumenta junto ao aumento de sua concentração apenas quando comparada a gelatina extraída de RCCC pré-tratado a 130°C/15min com aquela extraída de RCCC sem pré-tratamento e ou de RCCC pré-tratado a 130°C/5min. A gelatina extraída a partir do RCCC pré-tratado a 150°C, independentemente do tempo, apresentou menor viscosidade, mesmo tendo sua concentração de proteína maior do que a gelatina extraída a partir do RCCC pré-tratado a 130°C, o que indica sua degradação.

Por fim, pode-se relacionar a degradação da gelatina das amostras produzidas a partir do RCCC pré-tratado por explosão a vapor a 150°C com a análise termogravimétrica deste resíduo apresentada anteriormente, na Figura 21. A diminuição da temperatura de degradação

térmica do resíduo pré-tratado a 150°C já indicava o processo de degradação da proteína nele presente, confirmada pela análise de caracterização da gelatina dele extraída.

Com relação ao teor de cromo hexavalente na gelatina, alguns autores indicam que este estado de oxidação do cromo não seria criado no processo de hidrólise alcalina (JIANG; ZHANG; QIN, 2000; KOLOMAZNIK *et al.*, 2008). Entretanto, todas as amostras produzidas neste trabalho apresentaram teores de cromo hexavalente. Não foi possível identificar uma tendência clara de aumento ou diminuição no teor deste cromo perante às variações de tempo e temperatura do pré-tratamento do RCCC por explosão a vapor. O teor de cromo total, por sua vez, apresenta uma tendência de aumento com o uso de condições mais agressivas de explosão a vapor no RCCC. Tal tendência não pode ser confirmada pela análise estatística que, devido ao elevado desvio padrão, indica que o cromo total não varia significativamente em função das variações de tempo e temperatura da explosão a vapor.

As Tabelas 16 e 17 apresentam o balanço de massa do processo de extração de gelatina. As diferentes massas de RCCC pré-tratado por explosão a vapor empregadas no processo de hidrólise (e diferentes volumes de água empregados) se devem aos diferentes teores de umidade do RCCC pré-tratado. A massa seca de RCCC pré-tratado, entretanto, foi mantida constante. A perda de massa do processo ocorre principalmente devido à evaporação de água durante a hidrólise (realizada a 70°C em erlenmeyers abertos), ainda que também ocorra pequena perda de massa sólida (torta retida no filtro) durante a filtração.

Tabela 16 - Balanço de massa global para o processo de hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor

Condição de Pré-Tratamento por Explosão a Vapor ¹	RCCC pré-tratado (g)	Entrada			Saída			Perda de massa (g)
		Água (g)	CaO (g)	Total (g)	Gelatina em meio aquoso (g)	Torta sólida (g)	Total (g)	
Branco(EV+HA)	51	249	2	302	135	113	247	55
130/5(EV+HA)	107	193	2	302	144	105	248	54
130/15(EV+HA)	141	159	2	302	161	99	261	41
150/5(EV+HA)	141	158	2	301	162	95	257	44
150/15(EV+HA)	197	102	2	301	154	90	244	58

¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/Tempo de residência no digestor processo de extração de gelatina. Sendo que: EV+HA= Explosão a vapor seguida de hidrólise alcalina.

Conforme apresentado na Tabela 17, o rendimento do processo (% de extração de gelatina) aumentou consideravelmente com o uso de explosão a vapor como pré-tratamento do RCCC. O aumento foi igual a 1,5, 1,8, 2,5 e 3,0 vezes quando comparadas, respectivamente, as amostras pré-tratadas a 130°C/5min, 130°C/15min, 150°C/5min, 150°C/15min com a amostra extraída de RCCC sem pré-tratamento.

Tabela 17 - Balanço de massa para cromo e proteína (medida por NTK) para o processo de hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor

Condição de Pré-Tratamento por Explosão a Vapor	Balanço de massa para o cromo			Balanço de massa para a proteína (NTK)		
	Massa de cromo no RCCC ² (mg)	(% de solubilização)		Massa de proteína (por NTK) no RCCC (g)	(% de rendimento do proceso)	
		Cromo solubilizado na gelatina (mg)	(%)		Proteína (por NTK) na gelatina (g)	(%)
Branco(EV+HA)	775	1,0	0,1	3,7	0,6	15,5
130/5(EV+HA)	775	3,1	0,4	3,7	0,8	23,2
130/15(EV+HA)	775	6,2	0,8	3,7	1,0	27,8
150/5(EV+HA)	775	5,5	0,7	3,7	1,4	39,1
150/15(EV+HA)	775	6,7	0,9	3,7	1,7	46,8

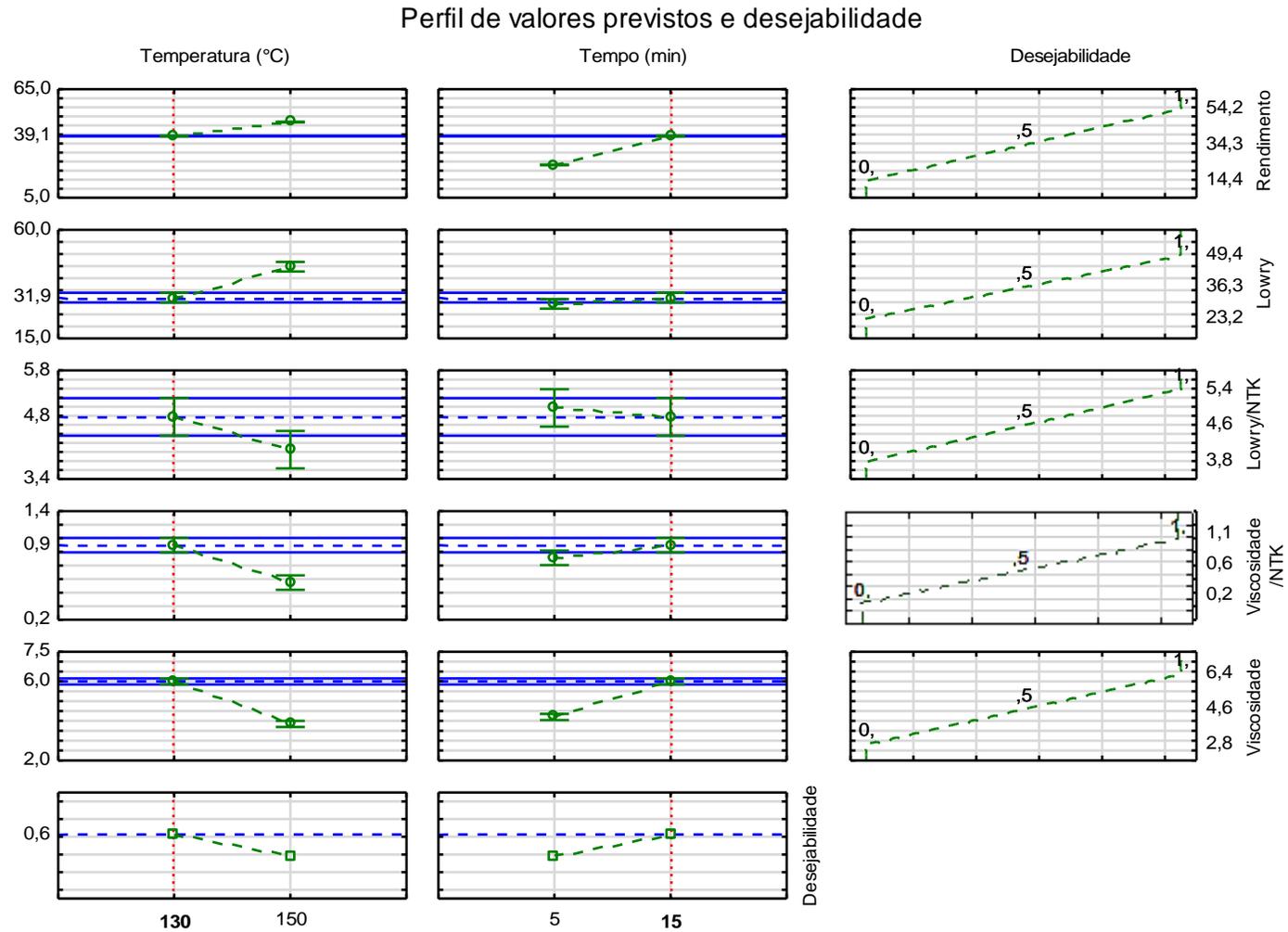
¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/Tempo de residência no digestor processo de extração de gelatina. Sendo que: EV+HA= Explosão a vapor seguida de hidrólise alcalina.

² A fim de determinar a quantidade de cromo alimentada no processo (no RCCC), considerou-se o teor de cromo como Cr₂O₃ igual a 4,56% em massa e base seca, massa molar do Cr₂O₃ igual a 152g/mol e massa molar do cromo igual a 52 g/mol. Calculou-se o percentual de cromo no Cr₂O₃ como 68%. Sendo assim, tem-se que o teor de cromo no RCCC é igual a 3,1% em massa e base seca. Considerou-se também o emprego de 25 g de massa seca de RCCC em cada ensaio de hidrólise alcalina.

Ainda que o aumento no rendimento do processo tenha sido maior quando o pré-tratamento foi realizado a 150°C, a redução da qualidade da gelatina (provocada por sua degradação, conforme previamente discutido) torna-se um fator decisivo na escolha do melhor pré-tratamento a ser empregado.

Visto que a gelatina passará por processo de purificação, o teor de cinzas e de cromo hexavalente (solúvel e, portanto, mais facilmente removido por processo de ultrafiltração/diafiltração por não permanecer ligado à proteína) não foi levado em consideração para a determinação da condição ótima de extração. O teor de cromo total, por não ter variado de maneira estatisticamente significativa, também não foi considerado.

Figura 24 - Análise de desejabilidade para determinação da melhor condição de pré-tratamento por explosão a vapor para posterior extração de gelatina de RCCC por hidrólise alcalina



Fonte: o autor

A condição ótima de explosão a vapor para posterior extração de gelatina por hidrólise alcalina foi determinada por meio do software Statistica, na função desejabilidade, conforme indicado no item 4.2 deste trabalho. A Figura 24 apresenta, na direita, as variáveis levadas em consideração na análise de desejabilidade. O índice zero (0) indica que os valores correspondentes para as variáveis no eixo das ordenadas são os menos desejados. Já o índice um (1) indica que os valores correspondentes para as variáveis no eixo das ordenadas são os mais desejados. A coluna da esquerda e do meio indicam quais condições de processo em termos de temperatura e tempo de residência, respectivamente, resultam na gelatina que melhor atende às características indicadas como mais desejadas. As linhas em vermelho traçam a temperatura e tempo ótimos de trabalho, que são então destacados nos dois últimos gráficos da imagem. Assim, a condição de pré-tratamento de 130°C a 15 min é a que melhor atende aos requisitos de maior rendimento aliado à melhor qualidade da gelatina extraída por posterior hidrólise alcalina.

5.2.2. Extração de gelatina por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguida de extração com água

A Tabela 18 apresenta a caracterização físico-química do RCCC após explosão a vapor em meio alcalino. A análise estatística completa dos resultados apresentados se encontra no Apêndice E deste trabalho.

Tabela 18 - Caracterização do RCCC após explosão a vapor em meio alcalino

Código da amostra ¹	pH	Massa seca (% m/m)	Cinzas (% m/m, base seca)
130/5(EVA)	11,4 ± 0,4 ^A	28,1 ± 1,0 ^D	18,1 ± 0,3 ^A
130/10(EVA)	11,3 ± 0,5 ^A	23,6 ± 2,3 ^{B,D}	18,1 ± 0,4 ^A
130/15(EVA)	10,9 ± 0,9 ^A	18,2 ± 3,0 ^{A,B,C}	18,0 ± 0,6 ^A
140/5(EVA)	11,5 ± 0,4 ^A	23,5 ± 2,5 ^{B,D}	17,8 ± 0,8 ^A
140/10(EVA)	10,9 ± 0,9 ^A	20,8 ± 0,3 ^{A,B}	18,3 ± 0,7 ^A
140/15(EVA)	11,2 ± 0,5 ^A	17,6 ± 0,5 ^{A,C}	18,6 ± 1,0 ^A
150/5(EVA)	11,1 ± 0,3 ^A	20,2 ± 1,7 ^{A,B}	18,7 ± 0,7 ^A
150/10(EVA)	10,4 ± 0,0 ^A	17,9 ± 1,2 ^{A,C}	18,7 ± 0,8 ^A
150/15(EVA)	10,2 ± 0,9 ^A	14,3 ± 1,2 ^C	18,0 ± 1,5 ^A

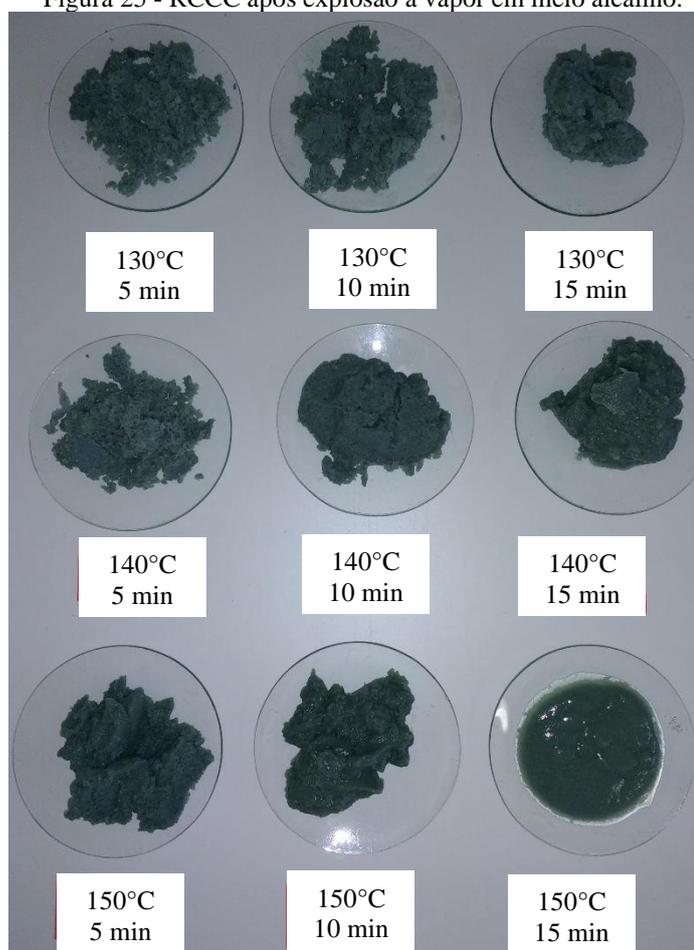
¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/tempo de residência no digestor (processo de extração de gelatina). Sendo que: EVA= Explosão a vapor em meio alcalino.

* Ao avaliar os resultados de uma mesma coluna, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si (p-Valor < 0,05)

O teor de cinzas do RCCC após o processo de explosão a vapor em meio alcalino não variou de forma estatisticamente significativa em função das condições de tempo e temperatura às quais as amostras foram submetidas. O aumento do teor de cinzas em base seca em comparação com o RCCC antes da explosão (de 6,5, conforme Tabela 11 deste trabalho, para aproximadamente 18% m/m, base seca) se deve à presença do óxido de cálcio empregado na explosão. O aumento do pH do RCCC após a explosão a vapor em meio alcalino (de 3,4 para 10,2-11,4) também se deve à adição de CaO.

A aparência do resíduo após o processo é mostrada na Figura 25, condições mais agressivas resultam em um sistema mais líquido, com menor estrutura fibrosa do RCCC e maior absorção de água.

Figura 25 - RCCC após explosão a vapor em meio alcalino.



Fonte: o autor

Tabela 19 - Balanço de massa para a explosão a vapor em meio alcalino de RCCC.

Condição de explosão a vapor ¹	ENTRADA					SAÍDA		
	RCCC		Água absorvida na explosão a vapor ³	Massa de CaO (g)	Total ⁴ (g)	RCCC + CaO após explosão a vapor		Total ⁴ (g)
	Água ² (g)	Massa seca ² (g)				Água ² (g)	Massa seca ² (g)	
130/5(EVA)	51,9	48,1	119	4	223	171	52,1	223
130/10(EVA)	51,9	48,1	152	4	256	204	52,1	256
130/15(EVA)	51,9	48,1	213	4	317	264	52,1	317
140/5(EVA)	51,9	48,1	152	4	256	204	52,1	256
140/10(EVA)	51,9	48,1	180	4	284	232	52,1	284
140/15(EVA)	51,9	48,1	221	4	325	273	52,1	325
150/5(EVA)	51,9	48,1	187	4	291	238	52,1	291
150/10(EVA)	51,9	48,1	216	4	320	268	52,1	320
150/15(EVA)	51,9	48,1	285	4	389	337	52,1	389

¹Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/tempo de residência no digestor (processo de extração de gelatina). Sendo que: EVA= Explosão a vapor em meio alcalino.

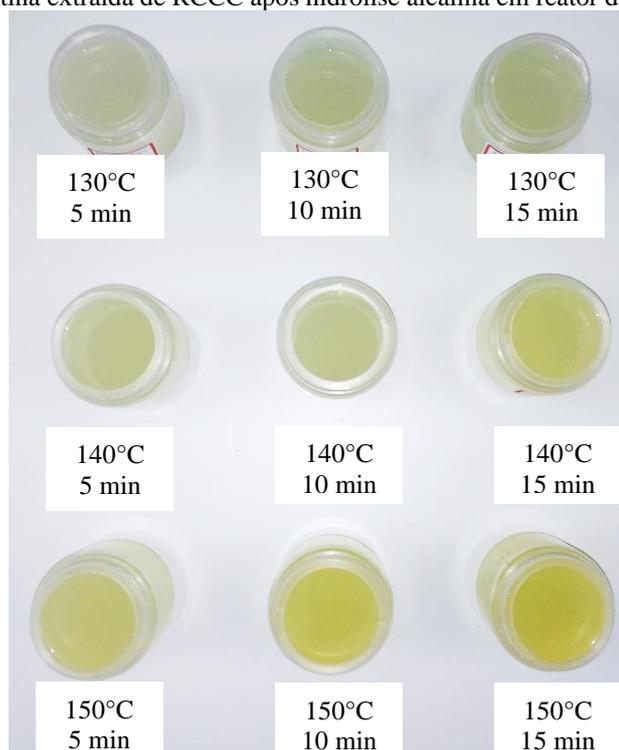
² Valores determinados por métodos analíticos e posterior cálculo ³ Valores determinados apenas por cálculos

⁴ Visto que não há perda de matéria no processo, apenas adição de água, considerou-se a massa seca inicial e final do processo iguais.

Maiores tempos e maiores temperaturas na explosão a vapor em meio alcalino, dentro dos limites aqui testados, resultaram em menor teor de massa seca do RCCC, conforme apresentado na Tabela 18. A redução da massa seca está ligada ao aumento da absorção de água do RCCC durante a explosão a vapor em meio alcalino, conforme comprovado no balanço de massa do processo, apresentado na Tabela 19.

O teor de massa seca do RCCC após explosão a vapor em meio alcalino foi empregado no cálculo do volume de água a ser adicionado na extração com água a 100°C. O cálculo foi realizado a fim de que a extração ocorresse com 25 g de massa seca do RCCC para 275 mL totais de água. A aparência da gelatina é mostrada na Figura 26. A coloração mais amarelada da gelatina é um indicativo da degradação da mesma.

Figura 26 - Gelatina extraída de RCCC após hidrólise alcalina em reator de explosão a vapor.



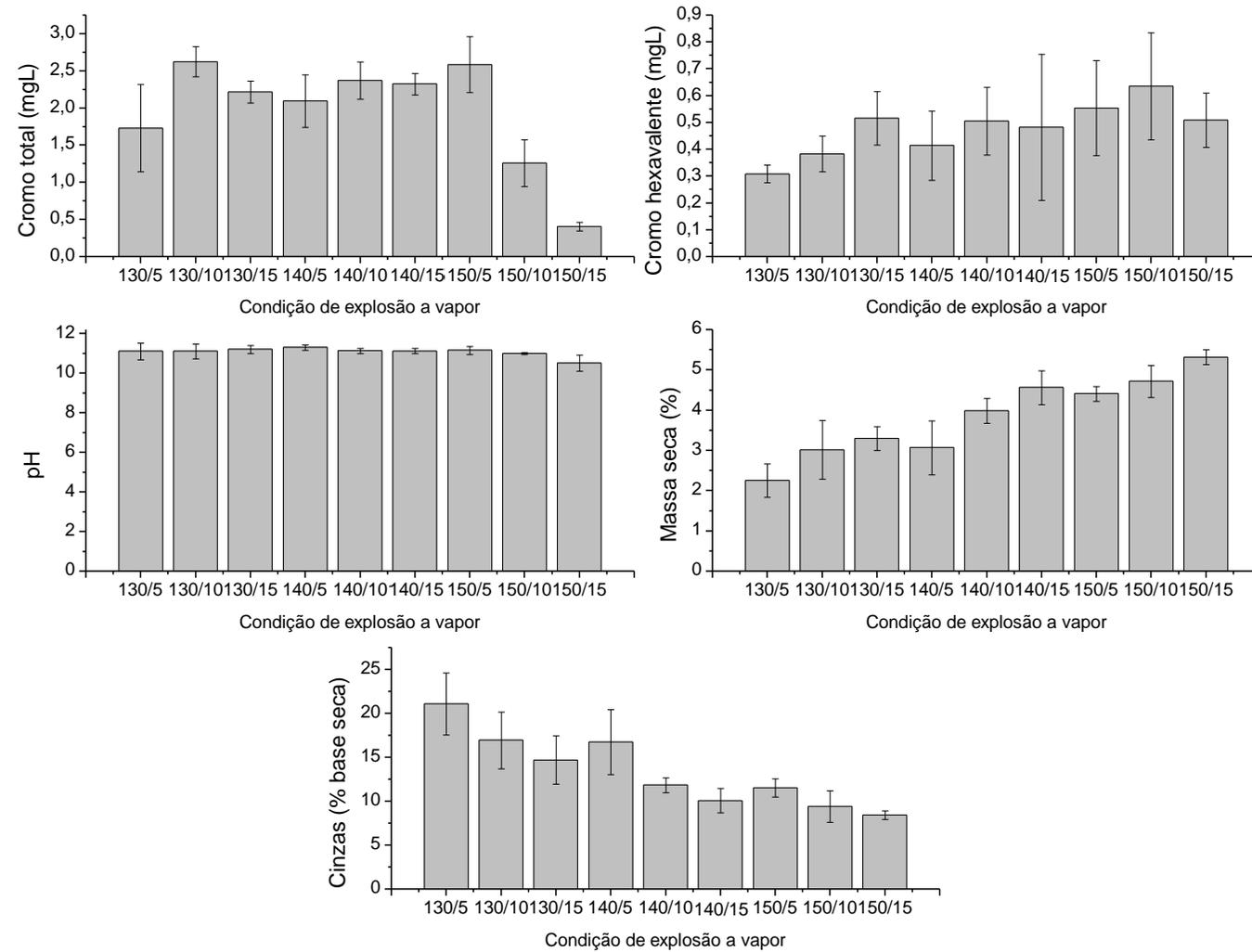
Fonte: o autor

Com relação à gelatina extraída por explosão a vapor em meio alcalino, as Figuras 27 e 28 apresentam sua caracterização. Os resultados tabelados e sua análise estatística completa se encontram no Apêndice F deste trabalho.

Visto que CaO foi adicionado em igual proporção em todos os ensaios, o pH da gelatina não sofreu mudanças significativas (em função do tempo e da temperatura da explosão a vapor). Tem-se apenas uma redução no valor do pH para a gelatina extraída na condição mais agressiva (150°C, 15 min). Conforme discutido no item 5.2.1.1. deste trabalho, tal acidificação pode ser consequência do rompimento das ligações cromo-colágeno (*descurtimento*), que deixam expostos os grupos carboxílicos dos ácidos glutâmico e aspártico. No caso da amostra tratada a 150°C por 15 min, tal reação pode ter ocorrido em proporção suficiente para que tal exposição de grupos ácidos cause a redução do pH do sistema.

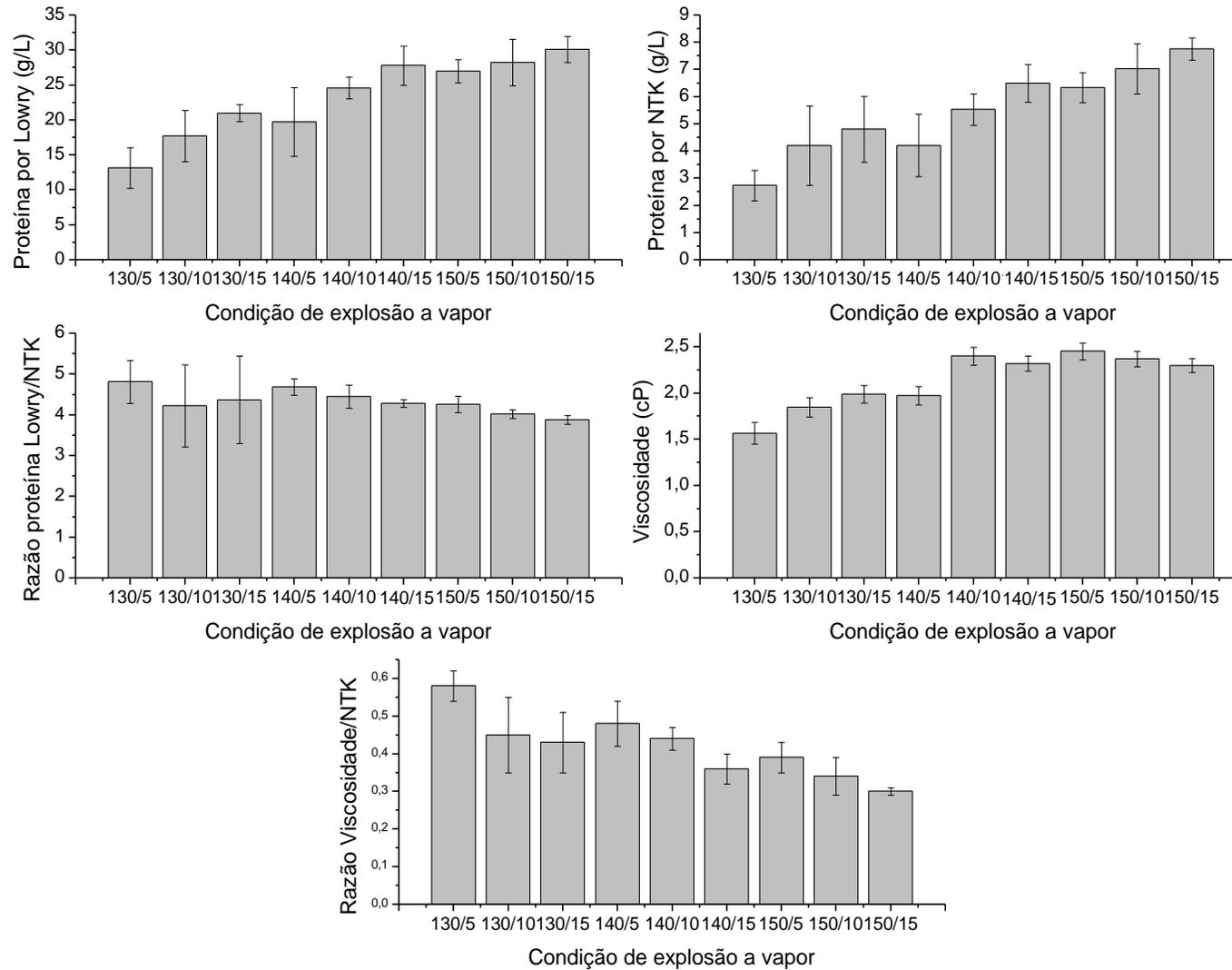
A massa seca, por sua vez, aumenta significativamente com o aumento do tempo e da temperatura testada. Isto está relacionado a uma maior extração de gelatina, indicada pelo aumento significativo no teor de proteína por Lowry e por NTK.

Figura 27 - Caracterização da gelatina em meio aquoso obtida a partir da explosão a vapor em meio alcalino de RCCCC e extração de gelatina com água aquecida: teor de cromo, pH, massa seca e cinzas



Fonte: o autor

Figura 28 - Caracterização da gelatina em meio aquoso obtida a partir da explosão a vapor em meio alcalino de RCCCC e extração de gelatina com água aquecida: teor de proteína, viscosidade, e razões entre os resultados.



Fonte: o autor

Assim como discutido no item 5.2.1.2 deste trabalho, a redução do teor de cinzas (em base seca) da gelatina com o aumento da temperatura e tempo do processo se deve ao aumento da massa seca. Em base úmida, o teor de cinzas se mantém próximo aos 0,5%.

O teor de cromo hexavalente na gelatina não sofre alteração significativa em função das condições da explosão a vapor em meio alcalino. A avaliação da Figura 27, entretanto, indica uma tendência de aumento no cromo hexavalente com o aumento de temperatura, o que pode não ter sido diagnosticado na análise estatística devido ao elevado desvio padrão. De acordo com Kolomaznik *et al.* (2008), a oxidação do cromo III para VI pode ser considerada espontânea, ainda que possivelmente de cinética lenta. O fornecimento de maior energia com o aumento de temperatura ao qual o RCCC foi submetido pode ter favorecido a oxidação.

Com relação ao teor de cromo total, a análise estatística indica que este diminui significativamente com o aumento de temperatura da explosão a vapor. Tal resultado pode advir dos baixos teores de cromo apresentados pelas amostras obtidas após explosão a vapor a 150°C por 10 e 15 minutos (1,26 e 0,40 mg/L, respectivamente). De acordo com Wionczyk *et al.* (2011a), em condições mais agressivas (no caso dos autores, maiores tempos e temperaturas), pode ocorrer a desestabilização de complexos alcalinos de cromo e a então formação de hidróxido de cromo III, que é insolúvel. A precipitação deste hidróxido faz com que o cromo seja separado da gelatina junto à torta sólida, reduzindo então sua concentração no meio líquido.

Com relação à qualidade da gelatina extraída, segundo os princípios já discutidos no item 5.2.1.2. deste trabalho, a redução na razão entre teor de proteína por NTK e Lowry e a também redução na razão viscosidade/NTK indicam a degradação da gelatina. A redução nas razões citadas é acentuada com o aumento na temperatura e tempo de tratamento do resíduo, resultando em uma gelatina mais degradada.

As Tabelas 20 e 21 apresentam o balanço de massa para a extração de gelatina por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguida de extração com água. As perdas de massa aqui apresentadas são menores do que as perdas apresentadas no processo de hidrólise alcalina do RCCC pré-tratado por explosão a vapor. O menor tempo de processo (6 h de extração na hidrólise alcalina do resíduo pré-tratado contra 3 min na extração com água quente do resíduo explodido em meio alcalino) reduz as perdas por evaporação. Tem-se, entretanto, ainda as perdas provocadas por material retido no filtro ou nas vidrarias utilizadas.

Tabela 20 - Balanço de massa global para o processo extração de gelatina por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguida de extração com água

Condição da Explosão a Vapor ¹	Entrada			Saída			Perda de massa (g)
	RCCC (g)	Água (g)	Total (g)	Gelatina em meio aquoso (g)	Torta sólida (g)	Total (g)	
130/5(EVA)	89	211	300	209	78	287	13
130/10(EVA)	107	194	300	204	79	282	18
130/15(EVA)	141	159	300	201	79	280	20
140/5(EVA)	107	193	300	201	78	280	20
140/10(EVA)	120	180	300	198	77	275	25
140/15(EVA)	142	158	300	208	70	278	22
150/5(EVA)	123	177	300	200	73	274	26
150/10(EVA)	140	160	300	202	70	273	27
150/15(EVA)	176	124	300	214	58	273	27

¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/Tempo de residência no digestor processo de extração de gelatina. Sendo que: EVA= Explosão a vapor em meio alcalino.

Destaca-se aqui o maior volume de gelatina extraído neste processo quando comparado aos valores da Tabela 17, para extração de gelatina por hidrólise alcalina a partir do RCCC pré-tratado por explosão a vapor. A filtração do meio produzido neste processo foi mais eficiente do que a filtração após hidrólise alcalina em *shaker*, o que pode ter ocorrido devido à maior temperatura do meio durante a extração (água adicionada a 100°C na amostra produzida após explosão a vapor em meio alcalino, e 70°C na hidrólise alcalina em *shaker*) e consequente redução da viscosidade da gelatina em meio aquoso.

Os percentuais de extração de proteína deste processo, apresentados na Tabela 21, condizem com os apresentados na Tabela 17 para extração de gelatina por hidrólise alcalina a partir do RCCC pré-tratado por explosão a vapor. Em termos de percentual extração de gelatina, portanto, o fato de conduzir a explosão a vapor em meio alcalino foi equivalente à adição do agente alcalinizante e posterior hidrólise conduzida a 70°C e 6 h.

