



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

ELEDA MARIA PAIXÃO XAVIER NEVES

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A PARTIR DE MISTURA
DE POLÍMEROS DE RESÍDUOS DE PEIXES AMAZÔNICOS: PROPRIEDADES
TECNOLÓGICAS E APLICAÇÕES**

Belém-PA

2020

ELEDA MARIA PAIXÃO XAVIER NEVES

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A PARTIR DE MISTURA
DE POLÍMEROS DE RESÍDUOS DE PEIXES AMAZÔNICOS: PROPRIEDADES
TECNOLÓGICAS E APLICAÇÕES**

Tese apresentada ao curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Profa. Dra. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço

Belém-PA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Biblioteca: da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

X3d Xavier Neves, Eleda Maria Paixão
DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS A
PARTIR DE MISTURA DE POLÍMEROS DE RESÍDUOS DE
PEIXES AMAZONICOS: : PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS
E APLICAÇÕES / Eleda Maria Paixão Xavier Neves. — 2020.
101 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dra. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço
Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade
Federal do Pará, Belém, 2020.

1. gelatina de peixe, proteínas miofibrilares, bioplásticos,
mistura polimérica, características tecnológicas, estabilidade
ao armazenamento. I. Título.

CDD 664



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
Av. Augusto Corrêa, 01 – Bairro: Guamá – CEP. 66.075-900 – Belém (PA)
Fone/Fax: (91) 3201-8861 E-mail: ppgcta@ufpa.br

TERMO DE JULGAMENTO DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

Aos vinte e seis dias do mês de março de 2020, às 10:00 hs, via videoconferência, a presente comissão julgadora integrada pelos Senhores Professores Doutores **Lúcia de Fátima Henriques Lourenço** (Orientadora), **Raul Nunes da Carvalho Junior** (Membro Interno), **Maria Regina Sarkis Peixoto Joale** (Membro Interno), **Elen Vanessa Costa da Silva** (Membro Externo), **Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro** (Membro Externo), iniciou-se a **Defesa de Tese de Doutorado** da discente **ELEDA MARIA PAIXÃO XAVIER NEVES**.

Título da Tese: "Desenvolvimento de Filmes Biodegradáveis a partir de Mistura de Polímeros de Resíduos de Peixes Amazônicos: Propriedades Tecnológicas e Aplicações"

Concluída a arguição, procedeu-se ao julgamento na forma regulamentar, tendo a Comissão Julgadora considerado a candidata:

| | |
|---|------------|
| Lúcia de Fátima Henriques Lourenço | (APROVADO) |
| Raul Nunes da Carvalho Junior | (APROVADO) |
| Maria Regina Sarkis Peixoto Joale | (APROVADA) |
| Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro | (APROVADA) |
| Elen Vanessa Costa da Silva | (APROVADA) |

Para constar, é lavrado o presente termo, que vai assinado pela Comissão Julgadora e pelo Coordenador do Programa.

A Comissão Julgadora:

Coordenador do Programa:

Belém 26 de 03 de 2020.

Obs: Imediatamente após o encerramento da arguição da tese cada examinador expressará seu julgamento em sessão secreta, considerando o(a) candidato(a) APROVADO ou REPROVADO.

Aos meus filhos Davi e João; meu esposo Wilson Neves, parceiro maravilhoso. Meus pais Onedino e Maria Clarisse (in memoriam), meus irmãos, familiares e amigos por todo amor, apoio e orações. Vocês são benção!

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, minha força suprema, que me deu a oportunidade de alcançar tão esperado objetivo. Nas dificuldades cuidou tão carinhosamente de mim e da minha família.

Aos meus pais Maria Clarisse (in memoriam) e Onedino Xavier que me deram a melhor formação de um ser humano, caráter. Obrigada pelo amor.

Aos meus amores Davi e João que suportaram a ausência da mamãe. Vocês me encorajam a superar todas as dificuldades e acreditar que tudo ficará bem.

Ao meu amado esposo, Wilson Neves, pela dedicação, paciência e companheirismo. Seu amor acalmou meu coração nos momentos de dificuldades. Te amo!

A Neide, segunda mãe dos meus filhos, anjo visível na minha casa, bênção de um Deus cuidador. Muito Obrigada!

Aos irmãos/irmãs pelo apoio, amor e carinho dedicados a mim durante os anos de estudos. Muito obrigada.

A minha sogra, Antônia Neves, pelo incentivo e cuidados oferecidos a mim e a meus filhos. Obrigada pelo cuidado!

A minha irmã de outra mãe, Barbara, que foi amiga, mãe, confidente, “financiadora” de sonhos e muro de lamentações (risos). Obrigada miga!!!

Aos amigos e irmãos em Cristo da IASD-Guanabara que sempre estiveram em oração por mim e minha família. Vocês são laços que suavemente me prendem à Jesus.

A minha orientadora Prof^a. Dra Lúcia Lourenço pela amizade, confiança e auxílio na execução deste trabalho. A sra é resposta de oração em minha vida!

Aos amigos do LAPOA pela amizade e parceria. Obrigada Lorena, Jaíra, Milena, Gleice, Glauce, Carol, Natácia, Cleide, Vanderson, Rafaela, Mauricio, Luã, Ellen, Wagner, Gleyca, Ludi, Arlen, Vitinho, Vanessa, Gilciane, Gisélia, Raíra. O apoio de vocês foi fundamental.

Aos professores do PPGCTA e colaboradores que contribuíram de forma fundamental para minha formação. Em especial a Prof^a Dra Luiza Meller e Prof^a Dra Regina Joele pelo apoio em momentos difíceis.

A CAPES, CNPQ e FAPESPA que disponibilizaram recursos para a execução deste trabalho, bem como a concessão da bolsa. Muito obrigada!

RESUMO

O Pará tem se destacado no cenário nacional na produção de pescado com projeções otimistas de crescimento. Dentre os peixes mais comercializados estão a pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) e a pescada gó (*Macrodon ancylodon*) que são beneficiadas nas indústrias no estado, gerando considerável volume de resíduos, os quais apresentam grande potencial para bioconversão em polímeros de alto valor agregado utilizados na formação de bioplásticos. Esta pesquisa teve como objetivo desenvolver filmes biodegradáveis, um misturando gelatina e proteínas miofibrilares extraídos de resíduos de pescada gó, e outro misturando os biopolímeros obtidos de resíduos de pescada amarela. As características dos filmes de mistura foram comparadas com as de filmes dos polímeros individuais com o intuito de observar o efeito da mistura polimérica nas propriedades tecnológicas das películas formadas. Tanto os filmes individuais como as blendas poliméricas foram elaborados nas concentrações de 1% e 3% com 20% de plastificante (glicerol). Os filmes de mistura além de apresentarem as melhores propriedades de barreira à água, também foram transparentes e termicamente resistentes. A caracterização através de FTIR e MEV mostraram boa compatibilidade e interação química entre os biopolímeros, favorecendo a formação de filmes com propriedades mecânicas desejadas (fortes e flexíveis). As blendas poliméricas tiveram as propriedades tecnológicas superiores às produzidas com os polímeros separados. O filme com 3% de biopolímeros de pescada amarela foi o que apresentou em geral as melhores características. Esta película foi estudada quanto à estabilidade de suas propriedades em diferentes condições de armazenamento. Os resultados mostraram que houve alterações significativas das propriedades em função do tempo. Os filmes tornaram-se opacos, escuros e com coloração amarela, diminuição da solubilidade e do PVA, além de perda das propriedades mecânicas, apresentando-se mais rijos e menos flexíveis. No entanto, tais desvantagens podem ser corrigidas com a incorporação de substâncias de reforço (óleos, nanopartículas) ou tecnologias de modificação da estrutura química superficial como aplicação de plasma frio e radiação UV, tornando possível o uso dos filmes como embalagem.

Palavras-chaves: gelatina de peixe, proteínas miofibrilares, bioplásticos, mistura polimérica, características tecnológicas, estabilidade ao armazenamento.