Tabela 21 - Balanço de massa para cromo e proteína (medida por NTK) para extração de gelatina por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguida de extração com água

Condição de Pré-Tratamento por Explosão a Vapor	Balanço de massa para o cromo (% de solubilização)			Balanço de massa para proteína (NTK) (% de rendimento do proceso)		
	Massa de cromo no RCCC ² (mg)	Cromo na gelatina (mg)	(%)	Massa de proteína (por NTK) no RCCC (g)	Proteína (por NTK) na gelatina (mg)	(%)
130/5(EVA)	775	0,4	0,05	3,65	0,6	15,6
130/10(EVA)	775	0,5	0,07	3,67	0,9	23,3
130/15(EVA)	775	0,4	0,06	3,74	1,0	25,9
140/5(EVA)	775	0,4	0,06	3,69	0,8	23,0
140/10(EVA)	775	0,5	0,06	3,65	1,1	30,0
140/15(EVA)	775	0,5	0,06	3,65	1,4	37,0
150/5(EVA)	775	0,5	0,07	3,62	1,3	35,1
150/10(EVA)	775	0,3	0,03	3,66	1,4	38,8
150/15(EVA)	775	0,1	0,01	3,67	1,7	45,3

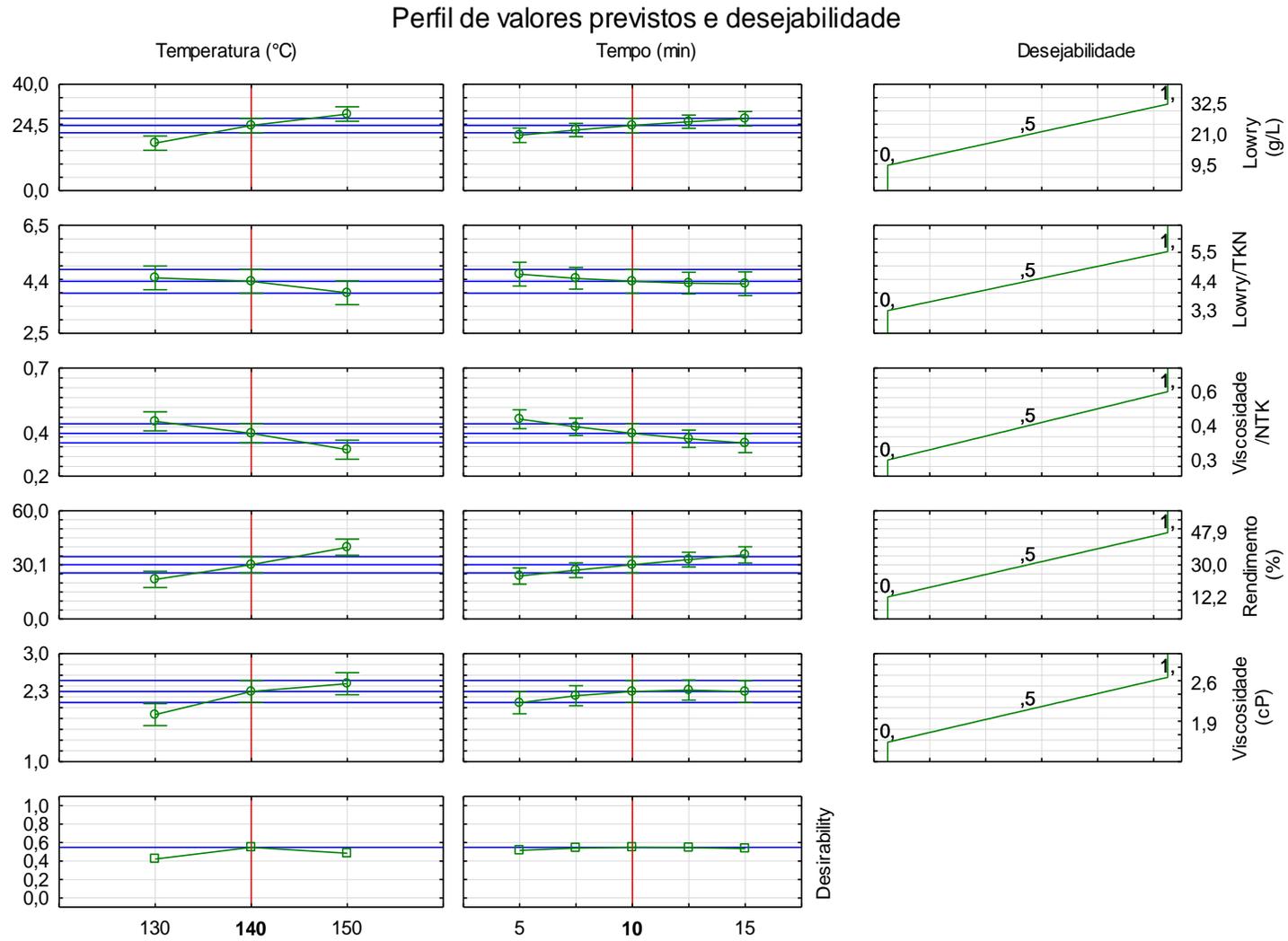
¹ Codificação da amostra: Temperatura de vapor de água saturado/Tempo de residência no digestor processo de extração de gelatina. Sendo que: EVA= Explosão a vapor em meio alcalino.

² A fim de determinar a quantidade de cromo alimentada no processo (no RCCC), considerou-se o teor de cromo como Cr₂O₃ igual a 4,56% em massa e base seca, massa molar do Cr₂O₃ igual a 152g/mol e massa molar do cromo igual a 52 g/mol. Calculou-se o percentual de cromo no Cr₂O₃ como 68%. Sendo assim, tem-se que o teor de cromo no RCCC é igual a 3,1% em massa e base seca. Considerou-se também o emprego de 25 g de massa seca de RCCC em cada ensaio de hidrólise alcalina.

Nota-se, entretanto, maior diferença nos percentuais de solubilização do cromo. Enquanto estes variavam de 0,1 a 0,9% na extração de gelatina por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor, na extração por explosão a vapor em meio alcalino este valor variou de 0,01 a 0,07%. A diminuição no tempo de extração, conforme apontado por Ting-Da; Chun-Ping e Fei (2000), pode ter impedido a maior solubilização do cromo. Também, a condição mais agressiva do mesmo (provocada pelo aquecimento do RCCC a temperaturas superiores a 130°C em meio alcalino), de acordo com o descrito por Wionczyk *et al.* (2011a), pode ter desestabilizado os complexos de cromo em meio alcalino e permitido a formação e precipitação de hidróxido de cromo III.

A condição ótima de explosão a vapor em meio alcalino para extração de gelatina foi determinada por meio do software Statistica, na função desejabilidade, conforme indicado no item 4.2 deste trabalho. O resultado é mostrado na Figura 29, indicando que a condição de 140°C a 10 min é a que melhor atende aos requisitos de maior rendimento aliado à melhor qualidade da gelatina.

Figura 29 - Análise de desejabilidade para determinação da melhor condição de explosão a vapor em meio alcalino para extração de gelatina de RCCC



Fonte: o autor

5.2.3. Escolha entre os processos de extração de gelatina

A Tabela 22 apresenta um comparativo entre a gelatina extraída por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor (método de extração 1) e por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino (método de extração 2).

Tabela 22 – Comparação entre as duas gelatinas produzidas na condição ótima dos dois processos de extração estudados neste trabalho

Parâmetro de caracterização da gelatina	Método de extração	
	1	2
	Hidrólise alcalina em shaker de RCCC pré-tratado por explosão a vapor	Explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguida por extração com água quente
pH	9,76 ± 0,20	11,1 ± 0,6
Massa seca (%)	4,6 ± 0,6	4,0 ± 0,3
Teor de cinzas (% b.s.)	17,0 ± 2,1	11,8 ± 0,8
Proteína por NTK (g/L)	6,3 ± 0,8	5,5 ± 0,6
Proteína por Lowry (g/L)	32,1 ± 1,1	24,6 ± 1,5
Razão Lowry/NTK	5,2 ± 0,6	4,5 ± 0,3
Viscosidade (cP)	6,0 ± 0,2	2,4 ± 0,3
Razão viscosidade/NTK	0,95 ± 0,04	0,44 ± 0,03
Volume de gelatina extraído em cada batelada (mL)	161 ± 14	198 ± 8
Rendimento de extração de proteína (%)	27,8 ± 2,4	30,0 ± 1,2
Cromo total (mg/L)	38,3 ± 6,6	2,37 ± 0,25
Cromo hexavalente (mg/L)	2,1 ± 0,2	0,5 ± 0,13
Tempo de processo	6 h 20 min	20 min

A massa de CaO empregada nos dois processos, em função da massa seca de RCCC, foi igual. O maior tempo do método de extração 1, portanto, pode ter resultado na maior exposição dos grupos carboxílicos resultante do rompimento da ligação cromo-colágeno presente no RCCC, o que reduziu o pH da gelatina. O mesmo argumento, já discutido no item 5.2.2. deste

trabalho, justifica o menor teor de cromo na gelatina extraída pelo método 2. Também o maior tempo de processo pode ter resultado na maior solubilização de matéria inorgânica no método de extração 1, resultando em maior teor de cinzas deste.

A maior massa seca obtida no método de extração 1 está relacionada com o maior teor de proteína extraída (medida tanto pelo método do NTK como de Lowry). Com relação à qualidade da gelatina, a maior agressividade do processo conferida pelo uso do meio alcalino a altas temperaturas (140°C) degradou mais a cadeia proteica no método de extração 2. Esta degradação fica evidente pela redução da razão Lowry/NTK e também redução da razão viscosidade/NTK.

Devido ao semelhante rendimento, menor solubilização de cromo e, principalmente, ao tempo 19 vezes menor e por ser um processo inovador, a explosão a vapor de RCCC em meio alcalino seguido por extração de gelatina com água quente foi escolhida como o processo mais adequado para a produção de gelatina empregada neste trabalho.

Sabe-se que o teor de proteína, medido em termos de NTK, representa 14,6%, em base seca, do total de massa do RCCC, que possui 48% de massa seca. Assim, em base úmida, 7% do RCCC é constituído por NTK. Um rendimento de 30% de extração de proteína na forma de gelatina indica, portanto, que para cada 100 g de RCCC, são extraídas 2,1 g de proteína medida em termos de NTK (30% dos 7 g de TKN presentes em 100 g de RCCC). Isto representa, considerando-se a razão NTK/Lowry igual a 4,5 obtida especificamente para esta amostra, uma extração de 9,5 g de gelatina (massa seca) para cada 100 g de RCCC (em base úmida, contendo 48% de umidade).

5.2.4. Determinação do número de extrações sequenciais a serem empregadas na extração de gelatina de RCCC submetido à explosão a vapor em meio alcalino

Nas Tabelas 23 a 25 estão apresentados os resultados de caracterização da gelatina obtida a partir da primeira, segunda e terceira extração com água a 100°C a partir do RCCC hidrolisado.

O pH da gelatina reduz conforme avançam as extrações sequenciais, indicando a diluição do agente alcalinizante pela segunda e terceira adição de água ao sistema.

Tabela 23 - Caracterização da gelatina obtida na primeira, segunda e terceira extração sequencial a partir de RCCC explodido em meio alcalino de acordo com o teor massa seca, cinzas e pH.

Extração n°	Massa Seca (%)	Cinzas (%)	Cinzas (% base seca)	pH
1	4,6 ± 0,13	0,48 ± 0,01	10,2 ± 0,2	11,07 ± 0,05
2	1,0 ± 0,07	0,22 ± 0,05	21,6 ± 3,5	10,74 ± 0,21
3	0,3 ± 0,02	0,12 ± 0,00	41,4 ± 2,8	10,26 ± 0,09

A concentração de cinzas na gelatina aumenta de 10,2 para 21,6, até 41,4% (base seca), na primeira, segunda e terceira extração. Os dois primeiros valores estão condizentes com os encontrados na literatura, que variam de 6 a 27% (base seca) (CABEZA *et al.*, 1998c; KOLOMAZNIK *et al.*, 1999; MU *et al.*, 2003). A cada extração sequencial nota-se que o teor de cinzas dobra em base seca. Na terceira extração sequencial, extrai-se mais cinzas (41,4% em base seca) do que proteína (23,3% em base seca, valor apresentado na Tabela 25). Ainda que o processo de purificação da gelatina possa remover esta matéria inorgânica, eles acabam se tornando mais onerosos e difíceis de serem executados quando a gelatina está mais contaminada.

Tabela 24 - Caracterização da gelatina obtida na primeira, segunda e terceira extração sequencial a partir de RCCC explodido em meio alcalino de acordo com o teor de cromo.

Extração n°	Cromo Total (mg/L)	Cromo Total (mg/kg, base seca)	Volume de Gelatina (mL)	Extração de Cromo (%)	Extração de Cromo Acumulada (%)
1	0,53 ± 0,17	115 ± 37	212	0,014	0,014
2	0,29 ± 0,04	290 ± 40	176	0,007	0,021
3	0,11 ± 0,03	367 ± 100	175	0,002	0,024

A análise da Tabela 24 mostra que a quantidade de cromo extraída (em base seca), aumenta em torno de 2,5 vezes da primeira para a segunda extração e aproximadamente 1,3 vezes da segunda para a terceira. Mesmo com este aumento na quantidade de cromo extraída, percebe-se que ela representa uma pequena fração do cromo alimentado no processo, chegando a um máximo de solubilização do cromo de 0,024%. O cromo restante fica, naturalmente, depositado na torta sólida. Nota-se, ainda, que o aumento percentual na extração de cromo não foi seguido por um igual aumento de rendimento de proteína (que reduziu sua concentração em

base seca nas segundas e terceiras extrações). Sendo assim, o cromo extraído não deve estar ligado à proteína, mas sim solubilizado.

Tabela 25 - Caracterização da gelatina obtida na primeira, segunda e terceira extração sequencial a partir de RCCC explodido em meio alcalino de acordo com o teor de proteína

Extração n°	Proteína por Lowry (g/L)	Proteína por Lowry (% b.s.)	Proteína por NTK (g/L)	Razão Lowry/NTK	Volume de gelatina (mL)	Rendimento da Extração de Proteína (%)	Rendimento Acumulado da Extração de Proteína (%)
1	28,7 ± 1,8	62,4	6,6 ± 0,4	4,3	212	38,5	38,5
2	5,1 ± 0,3	51,0	1,2 ± 0,1	4,2	176	5,8	44,3
3	0,7 ± 0,2	23,3	0,2 ± 0,0	3,8	175	0,9	45,2

Ao contrário do teor de cinzas e de cromo, que aumenta em base seca na segunda e terceira extração sequencial, o teor de proteína reduz. Ainda assim, o aumento de 38,5 para 44,3% no rendimento do processo quando realizada a segunda extração sequencial, justifica sua realização. A terceira extração sequencial, entretanto, aumenta o rendimento para apenas 45,2%.

Com relação à qualidade da gelatina extraída, medida por meio da razão Lowry/NTK, pode-se dizer que a gelatina extraída na terceira extração sequencial é de menor qualidade (mais degradada). Isto porque esta possui menor valor de razão Lowry/NTK se comparada às gelatinas extraídas na primeira e segunda extrações sequenciais (valores de razão Lowry/NTK de 3,8, 4,3 e 4,2, respectivamente).

Tendo em vista a discussão aqui apresentada, pode-se apontar que a melhor prática de extração de gelatina de RCCC consiste em realizar duas extrações sequenciais. Desta forma, consegue-se um aumento de 5,8% no rendimento do processo sem reduzir a qualidade da gelatina e sem levar a uma solubilização de matéria inorgânica maior do que a própria extração de proteína, como ocorre na terceira extração.

5.2.5. Concentração e purificação da gelatina

As Tabelas 26 e 27 apresentam a caracterização para a fração de concentrado resultante dos processos de concentração por ultrafiltração e purificação por diafiltração da gelatina em pH 10,5 e 7,5. A análise estatística dos dados é apresentada no Apêndice G.

Tabela 26 - Caracterização da gelatina e concentrado antes e após concentração por ultrafiltração e diafiltrações em pH 7,5 e 10,5.

Amostra	Proteína por Lowry (g/L)	Proteína por NTK (g/L)	Cromo total (mg/L)	Massa seca (%)	Cinzas (%)	Cinzas (% base seca)
Gelatina não concentrada/ purificada	19,9 ± 1,5	5,03 ± 0,17	1,8 ± 0,1	3,47 ± 0,04	0,406 ± 0,058	12,4 ± 1,0
pH 10,5 Concentração	40,4 ± 5,4	10,89 ± 1,80	4,8 ± 1,8	6,86 ± 1,21	0,379 ± 0,025	5,0 ± 0,6
pH 10,5 Diafiltração 1	39,2 ± 5,4	10,99 ± 1,75	4,8 ± 1,8	6,81 ± 1,44	0,193 ± 0,016	3,1 ± 0,7
pH 10,5 Diafiltração 2	43,7 ± 3,9	12,01 ± 0,74	5,3 ± 1,3	7,55 ± 0,97	0,121 ± 0,015	1,7 ± 0,4
pH 10,5 Diafiltração 3	41,2 ± 4,3	11,18 ± 1,39	5,1 ± 1,2	7,18 ± 0,93	0,091 ± 0,016	1,2 ± 0,2
pH 7,5 Concentração	43,4 ± 5,3	13,93 ± 2,24	5,6 ± 1,7	8,32 ± 1,61	0,382 ± 0,043	4,9 ± 0,4
pH 7,5 Diafiltração 1	44,0 ± 5,9	12,44 ± 0,52	5,3 ± 1,8	8,14 ± 1,48	0,170 ± 0,040	2,3 ± 0,3
pH 7,5 Diafiltração 2	44,0 ± 5,9	11,27 ± 0,51	5,5 ± 1,7	8,20 ± 1,73	0,093 ± 0,048	1,2 ± 0,3
pH 7,5 Diafiltração 3	42,8 ± 4,1	10,89 ± 0,44	5,2 ± 1,5	7,66 ± 1,16	0,077 ± 0,039	0,9 ± 0,5

Na Tabela 26, percebe-se, em termos de concentração, um aumento nas concentrações em base úmida de proteína, massa seca e cromo, e redução no teor de cinzas na gelatina após os processos com membrana. Quando analisada a Tabela 27, entretanto, nota-se uma redução na massa total final dos constituintes supracitados no concentrado quando comparada à massa inicial presente na gelatina não concentrada ou purificada.

O aumento na concentração de proteína já era esperado para o processo visto que a proteína com massa molar acima do ponto de corte da membrana (portanto, acima de 20 kg/mol), passa pelos poros desta, e fica retida no concentrado. Entretanto, caso toda a proteína ficasse retida no concentrado, o aumento em sua concentração deveria ser de aproximadamente quatro vezes (número de vezes em que foi reduzido o volume da solução), o que não ocorreu no processo, que apresentou um aumento de concentração de proteína de aproximadamente duas vezes. Isto indica que parte da proteína passou pelos poros da membrana. A proteína que passa pelos poros da membrana é a proteína de menor massa molar, que sofreu maior grau de hidrólise/quebra de cadeia ao longo do processo de extração.

Tabela 27 - Redução percentual das massas de proteína, cromo, massa seca e cinzas na gelatina e concentrado antes e após o processo de concentração e diafiltrações em pH 7,5 e 10,5.

Amostra	Proteína por Lowry (redução %)	Proteína por NTK (redução %)	Cromo Total (redução %)	Massa Seca (redução %)	Cinzas (redução %)
pH 10,5/Concentração	49	45	33	51	77
pH 10,5/Diafiltração 1	51	45	33	51	88
pH 10,5/Diafiltração 2	45	40	26	46	93
pH 10,5/Diafiltração 3	48	44	29	48	94
pH 7,5/Concentração	45	31	22	40	77
pH 7,5/Diafiltração 1	45	37	26	41	89
pH 7,5/Diafiltração 2	45	44	24	41	94
pH 7,5/Diafiltração 3	46	45	28	45	95

* Aumentos de massa de cromo ou proteína ao longo das diafiltrações pode ser justificado por alterações no volume final de concentrado/permeado e erro analítico.

Com relação ao teor de cromo, esperava-se que o mesmo fosse reduzido por meio das diafiltrações. Em termos de concentração, o teor de cromo aumentou em torno de três vezes, aumento maior do que o do teor de proteína. Este aumento na concentração de cromo pode ser um indicativo de que este se encontra ainda ligado à proteína, conforme será a seguir discutido, em especial às cadeias de maior massa molar, visto que estas são retidas pela membrana. A redução no volume de água foi, portanto, maior do que a redução na massa de cromo presente na gelatina, resultando em seu aumento de concentração.

Quanto à possibilidade de o cromo estar ligado à proteína, e não solubilizado, os ensaios de precipitação de gelatina com o uso de acetona indicaram que aproximadamente 90% do cromo precipita junto à gelatina. Além disso nota-se que a matéria inorgânica não ligada à proteína é removida de forma eficaz com as diafiltrações, provado pela redução na massa de cinzas, enquanto que a massa de cromo permanece praticamente inalterada ao longo das diafiltrações, não sendo este solubilizado. Citam-se estes como mais dois indícios de que o cromo está ligado à molécula de colágeno, o que impede sua remoção, independentemente do método de purificação empregado.

As condições de processo mais adequadas (pH e número de diafiltrações) podem ser definidas levando-se em consideração o teor de proteína, cromo e cinzas após a ultrafiltração e as diafiltrações.

De acordo com a análise estatística, a variação de pH alterou de forma significativa apenas o teor de proteína medido em termos de NTK. Maiores teores de NTK foram encontrados em amostras cuja ultrafiltração/diafiltração se deu em pH 7,5. Tem-se, portanto, que o pH 7,5 é mais adequado ao processo.

Já o número de diafiltrações afetou significativamente apenas o teor de cinzas da gelatina. O teste de Tukey indica que, em pH 7,5, houve variação significativa no teor de cinzas da ultrafiltração para a diafiltração e da primeira diafiltração para a segunda. Da segunda diafiltração para a terceira, entretanto, não houve redução significativa no teor de cinzas da gelatina.

Com base nos resultados aqui apresentados, entende-se que é vantajoso realizar o processo de concentração e purificação da gelatina em pH 7,5 empregando-se duas diafiltrações.

Para a condição supracitada, determinou-se o teor de Al, Ca, Fe, Mg e Na antes e após processo de concentração e diafiltração, cujos resultados são apresentados na Tabela 28. O critério de seleção dos metais a serem analisados levou em consideração o metal presente no agente alcalinizante empregado na hidrólise (Ca), e os metais que apresentaram maior concentração em amostra de RCCC coletada da mesma empresa cujas amostras deste trabalho foram coletadas (Al, Fe, Mg, Na e também Ca) (MANERA *et al.*, 2016).

Tabela 28 - Teor de metais presentes na gelatina de RCCC antes e após processo final de concentração e purificação.

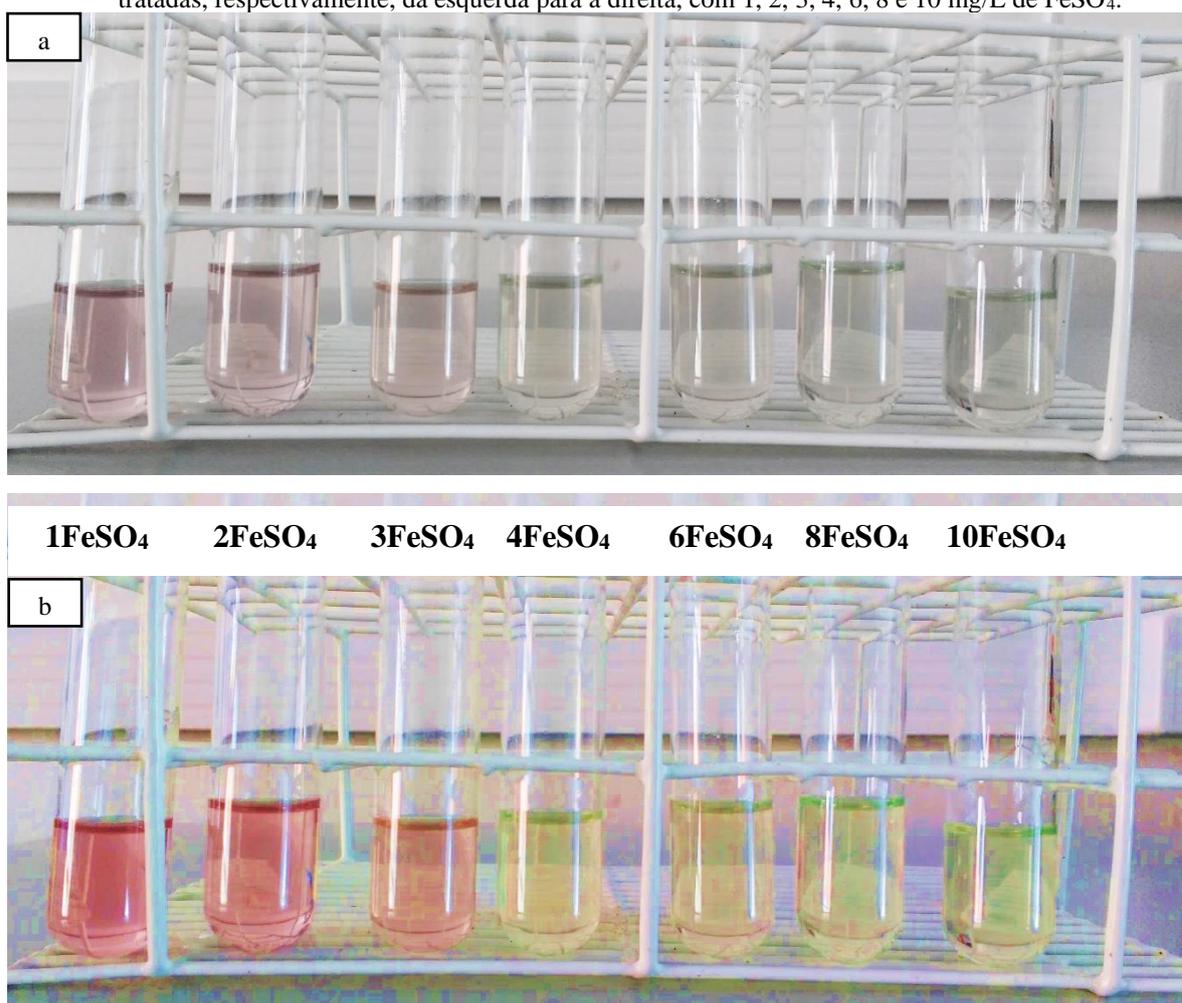
Parâmetro (mg/1000 g de gelatina diluída na mesma concentração)	Gelatina não concentrada/purificada	pH 7,5 Diafiltração 2	Redução % após processo de concentração e purificação
Al	16,7	3,1	81
Ca	1096	113	90
Fe	1,15	0,30	74
Mg	15,49	3,17	80
Na	289	23	92
Total	1418	142	90

A concentração de todos os metais reduziu após processo de concentração e purificação. A redução total no teor dos metais testados, igual a 90%, é semelhante à redução no teor de cinzas para a gelatina cuja concentração e duas diafiltrações foram realizadas em pH 7,5, igual a 94%.

5.2.6. Conversão do cromo hexavalente residual na gelatina em cromo trivalente

A Figura 30 mostra a coloração obtida após a reação da difenilcarbazida em meio ácido com as amostras de gelatina tratadas com FeSO_4 para conversão de cromo hexavalente em trivalente. As amostras em questão são as provenientes da condição ótima de extração de gelatina seguida de ultrafiltração e diafiltração.

Figura 30 – Coloração obtida após a reação da difenilcarbazida com o cromo presente na gelatina tratada com sulfato de ferro (III) em imagem a (não tratada) e imagem b (com ajuste de contraste de cor) para amostras tratadas, respectivamente, da esquerda para a direita, com 1, 2, 3, 4, 6, 8 e 10 mg/L de FeSO_4 .



Fonte: o autor

As amostras tratadas com uma proporção de 1, 2 e 3 mg de FeSO_4 para cada litro de gelatina ainda reagem com a difenilcarbazida, originando um complexo de cor rosa (destacado na imagem b, com ajuste de contraste de cor), o que indica a presença de cromo VI. Adições de 4 mg de FeSO_4 para cada litro de gelatina já são suficientes para a completa conversão do cromo VI em III.

Baseando-se nos resultados aqui apresentados, convencionou-se que cada litro de gelatina extraída de RCCC será tratada com 4 mg de FeSO_4 e, posteriormente, o teste da difenilcarbazida será novamente executado na amostra a fim de verificar a completa conversão do cromo hexavalente em trivalente.

5.2.7. Processo final de extração de gelatina de RCCC

O processo final de extração de gelatina a partir do RCCC consistiu, portanto, nas seguintes etapas:

1. Em reator de explosão a vapor, são adicionados 100 g de RCCC e 4 g de CaO. A camisa do reator é mantida aquecida a 100°C e as amostras são mantidas no reator com vapor saturado a 140°C por 10 min, quando é realizada a descarga do material para pressão atmosférica;
2. O RCCC hidrolisado no reator de explosão a vapor é ambientado a 45°C e 180 mL de água a 100°C são adicionados ao resíduo. A mistura é agitada por 3 min e a gelatina separada da torta sólida por filtração a vácuo. O processo de extração com água quente é repetido com a torta residual da primeira extração;
3. A gelatina é então concentrada a 25% do seu volume inicial pelo uso de membrana de ultrafiltração, em pH 7,5. São realizadas duas diafiltrações (empregando-se água deionizada em volume 3 vezes o volume de gelatina concentrada) para redução do teor de cinzas do material. O cromo hexavalente presente na gelatina é então reduzido pela adição de 4 mg de FeSO_4 para cada 1 L de gelatina.

O processo resulta em gelatina com 44 g/L de proteína (medida pelo método de Lowry), 5,5 mg/L de cromo (III), 8,2% de massa seca e 1,2% de cinzas em base seca.

O tempo total de processo dependerá da quantidade de gelatina a ser extraída e purificada. Para volume final de um litro de gelatina, e levando-se em consideração

equipamentos de dimensões apropriadas para produção deste volume em batelada única por processo, estima-se: 15 min de explosão a vapor (considerando-se tempo de alimentação e retirada da batelada, além do processo em si), 10 min de extração de gelatina com água a 100°C e posterior filtração, 30 min de purificação e concentração em sistema de ultrafiltração, 5 min para redução do cromo hexavalente para trivalente, totalizando um tempo estimado de 1 h de processo.

5.3. FILMES POLIMÉRICOS DE AMIDO E GELATINA

5.3.1. Caracterização da matéria-prima

A Tabela 29 apresenta o teor de massa seca e cinzas para as matérias-primas utilizadas na produção dos filmes poliméricos. O teor de massa seca foi empregado na determinação da massa total dos componentes a ser adicionada na produção dos filmes visto que a formulação dos mesmos foi calculada em base seca. O pH da solução filmogênica produzida a partir de gelatina comercial e também de gelatina do RCCC foi igual a $7 \pm 0,5$. De acordo com Farris; Song e Huang (2010), valores de pH neutros ou levemente alcalinos favorecem a reticulação da gelatina com glutaraldeído, o que indica que o pH empregado durante a reação é adequado.

Verifica-se um maior teor de cinzas base seca na gelatina extraída do RCCC, resultado esperado quando comparado à gelatina comercial. Conforme trabalhos anteriores, a maior concentração de sais acaba alterando as propriedades dos filmes produzidos com a gelatina do RCCC, tornando-os mais higroscópicos (KOLOMAZNÍK *et al.*, 1999; SCOPEL *et al.*, 2017). Tais alterações serão aprofundadas quando discutidas as propriedades dos filmes.

Tabela 29 - Teor de massa seca e cinzas para as matérias-primas empregadas na produção dos filmes poliméricos.

Amostra	Massa seca (%)	Cinzas (%)	Cinzas b.s. (%)
Gelatina Comercial	91,0 ± 0,2	0,22 ± 0,04	0,24 ± 0,04
Gelatina de RCCC	8,2 ± 1,7	0,09 ± 0,05	1,2 ± 0,3
Amido de Milho	90,3 ± 0,1	n.d.	n.d.
Glicerol	92,1 ± 1,2	1	1

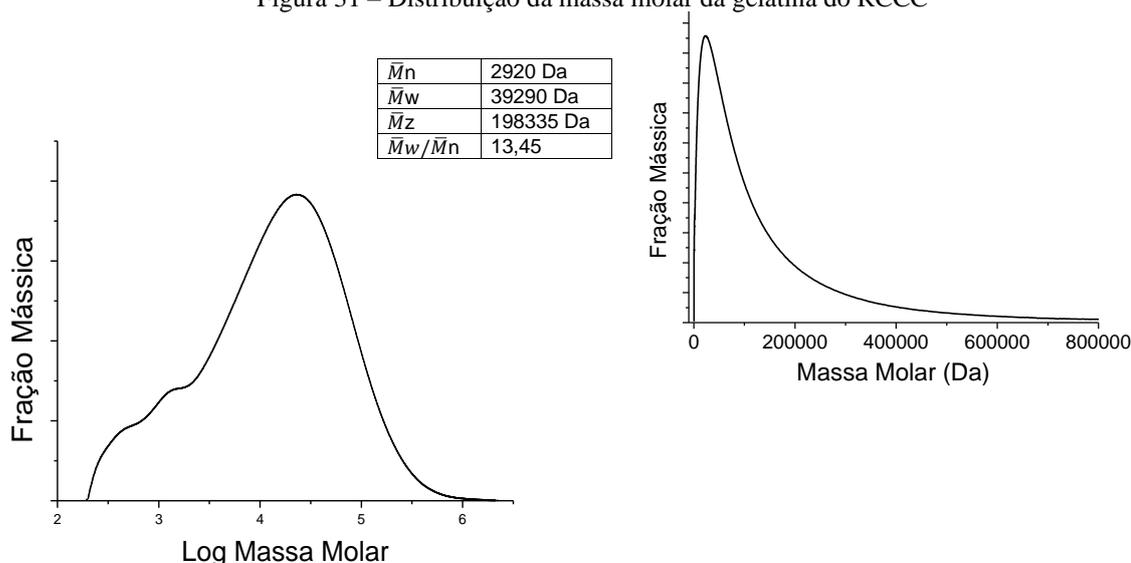
b.s. = base seca n.d. = teor de cinzas não detectado pelo método

¹ Teor de cinzas não determinado para o material em questão

Os valores de massa molar numérica média (\bar{M}_n), massa molar ponderal média (\bar{M}_w) e massa molar z média (\bar{M}_z), a polidispersão (\bar{M}_w/\bar{M}_n) bem como a curva de distribuição de

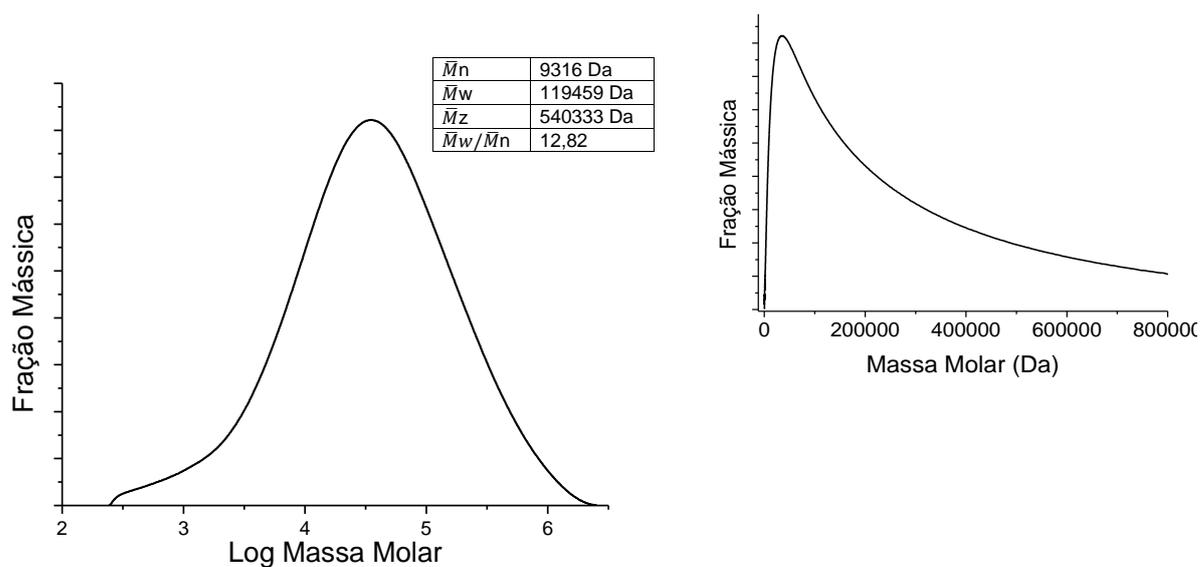
massa molar para as gelatinas comercial e extraída de RCCC são apresentadas nas Figuras 31 e 32 respectivamente. O formato alargado das curvas de distribuição de massa molar especialmente para a gelatina de RCCC indica que não há uma homogeneidade no tamanho das cadeias moleculares que constituem as amostras de gelatina empregadas na produção dos filmes poliméricos.

Figura 31 – Distribuição da massa molar da gelatina do RCCC



Fonte: o autor

Figura 32 – Distribuição da massa molar da gelatina comercial



Fonte: o autor

A polidispersão da gelatina extraída do RCCC é igual a 13,45, enquanto que a da gelatina comercial é igual a 12,82 confirmando a maior largura da curva da distribuição de massa molar da gelatina RCCC apresentada na Figura 31. De acordo com Akcelrud (2007), maiores valores de polidispersão (\bar{M}_w/\bar{M}_n) indicam a existência uma cauda de baixa massa molar na curva de distribuição. Isto é observado em ambas as amostras, mas principalmente na gelatina do RCCC, que possui uma cauda de baixa massa molar mais acentuada (correspondente às moléculas que sofreram maior hidrólise durante a extração) e maior valor de polidispersão. Sendo assim, a amostra de gelatina de RCCC apresenta maior proporção de macromoléculas de menor massa molar do que a gelatina comercial.

Os valores de massa molar ponderal média para as amostras das duas gelatinas (39 e 119 kDa, para gelatina do RCCC e comercial, respectivamente) estão dentro da faixa típica de massa molar para gelatinas extraídas por processo alcalino, que varia de 20 a 120 kDa (GENNADIOS, 2002). Diferentes massas molares numérica média (\bar{M}_n) podem ser correlacionados a variações nas propriedades mecânicas visto que indicam diferentes números de pontas soltas nas cadeias poliméricas. Cadeias menores interrompem interações moleculares, reduzem coesão e resistência mecânica. Elas atuam como plastificantes no sistema (AKCELHUD, 2007)

O menor valor, encontrado para a gelatina do RCCC, era esperado devido à necessidade de rompimento das ligações cromo-colágeno para a extração da gelatina a partir do RCCC. O processo de hidrólise se torna mais agressivo do que aquele usado para extração de gelatina comercial, que é feita a partir de ossos, pele e cartilagem animal. Ressalta-se que a gelatina comercial apresenta boa proporção mássica de macromoléculas de maior tamanho (600.000-800.000 Da), ou seja, maior M_z do que a gelatina do RCCC. Visto que macromoléculas de maior tamanho apresentam melhor desempenho mecânico, espera-se obter melhores propriedades mecânicas para os filmes de gelatina comercial.

Ainda assim, percebe-se nas duas amostras moléculas com massa molar superior a 120 kDa (Figura 31). As longas cadeias poliméricas permitem que a gelatina sofra, em meio aquoso a temperaturas baixas ($\pm 4^\circ\text{C}$) o processo de gelificação, que fica evidenciado pela aparência de um gel firme da amostra de gelatina do RCCC apresentada na Figura 33.

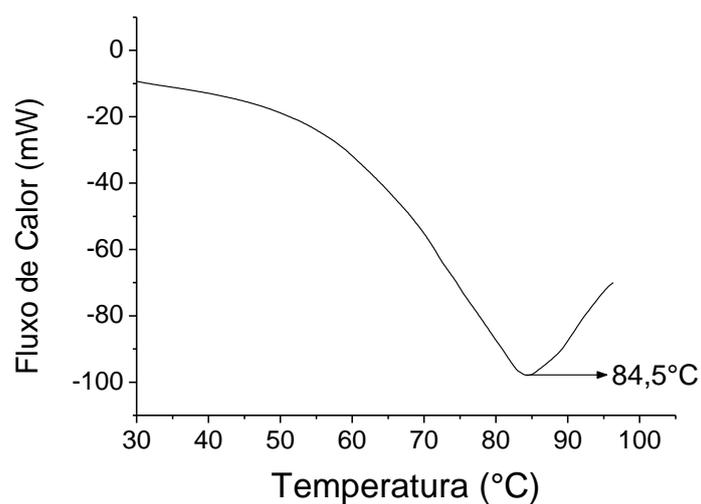
Figura 33 - Gelatina extraída de RCCC após 24 h a 4°C.



Fonte: o autor

Determinou-se teor de amilose do amido igual a 27% ($\pm 0,6$), e o de amilopectina, por subtração, igual a 73%, valores de acordo com os tipicamente encontrados para amido de milho nativo. Já a temperatura de gelatinização do amido é de 84,5°C, conforme mostrado na Figura 34. Assim, é necessário que a solução filmogênica seja aquecida acima desta temperatura para que o amido possa sofrer o processo de gelatinização de forma adequada.

Figura 34 – Termograma de DSC do amido de milho em água para determinação da temperatura de gelatinização.



Fonte: o autor

5.3.2. Aspectos visuais dos filmes

A Figura 35 apresenta o registro visual das amostras de filmes produzidas. Percebe-se visualmente alteração de cor (para o amarelo) nas amostras com presença de gelatina e adição de glutaraldeído. Nos filmes produzidos a partir da mistura de amido de milho e gelatina do RCCC houve uma clara separação de fases, mais visível com a adição de glutaraldeído que reticula (e torna de coloração amarela) regiões ricas em gelatina, e mantém o filme com coloração mais esbranquiçada em regiões ricas em amido de milho.

Figura 35 – Da esquerda para a direita, filmes produzido com: gelatina comercial e amido, AC(0,0); gelatina comercial, amido e glutaraldeído, AC(3,0); gelatina extraída do RCCC e amido, AR(0,0); gelatina extraída do RCCC, amido e glutaraldeído, AR(3,0).



Fonte: o autor

5.3.3. Microscopia óptica nos filmes

As Figuras 36 e 37 apresentam o registro fotográfico da microscopia ótica realizada nas amostras produzidas com amido de milho, sem e com a adição de glutaraldeído, respectivamente. Em algumas regiões do filme obtido por *casting* percebe-se a presença de estruturas semelhantes a grânulos. A produção de solução filmogênica foi realizada acima da temperatura de gelatinização do amido, o que deveria resultar no processo completo de gelatinização.

Figura 36 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho e glicerol sem glutaraldeído (A(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.



Fonte: o autor

Figura 37 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho e glicerol com glutaraldeído (A(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.



Fonte: o autor

As estruturas semelhantes a grânulos presentes nas Figuras 36 e 37 podem corresponder à aglomeração de grânulos de amido que passaram pelo inchamento, mas não chegaram a ser rompidos e gelatinizar. Uma distribuição não homogênea da temperatura da solução filmogênica durante sua produção pode ter acarretado na gelatinização incompleta do amido.

As Figuras 38 e 39 apresentam o registro fotográfico das microscopias óticas realizadas nas amostras produzidas com gelatina comercial, sem e com a adição de glutaraldeído, respectivamente.

Figura 38 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina comercial e glicerol sem glutaraldeído (C(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X e 1000X.



Fonte: o autor

Figura 39 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina comercial e glicerol com glutaraldeído (C(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X e 1000X.



Fonte: o autor

As imagens de microscopia ótica das amostras produzidas a partir de gelatina indicam a produção de um filme uniforme. As marcas visualizadas no aumento de 1000x são as marcas do Teflon sobre o qual a solução filmogênica é espalhada e seca.

As Figuras 40 a 42 apresentam o registro fotográfico das imagens de microscopia ótica das amostras produzidas com a blenda amido de milho e gelatina comercial, sem e com a adição de 1,5 e 3.0% glutaraldeído, respectivamente.

Figura 40 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho, gelatina comercial e glicerol sem glutaraldeído (AC(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 400X e 1000X.



Fonte: o autor

Figura 41 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho, gelatina comercial e glicerol com 1,5% de glutaraldeído (AC(1,5)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 400X e 1000X.



Fonte: o autor

Figura 42 - MO das amostras produzidas a partir de amido de milho, gelatina comercial e glicerol com 3,0% de glutaraldeído (AC(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 400X e 1000X.



Fonte: o autor

Com relação às imagens de MO das amostras produzidas pela blenda amido de milho e gelatina comercial com a adição de glutaraldeído, destaca-se a presença de estruturas esféricas visíveis especialmente em aumentos de 1000X. Não foi possível visualizar tais estruturas nas

amostras produzidas sem glutaraldeído. Tais esferas podem ser resultantes da migração da fase da blenda rica em gelatina para a superfície do filme durante a secagem devido à menor densidade da fase proteica em comparação com a fase rica em amido (ACOSTA *et al.*, 2016; ACOSTA *et al.*, 2015).

As Figuras 43 e 44 apresentam as imagens de MO das amostras produzidas com gelatina de RCCC sem e com adição de glutaraldeído, respectivamente.

Figura 43 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina de RCCC e glicerol sem glutaraldeído (R(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 1000X.



Fonte: o autor

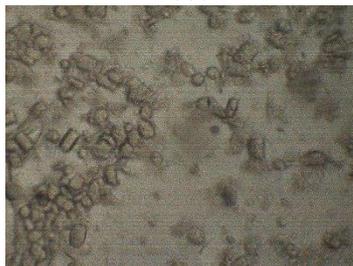
Figura 44 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina de RCCC e glicerol com glutaraldeído (R(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 1000X.



Fonte: o autor

Percebe-se a presença de cristais com um aumento de 1000X. Estes provavelmente se formam a partir dos sais não removidos durante o processo de purificação da gelatina do RCCC. A Figura 45 apresenta o registro fotográfico das imagens de MO realizadas em filme de gelatina de RCCC não purificada (sem passar pelo processo de remoção de sais por ultrafiltração) plastificado com o uso do glicerol. A ultrafiltração reduziu o teor de sais presentes na gelatina, conforme apresentado na Tabela 28. Sendo assim, a maior densidade de estruturas semelhantes a cristais na Figura 45 em comparação com as imagens de MO para as blends de amido e gelatina de RCCC purificada por ultrafiltração deve-se à maior concentração de sais nos filmes de gelatina não purificada.

Figura 45 - MO das amostras produzidas a partir de gelatina de RCCC não purificada e glicerol com um aumento de 1000X



As Figuras 46 a 48 apresentam o registro fotográfico das imagens de MO realizadas nas amostras produzidas com a blenda amido de milho e gelatina de RCCC, sem e com a adição de glutaraldeído, respectivamente.

Figura 46 - MO das amostras produzidas a partir de amido, gelatina de RCCC e glicerol sem glutaraldeído (AR(0,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.



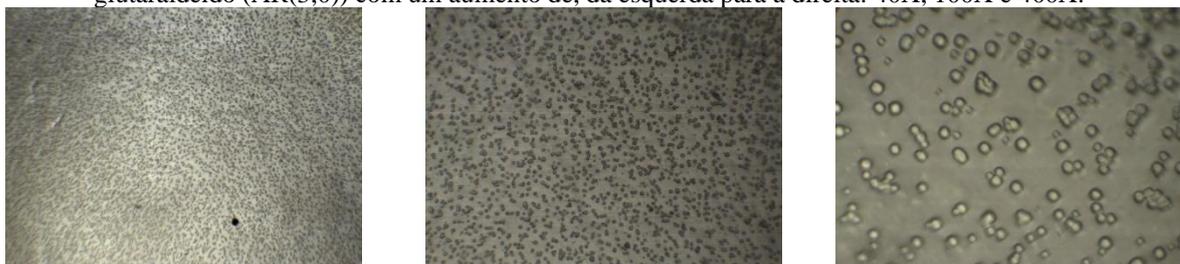
Fonte: o autor

Figura 47 - MO das amostras produzidas a partir de amido, gelatina de RCCC e glicerol com 1,5% de glutaraldeído (AR(1,5)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.



Fonte: o autor

Figura 48 - MO das amostras produzidas a partir de amido, gelatina de RCCC e glicerol com 3,0% de glutaraldeído (AR(3,0)) com um aumento de, da esquerda para a direita: 40X, 100X e 400X.



Fonte: o autor

A separação de fases da blenda amido de milho e gelatina de RCCC fica clara ao avaliar-se as imagens de MO apresentadas. Assim como visualizado nas amostras produzidas a partir de amido e gelatina comercial, destaca-se a presença de estruturas esféricas visíveis especialmente em aumentos de 400X. No caso das amostras produzidas com gelatina do RCCC, tais estruturas poderiam justificar a separação entre as fases visualizadas a olho nu.

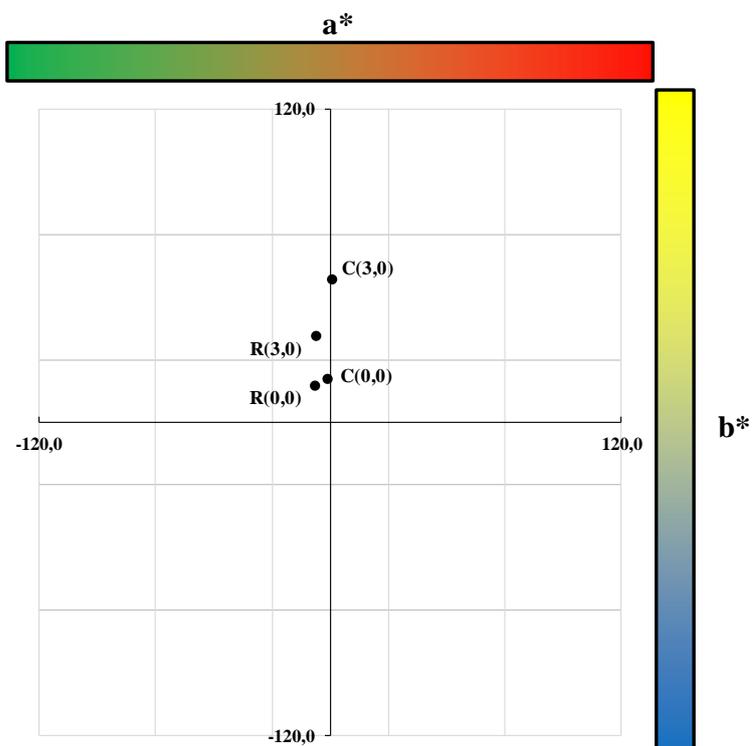
As imagens de MO indicam que gelatina e amido são imiscíveis ou que a homogeneização destes não foi efetiva, originando uma estrutura heterogênea. Acosta *et al.* (2016) apresentaram imagens de MO para filmes produzidos pela blenda de amido e gelatina, chegando à mesma conclusão. Segundo os autores, a imiscibilidade dos dois polímeros leva à formação de fases ricas em gelatina dispersas em uma matriz rica em amido.

5.3.4. Cor e UV-VIS nos filmes

A principal característica visual provocada pela reticulação das cadeias de gelatina pela ação do glutaraldeído é a presença da coloração amarelada resultante da reação dos grupos NH_2 de alguns aminoácidos da proteína da gelatina com o grupamento $\text{C}=\text{O}$ do aldeído, formando uma base de Schiff, caracterizada pela presença de um grupamento $\text{C}=\text{N}$ com carbono ligado a dois ligantes diferentes de hidrogênio.

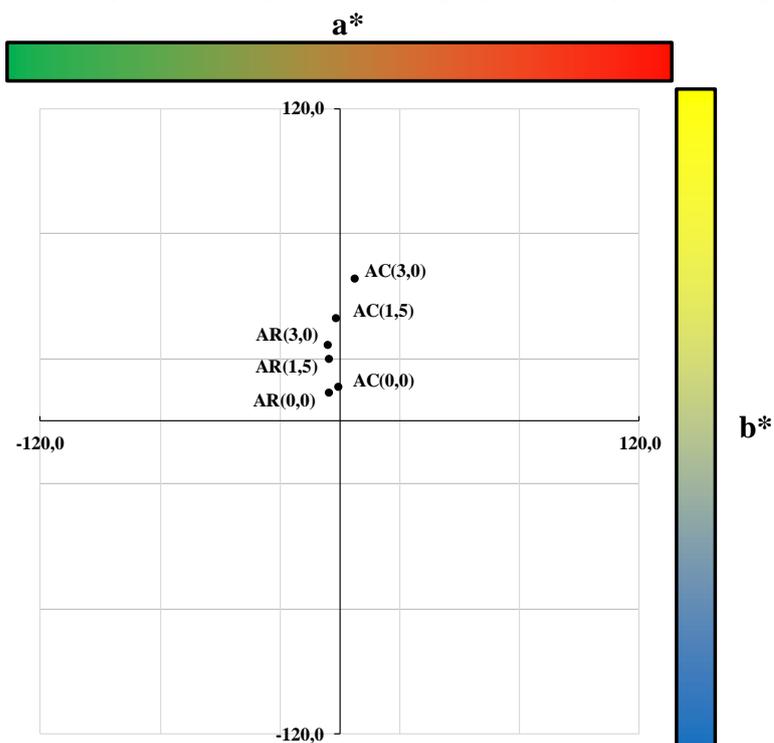
A ocorrência da reticulação foi verificada por duas técnicas de caracterização: cor e UV-Vis. A medição de cor mostra como a adição de glutaraldeído altera a cor das amostras, tendendo para o amarelo. As Figuras 49 e 50 mostram tal fenômeno. Também na Figura 50 verifica-se que a adição da maior concentração de glutaraldeído (3,0%) quando comparada à menor (1,5%) resulta em um amostra de tonalidade mais amarelada, indicando maior grau de reticulação da amostra.

Figura 49 - Cor dos filmes produzidos a partir de gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.



Fonte: o autor

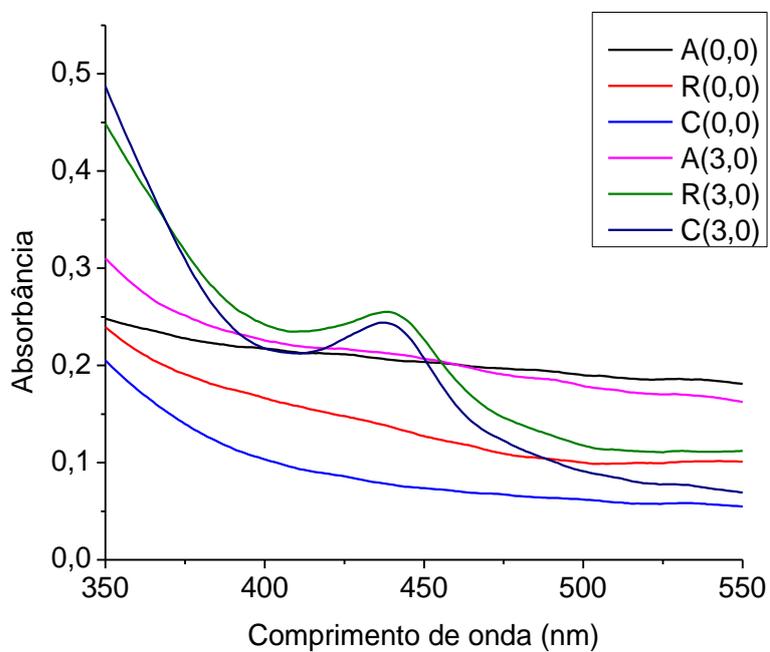
Figura 50 - Cor dos filmes produzidos a partir da blenda de amido (A) e gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.



Fonte: o autor

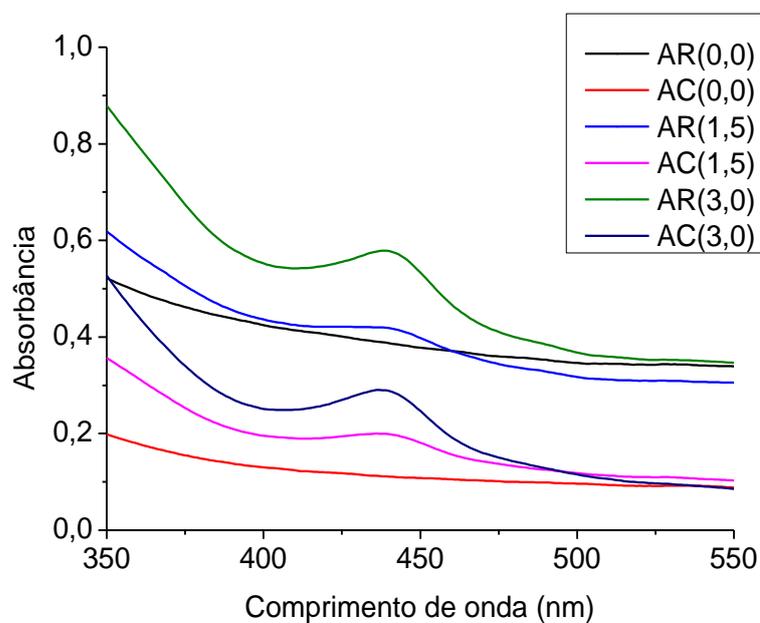
Já as Figura 51 e 52 apresentam o espectro de UV-Vis para os filmes aqui produzidos.

Figura 51 – Espectro de UV-Vis de filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.



Fonte: o autor

Figura 52 - Espectro UV-Vis dos filmes produzidos a partir da blenda de amido (A) e gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.



Fonte: o autor

As amostras produzidas com gelatina do RCCC possuem coloração mais esverdeada se comparadas às amostras produzidas com a gelatina comercial (Figuras 49 e 50). Possivelmente esta coloração seja derivada da presença do Cr (III) na gelatina do RCCC, que possui coloração verde. Nas Figuras 51 e 52 percebe-se a formação de um pico em 440 nm para todas as amostras produzidas com gelatina, comercial ou de RCCC, reticuladas com glutaraldeído. Este pico fica mais bem definido para as amostras produzidas com maior teor de glutaraldeído. Este comprimento de onda é aquele no qual tipicamente ocorrem as absorções de bases de Schiff. As amostras produzidas sem a adição de glutaraldeído ou então apenas com amido não apresentam a formação de tal pico.

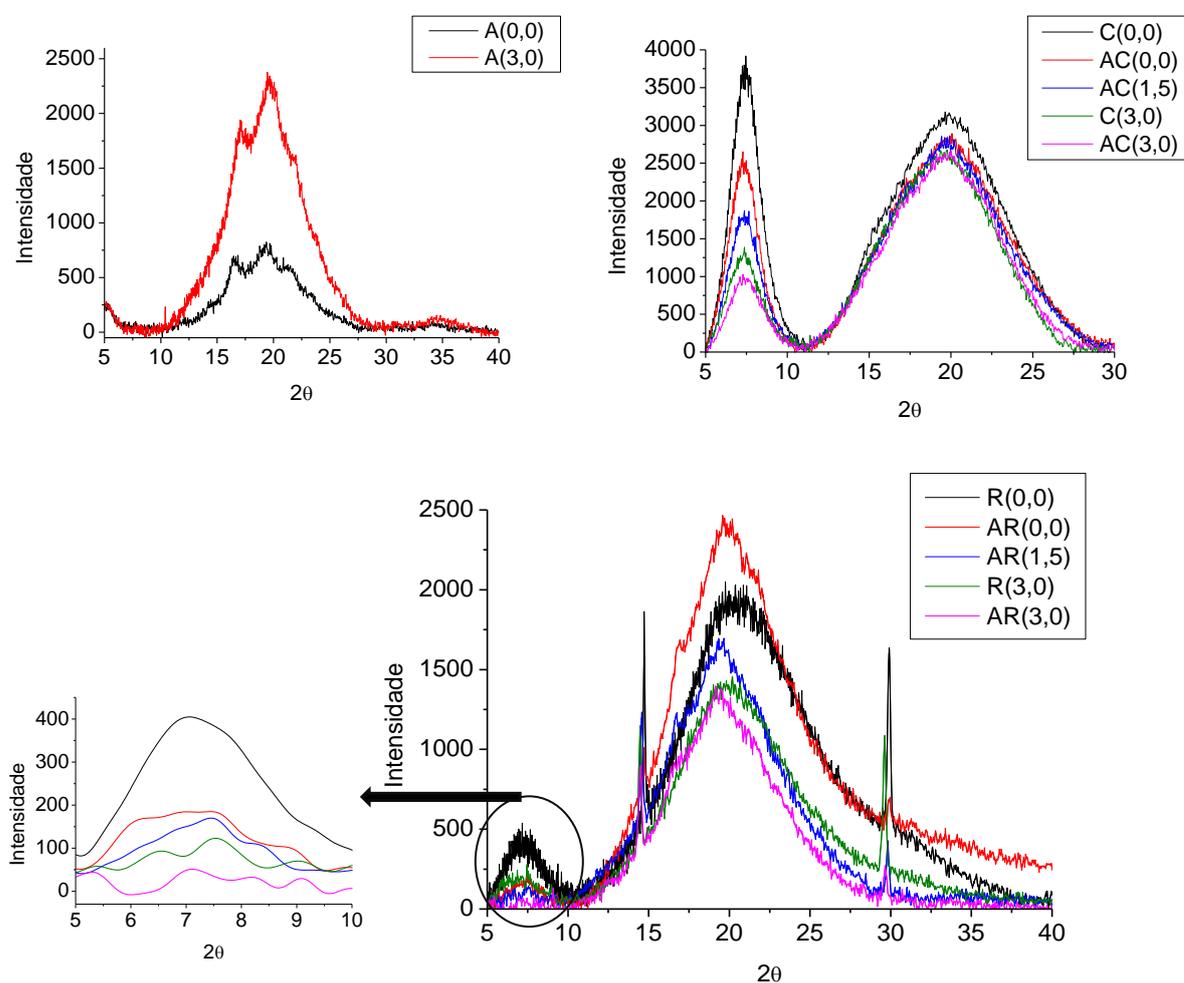
Ambas as análises, de cor e UV-Vis, indicam a ocorrência de reticulação entre gelatina e glutaraldeído, com maior grau de reticulação para as composições com mais glutaraldeído. Os efeitos da reticulação, bem como os efeitos das diferentes propriedades apresentadas pelas matérias primas empregadas na composição do filme serão discutidos a seguir.

5.3.5. DRX nos filmes

A Figura 53 apresenta os resultados de DRX para os filmes aqui produzidos. Observa-se, para filmes produzidos com gelatina comercial e de resíduo, um pico em aproximadamente $2\theta = 7,5^\circ$ e um halo em $2\theta = 20^\circ$. O primeiro pico corresponde conformação das cadeias proteicas da gelatina que se reconstituíram na estrutura de tripla-hélice (estrutura na qual se encontram as moléculas do colágeno antes de ser parcialmente hidrolisado e extraído na forma de gelatina). O halo, por sua vez, está relacionado às cadeias de gelatina distribuídas de forma randômica, sem organização espacial (DAMMAK; LOURENÇO; SOBRAL, 2019; QIAO *et al.*, 2017; SOLIMAN; FURUTA, 2014). A intensidade do pico em $2\theta = 7,5^\circ$ indica a quantidade de cadeias conformadas em estrutura de tripla-hélice. A redução na intensidade deste pico indica que a reconstrução da tripla-hélice foi impedida (WANG *et al.*, 2017a)

Percebe-se que a adição de glutaraldeído, por criar ligações entre as cadeias de gelatina, impede que haja a conformação das mesmas em estruturas helicoidais. Há, assim, uma redução na intensidade do pico quando da adição do agente reticulante. Também se observa que a adição de mais glutaraldeído reduz em ainda mais a intensidade do pico para a gelatina comercial. O mesmo comportamento ocorre com a adição de amido aos filmes, que igualmente reduz a formação da estrutura de tripla-hélice.

Figura 53 – Espectros DRX dos filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R) e de suas blends, com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.



Fonte: o autor

Além dos picos já relatados, os filmes produzidos com gelatina do resíduo de couro apresentam dois picos finos: um em $2\theta = 14,5^\circ$ e outro em $2\theta = 29,5^\circ$. Estes picos ocorrem devido à presença de sais, em especial aos de cálcio e sódio.

DRX das amostras de filmes de amido sem adição de gelatina apresentam um halo amorfo e, sobre este, picos cristalinos em $2\theta = 17^\circ$, $19,5^\circ$ e $21,5^\circ$. Tanto a amilose como a amilopectina podem formar estruturas organizadas, cristalinas, após a secagem dos filmes. A amilose se reorganiza rapidamente em uma estrutura cristalina quando na presença de elevado teor de umidade (primeiros estágios da secagem). Enquanto que a amilopectina demora dias para sofrer o processo de retrogradação (RINDLAV-WESTLING *et al.*, 1998). As cadeias de amilose se reorganizam no formato de dupla hélice durante a secagem do filme (ROMERO-BASTIDA *et al.*, 2015). De acordo com Souza De Miranda *et al.* (2015), o pico encontrado em

$2\theta = 17^\circ$ representa a cristalização das cadeias de amilose, enquanto que o encontrado em $2\theta = 19,5^\circ$ representa a cristalização das cadeias de amilopectina (TONGDEESOONTORN *et al.*, 2012). O aumento na intensidade do halo amorfo com a adição de glutaraldeído nos filmes de amido pode ser resultante de uma modificação do amido resultante de reação com glutaraldeído.

Nos resultados de DRX para a blenda amido e gelatina, não são visíveis os picos cristalinos provenientes da retrogradação do amido. A presença da gelatina (tanto comercial como de RCCC) pode ter inibido a formação de estruturas cristalinas do amido devido ao rompimento das interações amido-amido provocado pela formação da blenda, ou os picos cristalinos do amido não são visualizados por terem sido suavizado devido à intensidade do halo amorfo da gelatina.

5.3.6. Propriedades mecânicas de tração dos filmes

As Tabelas 30 e 31 apresentam os resultados de espessura média dos corpos de prova e as propriedades mecânicas para os filmes aqui estudados. As tabelas ANOVA com os resultados da análise estatística de significância dos fatores estudados sobre as variáveis analisadas encontram-se no Apêndice H. O resultado do teste de Tukey, para variações significativas entre médias, encontra-se nas próprias Tabelas 30 e 31.

Tabela 30 - Propriedades mecânicas dos filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.

Amostra ¹	Espessura (μm)	Tensão no escoamento (MPa)	Alongamento no escoamento (%)	Tensão na ruptura (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
A(0,0)	93 ± 1 ^b	8,3 ± 1,7 ^b	14 ± 1 ^{abc}	7,5 ± 0,8 ^{ab}	74 ± 18 ^b
A(3,0)	92 ± 1 ^b	5,1 ± 0,6 ^a	19 ± 2 ^{ac}	5,4 ± 0,4 ^b	94 ± 6 ^d
R(0,0)	111 ± 4 ^c	3,7 ± 0,1 ^a	18 ± 2 ^a	8,5 ± 0,5 ^a	144 ± 13 ^c
R(3,0)	99 ± 2 ^a	3,9 ± 0,7 ^a	19 ± 2 ^a	9,9 ± 0,8 ^a	157 ± 12 ^c
C(0,0)	107 ± 4 ^a	25,6 ± 1,7 ^d	13 ± 4 ^{bc}	27,7 ± 1,5 ^c	36 ± 4 ^a
C(3,0)	110 ± 3 ^a	20,5 ± 1,2 ^c	11 ± 3 ^b	27,8 ± 2,8 ^c	55 ± 10 ^{ab}

¹ No Código das amostras, A representa amido, R gelatina de RCCC, C gelatina comercial. O número entre parênteses é o percentual de glutaraldeído empregado na formulação

* Ao avaliar os resultados de uma mesma coluna, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si (p-Valor < 0,05)

Tabela 31 - Propriedades mecânicas dos filmes produzidos a partir das blendas de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.

Amostra ¹	Espessura (µm)	Tensão no escoamento (MPa)	Alongamento no escoamento (%)	Tensão na ruptura (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
AR(0,0)	99 ± 2 ^b	5,0 ± 0,1 ^a	15 ± 2 ^{ab}	6,4 ± 0,6 ^a	85 ± 10 ^{ac}
AR(1,5)	102 ± 3 ^b	5,4 ± 0,3 ^a	17 ± 2 ^a	7,4 ± 0,6 ^a	108 ± 7 ^{ad}
AR(3,0)	99 ± 2 ^b	4,6 ± 0,5 ^a	16 ± 5 ^a	7,2 ± 0,8 ^a	132 ± 45 ^d
AC(0,0)	107 ± 1 ^a	19,2 ± 1,5 ^c	12 ± 1 ^{bc}	20,4 ± 1,2 ^{bc}	33 ± 3 ^b
AC(1,5)	105 ± 1 ^a	15,2 ± 0,9 ^b	10 ± 2 ^c	21,4 ± 1,3 ^c	54 ± 10 ^{bc}
AC(3,0)	107 ± 2 ^a	15,3 ± 1,4 ^b	16 ± 1 ^{ab}	19,2 ± 1,6 ^b	95 ± 14 ^a

¹ No Código das amostras, A representa amido, R gelatina de RCCC, C gelatina comercial. O número entre parênteses é o percentual de glutaraldeído empregado na formulação

* Ao avaliar os resultados de uma mesma coluna, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si (p-Valor < 0,05)

A mesma massa seca total foi empregada na produção de todos os filmes e a medição da espessura foi realizada na mesma umidade relativa, que resultará em percentuais de absorção de água semelhantes para todos os filmes, conforme será apresentado no item 5.3.7. Sendo assim, a menor espessura dos filmes de amido, conforme verificado na Tabela 30, em comparação com os filmes de gelatina (ou da blenda, amido e gelatina) não está relacionada a variações no teor de umidade dos filmes e pode ser explicada por um maior grau de empacotamento das cadeias de amido de milho. Com relação à menor espessura dos filmes produzidos em blenda de amido de milho e gelatina do RCCC, se comparada à blenda com gelatina comercial, a polaridade das cadeias da gelatina do RCCC pode ter sido um fator fundamental na diferença encontrada. A gelatina do RCCC ainda possui cromo ligado às suas cadeias, conferindo maior polaridade às mesmas, o que facilita a aproximação das cadeias e aumenta seu grau de empacotamento (CANEVAROLO JR., 2006). A adição de glutaraldeído não afetou a espessura do material.