ABSTRACT

Pará has stood out on the national scene in fish production with optimistic growth projections. Among the most commercialized fish are acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*) and king weakfish (*Macrodon ancylodon*) that are benefited in the industries in the state, generating considerable volume of residues, which have great potential for bioconversion in high added value polymers used in formation of bioplastics. This research aimed to develop biodegradable films, one mixing gelatin and myofibrillar proteins extracted from king weakfish residues, and the other mixing biopolymers obtained from acoupa weakfish residues. The characteristics of the mixing films were compared with those of the individual polymer films in order to observe the effect of the polymeric mixture on the technological properties of the formed films. Both the individual films and the polymeric blends were made in concentrations of 1% and 3% with 20% plasticizer (glycerol). The mixing films, besides owning the best water barrier properties, were also transparent and thermally resistant. The characterization through FTIR and SEM showed good compatibility and chemical interaction between biopolymers, favoring the formation of films with desired mechanical properties (strong and flexible). The polymer blends had technological properties superior to those produced with separate polymers. The film with 3% of acoupa weakfish biopolymers was the one that presented the best characteristics in general. This film was studied for the stability of its properties under different storage conditions. The results showed that there were significant changes in properties with the passing of time. The films have become opaque, dark and yellow in color, with reduced solubility and WVP, in addition to loss of mechanical properties, being stiff and less flexible. However, such disadvantages can be corrected with the incorporation of reinforcing substances (oils, nanoparticles) or technologies for modifying the surface chemical structure such as application of cold plasma and ultraviolet radiation, making it possible to use films as packaging.

Keywords: fish gelatin, myofibrillar proteins, bioplastics, polymeric mixture, technological characteristics, storage stability.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.1: Exemplar de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>)..... | 17 |
| Figura 1.1: Exemplar de pescada gó (<i>Macrodon ancylodon</i>)..... | 18 |
| Figura 1.3: Estrutura tridimensional do colágeno..... | 19 |
| Figura 2.1: Curvas de TG/DTG de filmes de gelatina (GP), proteína miofibrilar (PMP) e de blendas (BL) em diferentes concentrações..... | 44 |
| Figura 2.2: Espectro de FTIR de filmes de gelatina (GP), proteína miofibrilar (PMP) e de mistura (BL) em diferentes concentrações..... | 45 |
| Figura 2.3: Micrografias de superfície e secção transversal de filmes de gelatina (GP), proteína miofibrilar (PMP) e blendas (BL) em diferentes concentrações..... | 46 |
| Figura 3.1: Curvas de TG/DTG de filmes de gelatina (FG), proteína miofibrilar (FMP) e de mistura (BL) em diferentes concentrações..... | 70 |
| Figura 3.2: Difratoograma de filmes de gelatina (GP), proteínas miofibrilares (PMP) e blendas (BL) em diferentes concentrações..... | 71 |
| Figura 3.3: Espectro de FTIR de filmes de gelatina (FG), proteína miofibrilar (FMP) e de mistura (BL) em diferentes concentrações..... | 72 |
| Figura 3.4: Eletromicrografias de superfície e secção transversal de filmes de gelatina (GP), proteína miofibrilar (PMP) e de mistura (BL) em diferentes concentrações..... | 74 |
| Figura 4.1: Propriedades de barreira à umidade de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento..... | 86 |
| Figura 4.2: Parâmetros de cor L*, a* e b* de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento..... | 88 |
| Figura 4.3: Valores de transparência (A), ΔE^* (B) e IE (C) de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento..... | 89 |
| Figura 4.4: Espessura (A) e propriedades mecânicas RT (B), %E (C) de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento..... | 91 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 2.1. Propriedades dos filmes puros e de mistura elaborado com gelatina e proteínas miofibrilares de pescada gó..... | 41 |
| Tabela 2.2. Parâmetros de cor e transparência dos filmes de gelatina, proteínas miofibrilares e de blendas em diferentes concentrações..... | 43 |
| Tabela 2.3. Propriedades térmicas dos filmes puros e de mistura elaborados com gelatina e proteínas miofibrilares de pescada gó..... | 44 |
| Tabela 3.1. Perfil de aminoácidos totais dos biopolímeros de pescada amarela..... | 63 |
| Tabela 3.2. Propriedades dos filmes puros e de blenda polimérica..... | 64 |
| Tabela 3.3. Os valores de transmissão de luz e transparência dos filmes de gelatina, proteínas miofibrilares e blendas em diferentes concentrações..... | 67 |
| Tabela 3.4. Parâmetros de cor dos filmes de gelatina, proteína miofibrilar e de blendas em diferentes concentrações..... | 69 |
| Tabela 3.5. Temperatura de degradação térmica (onset °C) e perda de massa (% massa) de filmes de gelatina, proteínas miofibrilares e blendas em diferentes concentrações..... | 71 |
| Tabela 4.1. Valores de média e desvio padrão das propriedades de barreira à umidade de blenda polimérica em diferentes condições de armazenamento..... | 97 |
| Tabela 4.2. Valores transparência e cor de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento..... | 98 |
| Tabela 4.3. Valores de espessura e propriedades mecânicas de blenda polimérica em diferentes condições de armazenamento..... | 99 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 13 |
| OBJETIVOS..... | 15 |
| OBJETIVO GERAL..... | 15 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 15 |
| CAPÍTULO I: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 16 |
| 1. PRODUÇÃO DE RECURSOS PESQUEIROS E A GERAÇÃO DE RESÍDUOS..... | 16 |
| 1.1. ESPÉCIES DE PEIXES AMAZÔNICOS..... | 17 |
| 1.2. COMPOSIÇÃO PROTEICA DOS PEIXES..... | 18 |
| 1.2.1. Proteínas sarcoplasmáticas..... | 18 |
| 1.2.2. Proteínas miofibrilares..... | 19 |
| 1.2.2. Proteínas estromáticas..... | 19 |
| 1.3. FILMES BIODEGRADÁVEIS..... | 20 |
| 1.3.1. Propriedades funcionais dos filmes biodegradáveis..... | 21 |
| 1.3.1.1. Propriedade de barreira e permeabilidade ao vapor de água..... | 21 |
| 1.3.1.2. Solubilidade..... | 22 |
| 1.3.1.3. Propriedades mecânicas..... | 23 |
| 1.3.2. Filmes biodegradáveis de material proteico de peixes..... | 23 |
| 1.3.4. Blendas poliméricas..... | 24 |
| REFERÊNCIAS..... | 27 |
| CAPÍTULO II: EFEITO DA MISTURA DE POLÍMEROS NO DESENVOLVIMENTO DE BIOPLÁSTICO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PEIXE..... | 34 |
| RESUMO..... | 34 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 35 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 37 |
| 2.1. MATÉRIA PRIMA..... | 37 |
| 2.2. OBTENÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS..... | 37 |
| 2.2.1. Obtenção das proteínas miofibrilares..... | 37 |
| 2.2.2. Extração da gelatina..... | 37 |
| 2.2. ELABORAÇÃO DOS FILMES..... | 38 |
| 2.2.1. Determinação das propriedades dos filmes..... | 38 |
| 2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 3. RESULTADOS..... | 41 |
| 3.1. PROPRIEDADES DOS FILMES..... | 41 |
| 4. DISCUSSÃO..... | 47 |
| 5. CONCLUSÃO..... | 51 |
| REFERÊNCIAS..... | 51 |
| CAPÍTULO III: MISTURA DE BIOPOLÍMEROS PARA O DESENVOLVIMENTO DE | |
| BIOPLÁSTICOS COM PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS | |
| APRIMORADAS..... | |
| RESUMO..... | 56 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 57 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 58 |
| 2.1. MATÉRIA-PRIMA..... | 58 |
| 2.2. OBTENÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS..... | 58 |
| 2.2.1. Obtenção das proteínas miofibrilares..... | 58 |
| 2.2.2. Obtenção da gelatina..... | 59 |
| 2.2.3. Perfil de aminoácidos dos biopolímeros de pescada amarela..... | 59 |
| 2.3. ELABORAÇÃO DOS FILMES..... | 59 |
| 2.3.1. Determinação das propriedades dos filmes..... | 60 |
| 2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 62 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 63 |
| 3.1. PROPRIEDADES DOS BIOPOLÍMEROS E DOS FILMES..... | 63 |
| 3.1.1. Perfil de aminoácidos dos biopolímeros de pescada amarela..... | 63 |
| 3.1.2. Propriedades dos filmes biodegradáveis..... | 64 |
| 4. CONCLUSÃO..... | 75 |
| REFERÊNCIAS..... | 75 |
| CAPÍTULO IV: ESTUDO DA ESTABILIDADE AO ARMAZENAMENTO DE FILMES | |
| A PARTIR DE BIOPOLÍMEROS DE RESÍDUOS DE | |
| PEIXE..... | |
| RESUMO..... | 79 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 80 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 81 |
| 2.1. OBTENÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS E PREPARAÇÃO DO FILME..... | 81 |
| 2.1.1. Preparação do filme biodegradável..... | 82 |
| 2.2. ESTUDO DA ESTABILIDADE DO FILME AO ARMAZENAMENTO..... | 83 |
| 2.2.1. Propriedades do filme..... | 83 |