Os resultados das propriedades mecânicas indicam que todos os filmes apresentaram comportamento tenaz já que a tensão na ruptura das amostras foi superior à tensão no escoamento. Essa diferença foi mínima nos filmes de amido, provavelmente pela incompleta desnaturação do amido e má distribuição do amido com o glicerol, como visto nas imagens de MO da Figura 36 .

bOs filmes produzidos com amido puro tiveram sua resistência mecânica reduzida com a adição de glutaraldeído. De acordo com Gonenc e Us (2019), adições de baixas concentrações de glutaraldeído (inferiores a 5 ou 10%) podem não ser suficientes para que o efeito da

reticulação seja percebido na resistência mecânica do material. Assim, aliando-se o aumento do caráter amorfo do filme de amido conforme verificado pela análise de DRX, com uma reticulação em grau insuficiente para gerar aumento da resistência mecânica, tem-se uma redução deste parâmetro.

Devido à sua menor massa molar, à presença de maiores quantidades de sais e à presença de moléculas de baixa massa molar (gelatina que é hidrolisada em menores cadeias de colágeno hidrolisado), o uso de gelatina de RCCC, quando comparado à gelatina comercial, resultou na produção de filmes com menores valores de resistência à tração e maiores valores de alongamento, especialmente alongamento na ruptura. O mesmo comportamento foi observado para os filmes de polímeros puros e para as blendas. Estes valores são influenciados pela massa molar média do RCCC e da gelatina; a incompleta desnaturação do amido, e a incompatibilidade da blenda amido-gelatina como foi visto nas análises de MO. Os valores de \bar{M}_n estão associados a variações nas propriedades mecânicas, pois indicam diferentes números de pontas soltas nas cadeias poliméricas, como visto na distribuição de massas molares nas Figuras 32 e 33, onde foi verificado que a gelatina de RCCC possui maior fração de menor massa molar. Cadeias menores interrompem as interações moleculares, reduzem a coesão e a resistência mecânica e atuam como plastificantes no sistema (AKCELRUD, 2007). Os sais higroscópicos, como os de cálcio e sódio encontrados na gelatina de RCCC, também atuam como plastificantes nos filmes de amido-gelatina devido à sua capacidade de absorver água, um plastificante natural desse material (JIANG *et al.*, 2016).

O alongamento na ruptura aumentou com a adição de glutaraldeído nos filmes produzidos com a mistura de amido e gelatina de RCCC ou comercial. Também foi observado este aumento no alongamento na ruptura para os filmes produzidos apenas com os polímeros separadamente quando reticulados com glutaraldeído, o que não é, no entanto, estatisticamente significativo devido ao alto desvio padrão encontrado para os resultados. Diferentemente do aumento no alongamento dos filmes associado à redução da resistência dos mesmos causada pela presença de moléculas de baixa massa molar (efeito plastificante), o aumento no alongamento associado à manutenção das propriedades de resistência pode advir do aumento da massa molar das cadeias poliméricas após o processo de reticulação.

Também era esperado um aumento na resistência à tração dos filmes produzidos com gelatina causada pela reticulação com glutaraldeído, o que não ocorreu. Isso é justificado pela redução da cristalinidade dos filmes produzidos com gelatina. Enquanto a reticulação tornava o material mais resistente (pelo aumento na massa molar), a perda de cristalinidade (conforme

discutido nos resultados de DRX) tornava o material menos resistente (especialmente na região elástica). O balanço dos dois efeitos resultou na manutenção da resistência à tração do material praticamente inalterada pela adição de glutaraldeído.

Quanto à redução da resistência à tração ao comparar os valores encontrados para os filmes de polímero puro e para os filmes da blenda amido-gelatina, Garcia *et al.* (2018) indicaram que um aumento na resistência à tração dos filmes de gelatina devido à adição de amido ocorreu devido à formação de uma estrutura interna mais coesa do material. Analogamente, valores mais baixos de resistência à tração obtidos para filmes produzidos pela mistura de amido e gelatina podem resultar da formação de uma estrutura de filme interno menos coesa.

5.3.7. Solubilidade, permeabilidade ao vapor de água, inchamento e isoterms de sorção de água dos filmes

As Tabelas 32 e 33 apresentam os resultados das propriedades de interação com a água para os filmes aqui estudados. As tabelas ANOVA com os resultados da análise estatística de significância dos fatores estudados sobre as variáveis analisadas encontram-se no Apêndice H. O resultado do teste de Tukey, para variações significativas entre médias, encontra-se nas próprias Tabelas 32 e 33.

Tabela 32 – Propriedades de interação com a água para filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.

Amostra ¹	Solubilidade (%)	Permeabilidade ao Vapor de Água (g mm dia ⁻¹ m ⁻² kPa ⁻²)	Inchamento (% em massa)	Umidade na Monocamada (g H ₂ O/100 g filme)
A(0,0)	20,1 ± 1,5 ^a	13,2 ± 1,4 ^b	238 ± 19 ^a	5,55 ± 0,04 ^c
A(3,0)	21,3 ± 0,3 ^a	13,3 ± 0,9 ^b	253 ± 8 ^a	5,93 ± 0,08 ^d
R(0,0)	65,9 ± 3,9 ^e	10,2 ± 0,6 ^a	-- ²	8,56 ± 0,22 ^b
R(3,0)	56,3 ± 0,9 ^d	10,8 ± 1,0 ^a	685 ± 62 ^c	8,69 ± 0,13 ^b
C(0,0)	49,0 ± 1,5 ^c	16,5 ± 0,7 ^c	482 ± 36 ^b	6,90 ± 0,06 ^a
C(3,0)	25,8 ± 0,6 ^b	17,1 ± 0,5 ^c	163 ± 26 ^a	6,80 ± 0,15 ^a

¹ No Código das amostras, A representa amido, R gelatina de RCCC, C gelatina comercial. O número entre parênteses é o percentual de glutaraldeído empregado na formulação

² Resultados de inchamento não são apresentados porque as amostras se desintegraram ao longo do teste.

A solubilidade de filmes de amido, sem adição de gelatina, não foi alterada pela adição de glutaraldeído. Gonenc e Us (2019) indicaram que, em pH alcalino, a reticulação do amido com glutaraldeído não reduz a solubilidade do material.

A solubilidade dos filmes com gelatina na composição reduziu tanto para a adição de 1,5% como para a adição de 3,0% de glutaraldeído, na presença ou ausência de amido, com gelatina proveniente do RCCC ou com gelatina comercial. A redução na solubilidade deve-se à reticulação promovida nas cadeias de gelatina pela ação do glutaraldeído. O inchamento das amostras segue o mesmo comportamento da solubilidade. Menor inchamento para amostras produzidas a partir da gelatina comercial, e para aquelas reticuladas com glutaraldeído. A redução do grau de inchamento com a adição de glutaraldeído (e com o aumento de sua concentração) também traz um indício do aumento no número de ligações cruzadas formadas pela reticulação promovida pelo glutaraldeído. Uma maior densidade de ligações cruzadas resulta em um menor espaço para penetração de um solvente, ou seja, um menor grau de inchamento (AKCELRUD, 2007)

Tabela 33 - Propriedades de interação com a água para filmes produzidos a partir das blendas de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.

Amostra ¹	Solubilidade (%)	Permeabilidade ao Vapor de Água (g mm dia ⁻¹ m ⁻² kPa ⁻²)	Inchamento (% em massa)	Umidade na Monocamada (g H ₂ O/100 g filme)
AR(0,0)	52,9 ± 1,8 ^e	11,0 ± 1,2 ^a	-- ²	8,55 ± 0,14 ^a
AR(1,5)	44,7 ± 0,4 ^a	10,4 ± 0,5 ^a	503 ± 14 ^e	8,79 ± 1,03 ^c
AR(3,0)	30,6 ± 0,7 ^d	11,0 ± 0,7 ^a	350 ± 24 ^c	7,99 ± 0,15 ^a
AC(0,0)	44,1 ± 1,1 ^a	16,2 ± 1,7 ^b	411 ± 30 ^d	6,83 ± 0,09 ^b
AC(1,5)	25,4 ± 0,8 ^c	15,8 ± 2,3 ^b	187 ± 11 ^b	5,62 ± 0,15 ^b
AC(3,0)	20,5 ± 1,3 ^b	16,0 ± 0,5 ^b	126 ± 19 ^a	7,12 ± 0,07 ^a

¹ No Código das amostras, A representa amido, R gelatina de RCCC, C gelatina comercial. O número entre parênteses é o percentual de glutaraldeído empregado na formulação

² Resultados de inchamento não são apresentados porque as amostras se desintegraram ao longo do teste.

A redução percentual da solubilidade com adição de 3% de glutaraldeído foi igual a 14,5% para as amostras produzidas apenas com gelatina de RCCC sem amido, e 42% com amido; 47% para as amostras produzidas com gelatina comercial sem amido, e 53% com amido. A reticulação, entretanto, foi mais eficaz na redução do grau de inchamento dos filmes, que diminuiu em 66% para filmes de gelatina comercial sem amido e em 69% para filmes de gelatina comercial com amido (com adição de 3% de glutaraldeído). Dados para os filmes

produzidos com gelatina de RCCC não foram calculados devido à impossibilidade de determinação do grau de inchamento para as amostras não reticuladas.

A solubilização de um polímero passa por dois estágios: formação de um gel inchado (pela difusão de moléculas na estrutura polimérica) e formação da solução real. O processo de inchamento não ocorre, ou é prejudicado, na presença de ligações cruzadas. Quanto ao segundo estágio, de solubilização, ele é prejudicado pela cristalinidade, ligação de hidrogênio e ligações cruzadas (CANEVAROLO JR., 2006).

Assim, no estágio de inchamento, a reticulação tem ação direta sobre a redução da difusão de moléculas na estrutura do polímero. Entretanto, para a solubilização do material, tem-se que levar em consideração também a cristalinidade deste. Conforme verificado por DRX, enquanto que a adição de glutaraldeído promoveu a reticulação das cadeias de gelatina, ela reduziu a habilidade destas em se conformarem em estrutura helicoidal, reduzindo sua cristalinidade. Tem-se então a justificativa para a redução do grau de inchamento ser maior do que a redução da solubilidade para os filmes reticulados.

A permeabilidade ao vapor de água não foi alterada pela adição de glutaraldeído. Menores valores desta propriedade são encontrados em amostras produzidas com amido de milho sem adição de gelatina e nas amostras produzidas a partir da gelatina de RCCC. Devido à maior interação com a água dos filmes produzidos com gelatina de RCCC, esperava-se uma maior sorção de água nos filmes e mobilidade das moléculas de água nos mesmos, elevando a permeabilidade ao vapor de água. Entretanto, observou-se o oposto, o que pode ser justificado pelo efeito das cargas.

O efeito de cargas em compósitos poliméricos pode reduzir ou aumentar a permeabilidade. Por exemplo, o coeficiente de permeabilidade ao gás diminui consideravelmente quando cargas em pó são introduzidas nos polímeros em quantidades de até 5-10%. O valor continua a diminuir, mas menos rapidamente, quando o conteúdo de carga é aumentado ainda mais até 20-30% em volume. A permeabilidade cresce acentuadamente quando o conteúdo de carga é alto (40-50%). Tal característica da permeabilidade está relacionada com a complexidade do mecanismo de transferência de gás num sistema heterogêneo como o sistema polímero-carga. Em sistemas heterogêneos, a fase que determina a transferência de gás através de um material é a fase contínua, nesse caso a fase polimérica. Usualmente, as moléculas de polímero são adsorvidas na superfície da carga, e então estruturas mais densamente empacotadas são formadas, com menos permeabilidade a gás. Quando o

conteúdo de carga na fase polimérica é alto, aparentemente rupturas aparecem, isto é, sua continuidade é interrompida aumentando a permeabilidade (TAGER, 1978).

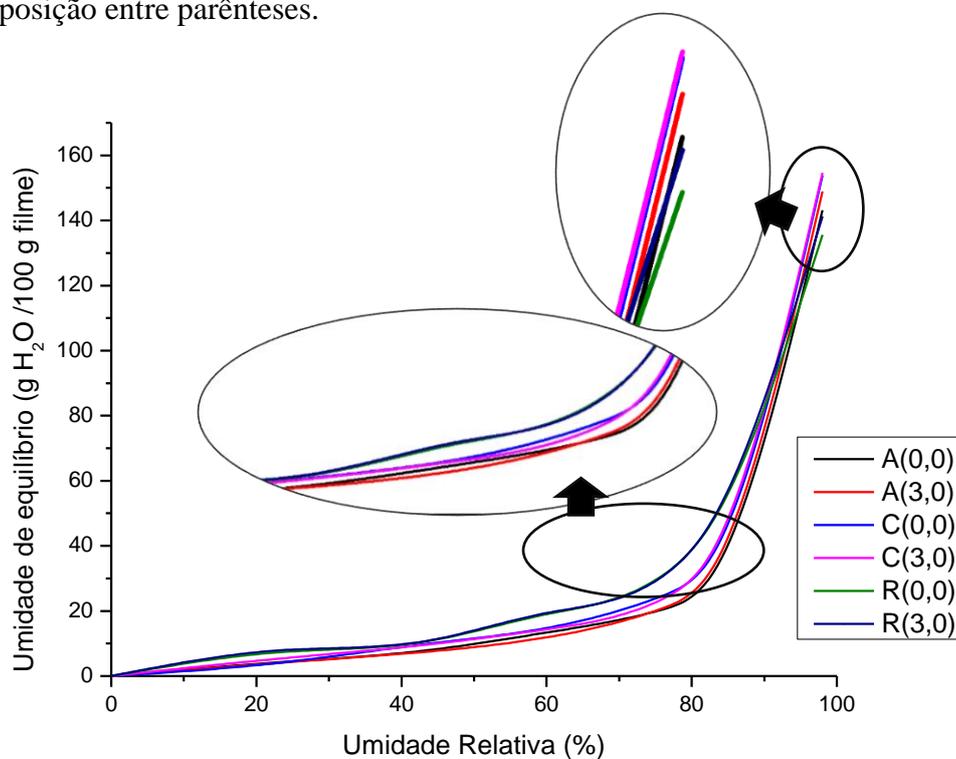
Leva-se então em consideração maior teor de sais nos filmes produzidos com gelatina de RCCC (que possui teor de cinzas igual a 1,2% em bases seca, conforme visto na Tabela 26) em comparação com os produzidos com gelatina comercial (que possui teor de cinzas igual a 0,24 % em base seca). Estes sais podem ter atuado com cargas que bloqueiam a permeação do vapor de água pelos filmes produzidos com gelatina de RCCC, o que culminou nos maiores resultados de permeabilidade para os filmes produzidos com gelatina comercial.

Maior umidade de equilíbrio do filme resulta em maiores valores de umidade na monocamada. A umidade na monocamada é um indicativo do grau de higroscopia do material estudado. Ela indica a quantidade máxima de água por grama de filme seco que pode ser sorvida em uma única camada, o que é uma medida do número de sítios de sorção de água do material (CELESTINO, 2010).

As Figuras 54 e 55 apresentam as isotermas de sorção de água em função da variação dos fatores estudados. De acordo com a classificação da International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), elas são do tipo II. Este tipo de isoterma é esperada para produtos alimentícios (DÍAZ *et al.*, 2011).

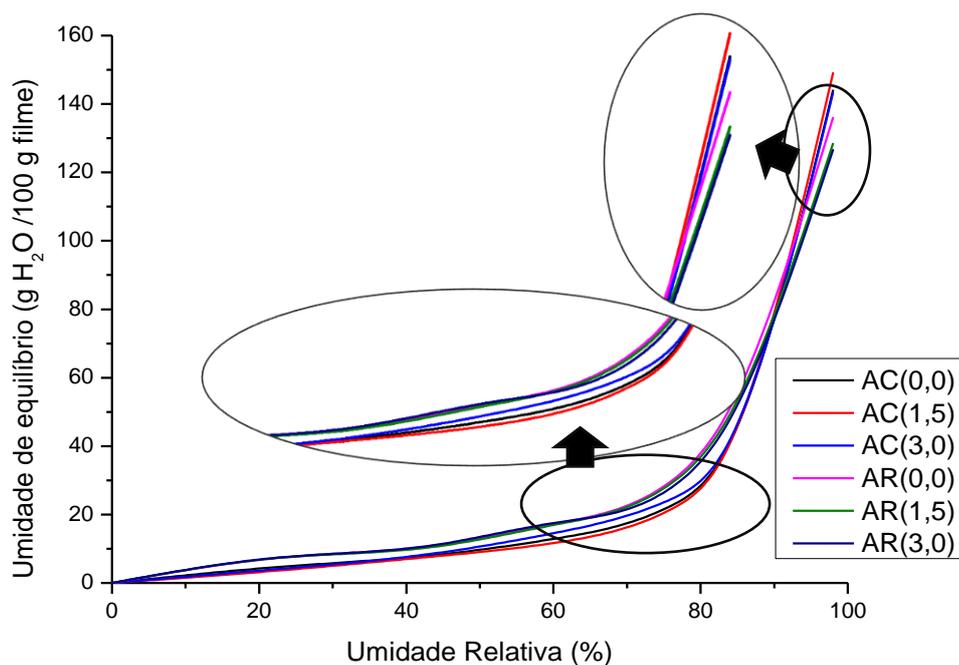
A adição de glutaraldeído não alterou de forma clara o comportamento das amostras em termos de sorção de água. Entretanto, nota-se nas curvas uma tendência diferente de comportamento para as amostras produzidas com gelatina do RCCC e gelatina comercial. Enquanto que as amostras produzidas com a gelatina do RCCC sorvem maior quantidade de água em umidades abaixo dos 85-90%, acima desta umidade ocorre uma inversão de comportamento; as amostras de gelatina comercial passam a sorver maior quantidade de água.

Figura 54 – Isotermas de sorção de água para filmes produzidos a partir de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.



Fonte: o autor

Figura 55 – Isoterma de sorção de água para filmes produzidos a partir das blendas de amido (A), gelatina comercial (C) ou gelatina do RCCC (R), com o percentual de glutaraldeído empregado na composição entre parênteses.



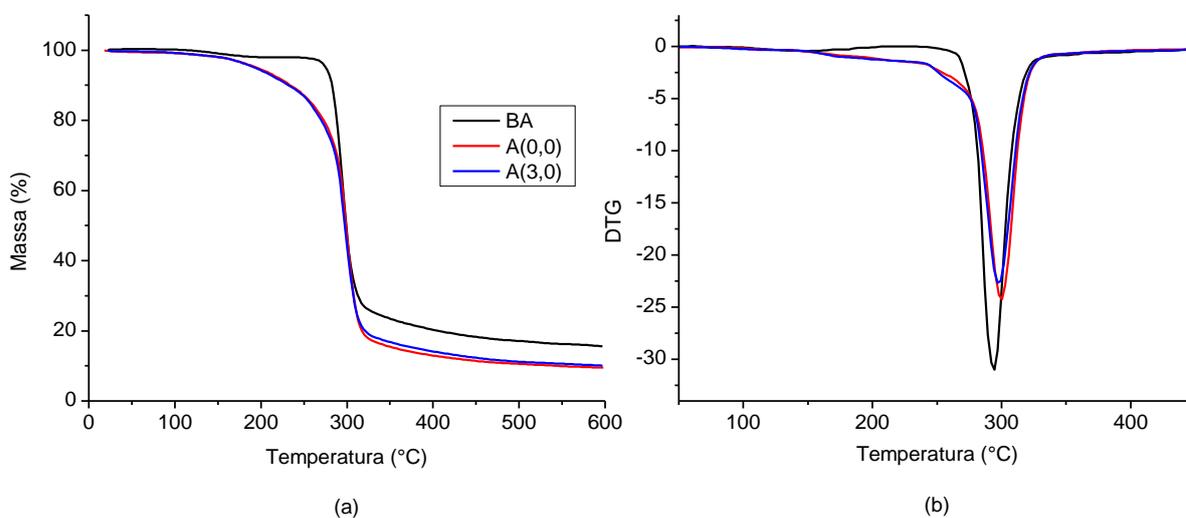
Fonte: o autor

Em umidades menores que 25%, as amostras sorvem baixas quantidades de água (<5g/g de filme), o que torna os filmes quebradiços devido à ausência do plastificante natural de filmes de amido e gelatina (a água). Em elevados valores de umidades relativas ambiente nota-se o oposto: sorção de massa de água maior do que a própria massa seca de filmes. Isto torna o material extremamente suscetível à ação de microrganismos em elevadas umidades, e reduz as propriedades mecânicas do mesmo. Propriedade interessante quando se tratar de aplicações de menor tempo de vida útil, como seria o caso da aplicação como fita de plantio.

5.3.8. Análise termogravimétrica – TGs dos filmes

A Figura 56 apresenta os termogramas para os filmes produzidos a partir de amido sem a adição de gelatina. A Tabela 34, situada ao final desta seção, apresenta as temperaturas característica extraídas dos ensaios de termogravimetria para todas as amostras testadas.

Figura 56 - Termograma para as amostras produzidas a partir de amido sem adição de glicerol ou glutaraldeído (BA), com adição de glicerol (A(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (A(3,0)) : (a) TG e (b) DTG).



Fonte: o autor

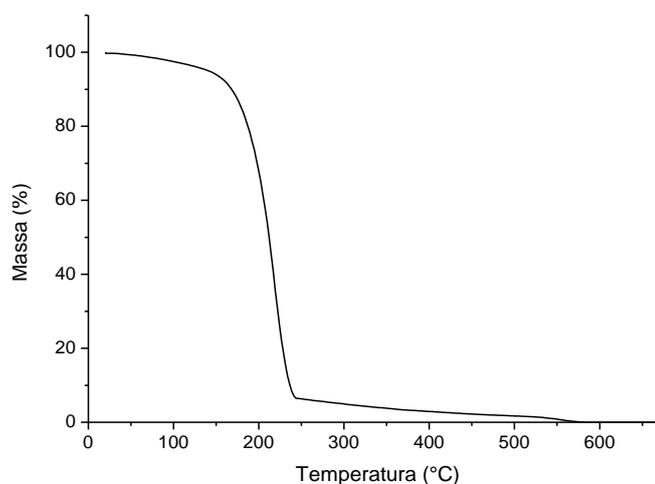
Na figura 56-a é possível verificar que o amido plastificado apresenta menor estabilidade térmica, mostrado pelo deslocamento das curvas para menores temperaturas, além de apresentar dois eventos térmicos de perda de massa, sendo o primeiro relacionado a decomposição do glicerol e o segundo do amido. Para as amostras produzidas apenas com amido de milho, observa-se nas curvas de DTG as temperaturas de máxima taxa de degradação

são iguais a 294°C, 300°C e 298°C para amostras de amido puro, com glicerol, e com glicerol e glutaraldeído, respectivamente. Elas estão de acordo com o encontrado na literatura (LUCHESE *et al.*, 2018). A degradação térmica no amido ocorre pela eliminação de grupos poli-hidroxiados, acompanhada pela despolimerização da cadeia e, finalmente, decomposição térmica (AFŞAR *et al.*, 2008).

O glutaraldeído não alterou o comportamento térmico dos filmes de amido sem adição de gelatina. Conforme previamente discutido, não ocorreu reação de reticulação entre amido e glutaraldeído que, por ser volátil, não mais se encontrava na amostra no momento da análise termogravimétrica.

A adição de glicerol fez com que a degradação térmica dos filmes de amido fosse acelerada, iniciando a mais baixas temperaturas. Neste primeiro evento o glicerol se decompõe à 222°C, conforme Figura 57, o que está de acordo com valores reportados por outros autores (LUO *et al.*, 2013).

Figura 57 - Termograma para glicerol.



Fonte: o autor

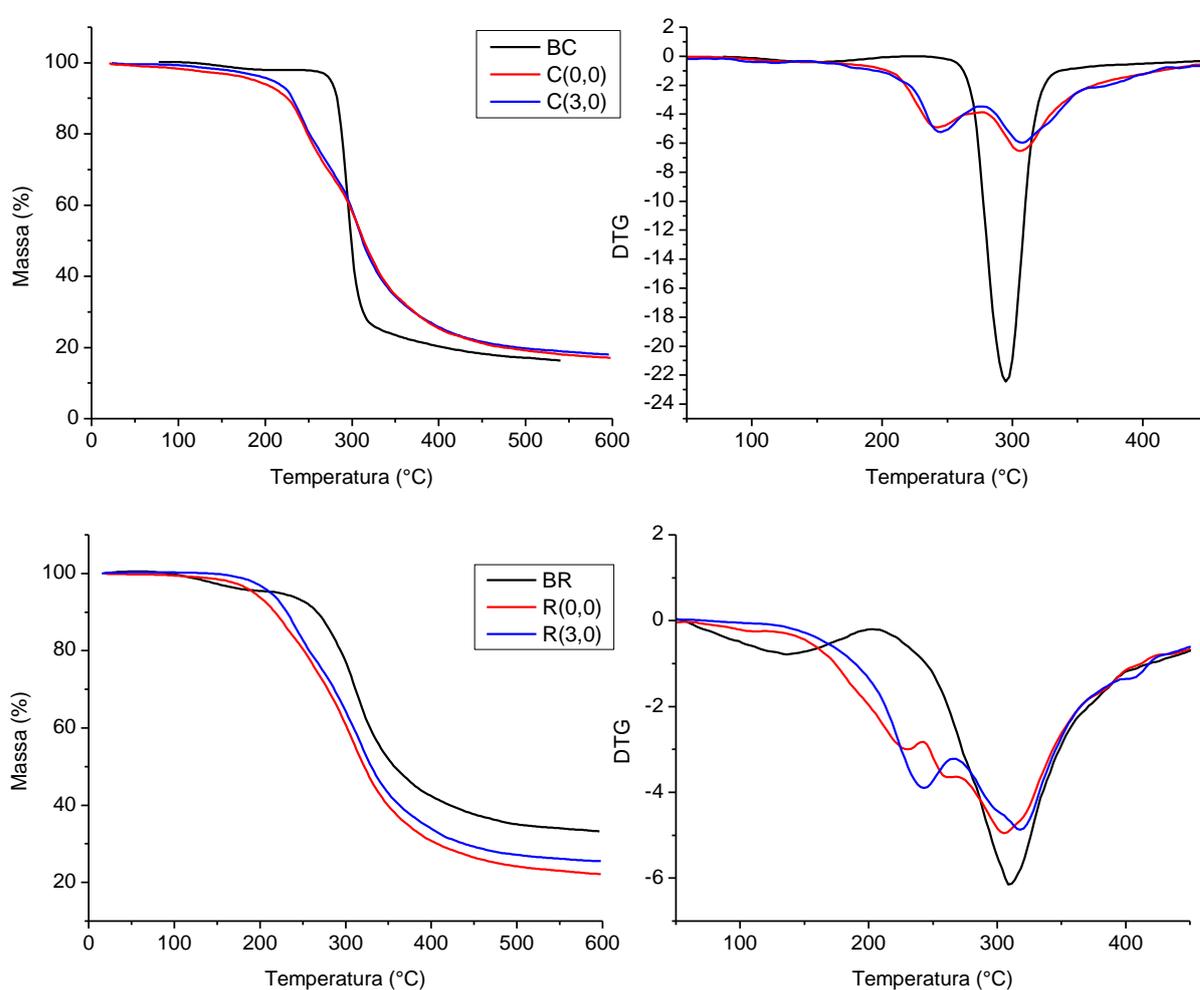
A Figura 58 apresenta os termogramas para os filmes produzidos a partir de gelatina comercial e de RCCC, sem a adição de amido de milho.

Assim como para os filmes de amido de milho, os filmes de gelatina comercial e de RCCC iniciam sua degradação térmica a temperaturas inferiores quando da adição do glicerol, que se degrada a 222°C.

A gelatina de RCCC sem adição de glicerol ou glutaraldeído apresenta um primeiro evento de perda de massa a 136°C não verificado para a gelatina comercial. Este evento pode estar associado à degradação do colágeno hidrolisado: moléculas de proteína que foram

hidrolisadas até baixas massas molares. O evento principal de perda de massa para os filmes de gelatina ocorre a temperaturas próximas dos 300°C. O fenômeno da degradação das cadeias de proteína ocorre em estágios. O estágio preliminar da degradação ocorre pela quebra da cadeia proteica e ruptura de ligações polipeptídicas. A perda de massa ocorre com a degradação dos fragmentos de aminoácidos (CHAVES DA SILVA *et al.*, 2018).

Figura 58 - Termograma para as amostras produzidas a parti de gelatina comercial e de RCCC sem adição de glicerol ou glutaraldeído (BC e BR, respectivamente), com adição de glicerol (C(0,0) e R(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (C(3,0) e R(3,0)).



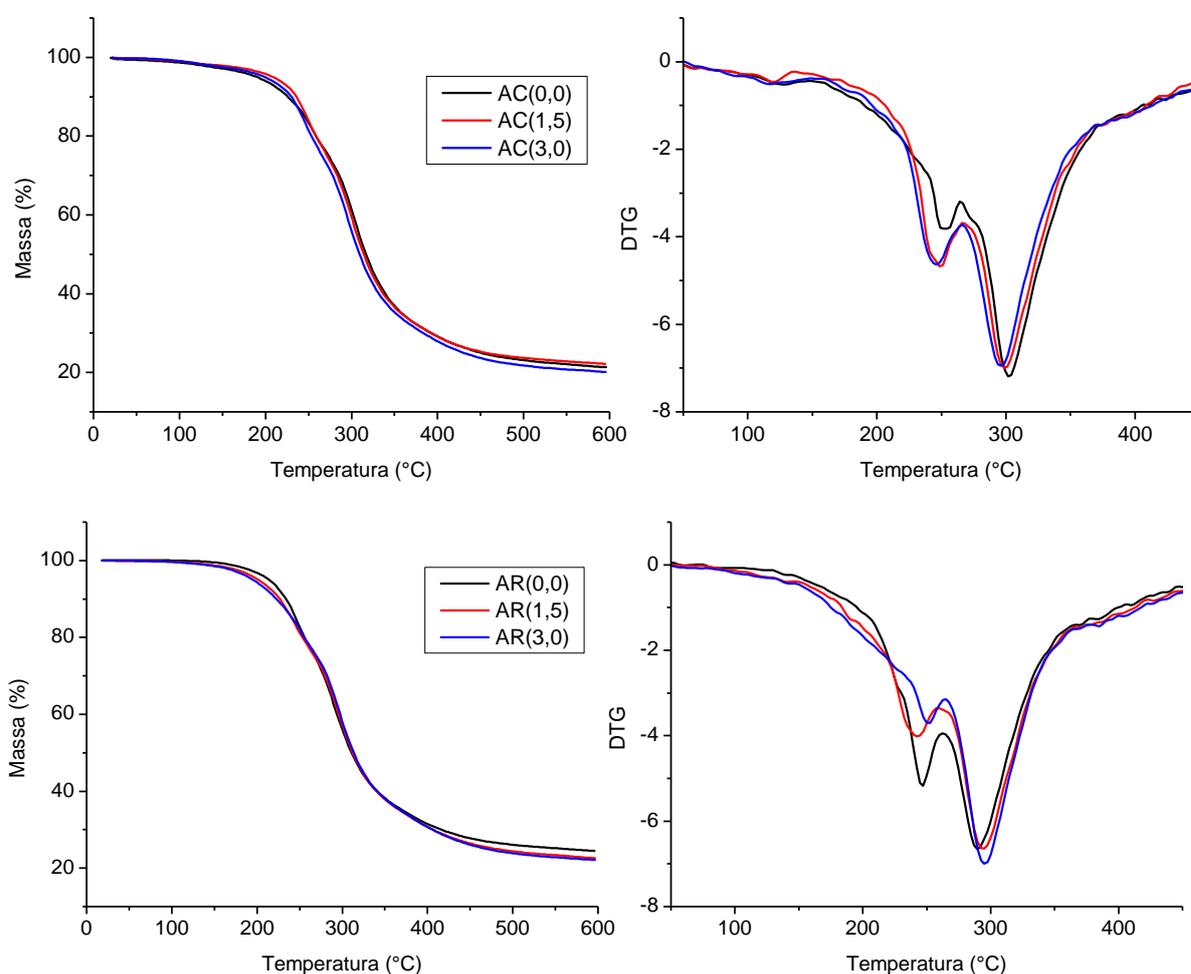
Fonte: o autor

A análise da Tabela 34 bem como dos termogramas apresentados indica que, tanto para os filmes de gelatina de RCCC como para os de gelatina comercial, a adição glutaraldeído aos filmes faz com que a degradação das amostras ocorra a temperaturas mais elevadas, indicando maior estabilidade térmica, o que é esperado pelo efeito da reticulação. O mesmo fenômeno, de aumento na temperatura de degradação com a adição de agente reticulante foi observada por

Dang; Shan e Chen (2016), que verificaram aumento de 317 para até 332°C na temperatura de máxima taxa de degradação pela reticulação de filmes de gelatina de RCCC com β - ciclodextrina.

A Figura 59 apresenta os termogramas para os filmes produzidos a partir de gelatina comercial e de RCCC, ambas em blendas com amido de milho.

Figura 59 - Termograma para as amostras produzidas a partir de gelatina comercial (C) e de RCCC (R) em blendas com amido (A). O percentual de glutaraldeído presente na formulação (0, 1,5 e 3,0%) é indicado entre parênteses.



Fonte: o autor

Os efeitos da reticulação são menos claros nas blendas de amido e gelatina. Conforme mostrado nas microscopias ópticas, os filmes produzidos a partir das blendas não são uniformes, em especial os produzidos a partir da gelatina de RCCC. Esta falta de uniformidade aliada às pequenas massas usadas nos testes de TG (10 mg), podem ter impedido que os efeitos esperados da reticulação fossem aqui observados.

Tabela 34 – Temperaturas característica extraídas das análises de termogravimetria

Filme	TGA – Temperatura (°C) para % de perda de massa							Teor de Cinzas (%)	DTG (temperatura dos picos)	
	5%	7,5%	10%	15%	20%	30%	40%		TP1	TP2
BA	276	281	284	287	289	292	295	15,6	294	ND
A(0,0)	196	217	234	258	273	288	295	9,0	300	ND
A(3,0)	193	214	232	257	270	287	293	10,1	298	ND
BR	222	253	267	282	294	312	329	33,1	136	309
R(0,0)	193	207	218	234	251	279	302	22,2	230	306
R(3,0)	213	223	231	244	258	287	309	25,5	244	318
BC	276	280	283	286	288	292	295	15,6		295
C(0,0)	189	212	226	239	248	272	297	18,0	244	307
C(3,0)	208	224	231	241	251	276	298	17,1	242	305
AR(0,0)	214	226	234	245	255	278	294	22,6	246	290
AR(1,5)	201	216	227	241	253	280	296	24,5	243	294
AR(3,0)	195	211	223	242	255	282	297	22,2	251	295
AC(0,0)	190	211	226	246	258	285	302	21,4	255	302
AC(1,5)	209	226	236	248	259	283	299	22,2	249	299
AC(3,0)	199	218	230	243	253	278	294	20,2	246	296

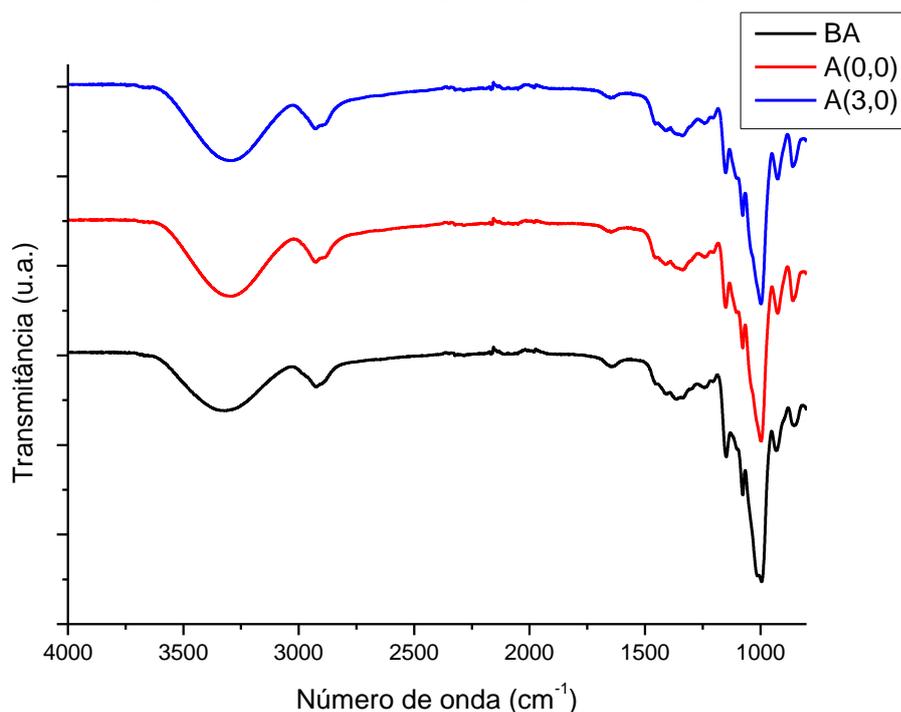
ND = Não Detectado

5.3.9. FTIR dos filmes

As Figuras 60 a 62 apresentam os espectros de FTIR-ATR para os filmes. Esperava-se verificar a aparição de uma banda em torno de 1450 cm^{-1} relativa à formação da ligação C=N resultante da reticulação das cadeias de gelatina com o glutaraldeído (SIMONA *et al.*, 2014). Esta banda não aparece nos espectros de gelatina comercial, e nem mesmo dos espectros de gelatina de RCCC, tendo ficado provavelmente encoberta por outras bandas de maior intensidade presentes na mesma região.

Com relação ao amido, percebe-se as bandas típicas de polissacarídeos: 3300 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação O-H (ZHANG *et al.*, 2013), 2924 cm^{-1} associada à deformação axial do grupo CH_2 , 1340 cm^{-1} associada à vibração angular da ligação C-OH (ARIK KIBAR; US, 2014), 1150 cm^{-1} associada à deformação axial das ligações C-O e C-C e C-OH (ZHANG *et al.*, 2013), 1000 cm^{-1} associada à deformação axial das ligações C-O (banda tipicamente identificada em polissacarídeos) (ZARSKI *et al.*, 2016), 930 cm^{-1} associada à deformação angular das ligações C-OH e $-\text{CH}_2$ (ZHANG *et al.*, 2013), as bandas presentes em 1085 e 862 cm^{-1} representam as bandas associadas à deformação axial da ligação C-O em grupos C-O-H e C-O-C (ARIK KIBAR; US, 2014).

Figura 60 - FTIR para as amostras produzidas a partir de amido sem adição de glicerol ou glutaraldeído (BA), com adição de glicerol (A(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (A(3,0)).



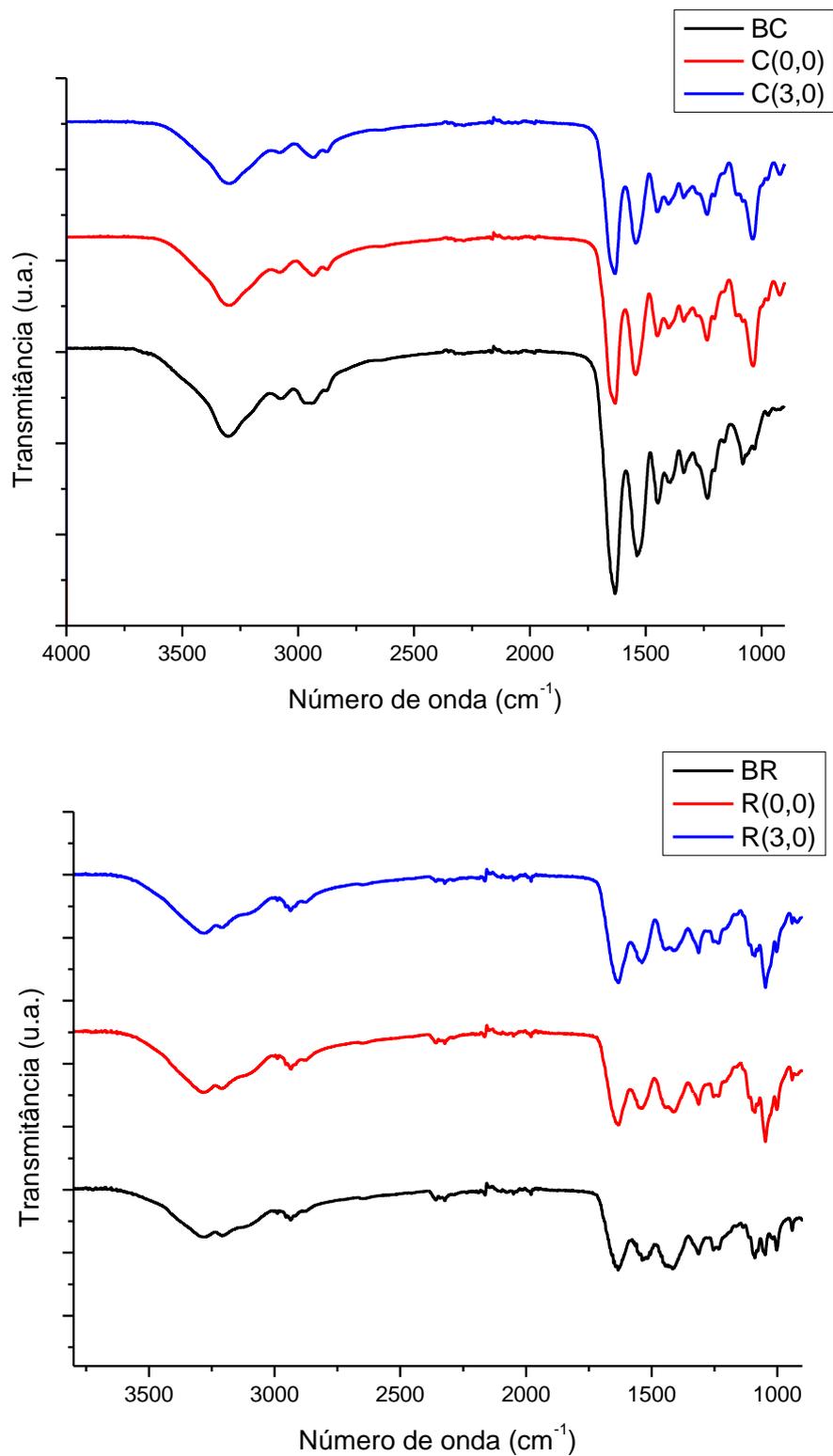
Fonte: o autor

Os filmes produzidos com gelatina comercial e a de RCCC apresentaram espectros semelhantes entre si, com as principais bandas características: Amida A (em 3280 cm^{-1} e 3320 cm^{-1} para filmes de RCCC e de gelatina comercial, respectivamente), Amida B (em 2936 cm^{-1} e 2942 cm^{-1} para filmes de RCCC e de gelatina comercial, respectivamente), Amida I (em 1632 cm^{-1} e 1632 cm^{-1} para filmes de RCCC e de gelatina comercial, respectivamente), Amida II (em 1528 cm^{-1} e 1536 cm^{-1} para filmes de RCCC e de gelatina comercial, respectivamente), e Amida III (em 1254 cm^{-1} e 1234 cm^{-1} para filmes de RCCC e de gelatina comercial, respectivamente). Estas são as bandas tipicamente encontradas para gelatina comercial (AL-SAIDI *et al.*, 2012; KUMAR *et al.*, 2018), e para gelatina extraída de RCCC (DANG; SHAN; CHEN, 2018).

A banda de Amida I representa principalmente o estiramento da ligação C=O e da ligação C-N, já a Amida II está relacionada à deformação angular no plano da ligação N-H e estiramento da ligação C-N. A Amida III é resultado de uma sobreposição de diversas deformações: estiramento da ligação C-N, vibração angular no plano da ligação N-H, estiramento da ligação C-C, e vibração angular no plano da ligação C-O. As bandas da Amida A e Amida B representam o estiramento da ligação N-H (ARRONDO *et al.*, 1993)

Com a adição de glicerol nas amostras produzidas com gelatina comercial ou de resíduo, sem a adição de amido, percebe-se a formação de uma banda em 1040 cm^{-1} . Esta banda foi atribuída por outros autores ao próprio glicerol (ABEDINIA *et al.*, 2018). Esta alteração no espectro não é visível quando amido está presente na amostra, visto que a banda em questão já aparece na amostra de amido pura, sem adição de glicerol. Isso possivelmente ocorre por esta banda estar associada a vibrações axiais da ligação CO em álcoois, função presente no glicerol e no amido, mas ausente na gelatina.

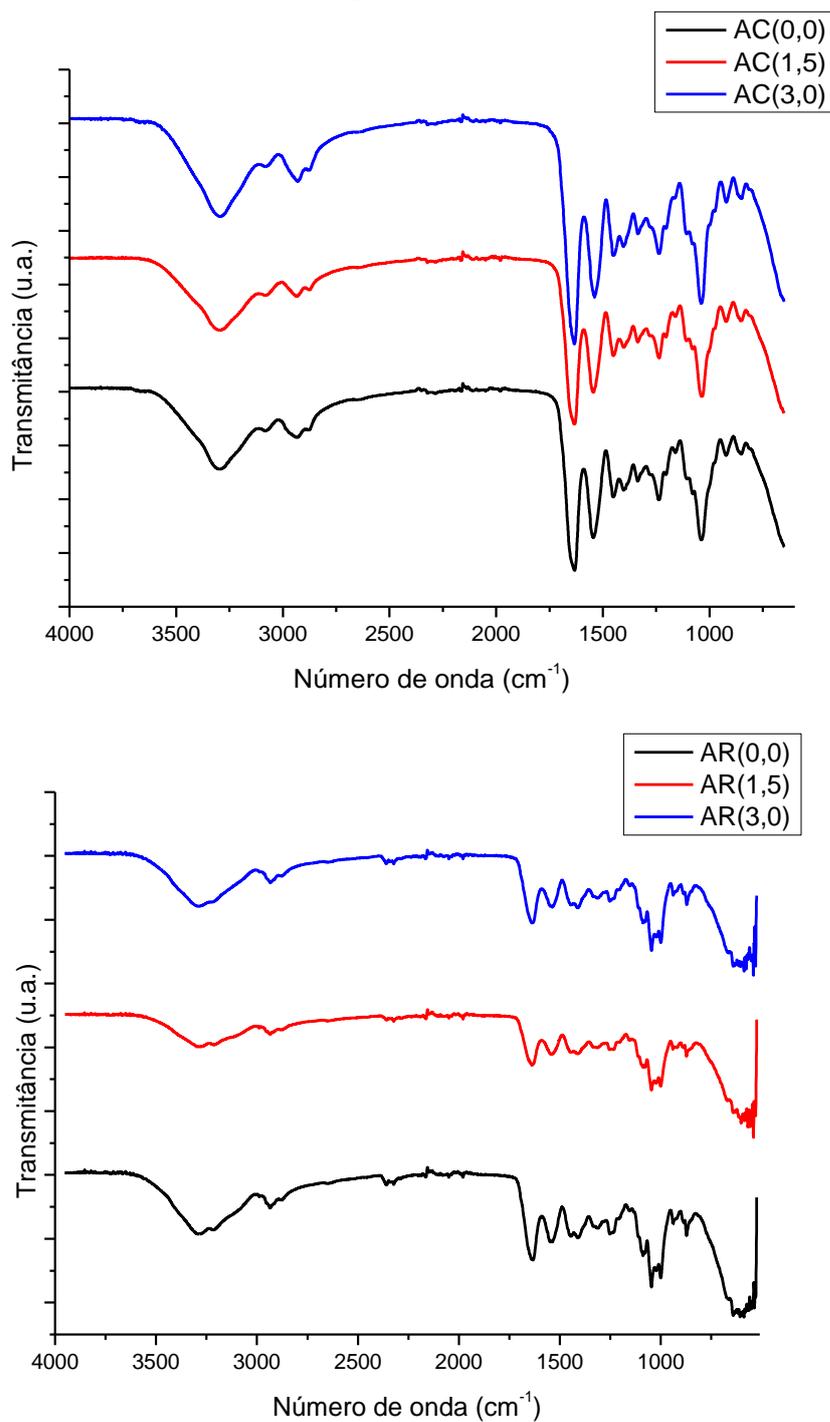
Figura 61 – Espectros de FTIR para as amostras produzidas a parti de gelatina comercial e de RCCC sem adição de glicerol ou glutaraldeído (BC e BR, respectivamente), com adição de glicerol (C(0,0) e R(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (C(3,0) e R(3,0)).



Fonte: o autor

Os espectros dos filmes produzidos com a blenda amido e gelatina apresentaram bandas posicionadas nas mesmas regiões. A adição de glutaraldeído, assim como verificado para os filmes de gelatina pura, não alterou os espectros de FTIR.

Figura 62 – Espectros de FTIR para as amostras produzidas a partir de gelatina comercial (C) e de RCCC (R) em blendas com amido (A). O percentual de glutaraldeído presente na formulação (0, 1,5 e 3,0%) é indicado entre parênteses.

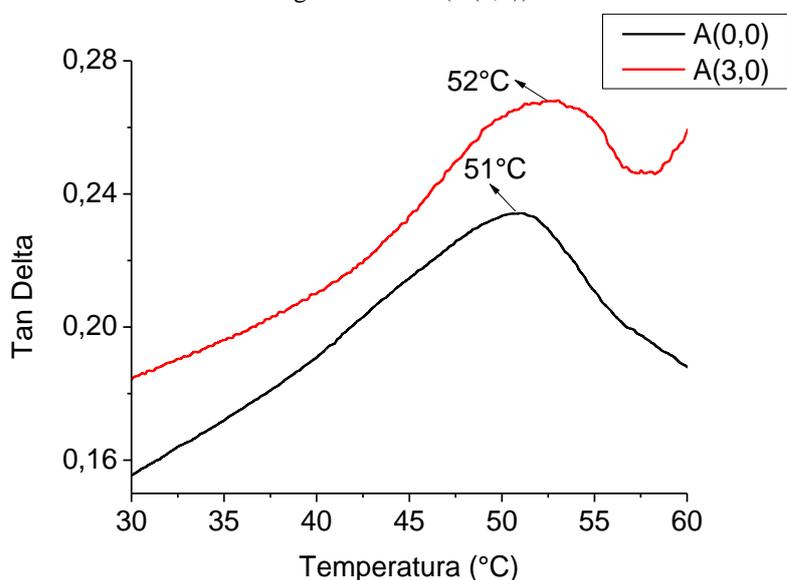


Fonte: o autor

5.3.10. DMA dos filmes

Os filmes de amido e glicerol apresentam duas temperaturas de relaxamento que podem ser determinadas por DMA. A primeira, negativa, é a temperatura referente à fase rica em glicerol. A segunda, geralmente acima da temperatura ambiente, é relativa à fase rica em amido (LÓPEZ *et al.*, 2011; SOUKOULIS *et al.*, 2016). Apenas o evento relativo ao amido puro foi aqui estudado. A Figura 63 apresenta as curvas de Tan Delta para as amostras produzidas a partir de amido sem adição de gelatina.

Figura 63 - Tan Delta das amostras produzidas a partir de amido e glicerol (A(0,0)) e amido, glicerol e 3% de glutaraldeído (A(3,0)).



Fonte: o autor

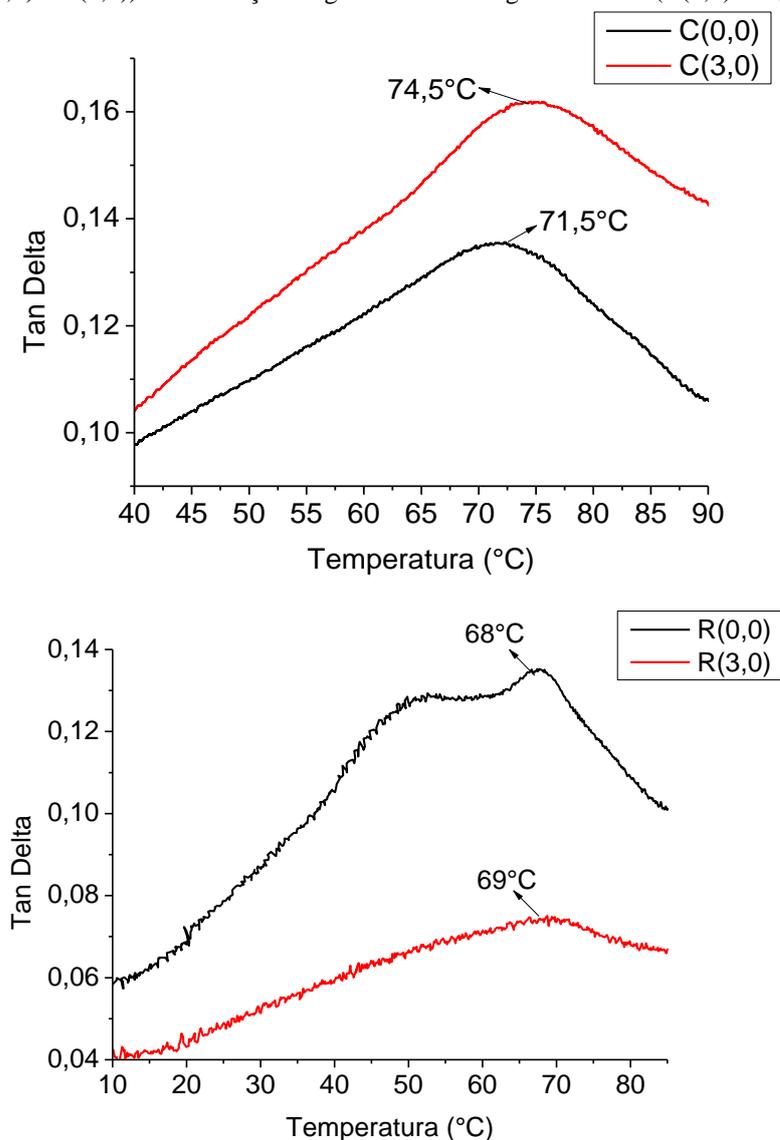
A Tg encontrada para filmes de amido sem e com adição de glutaraldeído foi de 51 e 52°C, respectivamente. Não houve uma alteração expressiva na Tg com a adição de glutaraldeído. Os valores encontrados estão dentro dos valores encontrados na literatura, que variam de acordo com a composição dos filmes de amido, tipo e teor de plastificante, e umidade relativa na qual os ensaios são realizados.

Liu *et al.* (2009) encontraram valores de Tg para filmes de amido de milho, sem plastificante, que variaram de 67,3°C (com 8,7% de umidade nos filmes) a 59,22°C (com 13,3% de umidade nos filmes). Lourdin; Bizot e Colonna (1997), por sua vez, mediram a Tg de filme de amido de milho com 25% de plastificante e 15% de água, por meio de DMA, e encontraram valores de aproximadamente 40°C. Este mesmo grupo de pesquisa, em estudo conduzido por

meio de DSC, encontrou T_g igual a 22°C para filmes de amido de milho plastificados com 27% de glicerol e com 15% de água. Por sua vez, López *et al.* (2011) determinaram a T_g de filmes de amido de milho contendo 30% de glicerol e 15% de umidade por meio de DMA, e encontraram valores próximos a 49°C .

A Figura 64 apresenta as curvas de Tan Delta para as amostras produzidas a partir de gelatina comercial e extraída de RCCC, sem adição de amido.

Figura 64 - Tan Delta das amostras produzidas a partir de gelatina comercial e de RCCC com adição de glicerol (C(0,0) e R(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (C(3,0) e R(3,0)).



Fonte: o autor

A maior temperatura de transição vítrea dos filmes produzidos com gelatina comercial em comparação com a gelatina do RCCC deve-se à maior massa molar da primeira em comparação com a segunda. Polímeros de maior massa molar são mais coesos, apresentam maior quantidade de entrelaçamentos entre as cadeias, ou seja, suas cadeias possuem menor mobilidade, o que aumenta a temperatura de transição vítrea do material (AKCELRUD, 2007). Para as amostras de gelatina comercial, observou-se um aumento da Tg com a reticulação pela adição de glutaraldeído, proveniente da redução de flexibilidade da cadeia polimérica (AKCELRUD, 2007).

A água é um plastificante natural de filmes de amido e gelatina (GENNADIOS, 2002). Assim, deve-se levar em conta, ao comparar os resultados de Tg aqui apresentados com os obtidos por outros autores, o percentual de água presente na estrutura do filme quando da realização dos ensaios. Tendo em vista que as amostras foram acondicionadas a uma umidade relativa de 60% antes de serem submetidas ao ensaio de DMA, e avaliando os resultados das isotermas de sorção de água apresentadas no item 5.3.7, encontra-se que os filmes apresentavam de 15 a 20% de água em sua estrutura quando analisados.

Arvanitoyannis *et al.* (1997) reportaram, para filmes de gelatina com 15% de água, Tg igual a 61,9°C. Por sua vez, Bertan *et al.* (2005) reportaram para filmes de gelatina sem adição de plastificantes acondicionados a umidade relativa de 50% Tg de 32°C, medida por DMA. Os valores aqui encontrados, mais próximos aos 70°C tanto para gelatina comercial como para a gelatina do RCCC, estão mais próximos daqueles reportados por Arvanitoyannis *et al.* (1997).

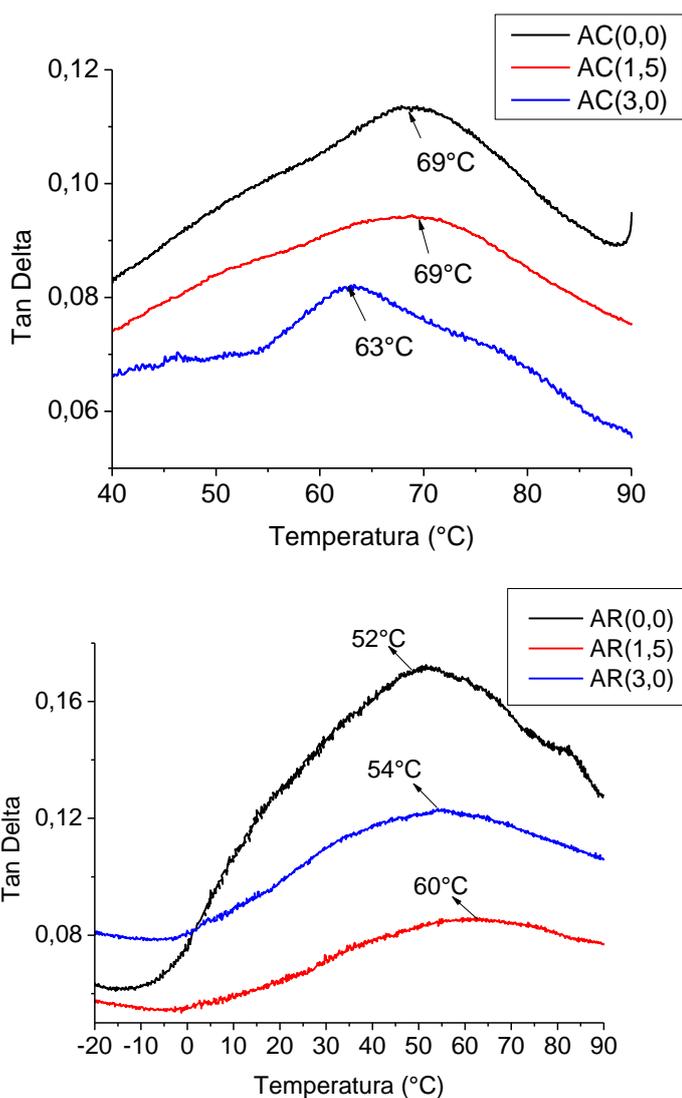
A Figura 65 apresenta as curvas de Tan Delta para as amostras produzidas a partir de gelatina comercial e extraída de RCCC, com adição de amido. Os valores encontrados para Tg ficaram entre 50 e 69°C, sendo os maiores valores de Tg novamente observados para as amostras produzidas com gelatina comercial. Não foi possível traçar uma relação direta entre os valores de Tg e a reticulação dos filmes pelo uso do glutaraldeído.

Arvanitoyannis *et al.* (1997) reportaram Tg, medida pela Tan Delta do ensaio de DMA, para filmes de amido e gelatina com 26% de glicerol e 5% de água a uma temperatura de 45°C. Os filmes, neste caso, foram produzidos com iguais proporções de amido e gelatina.

Já Al-Hassan e Norziah (2012) apresentam valores de Tg para filmes de amido e gelatina que variam de 41 a 62°C, todas as amostras estavam acondicionadas a 56% de umidade relativa e foram produzidas com proporções entre amido e gelatina que variaram de 2:1 a 5:1, com glicerol ou sorbitol (25%) usados como plastificantes. Nos filmes produzidos com proporção

de duas partes de amido para uma de gelatina, plastificados com glicerol (em massa igual a 25%), reportou-se Tg igual a 62°C.

Figura 65 - Tan Delta das as amostras produzidas a partir de gelatina comercial (C) e de RCCC (R) em blendas com amido (A). O percentual de glutaraldeído presente na formulação (0, 1,5 e 3,0%) é indicado entre parênteses.



Fonte: o autor

Os valores de Tg acima da temperatura ambiente observado para todas as amostras aqui produzidas indicam que, em temperatura ambiente, o material tem comportamento vítreo (AKCELRUD, 2007). Entretanto, não é possível inferir que, em determinadas aplicações, sem controle de umidade ambiente, um aumento de temperatura por si só irá tornar o material borrachoso. Os ensaios de DMA foram realizados com as amostras acondicionadas a umidade relativa de 60%. Isto representa, de acordo com as isotermas de sorção de água, uma absorção

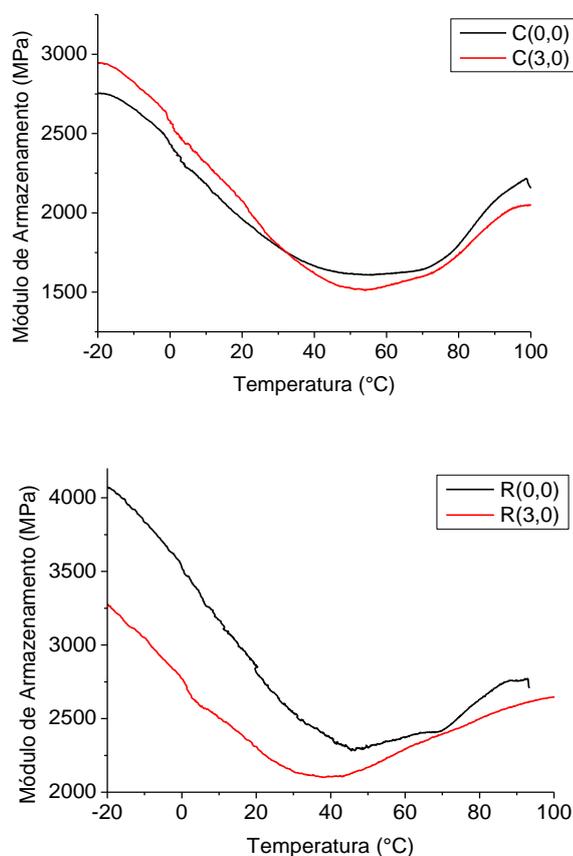
de 15 a 20 g de água por 100 g de material. A exposição do filme a elevadas temperaturas (sob o sol, por exemplo) provocará perda de umidade do mesmo, e conseqüente redução do efeito plastificante provocado pelas moléculas de água, deslocando a Tg para valores mais elevados, e mantendo o material no estado vítreo.

Valores de Tg aumentam com a reticulação das cadeias poliméricas. A não existência de uma relação clara entre os valores de Tg encontrados e a reticulação do polímero pela ação do glutaraldeído pode ser oriunda da falta de uniformidade dos filmes, em especial dos produzidos a partir de RCCC, que pode ter resultado em valores inconsistentes.

O módulo de armazenamento é outra maneira de relacionar o grau de reticulação de uma amostra. A Figura 66 apresenta as curvas do módulo de armazenamento para as amostras produzidas a partir de gelatina comercial e extraída de RCCC, sem adição de amido. Já a Figura 66 apresenta o módulo de armazenamento para as blendas de amido-gelatina comercial e de amido-gelatina de RCCC.

As amostras produzidas a partir da gelatina comercial seguiram o padrão de aumento no módulo de armazenamento com o aumento do grau de reticulação (obtido com a maior adição de glutaraldeído). Entretanto, o mesmo não foi observado para as amostras produzidas com gelatina do RCCC. Entende-se, portanto, que as inconsistências, em especial as encontradas para as amostras produzidas com gelatina de RCCC, estejam relacionadas à falta de uniformidade e homogeneidade dos filmes, conforme verificado nas MOs; assim como à menor massa molar da gelatina do RCCC quando comparada à gelatina comercial.

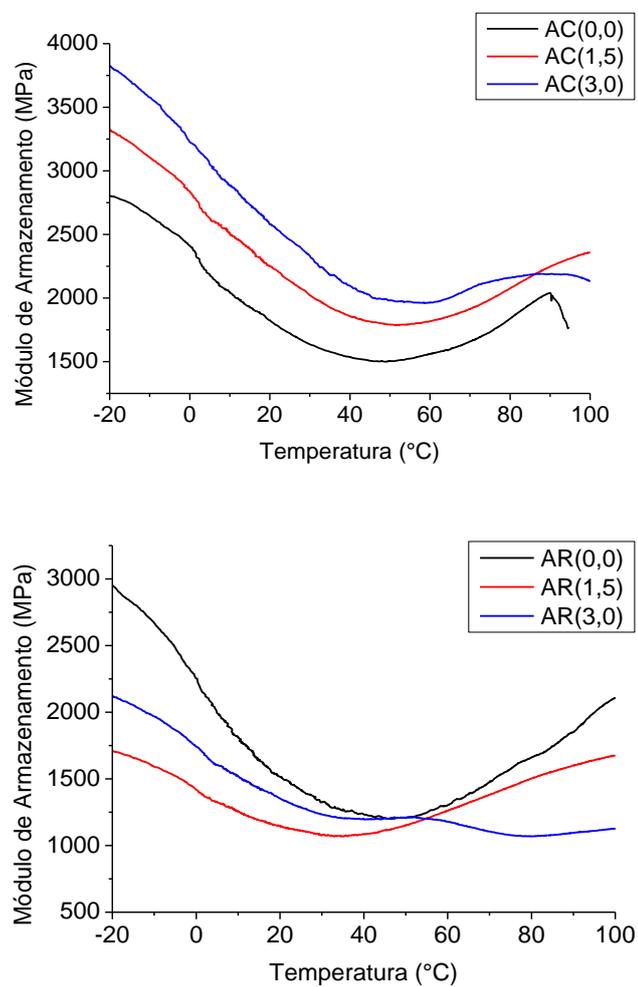
Figura 66 - Módulo de armazenamento das amostras produzidas a parti de gelatina comercial e de RCCC com adição de glicerol (C(0,0) e R(0,0)) e com adição de glicerol e 3% de glutaraldeído (C(3,0) e R(3,0)).



Fonte: o autor

O mesmo comportamento observado para o módulo de armazenamento das amostras produzidas a partir de gelatina comercial e de RCCC puras foi verificado para as blendas com amido de milho (Figura 67). Enquanto que nas amostras produzidas a partir da gelatina comercial foi observado um maior módulo de armazenamento em função de um maior grau de reticulação (obtido com maior percentual de glutaraldeído), nas amostras produzidas a partir de gelatina de RCCC não foi observada uma relação entre reticulação e módulo de armazenamento.

Figura 67 – Módulo de armazenamento das amostras produzidas a partir de gelatina comercial (C) e de RCCC (R) em blendas com amido (A). O percentual de glutaraldeído presente na formulação (0, 1,5 e 3,0%) é indicado entre parênteses.



Fonte: o autor

5.4. TESTE DE APLICAÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS COMO FITAS DE PLANTIO

Duas possíveis aplicações foram cogitadas para os filmes aqui desenvolvidos: cobertura de solo e fita de plantio. Tendo em vista as propriedades obtidas nestes materiais, em especial o elevado grau de hidrofiliabilidade, considerou-se a aplicação como fita de plantio mais promissora. Coberturas de solo precisariam resistir, sem sofrer demasiadas alterações físicas, por mais longos períodos de tempo (pelo menos o tempo necessário para o desenvolvimento de uma determinada cultura). As fitas de plantio, por outro lado, podem se beneficiar da elevada interação dos filmes com a água, sofrendo hidrólise e liberando para o meio a semente que estará, então, livre para germinar.

Levando-se em consideração que 4 g de gelatina e 2 g de amido (ambos em base seca) são empregadas na produção de um filme de 577 cm² de área, e que o teor de cromo na gelatina (em meio aquoso) é de 5,5 mg/L e a massa seca da mesma gelatina é igual a 8,2%, calcula-se o teor de cromo nos filmes produzidos. Ele corresponde a 4,7 mg de cromo por m² de filme, ou 45,2 mg de cromo por kg de filme.