| | |
|--|------------|
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 85 |
| 3.1. ESTUDO DA ESTABILIDADE DO FILME | 85 |
| 3.1.1. Propriedades do filme..... | 85 |
| 4 CONCLUSÃO..... | 92 |
| REFERÊNCIAS..... | 92 |
| MATERIAL SUPLEMENTAR..... | 97 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 100 |

INTRODUÇÃO GERAL

Filmes biodegradáveis são películas obtidas a partir de materiais biológicos. Esses filmes podem agir como agentes de proteção contra danos físicos e biológicos, assim como impedir a volatilização de compostos e a perda de umidade de um produto, aumentando sua vida útil. Entre os biopolímeros naturais mais utilizados para obtenção dos filmes, estão as proteínas, as quais apresentam grande vantagem por serem provenientes de fontes renováveis e capazes de formar uma matriz contínua e coesa (RHIM; NG, 2007).

A capacidade de formação de filmes e as propriedades funcionais da gelatina e proteínas miofibrilares de peixe estão sendo amplamente explorada em estudos, visando o desenvolvimento de filmes biodegradáveis e/ou embalagens de alimentos (CUQ, 1996; ALFARO et al., 2013; ARFAT et al., 2014; ARAÚJO et al., 2018; PEREIRA et al., 2019).

Diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de melhorar as propriedades dos filmes a base de proteínas através de tratamentos químicos, enzimáticos e térmicos (HERNANDEZ-MUNOZ et al., 2004; JIANG et al.; 2007; LEI et al.; 2007). Outra alternativa estudada é a mistura de proteínas à outros biopolímeros. Essa mistura pode melhorar propriedades dos filmes como a alongação, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e resistência à tração, pois se espera produzir materiais que combinam os melhores atributos de cada componente utilizado (WU et al.; 2002, DENAVI et al.,2009; HOQUE et al., 2011).

No entanto, aplicações práticas de filmes à base de mistura de gelatina e PMP são relatadas com pouca frequência. As propriedades de geleificação, retenção de água, emulsificação, plasticidade, elasticidade e boa barreira ao oxigênio tornam esses biopolímeros promissores à aplicação de filmes biodegradáveis; além de serem matérias-primas abundantes, produzidas praticamente em todo o mundo e de baixo custo. Essa técnica para produzir filmes de misturas de biopolímeros agregando ao um novo produto os melhores atributos de cada polímero puro, pode favorecer a formação de filmes com características superiores e sem a necessidade de melhoramento de suas propriedades através de pré-tratamentos (Arfat et al., 2014).

A literatura mais recente tem mostrado que a mistura de biopolímeros de alto peso molecular, principalmente proteínas e polissacarídeos, as propriedades de barreira mecânica, permeabilidade ao vapor de água e alongação na ruptura foram melhoradas. Isso porque ocorrem interações e rearranjos entre os mesmos (ARFAT et al., 2014). A mistura realizada em

proporção e miscibilidade adequadas produz novos materiais com propriedades superiores a materiais similares a partir dos respectivos polímeros puros (HOQUE et al., 2011).

Apesar de respostas promissoras quanto à mistura de proteínas miofibrilares e gelatina de peixe, observa-se a utilização de proporções aleatórias no processo de obtenção dos filmes. Sendo necessários estudos mais direcionados para melhorar o desempenho dos filmes. Com o conhecimento prévio de variáveis e faixas de formação de filmes é possível obter filmes a partir mistura de gelatina e proteínas miofibrilares de peixe. A proposta desta pesquisa foi estudar o processo de obtenção de filmes biodegradáveis, um com mistura de proteínas miofibrilares e gelatina de pescada gó (*Macrodon ancylodon*), e outro misturando proteínas miofibrilares e gelatina de pele de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) para melhora das propriedades físicas e mecânicas e de barreira dos filmes produzidos e sua estabilidade.

Para tanto, o **primeiro Capítulo** deste estudo trata de uma Revisão de Literatura, que apresenta a importância do tema científico e busca subsidiar esta tese. O **segundo Capítulo** “Efeito da mistura de polímeros no desenvolvimento de bioplástico a partir de resíduos de peixe” apresenta as propriedades de barreira, cor, parâmetros ópticos e propriedades mecânicas de filmes com mistura de proteínas miofibrilares e gelatina de pescada gó.

O **terceiro Capítulo** aborda a “Mistura de biopolímeros para o desenvolvimento de bioplásticos com propriedades tecnológicas aprimoradas”. Este capítulo apresenta tecnologia de mistura como ferramenta para melhorar propriedades de filmes biodegradáveis misturando proteínas miofibrilares e gelatina extraídos de resíduos de pescada amarela.

Com intuito de avaliar a estabilidade das propriedades dos filmes de mistura obtidos de biopolímeros de pescada amarela, o quarto Capítulo expõe o “Estudo da estabilidade ao armazenamento de filme elaborado com biopolímeros obtidos de resíduos de peixe”, o qual busca oferecer informações importantes sobre o comportamento dos filmes biodegradáveis em função do tempo e tipo de armazenamento.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Desenvolver e estudar as propriedades de filmes biodegradáveis a partir de mistura proteínas miofibrilares e gelatina provenientes de resíduos de peixes amazônicos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar físico-quimicamente resíduos (pele e aparas de filetagem) de pescada gó e de pescada amarela;
- Extrair e caracterizar físico-quimicamente as proteínas miofibrilares e a gelatina das duas espécies;
- Determinar a composição de obtenção de filmes biodegradáveis a partir da mistura de proteínas miofibrilares e gelatina de resíduos de pescada gó, bem como de pescada amarela;
- Desenvolver e caracterizar os filmes obtidos da mistura de biopolímeros de resíduos de pescada gó;
- Desenvolver e caracterizar os filmes obtidos da mistura de gelatina e proteínas miofibrilares de resíduos de pescada amarela;
- Estudar a estabilidade ao armazenamento de filme de mistura polimérica de pescada amarela

CAPÍTULO I: REVISÃO DE LITERATURA

1. PRODUÇÃO DE RECURSOS PESQUEIROS E A GERAÇÃO DE RESÍDUOS

O Brasil é um dos países com maior potencial no setor produtivo de pescado, tanto em virtude de suas características geográficas favoráveis quanto por considerar o setor bastante promissor economicamente para o país; até 2016 foram produzidas cerca de 1,2 milhões de toneladas de pescado, com estimativa de crescimento em torno de 46,6% até 2030, sendo o maior produtor de pescado da América Latina (FAO, 2018). Segundo o último Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura do Ministério da Pesca, publicado em 2014, o estado do Pará configura no cenário nacional como a segunda maior produção pesqueira, ficando atrás somente do estado de Santa Catarina (MPA, 2014).

Com a crescente produção de pescado a quantidade de resíduos produzidos também aumenta consideravelmente. A produção de resíduos varia entre 20% a 80% do volume do peixe dependendo da espécie e do tipo de processamento empregado; a composição dos resíduos sólidos da indústria pesqueira é principalmente de cabeça, ossos, pele e vísceras (IVANOV et al. 2018). Dá o devido tratamento e descarte a esse material é um grande desafio para a indústria. O desenvolvimento de tecnologias que transformem os resíduos gerados em diversos subprodutos destinados a alimentação humana e/ou animal ou fertilizantes agrega valor econômico considerável a produção pesqueira. No entanto, materiais biológicos de grande interesse podem ser obtidos como proteínas hidrolisadas, aminoácidos, peptídeos bioativos, pigmentos naturais, polissacarídeo (chitosana), colágeno, dentre outros (ARVANITOYANNIS; KASSAVETI, 2008; GHALY et al., 2013).

As proteínas de pescados têm sido amplamente estudadas na preparação de embalagens biodegradáveis e comestíveis devido à sua abundância, capacidade de formar filmes, e às propriedades funcionais dos mesmos. A grande capacidade que as proteínas têm em realizar ligações intermoleculares, especialmente através de ligações covalentes, não é encontrado em outro material como polissacarídeos (CUQ et al., 1996). Por isso, estudos envolvendo colágeno obtido de pele de peixes têm sido mais comumente citados na literatura (DESOBRY; DEBEAUFORT, 2011; SILVA et al., 2018; JRIDI et al., 2020). As proteínas miofibrilares obtidas do processamento de peixe também são objeto de diversas pesquisas, as quais produzem filmes resistentes e extensíveis, claros, transparentes com boas propriedades de barreira a oxigênio (CUQ, 1996; NEVES et al., 2004; ZAVAREZE et al., 2012; ARFAT et al., 2014).

O aproveitamento de material residual da indústria pesqueira, além de diminuir problemas ambientais, pois são materiais orgânicos poluentes e de difícil descarte, também

trazem vantagens econômicas para a indústria, pois agrega valor a estes subprodutos, dando-lhes valor comercial (AGUIAR et al., 2014).

1.1. ESPÉCIES DE PEIXES AMAZÔNICOS

O litoral amazônico, incluindo a costa do estado do Pará, possui condições ambientais favoráveis a exploração de recursos pesqueiros. Nessa região, a matéria orgânica, oriunda da decomposição das florestas de mangue e das planícies inundadas, é responsável pela formação de condições propícias de produtividade (ISAAC et al., 2009). Devido as suas características peculiares a bacia amazônica possui a mais diversificada fauna de peixes (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

Dentre as espécies mais conhecidas destaca-se a pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) é uma espécie demersal, que ocorre em águas tropicais e subtropicais da costa atlântica da América do Sul, apresentando tolerância para as águas salobras. Apresenta corpo alongado, cor levemente cinza com predominância amarela, o que a denomina pescada “amarela” (SZPILMAN, 2000).

Figura 1.1: Exemplar de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*)



Fonte: Matos; Lucena, 2006

A pescada amarela tem grande valor comercial, tanto pela qualidade de seu músculo, como também pela bexiga natatória, denominada “grude”, utilizada para a elaboração de emulsificantes e clarificantes (WOLFF et al., 2000). Sua produção pesqueira nos portos paraenses alcançou 14.140 toneladas no ano de 2010, o que correspondeu a 19% dos desembarques de origem estuarina e marinha do Estado no período. Os principais portos de desembarque são as cidades de Belém, Bragança e Vigia que juntas representam aproximadamente 66% do desembarque de peixe do estado (IBAMA, 2010).

A pescada gó (*Macrodon ancylodon*) também conhecida como corvina boca-mole, pescada-foguete e pescadinha gó, é um demersal com grande distribuição geográfica, ocorrendo em zonas estuarinas e marinhas de regiões tropicais e subtropicais. Apresenta o corpo longo, com coloração acinzentada e amarelada, moderadamente compresso, podendo atingir até 45 cm de comprimento e pesa menos de 1 kg (IKEDA, 2003; SANTOS et al., 2003).

Figura 1.2: Exemplar de pescada gó (*Macrodon ancylodon*)



Como a desova da pescada gó ocorre mais de uma vez ao ano sua oferta no mercado é grande, assim como a procura. O consumo deste pescado é favorecido pelo baixo valor comercial e pelo sabor intenso (SZPILMAN, 2000). O último levantamento do IBAMA constatou que o volume de desembarque de pescada gó em indústrias pesqueiras no estado do Pará foi de aproximadamente 2.913 ton/ano IBAMA (2010).

O grande volume de pescada amarela e pescada gó beneficiadas nas indústrias no estado do Pará gera quantidade significativa de resíduos (pele e aparas da filetagem). Necessitando de tratamento para posterior descarte ou podendo ser destinadas ao aproveitamento.

1.2. COMPOSIÇÃO PROTEICA DE PEIXES

É sabido que os peixes são considerados fonte primordial de proteínas de origem animal. As proteínas do músculo do peixe é comumente dividida em três grupos principais: as proteínas sarcoplasmáticas, as proteínas miofibrilares e do estroma.

1.2.1. Proteínas sarcoplasmáticas

As proteínas sarcoplasmáticas constituem cerca de 35% das proteínas totais do músculo, formadas por aproximadamente 100 proteínas diferentes. São solúveis em água e apresentam pesos moleculares baixos. Constituídas, principalmente pelo grupo das albuminas e lipoproteínas, podem ser extraídas através da água de lavagem da polpa de pescado na obtenção surimi (TAHERGORABI e JACZYNSKI, 2014).

1.2.2. Proteínas miofibrilares

As proteínas miofibrilares ocupam volume significativo no músculo do peixe (40 a 60 %), principalmente actina, miosina, tropomiosina e troponina, sendo insolúveis em água, mas apresentam boa solubilidade em soluções salinas de alta força iônica (OGAWA, 1999).

Actina e miosina são as mais conhecidas proteínas miofibrilares, correspondem à 25% e 55% desse grupo, respectivamente. Denominadas de contrateis, são fundamentais durante processo de “rigor mortis”, pois se complexam, formando a actomiosina, responsáveis pela capacidade do pescado em reter água, pelas propriedades sensoriais e pela capacidade de formação de gel. (OETTERER, 1999).

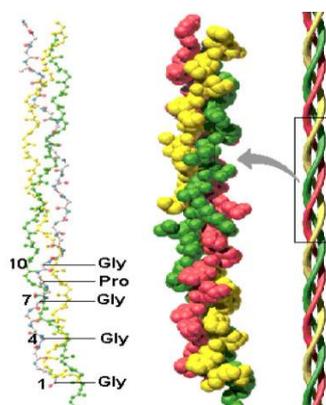
A tropomiosina e a troponina tidas como reguladoras. A tropomiosina é responsável pela sensibilidade do sistema actomiosina ao cálcio que deflagra a contração, e a troponina é a proteína receptora deste íon (OGAWA, 1999).

1.2.3. Proteínas estromáticas

As proteínas do estroma, também conhecidas como proteínas do tecido conjuntivo, correspondem de 10% a 15% de proteínas dos músculos esqueléticos. Colágeno e elastina representam a cerca de 2% de proteínas estromáticas no músculo. Entretanto, esse valor é muito elevado na pele dos peixes (OETTERER, 1996).

O colágeno é uma proteína de origem animal, constituída de cadeias peptídicas de diversos aminoácidos (glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina e alanina). Essas cadeias são organizadas de forma paralela a um eixo, formando as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura presente (Figura 3). Sua principal função é contribuir com a integridade estrutural da matriz extracelular ou ajudar a fixar células na matriz (LINDEN; LORIENT, 2000; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2004).

Figura 1.3: Estrutura tridimensional do colágeno



Fonte: Vulcani, 2004.

A estrutura tripla-hélice do colágeno é estabilizada pela formação de pontes de hidrogênio intercadeias entre os grupos C=O e N-H. Quando dissociado térmica ou quimicamente, a estrutura tripla-hélice é quebrada para formar estruturas aleatórias em forma de espiral, tendo uma cadeia protéica simples. O colágeno até então insolúvel é convertido em gelatina solúvel através de hidrólise que pode ser ácida ou básica. Sendo o colágeno produzido pelo processo ácido classifica-se a gelatina resultante em tipo A e, pelo processo básico, gelatina tipo B (MONTERO; GOMEZ-GUILLEN, 2000; GOMEZ-GUILLEN et al, 2011).

Apesar da maioria das gelatinas comerciais serem derivadas de mamíferos, principalmente de origem suína e bovina, por muitas razões socioculturais cresce a exigência de fontes alternativas. A gelatina de pele de peixe vem sendo estudada como opção a substituição da gelatina tradicional (GILSENAN; ROSS-MURPHY, 2000).