Visto que a aplicação proposta para os filmes dá-se diretamente no solo, a maneira mais adequada de interpretar os valores de cromo nos filmes é com base nas normas existentes para fertilizantes. Até o ano de 2016, a legislação brasileira indicava um limite para cromo total (soma de cromo III e VI) em fertilizantes de até 200 mg de Cr por kg de fertilizante (MAPA, 2006). A legislação foi alterada e o limite delimitado para cromo total foi eliminado, mantendo-se apenas um limite para cromo VI (de até 2 mg/kg de fertilizante) (MAPA, 2016).

Os filmes produzidos a partir da gelatina do RCCC possuem teor de cromo total 4,4 vezes inferior ao limite estabelecido até o ano de 2016 para fertilizantes no Brasil, e são isentos de cromo VI, atendendo portanto à nova legislação brasileira.

A seguir serão apresentados os resultados obtidos com os testes de aplicação dos filmes na forma de fita de plantio. Para o teste, escolheram-se as formulações produzidas com gelatina comercial e de RCCC, sem o uso de glutaraldeído e com seu uso no maior percentual testado, 3%. Assim pôde-se avaliar as fitas com as mais diferentes propriedades mecânicas e de interação com água.

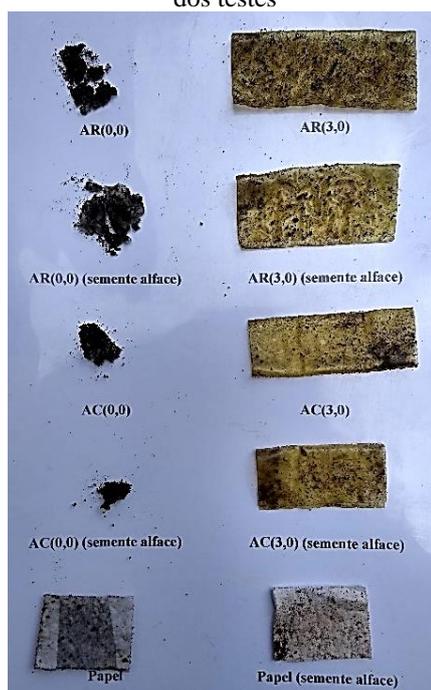
5.4.1. Tempo de desintegração do filme no solo

As Figuras 68 a 72 apresentam o comportamento de desintegração dos filmes produzidos com a blenda amido e gelatina no solo em função do tempo de teste. Nas imagens, os filmes não são mais posicionados para foto quando não é mais possível retirar partes inteiras do filme da terra, ou seja, quando eles já tiveram sua estrutura física deteriorada.

Os filmes sem glutaraldeído foram os primeiros a serem deteriorados no solo, seguindo-se pelos filmes produzidos com gelatina do resíduo com glutaraldeído e, por fim, deteriorando-se os filmes com gelatina comercial e glutaraldeído. As fitas de plantio produzidas com papel toalha foram as que mais íntegras permaneceram pelo maior período de tempo, não tendo mais sido possível visualizar as fitas de papel apenas após o 22º dia de teste.

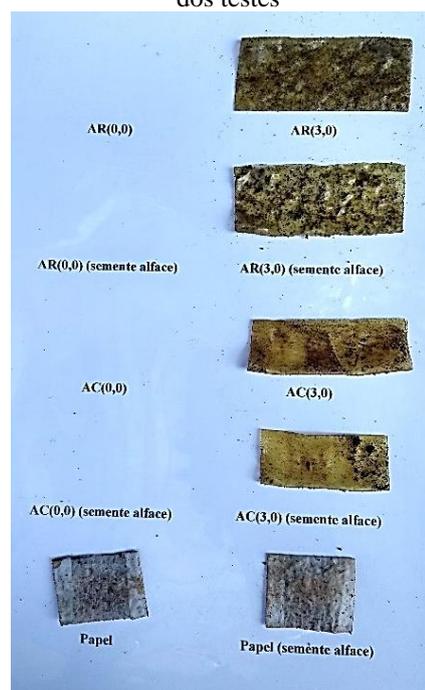
Deve-se avaliar o tempo necessário para a deterioração do filme juntamente ao período esperado para germinação das sementes, que varia de 4 a 10 dias. Uma deterioração mais lenta do filme pode impedir a germinação pelo acúmulo de água, que pode levar à falta de oxigenação da semente (ARTECA, 1996). Tal falta de oxigênio pode ser provocada tanto pela fita íntegra ao redor da semente como pela fita com consistência gelatinosa já parcialmente deteriorada. Tal consistência gelatinosa vem do inchamento da fita produzida com filmes de amido e gelatina e interação da mesma com a água.

Figura 68 – Deterioração dos filmes 1 dia após início dos testes



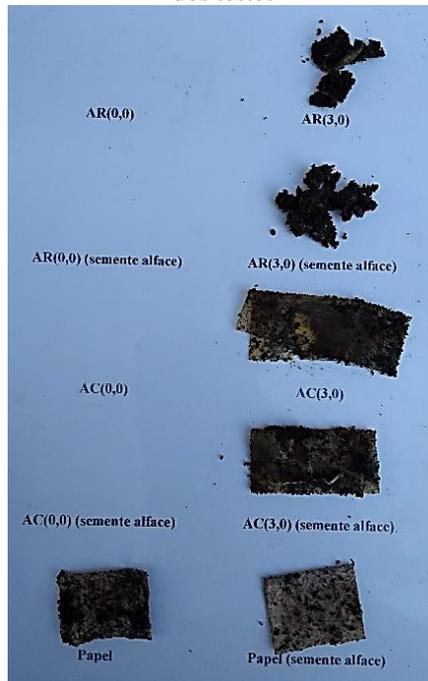
Fonte: o autor

Figura 69 - Deterioração dos filmes 2 dias após início dos testes



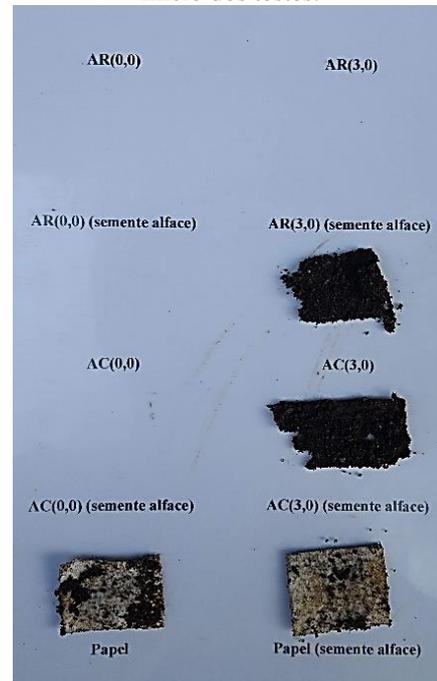
Fonte: o autor

Figura 70 - Deterioração dos filmes 6 dias após início dos testes



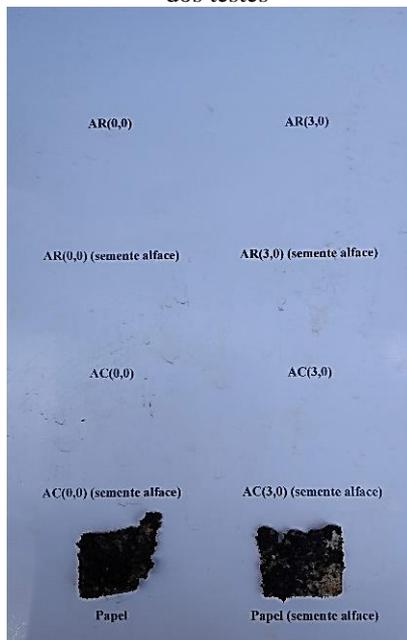
Fonte: o autor

Figura 71 - Deterioração dos filmes 10 dias após início dos testes.



Fonte: o autor

Figura 72 - Deterioração dos filmes 16 dias após início dos testes



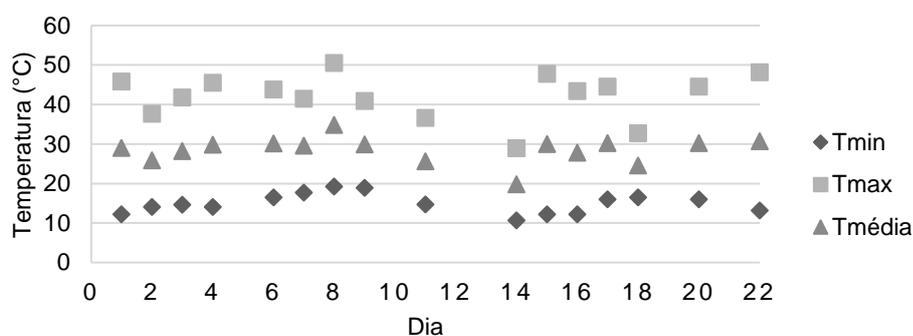
Fonte: o autor

A colocação ou não da semente dentro da fita de plantio não influenciou no tempo de deterioração das amostras. Pode-se associar o tempo de desintegração dos filmes diretamente às propriedades de interação com água. O filme mais solúvel dentre os testados é o AR(0,0), com solubilidade de 52,9%; seguido pelo AC(0,0), 44,1%; pelo AR(3,0), 30,6%; e pelo AC(3,0), 20,5%. Da mesma forma, o grau de inchamento para os filmes citados foi igual a: não determinado (filme solubilizado nas condições do teste), 411%, 350% e 126%, respectivamente, como visto na Tabela 33. O grau de interação com a água (AR(0,0)>AC(0,0)>AR(3,0)>AC(3,0)) é inversamente proporcional ao tempo necessário para deterioração da amostra no solo.

5.4.2. Teste com fita de plantio dupla produzida com seladora

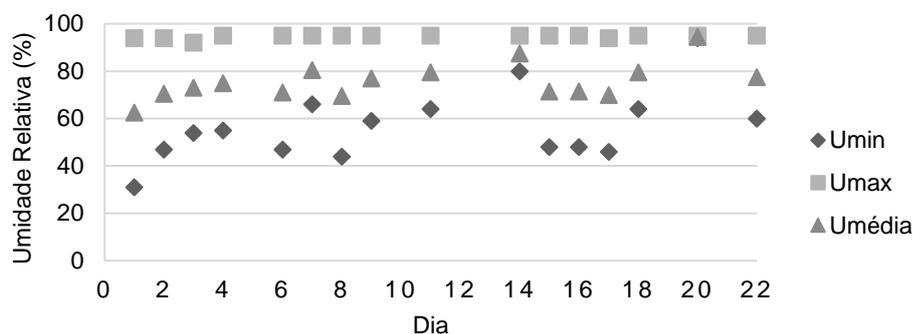
As Figuras 73 a 75 mostram as variações de temperatura interna e externa à estufa durante os testes, bem como as variações de umidade interna à estufa de cultivo. Já a Tabela 35 apresenta os resultados do teste de germinação utilizando a fita de plantio dupla (fita no lado superior e inferior da semente), produzida com seladora.

Figura 73 - Temperatura média dentro da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio dupla produzida com seladora



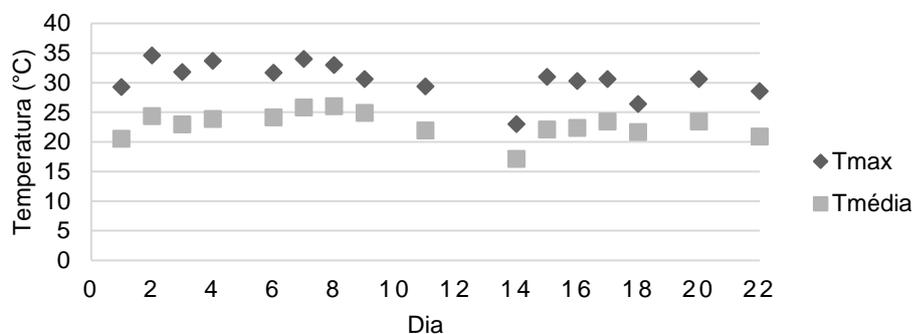
Fonte: o autor

Figura 74 - Umidade média dentro da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio dupla produzida com seladora



Fonte: o autor

Figura 75 - Temperatura média fora da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio dupla produzida com seladora



Fonte: o autor

A temperatura média no interior da estufa foi de 28°C e a umidade relativa de 75%, já a temperatura externa média foi de 23°C. As culturas escolhidas para o teste podem ser plantadas ao longo de todo o ano. Reporta-se, portanto, temperaturas e umidade média para fins de reprodutibilidade do teste e comparação com o teste realizado com a fita de plantio de uma única camada.

Todas as sementes plantadas sem fita germinaram, indicando que o teste foi realizado em condições (terra, umidade, temperatura) adequadas. O tempo médio de germinação das sementes sem fita, nas condições de plantio, foi de 4 a 6 dias. Assim, entende-se que a deterioração das fitas de plantio em tempos superiores a esse pode prejudicar a germinação.

Tabela 35 - Resultado dos testes de germinação para a fita de plantio dupla produzida com seladora*

AR(0,0)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	20,0	40,0	20,0	26,7
Tempo para germinação (dias)	6	6	8	
Massa úmida (g)	0,03	0,80	0,08	
Massa seca (g)	0,003	0,07	0,01	
Altura da planta (cm)	2,5	11,3	4,5	
AR(3,0)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	0,0	100,0	0,0	33,3
Tempo para germinação (dias)		7		
Massa úmida (g)		0,51		
Massa seca (g)		0,04		
Altura da planta (cm)		8		
AC(0,0)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	0,0	60,0	0,0	20,0
Tempo para germinação (dias)		6		
Massa úmida (g)		0,78		
Massa seca (g)		0,070		
Altura da planta (cm)		10,5		
AC(3,0)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	0,0	0,0	20,0	6,7
Tempo para germinação (dias)			11	
Massa úmida (g)			0,05	
Massa seca (g)			0,001	
Altura da planta (cm)			3,5	
Papel				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	40,0	100,0	100,0	80,0
Tempo para germinação (dias)	7	6	7	
Massa úmida (g)	0,06	0,59	0,13	
Massa seca (g)	0,005	0,040	0,012	
Altura da planta (cm)	3,3	9,9	5,8	
Branco (sem fita de plantio)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	100,0	100,0	100,0	100,0
Tempo para germinação (dias)	4	5	6	
Massa úmida (g)	0,06	1,01	0,16	
Massa seca (g)	0,005	0,0700	0,014	
Altura da planta (cm)	4,3	11,7	6,8	

* Todos os brotos sobreviveram ao teste.

A fita de plantio produzida com papel prejudicou a germinação de alface e retardou a germinação de todas as culturas, resultando em mudas com menor altura e massa seca quando comparadas às provenientes do desenvolvimento de sementes sem o uso de fita de plantio. Isto indica que a forma como as sementes foram acondicionadas na fita de plantio, por si só, já representou algum efeito negativo na germinação, independentemente do material empregado na produção das fitas.

As fitas de plantio produzidas com filmes de gelatina e amido prejudicaram a germinação das sementes, inclusive impedindo a germinação de 47 das 60 sementes plantadas com fita de plantio polimérica. As que germinaram, o fizeram em tempo ligeiramente superior ao comparado com o branco, e apresentaram altura e massa das plantas semelhantes ao branco. Excetua-se aqui a única semente que brotou a partir da fita de plantio produzida com filme de gelatina comercial reticulado com glutaraldeído. O broto germinou após todos os demais, e apresentou menor altura e massa que os demais. Coincide este fato com o tempo de deterioração dos filmes de gelatina comercial reticulado com glutaraldeído, que foi o filme que mais resistiu no solo.

Ainda que os filmes produzidos com gelatina de resíduo e glutaraldeído tenham demorado mais para serem deteriorados, após 6 dias do plantio eles já estavam em estado de deterioração avançado, o que permitiu que algumas sementes germinassem no tempo adequado, colocando as formulações AR(0,0), AR(3,0) e AC(0,0) em posições muito semelhantes com relação ao efeito que exerceriam na germinação das sementes.

A germinação das sementes nas fitas de papel foi melhor do que nas fitas de filmes de amido e gelatina, mas as fitas de papel foram as últimas a serem deterioradas, o que pode parecer contraditório. Entretanto, a espessura da fita de papel é aproximadamente a metade da espessura das fitas produzidas com amido e gelatina, sendo mais fácil para a semente romper o papel do que os outros filmes. As fitas de papel também são menos elásticas, ou seja, o broto consegue romper o material com maior facilidade do que conseguiria romper o filme de amido e gelatina, que é plastificado pela água do ambiente e torna-se extremamente elástico. Por fim, as fitas de amido e gelatina possuem elevado grau de inchamento. Elas sorvem água e acabam por criar uma camada gelatinosa ao redor da semente, o que pode prejudicar a germinação.

Nove das 30 sementes plantadas com filmes produzidos a partir da gelatina do RCCC germinaram, enquanto que cinco das 30 sementes plantadas com filmes produzidos a partir da gelatina comercial germinaram. Isto indica que o cromo presente nas fitas não exerceu efeito

tóxico sobre as sementes durante a germinação. A Figura 76 apresenta imagem do teste de germinação em andamento.

Figura 76 – Teste de germinação em andamento com fita de plantio dupla produzida com seladora.

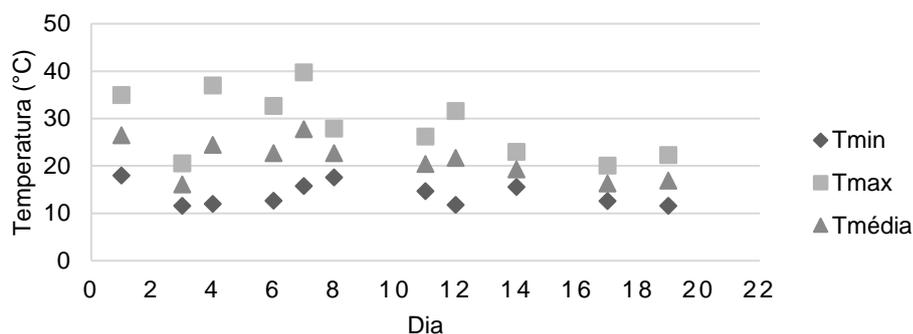


Fonte: o autor

5.4.3. Teste com fita de plantio simples produzida com cola branca

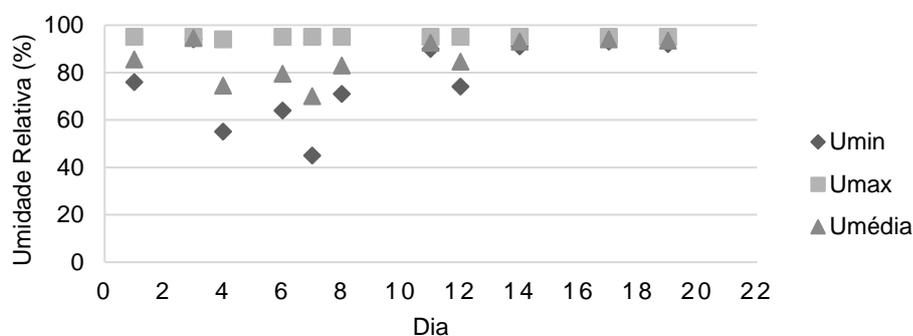
As Figuras 77 a 79 mostram as variações de temperatura interna e externa à estufa durante os testes, bem como as variações de umidade interna à estufa de cultivo. Já a Tabela 36 apresenta os resultados do teste de germinação utilizando a fita de plantio simples, posicionada apenas no lado inferior da semente, produzida com cola branca.

Figura 77 - Temperatura média dentro da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio simples produzida com cola branca



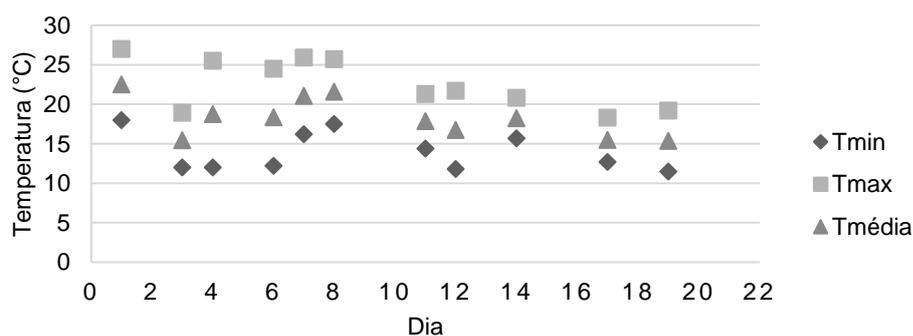
Fonte: o autor

Figura 78 - Umidade média dentro da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio simples produzida com cola branca



Fonte: o autor

Figura 79 - Temperatura média fora da estufa de cultivo durante os ensaios com fita de plantio simples produzida com cola branca



Fonte: o autor

A temperatura média no interior da estufa foi de 21°C e a umidade relativa de 85%, já a temperatura externa média foi de 18°C. Devido às mudanças climáticas, as temperaturas neste teste foram inferiores às reportadas no teste com a fita de plantio dupla. As diferenças no tempo de germinação e desenvolvimento dos brotos do branco do primeiro teste para este podem, portanto, ter se dado devido às variações climáticas.

Tabela 36 - Resultado dos testes de germinação para a fita de plantio simples produzida com cola branca

AR(0,0)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	100,0	100,0	80,0	93,3
Tempo para germinação (dias)	5	3	6	
Massa úmida (g)	0,07	0,31	0,02	
Massa seca (g)	0,005	0,021	0,002	
Altura da planta (cm)	7,3	8,5	3,5	
Percentual de brotos sobreviventes ¹	100,0	100,0	80,0	93,3
AR(3,0)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	80,0	80,0	100,0	86,7
Tempo para germinação (dias)	7	5	7	
Massa úmida (g)	0,07	0,09	0,03	
Massa seca (g)	0,007	0,008	0,003	
Altura da planta (cm)	6,8	5,0	3,4	
Percentual de brotos sobreviventes ¹	60	40	80	60
AC(0,0)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	100,0	100,0	100,0	100,0
Tempo para germinação (dias)	6	7	6	
Massa úmida (g)	0,08	0,29		
Massa seca (g)	0,005	0,021		
Altura da planta (cm)	7,3	8,1		
Percentual de brotos sobreviventes ¹	80	80	0	60
AC(3,0)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	80,0	100,0	80,0	86,7
Tempo para germinação (dias)	7	5	7	
Massa úmida (g)	0,06	0,21		
Massa seca (g)	0,004	0,014		
Altura da planta (cm)	5,9	7,8		
Percentual de brotos sobreviventes ¹	80	40	0	40
Papel				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	100,0	100,0	80,0	93,3
Tempo para germinação (dias)	6	4	6	
Massa úmida (g)	0,05	0,24	0,03	
Massa seca (g)	0,004	0,016	0,002	
Altura da planta (cm)	5,8	7,8	3,8	
Percentual de brotos sobreviventes ¹	100	80	60	80
Branco (sem fita de plantio)				
	Alface	Rabanete	Repolho	Média
Percentual de germinação	100	100	100	100
Tempo para germinação (dias)	4	3	4	
Massa úmida (g)	0,08	0,76	0,29	
Massa seca (g)	0,005	0,061	0,021	
Altura da planta (cm)	7,167	11,700	10,400	
Percentual de brotos sobreviventes ¹	100	100	100	100

¹ Calculado em função do número de sementes plantadas

Todas as sementes plantadas sem fita germinaram, indicando que o teste foi realizado em condições (terra, umidade, temperatura) adequadas. A fita de plantio simples permitiu um percentual de germinação superior ao percentual obtido para a fita de plantio dupla, indicando que, de fato, a camada superior da fita havia prejudicado o processo de germinação das plantas.

Muitos dos brotos germinados, entretanto, não sobreviveram ao teste. O menor percentual de sobrevivência das plantas ocorreu para as sementes plantadas com a fita de gelatina comercial reticulada com glutaraldeído, ou seja, a fita de plantio mais resistente. Novamente, a deterioração mais lenta desta formulação pode ter levado a uma maior dificuldade de desenvolvimento das raízes, o que inviabilizou o desenvolvimento das plantas.

Destaca-se neste teste a performance da fita produzida com o filme polimérico de gelatina de resíduo sem a adição de glutaraldeído. Ao comparar com o filme produzido de papel (o que mais se assemelha às versões comerciais existentes de fitas de plantio), o filme de formulação AR(0,0) permitiu um igual percentual de germinação e maior percentual de sobrevivência dos brotos, além de ter viabilizado melhor desenvolvimento (maior altura e massa) para duas das três culturas testadas: alface e rabanete. Isto possivelmente se deve à maior facilidade de deterioração dos filmes produzidos a partir da gelatina de RCCC sem a adição de glutaraldeído.

Figura 80 - Brotos em desenvolvimento durante o teste



Fonte: o autor

O teste de aplicação das fitas de plantio, em especial o teste de deterioração no solo, também demonstrou a resistência dos filmes produzidos com glutaraldeído e sua possível aplicação como cobertura de solo ou até mesmo como invólucros para liberação gradual de fertilizantes, pesticidas ou herbicidas.

6. CONCLUSÕES

Este estudo tratou a extração de gelatina de resíduo de couro curtido ao cromo por meio de hidrólise alcalina assistida por explosão a vapor e sua aplicação em filmes poliméricos aplicados na agroindústria e a partir dos resultados obtidos neste trabalho conclui-se que:

O uso da explosão a vapor, seja como pré-tratamento ou executada em meio alcalino como processo principal de hidrólise, é viável tecnicamente para extração de gelatina de RCCC. Em todos os casos testados ela também cumpriu sua função de aumentar o rendimento de extração. Para as duas metodologias de extração de gelatina testadas, conclui-se que maiores tempos e temperaturas de explosão a vapor aumentam o rendimento, mas reduzem a qualidade da proteína, degradando-a. Em ambos, condições intermediárias produziram os melhores resultados, aliando rendimento à qualidade: 130°C e 15 min de residência para pré-tratamento do RCCC com explosão a vapor e 140°C e 10 min de residência para explosão a vapor em meio alcalino.

Quando comparados os dois processos, devido à eliminação da etapa de hidrólise alcalina (que é realizada dentro do reator de explosão a vapor) e consequente redução de tempo, de solubilização de cromo e de cinzas, tem-se que a explosão a vapor em meio alcalino é o mais adequado para extração de gelatina de RCCC.

Ainda sendo avaliados rendimento, qualidade da gelatina e solubilização de cromo, conclui-se que duas extrações sequenciais de gelatina do RCCC após explosão a vapor em meio alcalino é o número ideal. Mais extrações sequenciais resultam em maior solubilização de sais do que extração de gelatina, além de reduzir sua qualidade.

O pH menos alcalino (7,5) permitiu melhor concentração de gelatina (mantendo-se maiores valores de NTK) durante a etapa de ultrafiltração. Na purificação da gelatina por diafiltração, observou-se que até a segunda repetição do processo houve redução significativa no teor de cinzas, o que não mais ocorreu a partir da terceira repetição. Quanto à redução do cromo (VI) para cromo (III), o FeSO_4 provou-se eficiente quando aplicado em concentrações acima de 4 mg para cada litro de gelatina de RCCC.

Com relação aos filmes poliméricos, verificou-se a olho nu falta de homogeneidade nos filmes produzidos a partir da blenda: gelatina de RCCC e amido, indicando serem imiscíveis pela separação de fases dos dois polímeros, o que foi também visualizado nas imagens de MOs.

A alteração da coloração dos filmes reticulados com glutaraldeído, tendendo para o amarelo, e o surgimento de um pico de absorção de luz na faixa típica de absorção de bases de

Shiff (composto amarelo resultante da reticulação da proteína com glutaraldeído) comprovaram a ocorrência da reticulação das cadeias de gelatina. Ainda foi possível concluir que maiores teores de glutaraldeído resultaram em maior grau de reticulação.

A reticulação das cadeias de gelatina resultou em um aumento de sua massa molar, mas também em uma redução da cristalinidade dos filmes. O efeito positivo e negativo, respectivamente, na resistência à tração do material fez com que esta não fosse alterada pela reticulação. A maior massa molar, por outro lado, permitiu um aumento no alongamento dos filmes reticulados com glutaraldeído.

A reticulação reduziu a interação dos filmes com a água, tornando-os menos higroscópicos. Ainda assim, solubilidades em água a temperatura ambiente inferiores a 25% não foram possíveis de serem obtidas. A ainda elevada interação dos filmes com água resultou na opção de testar a aplicação dos mesmos como fita de plantio. A fita produzida a partir da gelatina de RCCC sem a adição de glutaraldeído, quando produzida em camada única (fita simples) com as sementes coladas sobre a mesma, permite a germinação de sementes de forma semelhante ou até mesmo superior àquela verificada para a fita de papel (mais semelhante às fitas comerciais).

Finalmente, neste trabalho foi possível a partir de um resíduo sólido, o RCCC, desenvolver um processo inovador para extração de gelatina a partir deste, aplicar a gelatina na produção de filmes poliméricos e, ainda, demonstrar uma aplicação viável para o produto final obtido, a fita de plantio livre de toxicidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEDINIA, A.; ARIFFIN, F.; HUDA, N.; MOHAMMADI NAFCHI, A. Preparation and characterization of a novel biocomposite based on duck feet gelatin as alternative to bovine gelatin. **Int J Biol Macromol**, 109, p. 855-862, Apr 1 2018.

ABIPLAST. Perfil 2014 - Indústria Brasileira de Transformação de Material Plástico. São Paulo 2015.

ABIPLAST, A. B. d. I. d. P. **Perfil 2016 da Indústria Brasileira de Transformação e Reciclagem de Material Plástico**. 2017.

ABNT. Resíduos sólidos – Classificação NBR 10004 2004.

ABRUSCIA, C.; MARTÍN-GONZÁLEZ, A.; AMOB, A. D.; CORRALESC, T. *et al.* Biodegradation of type-B gelatine by bacteria isolated from cinematographic films. A viscometric study. **Polymer Degradation and Stability**, 86, n. 286-293, 2004.

ACOSTA, S.; CHIRALT, A.; SANTAMARINA, P.; ROSELLO, J. *et al.* Antifungal films based on starch-gelatin blend, containing essential oils. **Food Hydrocolloids**, 61, p. 233-240, 2016.

ACOSTA, S.; JIMÉNEZ, A.; CHÁFER, M.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. *et al.* Physical properties and stability of starch-gelatin based films as affected by the addition of esters of fatty acids. **Food Hydrocolloids**, 49, p. 135-143, 2015.

AFŞAR, A.; GÜLÜMSER, G.; ASLAN, A.; OCAK, B. A Study On Usability Of Collagen Hydrolysate Along With Oxazolidine In Leather Processing. **TEKSTİL ve KONFEKSİYON**, 1, p. 37-40, 2008.

AFSHAR, S.; BANIASADI, H. Investigation the effect of graphene oxide and gelatin/starch weight ratio on the properties of starch/gelatin/GO nanocomposite films: The RSM study. **Int J Biol Macromol**, 109, p. 1019-1028, Apr 1 2018.

AFTAB, M. N.; HAMEED, A.; IKRAM-UL-HAQ; RUN-SHENG, C. Biodegradation of Leather Waste by Enzymatic Treatment. **The Chinese Journal of Process Engineering**, 6, n. 3, p. 462-465, 2006.

AHSAN, S. M.; RAO, C. M. Structural studies on aqueous gelatin solutions: Implications in designing a thermo-responsive nanoparticulate formulation. **Int J Biol Macromol**, 95, p. 1126-1134, Feb 2017.

AKCELRUD, L. **Fundamentos da Ciência dos Polímeros**. Barueri - SP: Editora Manole, 2007. 288 p.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, 26, n. 1, p. 108-117, 2012.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Effect of transglutaminase induced crosslinking on the properties of starch/gelatin films. **Food Packaging and Shelf Life**, 13, p. 15-19, 2017.

AL-SAIDI, G. S.; AL-ALAWI, A.; RAHMAN, M. S.; GUIZANI, N. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of extracted gelatin from shaari (*Lithrinus microdon*) skin: effects of extraction conditions. **International Food Research Journal**, 19, n. 3, p. 1167-1173, 2012.

ALVES, J. S.; DOS REIS, K. C.; MENEZES, E. G.; PEREIRA, F. V. *et al.* Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. **Carbohydrate Polymers**, 115, p. 215-222, Jan 22 2015.

APE. **Agriculture, Plastic and Environment Europe**. 2015a. Disponível em: <http://www.apeeurope.eu/index.php>. Acesso em: 03 de dez. 2015.

APE, A., **Plastic and Environment Europe** 2015b. Disponível em: <http://www.apeeurope.eu/index.php>. Acesso em: December 3rd.

ARIK KIBAR, E. A.; US, F. Evaluation of Structural Properties of Cellulose Ether-Corn Starch Based Biodegradable Films. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, 63, n. 7, p. 342-351, 2014.

ARRONDO, J. L. R.; MUGA, A.; CASTRESANA, J.; GONI, F. M. Quantitative studies of the structure of proteins in solution by fourier-transform infrared spectroscopy. **Progress in Biophysics & Molecular Biology** 59, p. 23-56, 1993.

ARTECA, R. N. **Plant Growth Substances - Principles and Applications**. New York: Chapman and Hall, 1996.

ARVANITTOYANNIS, I.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. **Carbohydrate Polymers**, 37, p. 371 - 382, 1998a.

ARVANITTOYANNIS, I.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water. **Carbohydrate Polymers**, 36, p. 105 - 119, 1998b.

ARVANITTOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A.; AIBA, S. *et al.* Edible films made from gelatin, soluble starch and polyols, Part 3. **Food Chemistry**, 60, n. 4, p. 593 - 604, 1997.

ASLAN, A.; GULUMSER, G.; OCAK, B. Increased chromium tanning efficiency with collagen hydrolysates. **Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists**, 90, n. 5, p. 201-204, 2006.

ASTM. Standard Test Methods for Chromium in Water. D1687 2017.

AUNG, S. P. S.; SHEIN, H. H. H.; AYE, K. N.; NWE, N. Environment-Friendly Biopolymers for Food Packaging: Starch, Protein, and Poly-lactic Acid (PLA). *In*: AHMED, S. (Ed.). **Bio-based Materials for Food Packaging: Green and Sustainable Advanced Packaging Materials**. Singapore: Springer Singapore, 2018. p. 173-195.

BALDASSO, C.; LAZZARI, L. K.; SCOPEL, B. S.; MARCZAK, L. D. F. *et al.* Whey fractionation through the membrane separation process. **Separation Science and Technology**, 51, n. 11, p. 1862-1871, 2016/07/23 2016.