1.3. FILMES BIODEGRADÁVEIS

São denominados filmes biodegradáveis finas películas, preparadas a partir de materiais biológicos, que podem ser classificadas em coberturas ou revestimentos quando são depositadas diretamente na superfície do alimento; e em filmes, quando são obtidas e posteriormente aplicadas da forma desejada. São denominados biodegradáveis por serem parcial ou totalmente degradados por microrganismo do ambiente; e são quase na sua totalidade elaborados com polímeros naturais ou biopolímeros (MONTERREY-QUINTERO et al., 2000; ANDREUCCETTI, 2010).

Os biopolímeros são macromoléculas constituídas por muitas unidades de repetição ligadas por ligação covalente, produzidos por organismo vivo, como: proteína, ácido nucléico e polissacarídeo. Atualmente os biopolímeros têm despertado grande interesse para processos biotecnológicos. Sua aplicação mais recente é a obtenção de plásticos também chamados de bioplásticos ou filmes biodegradáveis. Os filmes biodegradáveis têm por base biopolímeros e vários outros produtos químicos como estabilizantes, plastificantes, antimicrobianos e antioxidantes, cuja as proporções e funcionalidades mudam de um biopolímero para outro, de acordo com sua aplicação futura (SIRACUSA et al., 2008).

De acordo com Srinivasa e Tharanathan (2007) os biopolímeros que formam filmes biodegradáveis podem ser divididos em três categorias, de acordo com a sua origem:

-Polímeros diretamente extraídos da biomassa: **polissacarídeos** (amido, celulose, pectinas ou quitina/quitosana); **proteínas** (caseína, proteínas miofibrilares, glúten, colágeno); **lipídios** (ácidos graxos, resinas e ceras).

-Polímeros produzidos por síntese química usando monômeros, como ácido polilático, um biopolíester polimerizado a partir do ácido láctico.

-Polímeros produzidos por microrganismos, tais como pululana e os hidroxipolialcanoatos (PHAs).

As proteínas estão entre as principais macromoléculas encontradas na produção de filmes biodegradáveis por serem de fonte renovável e por apresentar propriedades superiores de barreira a gases. Esta boa barreira ao oxigênio se deve a baixa permeabilidade a substâncias apolares, conferida pela alta densidade de energia coesiva que as proteínas apresentam, e a sua natureza polar (KARIM; BHAT, 2009). Entretanto, devido ao caráter hidrofílico das proteínas, os filmes obtidos a partir delas apresentam pobre barreira à umidade, o que os tornam sensíveis às condições ambientais, especialmente a umidade relativa (ANDREUCCETTI et al., 2009; ARFAT et al., 2014).

1.3.1. Propriedades funcionais dos filmes biodegradáveis

Os filmes biodegradáveis apresentam propriedades funcionais de barreira, mecânica, térmica e ópticas de acordo com o material que os compõem. O método de obtenção e concentração do material formador dos filmes também podem influenciar nas características finais. Assim a escolha dos materiais e a forma de preparo do filme dependem do tipo de aplicação desejado (GILBERT; GONTARD, 2005). No caso de filmes poliméricos, sejam biodegradáveis ou não, espera-se que em geral, sejam finos, transparentes, que sirvam como barreira a agentes externos como umidade e gases; e, em se tratando de filmes biodegradáveis que também sejam completamente degradados por microrganismos do meio ambiente (CUQ et al, 1996).

1.3.1.1. Propriedade de barreira e permeabilidade ao vapor de água

Vicentini (2003) define propriedade de barreira como sendo a capacidade de uma embalagem em limitar a transferência de água, gases, agente permeantes como lipídeos, bem como impedir a transmissão de luz, entre o alimento e o meio externo.

Em filmes biodegradáveis as propriedades de barreira dependem das características do polímero utilizado, tais como: densidade, solubilidade do polímero com a água, morfologia e concentração das macromoléculas, tempo de permeação. A presença de substâncias coadjuvante também influenciam diretamente as propriedades de barreira. A adição de plastificantes e resíduos de solventes aumenta a taxa de difusão em polímeros, e área e espessura do filme (SARANTÓPOULOS et al., 2002; MÜLLER et al., 2008).

Para Feldman (2001) a permeabilidade dos filmes poliméricos está relacionada com três fatores: a solubilização do permeante na superfície do filme; a difusão do permeante através da rede do filme dos dois lados; e a dessorção do permeante no lado oposto do filme.

O que rege a solubilização do permeante na superfície do filme e/ou a dessorção do permeante no lado oposto do filme são as forças de Van der Waals ou as ligações de hidrogênio, quando o permeante é a água. Esses dois tipos de interação química determinam a quantidade de permeante que irá se dissolver no filme. Já a difusão do permeante no filme se dá pelo transporte do permeante através das regiões não-cristalinas do filme, ou através dos espaços vazios formados por possíveis deslocamentos na cadeia polimérica (GARCIA et al., 1989).

A permeabilidade ao vapor de água é determinante em filmes para embalagens de alimentos, pois implicará na vida de prateleira desejada. Filmes biodegradáveis com alta permeabilidade tornam o alimento embalado susceptível à deterioração devido ao aumento do teor de umidade e consequente crescimento de microbiológico, o que trará alterações de cor, sabor, textura, além do risco à saúde do consumidor (FELDMAN, 2001).

Em geral filmes desenvolvidos com proteínas são eficientes como barreira a gases (O₂ e CO₂), mas possuem alta permeabilidade ao vapor de água. Porém, quando adicionados de lipídeos ganham resistência à umidade (GUILBERT et al., 1996; PALMU et al., 2002).

1.3.1.2. Solubilidade

Segundo Sarantópoulos et al. (2002) a solubilidade pode ser definida como a propriedade de uma substância ou material se dissolver em outra solução os meio.

A maioria dos filmes biodegradáveis apresentam afinidade com a água, o que os torna altamente solúveis. Tal afinidade se dá pelas características do polímero ou pela adição de plastificante na formulação dos filmes (MULLER et al, 2008). A alta solubilidade é muito interessante para o meio ambiente, pois a sua dissolução gera baixo impacto. No entanto, para o uso como embalagens, especialmente de alimentos que apresentam alta atividade de água, a solubilidade elevada dos filmes podem gerar perdas significativas na qualidade e segurança do produto embalado (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000; BERTUZZI, VIDAURRE; GOTTIFREDI, 2007). Também é sabido que a solubilidade dos filmes biodegradáveis está relacionada com a permeabilidade ao vapor de água. Filmes com baixa solubilidade e baixa permeabilidade podem ser mais amplamente utilizados como embalagem (CARVALHO et al., 2000).

1.3.1.3. Propriedades mecânicas

Os filmes petroquímicos são resistentes à ruptura quando submetidos à tração, também são flexíveis e maleáveis, podendo se adaptar às possíveis deformações sem sofrer uma ruptura. Espera-se que os filmes biodegradáveis apresentem as mesmas características. No entanto, é sabido que os bioplásticos são menos eficientes que os filmes convencionais. Fatores como o biopolímero usado, a técnica de obtenção do filme, e a habilidade do biopolímero em formar fortes ligações moleculares na matriz do filme afetam diretamente as propriedades mecânicas (GONTARD; GUILBERT, 1996; CUQ, 2002).

As propriedades mecânicas mais estudadas são resistência à tração e alongação. A resistência à tração (RT), como o nome já diz, é a resistência que o material apresenta no momento da ruptura. A alongação (%) é a capacidade que o material tem de esticar em relação percentual ao seu comprimento inicial (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Em filmes biodegradáveis, especialmente os produzidos com proteínas, as ligações de hidrogênio são as grandes responsáveis pela resistência à tração dos filmes, por isso, a necessidade de incremento com plastificantes para dar mobilidade as cadeias poliméricas e contribuir com a flexibilidade (KROCHTA, 2002).