BANON, E.; MARCILLA, A.; GARCIA, A. N.; MARTINEZ, P. *et al.* Kinetic model of the thermal pyrolysis of chrome tanned leather treated with NaOH under different conditions using thermogravimetric analysis. **Waste Manag**, 48, p. 285-299, Feb 2016.

BAVARESCO, L.; PERONDI, D.; DETTMER, A. Steam explosion utilization as pre-treatment of chrome leather waste in order to produce biogas. *In*: XXXIII IULTCS Congress, 2015, Novo Hamburgo - Brazil.

BELTRÁN-PRIETO, J. C.; VELOZ-RODRÍGUEZ, R.; PÉREZ-PÉREZ, M. C.; NAVARRETE-BOLAÑOS, J. L. *et al.* Chromium recovery from solid leather waste by chemical treatment and optimisation by response surface methodology. **Chemistry and Ecology**, 28, n. 1, p. 89-102, 2011.

BERTAN, L. C.; TANADA-PALMU, P. S.; SIANI, A. C.; GROSSO, C. R. F. Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, 19, n. 1, p. 73-82, 2005.

BHATTACHARYA, P. T.; MISRA, S. R.; HUSSAIN, M. Nutritional Aspects of Essential Trace Elements in Oral Health and Disease: An Extensive Review. **Scientifica**, 2016, p. 5464373-5464373, 2016.

BISCARAT, J.; GALEA, B.; SANCHEZ, J.; POCHAT-BOHATIER, C. Effect of chemical cross-linking on gelatin membrane solubility with a non-toxic and non-volatile agent: Terephthalaldehyde. **International Journal of Biological Macromolecules**, 74, p. 5-11, 2015.

BRIASSOULIS, D. Analysis of the mechanical and degradation performances of optimised agricultural biodegradable films. **Polymer Degradation and Stability**, 92, n. 6, p. 1115-1132, 2007.

CABEZA, L. F.; TAYLOR, M. M.; BROWN, E. M.; MARMER, W. N. Potential Applications For Gelatin Isolated From Chromium-Containing Solid Tannery Waste: Microencapsulation **Journal of The American Leather Chemists Association**, 94, n. 5, p. 182, 1999.

CABEZA, L. F.; TAYLOR, M. M.; DI MAIO, G. L.; BROWN, E. M. *et al.* Processing of Leather Waste: Pilot Scale Studies on Chrome Shavings. Part II. Purification of Chrome Cake and Tanning Trials. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 93, p. 83-98, 1998a.

CABEZA, L. F.; TAYLOR, M. M.; DI MAIO, G. L.; BROWN, E. M. *et al.* Processing of leather waste: pilot scale studies on chrome shavings. Isolation of potentially valuable protein products and chromium. **Waste Management**, 19, p. 211-218, 1998b.

CABEZA, L. F.; TAYLOR, M. M.; DIMAIO, G. L.; BROWN, E. *et al.* Processing of leather waste: pilot scale studies on chrome shavings. Isolation of potentially valuable protein product and chromium. **Waste Management**, 18, p. 211 - 218, 1998c.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2 ed. São Paulo: Artliber, 2006. 280 p. 8588098105.

CANTERA, C.; MARTEGANI, J.; ESTERELLES, G.; VERGARA, J. Collagen Hydrolysate: 'Soluble Skin' Applied in Post-Tanning Processes - Part 2: Interaction with Acrylic Retanning Agents. **Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists**, 86, n. 6, p. 195-202, 2002.

CATALINA, M.; ATTENBURROW, G.; COT, J.; COVINGTON, A. D. *et al.* Isolation and characterization of gelatin obtained from chrome-tanned shavings. *In: IULTCS - EUROCONGRESO 2006*, Istambul.

CATALINA, M.; ATTENBURROW, G.; COVINGTON, A. D.; ANTUNES, A. P. M. Application of Gelatin Extracted from Chrome Shavings for the Glazed Finishing of Leather. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 105, p. 138-144, 2010.

CATALINA, M.; ATTENBURROW, G. E.; COT, J.; COVINGTON, A. D. *et al.* Influence of crosslinkers and crosslinking method on the properties of gelatin films extracted from leather solid waste. **Journal of Applied Polymer Science**, 119, n. 4, p. 2105-2111, 2011.

CELESTINO, S. M. C. **Princípio da Secagem de Alimentos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados 2010.

CHAUDHARY, R.; PATI, A. Poultry feed based on protein hydrolysate derived from chrome-tanned leather solid waste: creating value from waste. **Environ Sci Pollut Res Int**, 23, n. 8, p. 8120-8124, Apr 2016.

CHAVES DA SILVA, N. M.; FAKHOURI, F. M.; FIALHO, R. L. L.; CABRAL ALBUQUERQUE, E. C. d. M. Starch-recycled gelatin composite films produced by extrusion: Physical and mechanical properties. **Journal of Applied Polymer Science**, 135, n. 19, p. 46254, 2018.

CHEN, Z.; DU, Y.; LI, Z.; SUN, D. *et al.* Synthesis of black pigments containing chromium from leather sludge. **Ceramics International**, 2015.

CIAVATTA, C.; SEQUI, P. Evaluation of chromium release during the decomposition of leather meal fertilizers applied to the soil. **Fertilizer Research**, n. 19, p. 7-11, 1989.

CIPER, M.; BODMEIER, R. Preparation and characterization of novel fast disintegrating capsules (Fastcaps) for administration in the oral cavity. **International Journal of Pharmaceutics**, 303, p. 62-71, 2005.

COELHO, L. C.; FERREIRA, M. M.; BASTOS, A. R. R.; OLIVEIRA, L. C. A. d. *et al.* Resíduo de Curtumes como Fonte de Nitrogênio para Trigo e Arroz em Sucessão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 39, p. 1445-1455, 2015.

COVINGTON, A. D. **Tanning Chemistry: The Science of Leather**. Royal Society of Chemistry, 2015.

DAI, C.-A.; LIU, M.-W. The effect of crystallinity and aging enthalpy on the mechanical properties of gelatin films. **Materials Science and Engineering: A**, 423, n. 1-2, p. 121-127, 2006.

DAMMAK, I.; LOURENÇO, R. V.; SOBRAL, P. J. d. A. Active gelatin films incorporated with Pickering emulsions encapsulating hesperidin: Preparation and physicochemical characterization. **Journal of Food Engineering**, 240, p. 9-20, 2019.

DANG, X.; SHAN, Z.; CHEN, H. The Preparation and Applications of One Biodegradable Liquid Film Mulching by Oxidized Corn Starch-Gelatin Composite. **Appl Biochem Biotechnol**, 180, n. 5, p. 917-929, Nov 2016.

DANG, X.; SHAN, Z.; CHEN, H. Biodegradable films based on gelatin extracted from chrome leather scrap. **Int J Biol Macromol**, 107, n. Pt A, p. 1023-1029, Feb 2018.

DETTMER, A.; NUNES, K. G.; GUTTERRES, M.; MARCILIO, N. R. Obtaining sodium chromate from ash produced by thermal treatment of leather wastes. **Chemical Engineering Journal**, 160, n. 1, p. 8-12, 2010a.

DETTMER, A.; NUNES, K. G.; GUTTERRES, M.; MARCILIO, N. R. Production of basic chromium sulfate by using recovered chromium from ashes of thermally treated leather. **J Hazard Mater**, 176, n. 1-3, p. 710-714, Apr 15 2010b.

DETTMER, A.; SANTOS, R. M. O.; ANJOS, P. S.; GUTTERRES, M. Protein extraction from chromium tanned leather waste by *Bacillus subtilis* enzymes. **Journal of Asociación Química Española de la Industria del Cuero**, 65, n. 3, p. 93 - 100, 2014a.

DETTMER, A.; SANTOS, R. M. O.; ANJOS, P. S.; SOARES, M. G. Protein extraction from chromium tanned leather waste by *Bacillus subtilis* enzymes. **Asociación Química Española de la Industria del Cuero**, 65, p. 93-100, 2014b.

DÍAZ-CALDERÓN, P.; FLORES, E.; GONZÁLEZ-MUÑOZ, A.; PEPCZYNSKA, M. *et al.* Influence of extraction variables on the structure and physical properties of salmon gelatin. **Food Hydrocolloids**, 71, p. 118-128, 2017.

DÍAZ, P.; ARRATIA, C.; VÁSQUEZ, C.; OSORIO, F. *et al.* Effect of glycerol on water sorption of bovine gelatin films in the glassy state. **Procedia Food Science**, 1, p. 267-274, 2011.

ELIASSON, E. C. **Carbohydrates in food**. 2 ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. 521 p.

ENGLERT, C.; BLUNK, T.; MÜLLER, R.; SCHULZE VON GLASSER, S. *et al.* **Bonding of articular cartilage using a combination of biochemical degradation and surface cross-linking.** 2007. R47 p.

EPA, U. S. E. P. A. **Chromium Compounds: Hazard Summary.** 2000. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/chromium-compounds.pdf>. Acesso em: August 15th.

ERTANI, A.; MIETTO, A.; BORIN, M.; NARDI, S. Chromium in Agricultural Soils and Crops: A Review. **Water, Air, & Soil Pollution**, 228, n. 5, 2017.

ETXABIDE, A.; URDANPILLETA, M.; CABA, K. d. I.; GUERRERO, P. Control of cross-linking reaction to tailor the properties of thin films based on gelatin. **Materials Letters**, 185, p. 366-369, 2016.

ETXABIDE, A.; URDANPILLETA, M.; GÓMEZ-ARRIARAN, I.; CABAA, K. d. I. *et al.* Effect of pH and lactose on cross-linking extension and structure of fish gelatin film. **Reactive and Functional Polymers**, 117, p. 140-146, 2017.

ETXABIDE, A.; URDANPILLETA, M.; GUERRERO, P.; CABA, K. d. I. Effects of cross-linking in nanostructure and physicochemical properties of fish gelatins for bio-applications. **Reactive and Functional Polymers**, 94, p. 55-62, 2015.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; INNOCENTINI-MEI, L. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. Effect of Fatty Acid Addition on the Properties of Biopolymer Films Based on Lipophilic Maize Starch and Gelatin. **Starch - Stärke**, 61, n. 9, p. 528-536, 2009.

FAKHOURI, F. M.; MARTELLI, S. M.; CAON, T.; VELASCO, J. I. *et al.* Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. **Postharvest Biology and Technology**, 109, p. 57-64, 2015.

FAKHOURY, F. M.; SILVIA, M. M.; LARISSA, C. B.; YAMASHITA, F. *et al.* Edible films made from blends of manioc starch and gelatin – Influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties. **Food Science and Technology**, 49, n. 1, p. 149-154, 2012.

FARRIS, S.; SONG, J.; HUANG, Q. Alternative reaction mechanism for the cross-linking of gelatin with glutaraldehyde. **J Agric Food Chem**, 58, n. 2, p. 998-1003, Jan 27 2010.

FERREIRA, M. J.; ALMEIDA, M. F.; PINHO, S. C.; SANTOS, I. C. Finished leather waste chromium acid extraction and anaerobic biodegradation of the products. **Waste Manag**, 30, n. 6, p. 1091-1100, Jun 2010.

FERREIRA, M. J.; PINHO, S. I. C.; GOMES, J. R.; ALMEIDA, M. F. *et al.* Alkaline Hydrolysis of Chromium Tanned Leather Scrap Fibers and Anaerobic Biodegradation of the Products. **Waste Biomass Valor**, 5, p. 551-562, 2014.

FRIESS, W. Collagen – biomaterial for drug delivery¹. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 45, p. 113-136, 1998.

GAIDAU, C.; NICULESCU, M.; STEPAN, E.; TALOI, D. *et al.* Additives and Advanced Biomaterials Obtained from Leather Industry by-products. **Revista De Chimie**, 60, n. 5, p. 501-507, 2009.

GARCIA, V. A. d. S.; ALVES, J. G.; MAZZALI, M. R.; LAPA-GUIMARÃES, J. d. G. *et al.* Gelatin and pregelatinized starch orally disintegrating films: Properties and stability of vitamin C. **Journal of Applied Polymer Science**, 134, n. 20, p. 1-19, 2017.

GARCIA, V. A. d. S.; BORGES, J. G.; MACIEL, V. B. V.; MAZALLI, M. R. *et al.* Gelatin/starch orally disintegrating films as a promising system for vitamin C delivery. **Food Hydrocolloids**, 79, p. 127-135, 2018.

GENNADIOS, A. **Protein-based films and coatings**. Boca Raton, US: CRC Press, 2002. 650 p. 1587161079.

GOMES, C. S.; PICCIN, J. S.; GUTTERRES, M. Optimizing adsorption parameters in tannery-dye-containing effluent treatment with leather shaving waste. **Process Safety and Environmental Protection**, 99, p. 98-106, 2016.

GÓMEZ-ESTACA, J.; MONTERO, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. **Journal of Food Engineering**, 90, n. 4, p. 480-486, 2009.

GONENC, I.; US, F. Effect of Glutaraldehyde Crosslinking on Degree of Substitution, Thermal, Structural, and Physicochemical Properties of Corn Starch. **Starch - Stärke**, 71, n. 3-4, p. 1800046, 2019.

GRZYBOWSKI, P. The method for obtaining adhesive from protein waste. : Google Patents 2016.

GUTTERRES, M. Estrutura de colagênio da pele. **Revista do Couro**, 29, n. 170, p. 76-80, 2004.

HEDBERG, Y. S.; LIDÉN, C.; WALLINDER, I. O. Chromium released from leather – I: exposure conditions that govern the release of chromium(III) and chromium(VI). **Contact Dermatitis**, 72, n. 206-215, 2015.

IPTS. **Best Available Techniques (BAT) Reference Document for the Tanning of Hides and Skins**. European IPPC Bureau. Spain, p. 290. 2013.

IULTCS. **International Union of Leather Technologists and Chemists Societies - IUE - 4: ASSESSMENT FOR CHROMIUM CONTAINING WASTE FROM THE LEATHER INDUSTRY**. 2008. Disponível em: http://www.iultcs.org/pdf/IUE4_2008.pdf. Acesso em: July 4.

JAMROZ, E.; JUSZCZAK, L.; KUCHARZEK, M. Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. **Int J Biol Macromol**, 114, p. 1094-1101, Jul 15 2018.

JANACOVA, D.; KOLOMAZNIK, K.; MOKREJS, P.; VASEK, V. Optimization of enzymatic hydrolysis of leather waste. *In: 6th WSEAS International Conference on Applied Informatics and Communications, 2006, Elounda-Greece.*

JIANG, T.; ZHANG, C.; QIN, F. Reclamation treatment of the chrome leather scrap. **Journal of Environmental Sciences**, 12, n. 3, p. 375 - 379, 2000.

JIANG, X.; LI, H.; LUO, Y.; ZHAO, Y. *et al.* Studies of the plasticizing effect of different hydrophilic inorganic salts on starch/poly (vinyl alcohol) films. **Int J Biol Macromol**, 82, p. 223-230, Jan 2016.

JONES, D. B. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins. **AGRICULTURE**, U. S. D. o. Washington D.C. 1941.

JUNPENG, Y.; QI, Z.; XIN, L.; XINSHENG, W. *et al.* Steam explosion technology based for oil extraction from sesame (*Sesamum indicum* L.) seed. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2016.

KANAGARAJ, J.; VELAPPAN, K. C.; BABU, N. K. C.; SADULLA, S. Solid wastes generation in the leather industry and its utilization for cleaner environment – A review. **Journal of Scientific & Industrial Research**, 65, p. 541-548, 2006.

KARLSSON, M. E.; ELIASSON, A.-C. Gelatinization and retrogradation of potato (*Solanum tuberosum*) starch in situ as assessed by differential scanning calorimetry (DSC). **LWT - Food Science and Technology**, 36, n. 8, p. 735-741, 2003.

KOCUREK, P.; KOLOMAZNÍK, K.; BARINOVA, M.; HENDRYCH, J. Dechroming Spent Tanning Liquor Using Filtration Cake from Enzymatic Hydrolysis of Chromium Shavings. **Journal of The Society of Leather Technologists and Chemists** 99, n. 6, p. 288-292, 2015.

KOLOMAZNIK, K.; ADAMEK, M.; ANDEL, I.; UHLIROVA, M. Leather waste--potential threat to human health, and a new technology of its treatment. **J Hazard Mater**, 160, n. 2-3, p. 514-520, Dec 30 2008.

KOLOMAZNIK, K.; MLADEK, M.; LANGMAIER, F.; JANACOVA, D. Experience in industrial practice of enzymatic dechromation of chrome shavings. **Journal of the American Leather Chemists Association**, 94, p. 55 - 63, 1999.

KOLOMAZNÍK, K.; MLADEK, M.; LANGMAIER, F.; JANÁČOVÁ, D. Experience in Industrial Practice of Enzymatic Dechromation of Chrome Shavings. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 94, p. 55-63, 1999.

KRISHNAMURTHY, L.-N.; C.WEIGERT, E.; J.WAGNER, N.; BORIS, D. C. The shear viscosity of polyampholyte (gelatin) stabilized colloidal dispersions. **Journal of Colloid and Interface Science**, 280, p. 264-275, 2004.

KUMAR, D. P.; CHANDRA, M. V.; ELAVARASAN, K.; SHAMASUNDAR, B. A. Structural properties of gelatin extracted from croaker fish (*Johnius sp*) skin waste. **International Journal of Food Properties**, 20, n. sup3, p. S2612-S2625, 2018.

KUPEK, J.; DVORÁČKOVÁ, M.; RUDLOVÁ, S.; ICKA, J. R. *et al.* Deproteination of chrome waste by washing and enzymatic hydrolysis. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 97, p. 349-354, 2002.

LANGMAIER, F.; MOKREJS, P.; KARNAS, R.; MLÁDEK, M. *et al.* Modification Of Chrome-Tanned Leather Waste Hydrolysate With Epichlorhydrin. **Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists**, 90, p. 29-34, 2005.

LANGMAIER, F.; MOKREJS, P.; KOLOMAZNIK, K.; MLADEK, M. Biodegradable packing materials from hydrolysates of collagen waste proteins. **Waste Manag**, 28, n. 3, p. 549-556, 2008.

LANGMAIER, F.; MOKRĚŠ, P.; KARNAS, R.; MLÁDEK, M. *et al.* Modification of chrome-tanned leather waste hydrolysate with epichlorhydrin. **Journal of the Society of Leather Technologies and Chemists**, 90, p. 29-34, 01/01 2006.

LEATHERCOUNCIL. **Leather Statistics**. 2008. Disponível em: <http://www.leathercouncil.org/ict%20stats2008.pdf>. Acesso em: 03/08.

LI, C.; LIU, G.; NGES, I. A.; LIU, J. Enhanced biomethane production from *Miscanthus lutarioriparius* using steam explosion pretreatment. **Fuel**, 179, p. 267-273, 2016.

LI, C.; MOORE-KUCERA, J.; LEE, J.; CORBIN, A. *et al.* Effects of biodegradable mulch on soil quality. **Applied Soil Ecology**, 79, p. 59-69, 2014.

LI, C.; XUE, F.; DING, E. Preparation of polyacrylamide grafted collagen extracted from leather wastes and their application in kaolin flocculation. **Journal of Applied Polymer Science**, 132, n. 13, p. n/a-n/a, 2015.

LIMA, D. Q.; OLIVEIRA, L. C. A.; BASTOS, A. R. R.; CARVALHO, G. S. *et al.* Leather Industry Solid Waste as Nitrogen Source for Growth of Common Bean Plants. **Applied and Environmental Soil Science**, 2010, p. 1-7, 2010.

LIU, P.; YU, L.; LIU, H.; CHEN, L. *et al.* Glass transition temperature of starch studied by a high-speed DSC. **Carbohydrate Polymers**, 77, n. 2, p. 250-253, 2009.

LÓPEZ, O. V.; LECOT, C. J.; ZARITZKY, N. E.; GARCÍA, M. A. Biodegradable packages development from starch based heat sealable films. **Journal of Food Engineering**, 105, n. 2, p. 254-263, 2011.

LOURDIN, D.; BIZOT, H.; COLONNA, P. “Antiplasticization” in Starch–Glycerol Films? **Journal of Applied Polymer Science**, 63, p. 1047-1053, 1997.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; A.L. FARR, a. R. J. R. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 193, p. 265-275, 1951.

LUCHESE, C. L.; GARRIDO, T.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. *et al.* Development and characterization of cassava starch films incorporated with blueberry pomace. **Int J Biol Macromol**, 106, p. 834-839, Jan 2018.

LUO, X.; HU, S.; ZHANG, X.; LI, Y. Thermochemical conversion of crude glycerol to biopolyols for the production of polyurethane foams. **Bioresource Technology**, 139, p. 323-329, 2013.

MALEK, A.; HACHEMI, M.; DIDIER, V. New approach of depollution of solid chromium leather waste by the use of organic chelates: economical and environmental impacts. **J Hazard Mater**, 170, n. 1, p. 156-162, Oct 15 2009.

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

MANCOPES, F.; GUTTERRES, M.; DETTMER, A.; BARRIONUEVO, P. Colagênio: estrutura, propriedades e processos. *In*: GUTTERRES, M. (Ed.). **A ciência rumo à tecnologia do couro**. Porto Alegre: Tríplica Assessoria e Soluções Ambientais Ltda., 2008. v. 1, p. 505.

MANERA, C.; POLI, J. V.; FERREIRA, S. D.; GODINHO, M. *et al.* Activated carbon from leather shaving waste. Part II. Effect of char demineralization and time activation in the surface area and pore size distribution. **Journal of the American Leather Chemists Association**, 111, p. 413-421, 2016.

MAPA. Instrução Normativa N° 27 pp.

MAPA, M. d. A., Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 7, de 12 de Abril de 2016. pp.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A. Biodegradation of three-layer laminate films based on gelatin under indoor soil conditions. **Polymer Degradation and Stability**, 94, n. 8, p. 1307-1313, 2009a.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A. Tensile properties, barrier properties, and biodegradation in soil of compression-Molded gelatin-dialdehyde starch films. **Journal of Applied Polymer Science**, 112, n. 4, p. 2166-2178, 2009b.

MATYASOVSKY, J.; SEDLIACIK, J.; JURKOVIC, P.; KOPNY, J. *et al.* De-Chroming of Chromium Shavings without Oxidation to Hazardous Cr⁶⁺. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 106, p. 8-17, 2011.

METZ, L. E. G. **Avaliação Ambiental dos Resíduos Sólidos Oriundos da Produção de Couros no Rio Grande do Sul**. 2016. - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Universidade do Vale do Rio do Sinos, São Leopoldo.

MHD SARBON, N.; BADI, F.; HOWELL, N. K. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, 30, n. 1, p. 143-151, 2013.

MILLINGTON, S. M. **Research for alternative material and its effect on seed germination in seed tapes products**. 2018. (Tese de Doutorado) - Faculty of Environment and Technology, University of the West of England, Bristol.

MOKREJS, P.; JANÁČOVÁ, D.; LANGMAIER, F.; MLADEK, M. *et al.* The influence of thermal cross linking on solubility of films prepared from collagen hydrolysate. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 103, n. 9, p. 314-322, 2008.

MOKREJS, P.; SUKOP, S.; LANGMAIER, F.; KOLOMAZNIK, K. *et al.* Properties of Collagen Hydrolyzates Obtained from Leather Shavings. **Asian Journal of Chemistry**, 19, n. 2, p. 1207-1216, 2007.

MOREIRA, M., V.; TEIXEIRA, R. C. **Estado da Arte Tecnológico em Processamento do Couro: Revisão Bibliográfica no Âmbito Internacional**. Centro Nacional de Tecnologias Limpas. Porto Alegre, p. 242. 2003.

MORENO, O.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A.; CRUZ-ROMERO, M. C. *et al.* Starch-gelatin antimicrobial packaging materials to extend the shelf life of chicken breast fillets. **Lwt**, 97, p. 483-490, 2018.

MORENO, O.; GIL, À.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Active starch-gelatin films for shelf-life extension of marinated salmon. **LWT - Food Science and Technology**, 84, p. 189-195, 2017.

MU, C.; LIN, W.; ZHANG, M.; ZHU, Q. Towards zero discharge of chromium-containing leather waste through improved alkali hydrolysis. **Waste Management**, 23, n. 9, p. 835-843, 2003.

NAGULESWARAN, S.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R.; BRESSLER, D. The susceptibility of large and small granules of waxy, normal and high-amylose genotypes of barley and corn starches toward amylolysis at sub-gelatinization temperatures. **Food Research International**, 51, n. 2, p. 771-782, 2013.

NAGULESWARAN, S.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R.; BRESSLER, D. Amylolysis of amylopectin and amylose isolated from wheat, triticale, corn and barley starches. **Food Hydrocolloids**, 35, p. 686-693, 2014.

NICOLOSI, M. M. **Desenvolvimento de método de semeadura em sistema de plantio direto para agricultura familiar**. 2016. (Tese de Doutorado) - Agronomia, UNESP, São Paulo.

NICULESCU, M.; BAJENARU, S.; GAIDAU, C.; SIMION, D. *et al.* Extraction of the Protein Components as Amino-Acids Hydrolysates from Chrome Leather Wastes Through Hydrolytic Processes. **Revista de Chimie**, 60, n. 10, p. 1070-1078, 2009.

NOGUEIRA, F. G.; DO PRADO, N. T.; OLIVEIRA, L. C.; BASTOS, A. R. *et al.* Incorporation of mineral phosphorus and potassium on leather waste (collagen): a new N(collagen)PK-fertilizer with slow liberation. **J Hazard Mater**, 176, n. 1-3, p. 374-380, Apr 15 2010.

OATES, C. G. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology** 8, p. 375 - 382, 1997.

OCAK, B. Complex coacervation of collagen hydrolysate extracted from leather solid wastes and chitosan for controlled release of lavender oil. **J Environ Manage**, 100, p. 22-28, Jun 15 2012.

OCAK, B.; ASLAN, A.; GULUMSER, G. Utilization of Chromium-Tanned Leather Solid Wastes in Microencapsulation **Journal of The American Leather Chemists Association**, 106, p. 232-238, 2011.

OLIVEIRA, D. Q. L. d.; CARVALHO, K. T. G.; BASTOS, A. R. R.; OLIVEIRA, L. C. A. d. *et al.* Utilização de resíduos da indústria de couro como fonte nitrogenada para o capim-elefante. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32, p. 417-424, 2008.

OLIVEIRA, L. C.; GONCALVES, M.; OLIVEIRA, D. Q.; GUERREIRO, M. C. *et al.* Solid waste from leather industry as adsorbent of organic dyes in aqueous-medium. **J Hazard Mater**, 141, n. 1, p. 344-347, Mar 06 2007.

PAOLI, M.-A. d. **Degradalção e estabilização de polímeros**. Chemkeys, 2008.

PARENTEAU-BAREIL, R.; GAUVIN, R.; BERTHOD, F. Collagen-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications. **Materials**, 3, n. 3, p. 1863-1887, 2010.

PATI, A.; CHAUDHARY, R. Soybean plant growth study conducted using purified protein hydrolysate-based fertilizer made from chrome-tanned leather waste. **Environ Sci Pollut Res Int**, 22, n. 24, p. 20316-20321, Dec 2015.

PATI, A.; CHAUDHARY, R.; SUBRAMANI, S. A review on management of chrome-tanned leather shavings: a holistic paradigm to combat the environmental issues. **Environ Sci Pollut Res Int**, 21, n. 19, p. 11266-11282, Oct 2014.

PAUL, H.; ANTUNES, A. P. M.; COVINGTON, A. D.; EVANS, P. *et al.* Towards zero solid waste: utilising tannery waste as a protein source for poultry feed. *In: 28th International Conference on Solid Waste Technology and Management, 2013, Philadelphia - USA.*

PHROMSOPHA, T.; BAIMARK, Y. **Preparation of Starch/Gelatin Blend Microparticles by a Water-in-Oil Emulsion Method for Controlled Release Drug Delivery**. 2014. 829490 p.

PICCIN, J. S.; FERIS, L. A.; COOPER, M.; GUTTERRES, M. Dye Adsorption by Leather Waste: Mechanism Diffusion, Nature Studies, and Thermodynamic Data. **Journal of Chemical & Engineering Data (Online)**, 2013.

PICCIN, J. S.; GOMES, C. S.; MELLA, B.; GUTTERRES, M. Color removal from real leather dyeing effluent using tannery waste as an adsorbent. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 4, n. 1, p. 1061-1067, 2016.

PODSHIVALOV, A.; ZAKHAROVA, M.; GLAZACHEVA, E.; USPENSKAYA, M. Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties. **Carbohydr Polym**, 157, p. 1162-1172, Feb 10 2017.

PRINGLE, T.; BARWOOD, M.; RAHIMIFARD, S. The Challenges in Achieving a Circular Economy within Leather Recycling. **Procedia CIRP**, 48, p. 544-549, 2016.

QIAO, C.; MA, X.; ZHANG, J.; YAO, J. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. **Food Chem**, 235, p. 45-50, Nov 15 2017.

QIU, S.; YADAV, M. P.; LIU, Y.; CHEN, H. *et al.* Effects of corn fiber gum with different molecular weights on the gelatinization behaviors of corn and wheat starch. **Food Hydrocolloids**, 53, p. 180-186, 2016.

QUILLERIET, A. L. **The Leather Book**. Perseus Distribution Services, 2004. 9782843235122.

RAMSHAW, J.; WERKMEISTER, J.; GLATTAUER, V. Collagen-based biomaterials. **Biotechnology & Genetic Engineering Reviews**, 13, p. 335-382, 1995.

RAMSHAW, J. A. Biomedical applications of collagens. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, 104, n. 4, p. 665-675, May 2016.

RIBEIRO, D. V.; YUAN, S. Y.; MORELLI, M. R. Efeito da adição de serragem de couro tratada quimicamente nas propriedades do cimento Portland. **Química Nova**, 34, p. 979-983, 2011.

RICE, E. W.; BRIDGEWATER, L. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22 ed. Washington - USA: American Public Health Associati, 2012.

RINDLAV-WESTLING, A.; STADINGB, M.; HERMANSSONB, A. M.; GATENHOLMA, P. Structure, mechanical and barrier properties of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, 36, p. 217 - 224, 1998.

ROMERO-BASTIDA, C. A.; BELLO-PEREZ, L. A.; VELAZQUEZ, G.; ALVAREZ-RAMIREZ, J. Effect of the addition order and amylose content on mechanical, barrier and structural properties of films made with starch and montmorillonite. **Carbohydr Polym**, 127, p. 195-201, 2015.

SAXENA, A.; TRIPATHI, B. P.; KUMAR, M.; SHAHI, V. K. Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins: an overview. **Adv Colloid Interface Sci**, 145, n. 1-2, p. 1-22, Jan 30 2009.

SCHOLL, A. L.; MENEGOL, D.; PITARELO, A. P.; FONTANA, R. C. *et al.* Ethanol production from sugars obtained during enzymatic hydrolysis of elephant grass (*Pennisetum purpureum*, Schum.) pretreated by steam explosion. **Bioresource Technology**, 192, p. 228-237, 2015.

SCOPEL, B. S.; BAVARESCO, L.; MASCARELLO, J.; DETTMER, A. *et al.* Mechanical and Water Interaction Properties of Polymeric Films Produced with Starch and Gelatin Extracted from Leather Waste as Affected by Different Composition. **Journal of the American Leather Chemists Association**, 114, p. 1-9, 2019.

SCOPEL, B. S.; LAMERS, D. L.; MATOS, E.; BALDASSO, C. *et al.* Collagen Hydrolysate Extraction From Chromed Leather Waste For Polymeric Film Production. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 111, p. 30-40, 2016.

SCOPEL, B. S.; RIBEIRO, M. E.; DETTMER, A.; BALDASSO, C. Cornstarch-Gelatin Films: Commercial Gelatin Versus Chromed Leather Waste Gelatin and Evaluation of Drying Conditions. **Journal of Polymers and the Environment**, 26, p. 1998-2006, 2017/08/18 2017.

SHI, C.; TAO, F.; CUI, Y. New starch ester/gelatin based films: Developed and physicochemical characterization. **Int J Biol Macromol**, 109, p. 863-871, Apr 1 2018.

SIFUENTES-NIEVES, I.; RENDÓN-VILLALOBOS, R.; JIMÉNEZ-APARICIO, A.; CAMACHO-DÍAZ, B. H. *et al.* Physical, Physicochemical, Mechanical, and Structural Characterization of Films Based on Gelatin/Glycerol and Carbon Nanotubes. **International Journal of Polymer Science**, 2015, p. 1-8, 2015.

SILVA, O. A.; PELLA, M. G.; PELLA, M. G.; CAETANO, J. *et al.* Synthesis and characterization of a low solubility edible film based on native cassava starch. **Int J Biol Macromol**, 128, p. 290-296, Jan 25 2019.

SILVIPRIYA, K. S.; KUMAR, K. K.; BHAT, A. R.; KUMAR, B. D. *et al.* Collagen: Animal Sources and Biomedical Application. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 5, n. 3, p. 123-127, 2015.

SIMON, A.; VANDANJON, L.; LEVESQUE, G.; BORSEAU, P. Concentration and desalination of fish gelatin by ultrafiltration and continuous diafiltration processes. **Desalination**, 144, p. 313-318, 2002.

SIMONA, J.; STJEPANOVIĆ, Z.; RUDOLF, A.; GRUJIĆ, D. *et al.* Assessing garments fit to woman's body. **ACC Journal. A, Natural sciences and technology, ISSN 1803-9782**, 20, p. 28-37, 05/30 2014.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SINGH SODHI, N. *et al.* Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, 81, n. 2, p. 219-231, 2003.

SINGHA, J.; SUHAGB, M.; DHAKAC, A. Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: A review. **Carbohydrate Polymers**, 117, p. 624-631, 2015.

SMITH, D. M. Protein Separation and Characterization Procedures. *In: NIELSEN, S. (Ed.). Food Analysis: Springer, 2010.*

SOLIMAN, E. A.; FURUTA, M. Influence of Phase Behavior and Miscibility on Mechanical, Thermal and Micro-Structure of Soluble Starch-Gelatin Thermoplastic Biodegradable Blend Films. **Food and Nutrition Sciences**, 05, n. 11, p. 1040-1055, 2014.

SOUKOULIS, C.; SINGH, P.; MACNAUGHTAN, W.; PARMENTER, C. *et al.* Compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. **Food Hydrocoll**, 52, p. 876-887, Jan 2016.

SOUZA DE MIRANDA, C.; FERREIRA, M. S.; MAGALHÃES, M. T.; GONÇALVES, A. P. B. *et al.* Effect of the Glycerol and Lignin Extracted from Piassava Fiber in Cassava and Corn Starch Films. **Materials Research**, 18, n. suppl 2, p. 260-264, 2015.

SREERAM, K. J.; RAMASAMI, T. Sustaining tanning process through conservation, recovery and better utilization of chromium. **Resources, Conservation and Recycling**, 38, n. 3, p. 185-212, 2003.

STELTE, W. **Steam explosion for biomass pre-treatment.** Danish Technological Institute. Taastrup, DK, p. 15. 2013.

STROBL, G. R. **The Physics of Polymers: Concepts for Understanding Their Structures and Behavior.** 2007. 1-518 p.

SUNDAR, V. J.; RAGHAVARAO, J.; MURALIDHARAN, C.; MANDAL, A. B. Recovery and Utilization of Chromium-Tanned Proteinous Wastes of Leather Making: A Review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, 41, n. 22, p. 2048-2075, 2011.

TAGER, A. **Physical Chemistry of Polymers** Mir Moscow, 1978.

TAHIRI, S.; BOUHRIA, M.; ALBIZANE, A.; MESSAOUDI, A. *et al.* Extraction Of Proteins From Chrome Shavings With Sodium Hydroxide And Reuse Of Chromium In The Tanning Process. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 2004.

TAYLOR, M. M.; CABEZA, L. F.; DI MAIO, G. L.; BROWN, E. M. *et al.* Processing of Leather Waste: Pilot Scale Studies on Chrome Shavings. Part I. Isolation and Characterization of Protein Products and Separation of Chrome Cake. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 93, p. 61-82, 1998a.

TAYLOR, M. M.; CABEZA, L. F.; DIMAIO, L.; BROWN, E. *et al.* Processing of leather waste: pilot scale studies on chrome shavings. Part I. Isolation and characterization of protein products and separation of chrome cake. **Journal of the American Leather Chemists Association**, 93, p. 61 - 82, 1998b.

TAYLOR, M. M.; DIEFENDORF, E. J.; BROWN, E. M.; MARMAR, W. N. Characterization of products isolated by enzyme treatment of chromium-containing leather waste. **Journal of The American Leather Chemists Association**, 87, 1992.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, 39, n. 2, p. 151-165, 2004.

TING-DA, J.; CHUN-PING, Z.; FEI, Q. Reclamation treatment of the chrome leather scrap. **Journal of Environmental Sciences**, 12, n. 3, p. 375-379, 2000.

TONGDEESOONTORN, W.; MAUER, L. J.; WONGRUONG, S.; SRIBURI, P. *et al.* Mechanical and Physical Properties of Cassava Starch-Gelatin Composite Films. **International Journal of Polymeric Materials**, 61, n. 10, p. 778-792, 2012.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 2017.

TOUCHALEAUME, F.; MARTIN-CLOSAS, L.; ANGELLIER-COUSSY, H.; CHEVILLARD, A. *et al.* Performance and environmental impact of biodegradable polymers as agricultural mulching films. **Chemosphere**, 144, p. 433-439, Sep 16 2015.

TUZZIN, G.; GODINHO, M.; DETTMER, A.; ZATTERA, A. J. Nanofibrillated cellulose from tobacco industry wastes. **Carbohydrate Polymers**, 148, p. 69-77, 2016.

VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L. M.; CEREDA, M. P.; SCAMPARINI, A. R. P. Sucrose and inverted sugar as plasticizer. Effect on cassava starch-gelatin film mechanical properties, hydrophilicity and water activity. **Food Chemistry**, 103, n. 2, p. 255-262, 2007.

WANG, K.; WANG, W.; YE, R.; XIAO, J. *et al.* Mechanical and barrier properties of maize starch-gelatin composite films: effects of amylose content. **J Sci Food Agric**, 97, n. 11, p. 3613-3622, Aug 2017a.

WANG, W.; WANG, K.; XIAO, J.; LIU, Y. *et al.* Performance of high amylose starch-composited gelatin films influenced by gelatinization and concentration. **Int J Biol Macromol**, 94, n. Pt A, p. 258-265, Jan 2017b.

WANG, Y.; JIANG, L.; DUAN, J.; SHAO, S. Effect of the carbonyl content on the properties of composite films based on oxidized starch and gelatin. **Journal of Applied Polymer Science**, 130, n. 5, p. 3809-3815, 2013.

WEBER, F. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. P.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29, n. 4, p. 748-753, 2009.

WENZEL, B. M.; MARCILIO, N. R.; KLUG, J. L.; HECK, N. C. *et al.* Production of high carbon ferrochromium alloy from footwear leather waste ash through a carbothermic reduction. **Journal of the American Leather Chemists Association**, 107, p. 375 - 384, 2012.

WIONCZYK, B.; APOSTOLUK, W.; CHAREWICZ, W. A.; ADAMSKI, Z. Recovery of chromium(III) from wastes of uncolored chromium leathers. Part I. Kinetic studies on alkaline hydrolytic decomposition of the wastes. **Separation and Purification Technology**, 81, n. 2, p. 223-236, 2011a.

WIONCZYK, B.; APOSTOLUK, W.; CHAREWICZ, W. A.; ADAMSKI, Z. Recovery of chromium(III) from wastes of uncolored chromium leathers. Part II. Solvent extraction of chromium(III) from alkaline protein hydrolyzate. **Separation and Purification Technology**, 231, p. 237-242, 2011b.

WIONCZYK, B.; APOSTOLUK, W.; CHAREWICZ, W. A.; ADAMSKI, Z. Recovery of chromium(III) from wastes of uncolored chromium leathers. Part II. Solvent extraction of chromium(III) from alkaline protein hydrolyzate. **Separation and Purification Technology**, 81, n. 2, p. 237-242, 2011c.

WOLF, F. A. Collagen and Gelatin. *In: Progress in Biotechnology*. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2003. cap. V, p. 219-269.

YANNAS, I. V. Collagen and Gelatin in the Solid State. **Journal of Macromolecular Science, Part C**, 7, n. 1, p. 49-106, 1972/01/01 1972.

ZARSKI, A.; PTAK, S.; SIEMION, P.; KAPUSNIAK, J. Esterification of potato starch by a biocatalysed reaction in an ionic liquid. **Carbohydr Polym**, 137, p. 657-663, Feb 10 2016.

ZHANG, J.; HAN, Z.; TENG, B.; CHEN, W. Biodeterioration process of chromium tanned leather with *Penicillium* sp. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 116, p. 104-111, 2017.

ZHANG, N.; LIU, X.; YU, L.; SHANKS, R. *et al.* Phase composition and interface of starch-gelatin blends studied by synchrotron FTIR micro-spectroscopy. **Carbohydr Polym**, 95, n. 2, p. 649-653, Jun 20 2013.

ZHANG, Y.; HAN, J. H. Crystallization of High-Amylose Starch by the Addition of Plasticizers at Low and Intermediate Concentrations. **Journal of Food Science**, 75, n. 1, p. N8-N16, 2010.

ZHONG, Q.-P.; XIA, W.-S. Physicochemical Properties of Edible and Preservative Films from Chitosan/Cassava Starch/Gelatin Blend Plasticized with Glycerol. **Food Technology and Biotechnology**, 46, n. 3, p. 262-269, 2008.

APÊNDICE A - DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO COM O USO DE ÁGUA AQUECIDA DE GELATINA DE RCCC SUBMETIDO A EXPLOSÃO A VAPOR EM MEIO ALCALINO.

Três condições de extração com água quente foram testadas para a extração da gelatina de RCCC explodido em meio alcalino. Para todas elas, o RCCC foi explodido em meio alcalino a 140°C por 10 min empregando-se uma razão de 100g de RCCC para 4 g de CaO. O RCCC explodido foi retirado do ambiente refrigerado e ambientado a 45°C para, então, ser misturado à água nas temperaturas de 70 ou 100°C. Após realizada a mistura, o sistema foi agitado pelo referido tempo para, então, passar pelo processo de filtração a vácuo. A Tabela 37 descreve as mesmas. Quando empregados maiores tempos de extração (10 e 60 min), utilizou-se a temperatura de 70°C a fim de reduzir a degradação da gelatina extraída. Para o menor tempo de extração (3 min) foi empregada água a 100°C.

Tabela 37 - Codificação das amostras e condições empregadas no processo de extração de gelatina com água aquecida a partir de RCCC explodido em meio alcalino

Código da amostra	Temperatura da água (°C)	Tempo de agitação do sistema antes da filtração (min)	Condições ambientes durante o tempo de extração
70/10	70	10	70°C em <i>shaker</i> com agitação orbital de 180 rpm
70/60	70	60	70°C em <i>shaker</i> com agitação orbital de 180 rpm
100/3	100	3	Temperatura ambiente (20°C), agitação manual constante

A Tabela 38 apresenta os resultados de caracterização da gelatina extraída nas três diferentes condições.

Tabela 38 - Teor de proteína e cromo para amostras de gelatina extraídas em três condições diferentes a partir de RCCC explodido em meio alcalino

Amostra	Proteína por Lowry (g/L)	Proteína por NTK (g/L)	Razão Lowry/NTK	Cromo Hexavalente (mg/L)	Cromo Total (mg/L)
100/3	25,9 ± 1,2 ^a	4,1 ± 0,04 ^a	6,3 ^a	0,34 ± 0,004 ^a	5,10 ± 0,49 ^a
70/10	26,4 ± 1,7 ^a	4,2 ± 0,12 ^a	6,2 ^a	0,34 ± 0,020 ^a	4,23 ± 0,58 ^a
70/60	26,4 ± 2,3 ^a	4,2 ± 0,08 ^a	6,3 ^a	0,45 ± 0,039 ^b	4,52 ± 0,25 ^a

* Médias seguidas de letras iguais indicam diferenças estatisticamente não significativas e médias seguidas por letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas de acordo com teste de Tukey.

A única variável afetada de maneira estatisticamente significativa pela mudança na temperatura/tempo de extração foi o teor de cromo hexavalente. Conforme o resultado do teste de Tukey, o teor de cromo hexavalente variou de forma significativa apenas quando o tempo de 60 min (a 70°C) foi empregado para agitação da amostra antes da extração, não havendo diferença estatisticamente significativa entre as amostras extraídas a 100°C por 3 min e a 70°C por 10 min. O maior teor de cromo hexavalente na gelatina extraída a 70°C após tempo de extração de 60 min indica que períodos de contato mais longos entre RCCC explodido e água permitem uma maior solubilização deste, o que é indesejado devido ao caráter carcinogênico deste íon. Determina-se, portanto, que o método de extração com água a 70°C por 60 min não é o mais adequado, devendo-se escolher entre a extração a 70°C por 10 min e a extração a 100°C por 3 min.

As gelatinas extraídas com água a 100°C por 3 min e com água a 70°C por 10 min não apresentam teores de proteína ou cromo estatisticamente diferentes. O grau de degradação das gelatinas também parece não ter sido afetado pelo emprego de água a diferentes temperaturas, visto que a razão Lowry/NTK é igual nas duas condições de extração.

Devido ao menor tempo requerido e à facilidade de controle operacional, escolheu-se a condição que emprega água a 100°C por 3 min para extração de gelatina do RCCC explodido em meio alcalino.

APÊNDICE B – TESTES PRELIMINARES PARA DETERMINAÇÃO DO AGENTE RETICULANTE (GLUTARALDEÍDO OU LACTOSE) A SER EMPREGADO NA PRODUÇÃO DOS FILMES POLIMÉRICOS DE GELATINA E AMIDO

A fim de determinar o agente reticulante a ser empregado neste trabalho, glutaraldeído ou lactose, filmes foram produzidos com amido de milho e gelatina comercial ou de RCCC com ambos agentes. A escolha do agente a ser empregado se deu baseada na viabilidade de produção dos filmes, bem como nas propriedades mecânicas e de interação com água.

Materiais e Métodos

Os filmes foram produzidos em placas de vidro retangulares de 27,0 cm x 16,5 cm. As placas e suas bordas (removíveis) foram revestidas com manta de politetrafluoretileno de modo a facilitar a remoção das amostras

A fim de garantir que a mesma massa de proteína fosse empregada nos filmes de gelatina comercial e de gelatina extraída de RCCC, determinou-se que as concentrações de ambas na solução filmogênica deveriam ser iguais em termos de proteína medida pelo método de Lowry. Análises preliminares indicaram um teor de proteína por Lowry igual a 85% da massa de gelatina comercial e uma concentração de 42 g/L de proteína por Lowry na gelatina diluída. Tem-se então que 1 g de gelatina comercial equivale a 20,23 g da solução de gelatina extraída de RCCC, em termos de massa de proteína.

A Tabela 39 indica a composição dos filmes testados. O volume de solução filmogênica foi mantido constante a 150 mL. A massa de amido em todas formulações representou 50% da massa de proteína; e a de glicerol, 26% da soma da massa seca de amido, gelatina e, quando empregados, lactose ou glutaraldeído. A massa seca total empregada na produção de cada amostra foi de aproximadamente 6,4 g.

A produção dos filmes iniciou pela mistura da gelatina e amido em água deionizada, já no volume final de solução filmogênica de 150 mL. A mistura foi agitada por 20 min em temperatura de 85-90°C. Foi adicionado então o glicerol. As soluções foram resfriadas a 35°C e, quando cabível, foi adicionada a lactose ou o glutaraldeído, passo seguido por nova agitação a 35°C por 30 min.

A solução filmogênica foi então vertida na placa e o filme foi seco a 40°C em ambiente saturado de umidade (obtido pela adição de duas placas de Petri de 20 cm de diâmetro, com

água, na base da estufa de secagem) por 24 h. Nestas condições, mudanças nas propriedades dos filmes derivam de sua composição, e não de possíveis variações na temperatura e umidade relativa durante a secagem.

Tabela 39 - Codificação e composição da solução filmogênica empregada para a produção de filmes poliméricos..

Código da amostra	Massa de amido (g)	Massa de gelatina comercial (g)	Massa de solução de gelatina extraída de RCCC (g)	Massa de Lactose (g)	Massa de glutaraldeído (g)	Massa de glicerol (g)
Com	1,68	3,36	-	-	-	1,30
Com/Lac	1,50	3,00	-	0,6	-	1,30
Com/Glu	1,68	3,36	-	-	0,14	1,30
RCCC	1,68	-	68,0	-	-	1,30
RCCC/Lac	1,50	-	60,7	0,6	-	1,30
RCCC/Glu	1,68	-	68,0	-	0,14	1,30

* As massas apresentadas equivalem às necessárias para a produção de 150 mL de solução filmogênica.

Após secos, os filmes foram armazenados em umidade relativa controlada (59% com solução saturada de brometo de sódio) por 5-6 dias para, então, serem caracterizados. Excetuam-se aqui os filmes produzidos com a adição de lactose. Estes, 24h após secos, foram reticulados em estufa a 105°C por 1 h para, então, serem armazenados em umidade relativa controlada até ensaio.

Os filmes foram caracterizados de acordo com sua espessura, solubilidade, resistência à tração, alongamento na ruptura e permeabilidade ao vapor de água, conforme metodologias apresentadas na seção 4.3.3 deste documento.

Resultados e discussão

A Figura 81 apresenta amostras destacadas dos filmes produzidos a partir de gelatina extraída de RCCC e amido de milho, com e sem a adição de agentes reticulantes (lactose e glutaraldeído). A coloração marrom do filme produzido com lactose deriva dos produtos resultantes da reação de Maillard e, no filme produzido com glutaraldeído, observa-se uma coloração amarelo clara.

Figura 81 - Filme de gelatina de RCCC e amido de milho (*esquerda*), com adição de lactose (*centro*), e com adição de glutaraldeído (*direita*).



Alguns filmes de lactose apresentaram bolhas aparecem durante a reticulação a 105°C. É possível que porções do filme tenham grudado na placa (mesmo ela estando protegida por Teflon) e, devido ao calor, o material expande, formando a bolha, conforme mostrado na Figura 82.

Figura 82 – Bolhas em filme produzidos com amido de milho, gelatina comercial, glicerol e lactose, após reticulação a 105°C.



Os resultados de caracterização dos filmes são apresentadas na Tabela 40. A maior espessura dos filmes produzidos com RCCC é resultante da maneira como o teor de proteína a ser empregado na solução filmogênica foi calculado. Levou-se em consideração a proteína medida por Lowry, que não leva em consideração a possível presença de aminoácidos e não contabiliza aminoácidos presentes nas pontas das cadeias por apenas identificar ligações polipeptídicas. Sendo assim, o método de Lowry pode gerar um resultado inferior ao real para proteínas de menor cadeia (mais degradadas) como seria o caso da gelatina de RCCC se comparada à comercial. Assim, superestimou-se o volume de gelatina de RCCC a ser empregado nos filmes, o que aumentou a espessura dos mesmos.

As propriedades mecânicas dos filmes produzidos com gelatina comercial e com gelatina de RCCC são semelhantes em termos de resistência à tração. Nota-se um aumento no alongamento na ruptura quando empregados agentes reticulantes na formulação. Apenas uma amostra apresentou um desvio nas propriedades mecânicas, a produzida com gelatina comercial e com adição de lactose. Esta amostra apresentou menor resistência à tração. Observa-se também que, para a mesma amostra, houve um aumento na solubilidade quando comparada à solubilidade da amostra sem adição de lactose produzida com gelatina comercial.

Tabela 40 - Propriedades dos filmes de gelatina de RCCC ou comercial, amido de milho e glicerol, com ou sem a adição de agentes reticulantes (lactose e glutaraldeído)

Código da amostra	Espessura (µm)	Solubilidade (%)	Permeabilidade do vapor de água	Resistência à Tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
Com	88 ± 16	35,5 ± 4,2	11,5 ± 1,0	7,6 ± 2,4	94 ± 34
Com/Lac	77 ± 6	45,3 ± 13,6	9,4 ± 4,3	4,3 ± 0,9	193 ± 70
Com/Glu	93 ± 14	30,5 ± 4,9	13,3 ± 5,1	8,0 ± 2,4	194 ± 42
RCCC	116 ± 16	72,1 ± 2,3	15,3 ± 2,1	6,6 ± 0,8	89 ± 50
RCCC/Lac	110 ± 16	32,7 ± 6,2	13,1 ± 2,2	6,2 ± 1,4	224 ± 65
RCCC/Glu	114 ± 11	39,6 ± 3,3	12,1 ± 0,7	7,1 ± 1,2	219 ± 62

Este comportamento não foi verificado quando da adição de lactose em filmes de amido e gelatina de RCCC. Nestes, a lactose atuou conforme esperado de um agente reticulante: reduzindo a solubilidade do material. Em laboratório, verificou-se que a coloração dos filmes de gelatina de RCCC reticulados com lactose era mais escura do que a coloração dos filmes de gelatina comercial reticulados com lactose. Visto que a cor marrom mais intensa dos filmes indica maior grau de reticulação, pode ter ocorrido uma diferença na cinética de reticulação das amostras produzidas com as duas diferentes gelatinas. A lactose livre, que não reagiu com a gelatina comercial, aumentou a solubilidade dos filmes e tornou os mesmos menos resistentes.

Os altos desvios padrões verificados para o ensaio de permeabilidade ao vapor de água não permitem conclusões. Entretanto, os resultados de solubilidade, em especial dos filmes de gelatina de RCCC, indicam que a reticulação, tanto com glutaraldeído, como com lactose, foi efetiva, reduzindo a solubilidade dos mesmos.

A partir dos resultados apresentados, e tendo por base as justificativas abaixo, escolheu-se o glutaraldeído como agente reticulante a ser empregado na produção dos filmes deste trabalho:

- a. Os dois agentes reticulantes foram efetivos no processo de reticulação;
- b. A formação de bolhas nos filmes produzidos com lactose durante a secagem podem acarretar na perda de considerável quantidade de amostras (e igual dificuldade em adaptar o processo em maior escala, perdendo-se produto final);
- c. Ainda que a lactose seja uma matéria-prima com maior apelo ambiental, por ser um resíduo, a produção de filmes com esta implica no uso de mais altas temperaturas, necessárias para sua reticulação;
- d. A coloração final dos filmes produzidos com lactose (marrom escuro) pode restringir sua aplicação.

APÊNDICE C –ANÁLISE ESTATÍSTICA DO PRÉ-TRATAMENTO DO RCCC POR EXPLOSÃO A VAPOR

Tabela 41 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (massa seca, cinzas e pH) do RCCC pré-tratado

Fator	Massa Seca	p-Valor	
		Cinzas	pH
Temperatura	0,002	0,030	0,001
Tempo	0,003	0,022	0,009

**APÊNDICE D – RESULTADOS TABELADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DA
EXTRAÇÃO DE GELATINA POR HIDRÓLISE ALCALINA DE RCCC PRÉ-
TRATADO POR EXPLOSÃO A VAPOR**

Tabela 42 – Caracterização da gelatina extraída por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor

Condição de Pré-Tratamento por Explosão a Vapor	pH	Massa seca (%)	Cinzas (% base seca)	Viscosidade (cP)	Razão Viscosidade/NTK
Branco(EV+HA)	9,83 ± 0,07	3,1 ± 0,7	22,8 ± 2,4	2,9 ± 0,03	0,69 ± 0,02
130/5(EV+HA)	9,88 ± 0,10 ^A	4,1 ± 0,5 ^A	18,8 ± 1,9 ^A	4,2 ± 0,04 ^A	0,71 ± 0,01 ^{BC}
130/15(EV+HA)	9,76 ± 0,20 ^A	4,6 ± 0,6 ^{AB}	17,0 ± 2,1 ^{AB}	6,0 ± 0,16 ^C	0,95 ± 0,04 ^C
150/5(EV+HA)	9,89 ± 0,11 ^A	6,2 ± 1,0 ^{BC}	12,4 ± 1,6 ^B	4,3 ± 0,01 ^A	0,48 ± 0,10 ^{AB}
150/15(EV+HA)	9,75 ± 0,06 ^A	7,2 ± 0,7 ^C	11,1 ± 1,0 ^B	3,9 ± 0,03 ^B	0,35 ± 0,01 ^A

* Ao avaliar os resultados de uma mesma coluna, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si (p-Valor < 0,05)

Tabela 43 - Teor de proteína extraída e de cromo solubilizado na gelatina extraída por hidrólise alcalina de RCCC pré-tratado por explosão a vapor

Condição de Pré-Tratamento por Explosão a Vapor	Proteína por Lowry (g/L)	Proteína por NTK (g/L)	Razão proteína Lowry/ NTK	Cromo Total (mg/L)	Cromo Hexavalente (mg/L)
Branco(EV+HA)	21,0 ± 1,8	4,2 ± 0,5	5,0 ± 0,7	7,7 ± 2,4	1,4 ± 0,2
130/5(EV+HA)	29,4 ± 0,4 ^A	5,9 ± 0,3 ^A	5,0 ± 0,2 ^A	21,3 ± 3,9 ^A	1,8 ± 0,2 ^{AB}
130/15(EV+HA)	32,1 ± 1,1 ^A	6,3 ± 0,8 ^{AB}	5,2 ± 0,6 ^{AB}	38,3 ± 6,6 ^A	2,1 ± 0,2 ^A
150/5(EV+HA)	41,1 ± 2,8 ^B	8,8 ± 0,8 ^B	4,7 ± 0,4 ^{AB}	33,7 ± 6,4 ^A	2,0 ± 0,2 ^A
150/15(EV+HA)	44,8 ± 0,9 ^C	11,1 ± 0,5 ^C	4,1 ± 0,2 ^B	43,4 ± 2,2 ^A	1,4 ± 0,2 ^B

* Ao avaliar os resultados de uma mesma coluna, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si (p-Valor < 0,05)

Tabela 44 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor < 0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (teor de proteína, cromo total e hexavalente, massa seca, teor de cinzas, viscosidade de pH) da gelatina extraída por hidrólise alcalina a partir do RCCC pré tratado.

Fator	p-Valor		Efeito	
	Temperatura	Tempo	Temperatura	Tempo
pH	0,095	0,803	-0,017	-0,142
Massa seca	0,002	0,034	2,125	0,925
Cinzas	0,006	0,076	-5,325	-2,375
Viscosidade	<0,001	<0,001	-1,007	0,652
Proteína por Lowry	<0,001	0,005	11,337	4,062
Proteína por NTK	<0,001	0,009	3,547	1,607
Razão Lowry/NTK	0,018	0,078	-0,573	-0,350
Razão viscosidade/NTK	<0,001	0,701	-0,380	0,016
Cromo total	0,112	0,122	16,257	15,642
Cromo hexavalente	0,021	0,171	-0,275	-0,125

APÊNDICE E –ANÁLISE ESTATÍSTICA DA CARACTERIZAÇÃO DO RCCC APÓS EXPLOSÃO A VAPOR EM MEIO ALCALINO

Tabela 45 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (massa seca, cinzas e pH) na explosão a vapor de RCCC em meio alcalino.

Fator	Massa Seca	p-Valor	
		Cinzas	pH
Temperatura	<0,001	0,838	0,03
Tempo	<0,001	0,748	0,12

**APÊNDICE F – RESULTADOS TABELADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DA
EXTRAÇÃO DE GELATINA POR EXPLOSÃO A VAPOR DE RCCC EM MEIO
ALCALINO SEGUIDA DE EXTRAÇÃO COM ÁGUA**

Tabela 46 – Caracterização da gelatina extraída por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino

Condição de Pré-Tratamento por Explosão a Vapor	pH	Massa seca (%)	Cinzas (% base seca)	Viscosidade (cP)	Razão Viscosidade/NTK
130/5(EVA)	11,1 ± 0,4 ^{AB}	2,3 ± 0,4 ^E	21,1 ± 3,5 ^C	1,57 ± 0,12 ^B	0,58 ± 0,04 ^C
130/10(EVA)	11,1 ± 0,4 ^{AB}	3,0 ± 0,7 ^{AE}	16,9 ± 3,2 ^{BC}	1,85 ± 0,10 ^{AB}	0,45 ± 0,10 ^{BC}
130/15(EVA)	11,2 ± 0,2 ^{AB}	3,3 ± 0,3 ^{ABCE}	14,7 ± 2,7 ^{ABC}	1,99 ± 0,09 ^A	0,43 ± 0,08 ^{ABC}
140/5(EVA)	11,3 ± 0,1 ^A	3,1 ± 0,7 ^{ABE}	16,7 ± 3,7 ^{ABC}	1,97 ± 0,10 ^{AB}	0,48 ± 0,06 ^{ABC}
140/10(EVA)	11,1 ± 0,1 ^{AB}	4,0 ± 0,3 ^{ABCD}	11,8 ± 0,8 ^{AB}	2,40 ± 0,10 ^{AB}	0,44 ± 0,03 ^{ABC}
140/15(EVA)	11,1 ± 0,1 ^{AB}	4,6 ± 0,4 ^{BCD}	10,1 ± 1,4 ^{AB}	2,32 ± 0,08 ^A	0,36 ± 0,04 ^{AB}
150/5(EVA)	11,2 ± 0,2 ^B	4,4 ± 0,2 ^{ABCD}	11,5 ± 1,1 ^{AB}	2,45 ± 0,09 ^A	0,39 ± 0,04 ^{AB}
150/10(EVA)	11,0 ± 0,0 ^{AB}	4,7 ± 0,4 ^{CD}	9,4 ± 1,8 ^{AB}	2,37 ± 0,08 ^A	0,34 ± 0,05 ^{AB}
150/15(EVA)	10,5 ± 0,4 ^{AB}	5,3 ± 0,2 ^D	8,4 ± 0,5 ^A	2,30 ± 0,08 ^A	0,30 ± 0,01 ^A

* Ao avaliar os resultados de uma mesma coluna, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si (p-Valor < 0,05)

Tabela 47 - Teor de proteína extraída e de cromo solubilizado na gelatina extraída por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino

Condição de Pré-Tratamento por Explosão a Vapor	Proteína por Lowry (g/L)	Proteína por NTK (g/L)	Razão proteína Lowry/ NTK	Cromo Total (mg/L)	Cromo Hexavalente (mg/L)
130/5(EVA)	13,3 ± 2,2 ^D	2,7 ± 0,6 ^D	4,8 ± 0,5 ^A	1,73 ± 0,59 ^{AC}	0,31 ± 0,03 ^A
130/10(EVA)	17,7 ± 3,7 ^{BD}	4,2 ± 1,4 ^{AD}	4,2 ± 1,0 ^A	2,62 ± 0,20 ^B	0,38 ± 0,07 ^A
130/15(EVA)	20,9 ± 1,2 ^{ABD}	4,8 ± 1,2 ^{ABD}	4,4 ± 1,1 ^A	2,21 ± 0,15 ^{AB}	0,52 ± 0,10 ^A
140/5(EVA)	19,7 ± 4,9 ^{ABD}	4,2 ± 1,1 ^{AD}	4,7 ± 0,2 ^A	2,09 ± 0,35 ^{ABC}	0,41 ± 0,13 ^A
140/10(EVA)	24,6 ± 1,5 ^{ABC}	5,5 ± 0,6 ^{ABC}	4,5 ± 0,3 ^A	2,37 ± 0,25 ^{AB}	0,50 ± 0,13 ^A
140/15(EVA)	27,8 ± 2,8 ^{AC}	6,5 ± 0,7 ^{ABC}	4,3 ± 0,1 ^A	2,32 ± 0,14 ^{AB}	0,48 ± 0,27 ^A
150/5(EVA)	26,9 ± 1,6 ^{ABC}	6,3 ± 0,5 ^{ABC}	4,3 ± 0,2 ^A	2,58 ± 0,38 ^{AB}	0,55 ± 0,18 ^A
150/10(EVA)	28,2 ± 3,3 ^{AC}	7,0 ± 0,9 ^{BC}	4,0 ± 0,1 ^A	1,26 ± 0,31 ^C	0,64 ± 0,20 ^A
150/15(EVA)	30,1 ± 1,9 ^C	7,8 ± 0,4 ^C	3,9 ± 0,1 ^A	0,40 ± 0,06 ^D	0,51 ± 0,10 ^A

* Ao avaliar os resultados de uma mesma coluna, letras diferentes indicam médias estatisticamente diferentes entre si (p-Valor < 0,05)

Tabela 48 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (teor de proteína, cromo total e hexavalente, massa seca, teor de cinzas, viscosidade de pH) da gelatina extraída por explosão a vapor de RCCC em meio alcalino.

Fator	p-Valor				Efeito			
	Linear		Quadrático		Linear		Quadrático	
	Temperatura	Tempo	Temperatura	Tempo	Temperatura	Tempo	Temperatura	Tempo
pH	0,074	0,078	0,158	0,916	-0,248	-0,244	0,167	0,012
Massa seca	<0,001	<0,001	0,806	0,623	1,967	1,111	0,050	0,100
Cinzas	<0,001	<0,001	0,254	0,359	-7,489	-5,155	-1,167	-0,933
Viscosidade	<0,001	<0,001	0,627	0,615	-14,439	-12,173	1,089	-1,128
Proteína por Lowry	<0,001	<0,001	0,356	0,656	10,955	6,241	1,172	0,560
Proteína por NTK	<0,001	<0,001	0,841	0,564	3,128	1,927	-0,068	0,199
Razão Lowry/NTK	0,026	0,138	0,462	0,672	-0,554	-0,356	0,150	-0,086
Razão viscosidade/NTK	<0,001	<0,001	0,627	0,615	-14,439	-12,1731	1,089	-1,128
Cromo total	0,015	0,126	0,100	0,364	-0,790	0,443	-0,474	0,239
Cromo hexavalente	0,019	0,215	0,798	0,493	0,162	0,082	-0,014	0,039

**APÊNDICE G –ANÁLISE ESTATÍSTICA DA CONCENTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO
DA GELATINA PELO USO DE ULTRAFILTRAÇÃO/DIAFILTRAÇÃO**

Tabela 49 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores temperatura e tempo de residência do RCCC no reator de explosão a vapor para as variáveis resposta (massa seca, cinzas e pH) na explosão a vapor de RCCC em meio alcalino.

Fator	p-Valor				
	Proteína por Lowry	Proteína por NTK	Massa seca	Cinzas	Cromo Total
pH	0,406	0,031	0,310	0,377	0,619
Número de diafiltrações	0,929	0,571	0,974	<0,001	0,999

Tabela 50 - Teste de Tukey para avaliação da significância estatística do pH da ultrafiltração e diafiltrações de no teor de NTK da gelatina concentrada.

pH	NTK (g/L)	1	2
<i>Média</i>			
10,5	10,82707	****	
7,5	12,56997		****

Tabela 51 - Teste de Tukey para avaliação da significância estatística do número de diafiltrações no teor de cinzas da gelatina concentrada.

Nº Diafiltrações	Cinzas (%)	1	2	3
<i>Média</i>				
3	0,084500	****		
2	0,104750	****		
1	0,181250		****	
0	0,380250			****

APÊNDICE H –ANÁLISE ESTATÍSTICA DA PRODUÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS

Tabela 52 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores tipo de polímero e presença/ausência do glutaraldeído para as variáveis resposta (espessura, resistência à tração, alongamento na ruptura, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, umidade na monocamada e inchamento) avaliadas nos filmes poliméricos produzidos com amido, gelatina comercial ou gelatina de RCCC (um dos três polímeros apenas), com e sem o uso de glutaraldeído como agente reticulante

Fator	p-Valor								
	Espessura	Tensão no Escoamento	Alongamento no escoamento	Tensão na Ruptura	Alongamento na Ruptura	Permeabilidade ao Vapor de Água	Solubilidade	Umidade na Monocamada	Inchamento
Polímero	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,003
Uso de Glutaraldeído	< 0,001	< 0,001	0,617	0,783	< 0,001	0,124	< 0,001	0,048	--
Interação	< 0,001	< 0,001	0,237	0,017	0,712	0,581	< 0,001	< 0,001	--

Tabela 53 - Análise de variância indicando a significância estatística (p-Valor <0,05) dos fatores tipo de gelatina e percentual de glutaraldeído para as variáveis resposta (espessura, resistência à tração, alongamento na ruptura, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, umidade na monocamada e inchamento) avaliadas nos filmes poliméricos produzidos com a blenda amido e gelatina comercial ou gelatina de RCCC, com diferentes concentrações de glutaraldeído (0,0; 1,5; 3,0%) como agente reticulante

Fator	p-Valor								
	Espessura	Tensão no Escoamento	Alongamento no escoamento	Tensão na Ruptura	Alongamento na Ruptura	Permeabilidade ao Vapor de Água	Solubilidade	Umidade na Monocamada	Inchamento
Tipo de Gelatina	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
% Glutaraldeído	0,961	< 0,001	0,015	0,018	< 0,001	0,835	< 0,001	0,734	< 0,001
Interação	0,707	< 0,001	0,003	0,039	0,544	0,731	0,583	0,298	0,770