1.3.2. Filmes biodegradáveis a base de material proteico de peixe

O sucesso na formação de filmes biodegradáveis a partir de proteínas depende principalmente da estrutura da proteína (globular ou fibrosa), pois esta estrutura define ligações e inter e intramoleculares; e das condições no processo de obtenção dos mesmos. As principais proteínas de peixe usadas na elaboração de filmes biodegradáveis são o colágeno (gelatina) e as proteínas miofibrilares (actina e miosina) (LACROIX; VU, 2014).

A gelatina extraída de pele de peixes tem sido estudada como material com enorme potencial para aplicação em filmes “verdes” devido às suas características únicas, é termorreversível, tem ação geleificante e espessante, emulsificante e estabilizadora, e de fácil manipulação (Lin-Chen et al., 2019). Os Filmes à base de gelatina apresentam boa barreira à gases, resistência mecânica, são transparentes, porém, sensíveis à umidade, o que dificulta sua aplicação como embalagem, pois podem inchar, aderir ao alimentos ou se desintegrar (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2009). Na tentativa de melhorar estas características, diversos métodos têm sido estudados, tais como: modificação química e enzimática (CARVALHO; GROSSO, 2004); utilização de mistura com plastificantes (VANIN et al., 2005); incorporação de lipídeos (BERTAN et al., 2005) dentre outros.

Proteínas miofibrilares de peixe produzem filmes com propriedades de barreiras seletivas ao oxigênio, à oxidação lipídica e perdas de compostos voláteis (Garcia e Sobral, 2005). A barreira à água é considerada baixa em relação aos filmes sintéticos, porém, maior do que a maioria dos filmes biodegradáveis (PASCHOALICK et al., 2003; PRODPRAN et al., 2007). No entanto, os filmes são rígidos devido à presença de forte ligação covalente, especialmente de dissulfeto, sendo necessária adição de significativa quantidade de plastificantes (40 a 60%), tais como glicerol e sorbitol, para conferir a flexibilidade adequada. Com a adição dos plastificantes os filmes tornam-se flexíveis e maleáveis, porém, aumenta-se a permeabilidade à água, devido ao caráter hidrofílico do glicerol (PÉREZ et al., 2016).

Contudo, diversas pesquisas têm mostrado que a mistura entre polímeros miscíveis e compatíveis pode produzir filmes com melhores características físicas e mecânicas, exigindo menores quantidades de plastificantes. A técnica de mistura além de formar um novo material combinando as melhores características de cada componente, ainda é baixo de custo (WU et al., 2002; MUYONGA et al., 2004; ARFAT et al., 2014; BATISTA et al., 2019).

1.3.4. Blendas poliméricas

Blenda polimérica é formada por mistura de dois ou mais polímeros. A mistura possibilita a obtenção de materiais com propriedades melhores que as de seus constituintes puros. As propriedades físicas e químicas das blendas formadas podem ser alteradas para uma diversidade de aplicações, de acordo com produto final desejado, sendo um importante mecanismo para o desenvolvimento de novos materiais (ITO et al., 2004).

A obtenção das misturas poliméricas se dá por diferentes técnicas que podem ser grandemente afetadas pelo método de preparação. Para mistura dos polímeros são comumente usados o método denominado de “casting”, que consiste na dissolução dos polímeros em um solvente comum e evaporação do solvente formando uma película; e o método de mistura por polimerização na qual ocorre a dissolução de um polímero em um monômero que polimeriza, formando uma rede interpenetrante (UTRACKI, 1989).

A modificação ou aprimoramento de polímeros por meio de mistura é uma tecnologia bem desenvolvida, tendo registros na década de 1970 (PAUL; NEWMAN, 1978; OLABISI, ROBESON; SHAW, 1979; WALSH, HIGGINS; MACONNACHIE, 1985). Os primeiros estudos foram realizados em termoplásticos misturados à solventes de baixo peso molecular (FLORY, 1953). Com o advento dos biopolímeros a tecnologia voltou a ser estudada com mais interesse, pois se viu nela a possibilidade de corrigir fatores limitantes. O amido ainda é o

material mais estudado, mas também podemos citar PLA-ácido polilático (ARMENTANO et al., 2013), gelatina/álcool vinílico (MENDIETA-TABOADA et al., 2008), proteínas miofibrilares/álcool vinílico (LIMPAN et al., 2010) e quitosana/proteínas miofibrilares (BATISTA et al., 2019), gelatina/óleos (SILVA et al., 2018), gelatina/proteínas miofibrilares (ARFAT et al., 2014), amido/proteína do soro de leite (AZEVEDO et al., 2017). O objetivo da mistura varia de acordo com o que se pretende; pode passar pela diminuição de custo, melhoria de propriedades mecânicas, resistência ou diminuição da sensibilidade à água.

O sucesso da obtenção das blendas poliméricas depende da miscibilidade adequada dos polímeros envolvidos. Por isso, leva-se em consideração três importantes fatores: interação química entre os componentes, proporção relativa em que os componentes estão na mistura e as condições de processamento (YOO; KROCHTA, 2011).

Em sistemas poliméricos miscíveis, os polímeros existem na mistura como uma solução homogênea em que os segmentos das cadeias estão misturados em solução mútua e as propriedades variam progressivamente com a composição da mistura. As blendas imiscíveis possuem fases separadas morfologicamente com transições vítreas (T_g) distintas (Li et al., 2020). Na mistura polimérica imiscível ocorre o aparecimento de duas T_g diferentes com valores próximos da T_g dos polímeros puros. A escolha dos polímeros, assim como as condições de obtenção das blendas poliméricas devem ser estudadas a fim de favorecer a interação entre os polímeros na solução formadora do filme (IMRE; PUKÁNSZKY, 2013).

Uma boa interação e miscibilidade entre os polímeros é medida pelo aparecimento de uma única T_g que indica uma uniformidade em escala molecular e os polímeros tornam-se interdispersos, formando uma fase homogênea sem segregação de fases. Nesta ocorre o processo de reticulação entre as cadeias poliméricas dos biopolímeros envolvidos através de ligações covalentes e não covalentes, formando redes tridimensionais reforçadas (UTRACKI, 1989).

As interações químicas são ainda mais importantes, pois determinam parâmetros como solubilidade, espessura e, especialmente propriedades mecânicas. A identificação do tipo e quantidade de interações é fundamental para estimar as características do material resultante. Em geral, as misturas entre biopolímeros apresentam mais casos de sucesso que misturas entre poliolefinas. Isso porque os biopolímeros possuem grupos polares que formam ligações mais fortes através de interações dipolo-dipolo, resultando em maior miscibilidade (SILVA et al., 2007; LI et al., 2020). Tais interações são frequentemente estudadas por espectroscopia (FTIR), análises térmicas (DSC) e índice de cristalinidade.

Essa técnica possibilita mudar a perspectiva sobre a inferioridade das propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis em comparação com filmes convencionais. Unir características positivas de dois ou mais polímeros é uma forma de maximizar o desempenho do uso e adaptar suas propriedades para aplicações específicas. Quando utilizada com sucesso a mistura polimérica potencializa o uso dos biopolímeros e os coloca em condições de competitividade com polímeros petroquímicos (IMRE; PUKÁNSZKY, 2013).

Diversas pesquisas tem buscado eficiente e convenientemente ajustar as características de filmes biodegradáveis estudando combinações de polímeros e controlando a proporcionalidade entre eles. Hoque et al. (2011) investigaram a compatibilidade entre gelatina de lula (*Sepia pharaonis*) e isolado proteico de feijão-mungo ou feijão da china. Os autores constataram que filmes obtidos da mistura em proporções apropriadas apresentaram maior elasticidade, melhores propriedades de barreira ao vapor de água, maior estabilidade térmica e resistência à água, concluindo que a compatibilidade entre os polímeros na mistura determina o aprimoramento das características das películas.

Por ser sabido que gelatina de peixe produz filmes altamente solúveis e pobres em propriedades de barreira Ojagh et al. (2011) com o intuito de corrigir estas desvantagens combinaram gelatina de peixe e lignina na formação de filme biodegradável e usaram na preservação de filés de salmão sob refrigeração ($\pm 7^{\circ}\text{C}$) por 23 dias. Os pesquisadores observaram que o filme composto preservou a coloração dos filés e minimizou desnaturação e oxidação da proteica, além de notadamente reduzir o nível de oxidação lipídica durante armazenamento. Sendo, portanto, eficaz como embalagem de recobrimento.

Arfat et al. (2014) constaram que as propriedades de filmes de proteínas miofibrilares foram modificadas por mistura com gelatina de peixe comercial. Quando comparados com os filmes formulados a partir das proteínas separadas os filmes de mistura na proporção equivalente tiveram os melhores resultados de permeabilidade ao vapor de água, boa resistência à tração e excelente flexibilidade. Segundo os autores as melhorias são atribuídas à boa interação e arranjos apropriados entre as moléculas de gelatina e proteínas miofibrilares na matriz do filme, podendo ser usado como biomaterial para o desenvolvimento de embalagem alimentar.

Estudos detalhados mostram que, diferente dos polímeros sintéticos, os biopolímeros possuem grande número de grupos funcionais reativos (OH, C=O, NH₂) que os torna adequados para o processo de reticulação através de mistura (LAYCOCK et al., 2017). Essa vantagem tem sido relevante para desenvolver de filme com propriedades funcionais específicas. Abdelhedi

et al. (2018) investigaram as propriedades de filmes de mistura e bicamada a partir de gelatina bovina comercial e proteína de vísceras (estômago e intestino) de cação. Observaram que os polímeros são compatíveis e apresentaram boa interação. Os filmes de mistura apresentaram propriedades de barreira superiores aos de bicamada.

REFERÊNCIAS

ABDELHEDI, O.; NASRI, R.; JRIDI, M.; KCHAOU, H.; NASREDDINE, B.; KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F.; NASRI, M. (2018) Composite bioactive films based on smooth-hound viscera proteins and gelatin: Physicochemical characterization and antioxidant properties. **Food Hydrocolloids**, 74: 176-186.

AGUIAR, G.P.S.; LIMBERGER, G.M.; SILVEIRA, E.L. (2014) Alternativas Tecnológicas para o Aproveitamento de Resíduos Provenientes da Industrialização de Pescados. **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, 1(11): 229-225.

ALFARO, A. T.; FONSECA, G.G.; BALBINOT, E.; PRENTICE, C. (2013) Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food Science and Technology International**, 20(5): 373-381. doi.org/10.1177/1082013213488776.

ANDREUCCETTI, C. Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis a base de gelatina, plastificantes hidrofóbicos e surfactantes naturais. **Tese**. Doutorado em Alimentos e Nutrição. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

ARAÚJO, C.S.; RODRIGUES, A.M.C.; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; ARAÚJO, E.A.F.; LOURENÇO, L.F.H. (2018) Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, 16: 23-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodpsl.2018.01.009>.

ARFAT, Y. A; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. (2014) Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, 39:58-67. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.028.

ARMENTANO, I.; BITINIS, N.; FORTUNATI, E.; MATTIOLI, S.; RESCIGNANO, N.; VERDEJO, R.; LOPEZ-MANCHADO, M.; KENNY, J. (2013) Multifunctional nanostructured PLA materials for packaging and tissue engineering. **Progress Polymer Science**, 38(10-11):1720-1747. doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.010

ARVANITOYANNIS, I.S.; KASSAVETI, A. (2008). Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses *Journal of Food Science and Technology*,43:726-745. doi.10.1111/j.1365-2621.2006.01513.x

ARVANITOYANNIS, I. S. (2002) Formation and properties of collagen and gelatin films and coatings. **Protein-based films and coatings**, 1: 275-304. doi.10.1201 / 9781420031980.ch11

AZEVEDO, V.M.; BORGES, S.V.; MARCONCINI, J.M.; YOSHIDA, M.I.; SENA NETO, A.R.; PEREIRA, T.C.; PEREIRA, C.F.G. (2017) Effect of replacement of corn starch by whey protein isolate in biodegradable film blends obtained by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, 157:971-980. Doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.046

BATISTA, J.T.S.; ARAÚJO, C.S.; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; SILVA JUNIOR, J.O.C.; LOURENÇO, L.F.H. (2019) Study of the effect of the chitosan use on the properties of biodegradable films of myofibrillar proteins of fish residues using response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, 20:100306. doi:10.1016/j.foodpsl.2019.100306

BERTAN, L. C. (2005) Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, 19(1):73-82. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.04.017.

BERTUZZI, M.A.; ARMADA, M.; GOTTIFREDI, J.C. (2007) Physicochemical characterization of starch based films. **Journal of Food Engineering**, 82: 17-25.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. **Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura**. Brasília, 1999.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho**. Brasília, 2001.

BRASIL, Ministério da Pesca. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**. Brasília, 2014

CARVALHO, R.A.; GROSSO, C.R.F. (2004) Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde. **Food Hydrocolloids**, 18(5): 717-726. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.005.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.; GUILBERT, S. (1996). Stability of myofibrillar protein-based biopackagings during storage. **LWT - Food Science and Technology**, 29(4): 344–348.

CUQ, B. Formation and Properties of Fish Myofibrillar Protein Films and Coating. Em **Protein-Based Film and Coating** (editado por Gennadios, A.). p. 213- 224. New York: ed. CRC Press. 2002.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L., FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre (RS): Artmed; 2010.

DENAVI, G.A., PEREZ-MATEOS, M., ANON, M.C., MONTERO, P., MAURI, A.N.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. (2009) Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. **Food Hydrocolloids**, 23: 2094-2101. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.007.

DESOBRY, S.; DEBEAUFORT, F. (2011). Encapsulation of flavors, nutraceuticals, and antibacterials. In A. B. Elizabeth, D. H. Robert; B. Jinhe (Eds.). *Edible coatings and films to improve food quality*, p.333–372, Boca Raton, Florida: CRC Press.

FELDMAN, D. (2001). Polymer Barrier Films. **Journal of Polymers and the Environment**, 9: 49-55.

FLORY, P.J. **Principles of polymer chemistry**. Ithaca: Cornell University Press; 1953.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture: contributing to food security and nutrition for all**. Roma, FAO, 200, 2016.

GARCIA, E. E. C.; PADULA, M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. **Embalagens plásticas: propriedades de barreira**. Campinas: ITAL, 1989. 44p.

GARCIA, F.T.; SOBRAL, P.J.A (2005) Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of Tilapia. **LWT-Food Science and Technology**, 38(3): 289-296. doi.org/10.1016/j.lwt.2004.06.002

GHALY, A.E.; RAMAKRISHNAN, V.V.; BROOKS, M.S.; BUDGE, S.M.; DAVE, D. (2013). Fish processing wastes as a potential source of proteins, aminoacids and oils: a critical review. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, 5:107-129. doi.10.4172/1948-5948.1000110.

GILSENAN, P.M, ROSS-MURPHY, S.B. (2000) Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. **Food Hydrocolloids**, v14, n 3: 191–195. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(99\)00050-8](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(99)00050-8).

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; PÉREZ-MATEOS, M.; GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-CABALLERO, E.; GIMÉNEZ, B.; MONTERO, P. (2009) Fish gelatin: A renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science & Technology**, 20(1):3-16. doi:10.1016/j.tifs.2008.10.002

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. (2011) Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, 25: 1813-1827. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007.

GUILBERT, S.; GONTARD, N. GORRIS, G. M. (1996) Prolongation of the self-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. **Lebensmittel Wissenschaft und-Technologie**, 29: 10-17.

HERNANDEZ-MUNOZ, P., VILLALOBOS, R.; CHIRALT, A. (2004) Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. **Food Hydrocolloids**, 18: 403-411. doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00128-0.

HOQUE, M.S., BENJAKUL, S., PRODPRAN, T., SONGTIPYA, P. (2011) Properties of blend film based on cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin and mungbean protein isolate. **International Journal of Biological Macromolecules**, 49: 663-673. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.05.008.

IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis). 2010. Estatística da pesca 2005. Brasil. Grandes regiões e unidades da federação. 147p. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros/download/25/.pdf>.

IKEDA, R.G.P. Idade, crescimento e aspectos reprodutivos de *Macrodon ancylodon* na costa Norte do Brasil. 2003. **Dissertação** (Mestrado em Ciência de Oceanografia Biológica) Universidade de São Paulo, 2003.

IMRE, B.; PUKÁNSZKY, B. (2013) Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. **European Polymer Journal**, 49: 1215-1233. doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.01.019.

ISAAC, V. J.; ESPÍRITO-SANTO, R. V.; SILVA, B. B.; FRÉDOU, F. L.; MOURÃO, R. M.; FRÉDOU, T. (2009) An interdisciplinary evaluation of the Fishery Production Systems off the Para State, Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, 25(3):244-255. doi.org/10.1111/j.1439-0426.2009.01274.x.

IVANOV, K.; SPALVINS, K.; BLUMBERGA, D. (2018) Approach for modelling anaerobic digestion processes of fish waste. **Energy Procedia**, 147: 390-396. doi.10.1016/j.egypro.2018.07.108

ITO, E.N.; PESSAN, L.A.; HAGE JR, E. (2004) Analysis of the Morphological Development of PBT/ABS Blends during the Twin Screw Extrusion and Injection Molding Processes. **Polymers**, 14(2): 83-92. doi.10.3139/217.1780.

JIANG, Y.; TANG, C.H.; WEN, Q.B.; LI, L.; YANG, X.Q. (2007) Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8(2):218-225. doi.org/10.1016/j.ifset.2006.11.002

JRIDI, M.; ABDELHEDI, O.; SALEM, A.; KECHAOU, H.; NASRI, M.; MENCHARI, Y. (2020) Physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of fish gelatin-based edible films enriched with orange peel pectin: Wrapping application. **Food Hydrocolloids**, 103: 105688. Doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105688

KARIM, A.A.; BHAT, R. (2009) Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, 23:563–576. doi.101016/j.fooshyd.2008.07.002.

KROCHTA, J.M. Protein as raw materials for films and coatings: Definitions, current status, and opportunities. **FL: CRC Press**. p. 1-41, 2002.

LACROIX, M.; VU, K.D. Edible Coating and Film Materials: Proteins, Ind: **Innovations in Food Packaging**, 2^a Edition, p: 277-304, 2014.

LAYCOCK, B; NIKOLI, M.; COLWELL, J.M.; GAUTHIER, E.; HALLEY, P.; BOTTLE, S; GEORGE, G. (2017) Lifetime prediction of biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, 71: 144-189. doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2017.02.004

LI, Y.; ZHANG, K.; NIE, M.; WANG, Q. (2020) Application of compatibilized polymer blends in packaging. **Compatibilization of Polymer Blends**, p. 539-561. doi.org/10.1016/B978-0-12-816006-0.00019-0.

LINDEN, G.; LORIENT, D. New ingredients in food processing: biochemistry and agriculture. Boca Raton (FL): CRC Press; 2000

LV, L.C.; HUANG, Q. Y.; DING, W.; XIAO, X. H.; ZANG, H.Y.; XIONG, L.X. (2019) Fish gelatin: The novel potential applications. **Journal of Functional Foods**, 63:103581. doi.org/10.1016/j.jff.2019.103581

MATOS, I.P. e LUCENA, F. (2006) Descrição da pesca da pescada amarela *Cynoscion acoupa* da costa do Pará. *Arquivos de Ciência do Mar, Fortaleza*, 39: 66-73.

MENDIETA-TABOADA, O.; SOBRAL, P.J.A; CARVALHO, R.A.; HABITANTE, A.M.B.Q. (2008) Thermomechanical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol). **Food Hydrocolloids**, 22(8):1485-1492. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.10.001.

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

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J.A. (2000) Preparo e Caracterização de Proteínas Miofibrilares de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 35: 179-190. doi.org/10.1590/S0100-204X2000000100020

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

MUYONGA, J.H, COLE, C.G.B, DUODU, K.G. (2004) Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**; 18: 581-92. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.08.009

NEVES, R.A.M.; MIRA, N.V.M.; MARQUEZ, U.M.L. (2004) Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Food Science and Technology**, 24(1):101-108. doi.org/10.1590/S0101-20612004000100019.

OETTERER, M. **Proteínas de Pescado**. Piracicaba: ESALQ; USP, 1996.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca**. São Paulo: Ed. Varela, 1999.

OJAGH, S.M.; NÚÑEZ-FLORES, R.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; MONTERO, M.P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. (2011) Lessening of high-pressure-induced changes in Atlantic salmon muscle by the combined use of a fish gelatin-lignin film. **Food Chemistry**, 125:595-606. doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.072

OLABISI O, ROBESON L.M, SHAW M.T. Polymer–polymer miscibility. New York: **Academic Press**; 1979.

PASCHOALICK, T.M.; GARCIA, F.T.; SOBRAL, P.J.A.; HABITANTE, A.M.Q.B. (2003) Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile tilapia. **Food Hydrocolloids**, 17(4):419-427. doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00031-6

PALMU, P. T.; FAKHOURI, M. F.; GROSSO, C. R. F. (2002). Extensão da vida útil de frutas tropicais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, p:12-17.

PAUL, D.R; NEWMAN, S. Polymer blends. New York: Academic Press; 1978.

PEREIRA, G.V.S; PEREIRA, G.V.S; NEVES, E.M.P.X; JOELE, M.R.S.P.; LIMA, C.L.S.; LOURENÇO, L.F.H. (2019) Effect of adding fatty acids and surfactant on the functional properties of biodegradable films prepared with myofibrillar proteins from acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*). **Food Science Technology**, 39(1):287-294. doi.10.1590/fst.03718

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

PRODPRAN, T., BENJAKUL, S., ; ARTHARN, A. (2007) Properties and microstructure of protein-based film from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle as affected by palm oil and chitosan incorporation. **International Journal of Biological Macromolecules**, 41:605-614. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.07.020

RHIM, J.W.; NG, P.K.W. (2007) Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 47(4): 411-433. doi.10.1080 / 10408390600846366

SANTOS, S.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. (2003) Genetic differentiation of *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South America as revealed by mtDNA analysis. **Genetics and Molecular Biology**, 26(2):151-161. doi.org/10.1590/S1415-47572003000200008

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; PADULA, M.; **Embalagens Plásticas Flexíveis: principais polímeros e avaliação das propriedades**. Campinas. CETEA/ITAL. 2002.

SIRACUSA, V.; ROCCULI, P.; ROMANI, S.; ROSA, M. D. (2008) Biodegradable polymers for food packaging: a review. **Trends in Food Science and Technology**, 19:634-643. doi.org/10.1016/j.tifs.2008.07.003

SILVA, N.S.; HERNÁNDEZ, E.J.G.P.; ARAÚJO, C.S.; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; LOURENÇO, L.F.H. (2018) Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. **CYTA: Journal of Food**, 16(1):340-349. Doi.org/10.1080/19476337.2017.1406005.

SILVA, S.S.; GOODFELLOW, B.J.; BENESCH, J.; ROCHA, J.; MANO, J.F.; REIS, R.L. (2007) Morphology and miscibility of chitosan/soy protein blended membranes. **Carbohydrate Polymers**, 70(1,2):25-31. Doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.02.023.

SRINIVASA, P.C.; THARANATHAN, R.N. (2007) Chitin/Chitosan-Safe, Ecofriendly Packaging Materials with Multiple Potential Uses. **Food Reviews International**, 23(1): 53-72. doi.org/10.1080/87559120600998163

SZPILMAN, M. **Peixes Marinhos do Brasil: Guia prático de identificação**. Rio de Janeiro: Mauad, p. 288, 2000.

TAHERGORABI, R.; JACZYNSKI, J. (2014). Isoelectric solubilization/precipitation as a means to recover protein and lipids from seafood by-products. **In: Seafood Processing By-products**, Kim, S-K (Ed), Springer, London, UK, 101-123.

TUNDISI, T.M.; TUNDISI, J.G. **Limnologia**. Editora Oficina de Textos. São Paulo, 631, 2008.

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

VANIN, F.M. MENEGALLI, F.C. (2005) Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin based films. **Food Hydrocolloids**, 19(5):899-907. doi.10.1016 / j.foodhyd.2004.12.003

VULCANI, V. A, S. Matrizes de colágeno para liberação controlada de progesterona. **Dissertação** (Programa de Pós-graduação em Interunidades em Bioengenharia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo- SP.

WALSH D.J, HIGGINS J.S, MACCONNACHIE A. **Polymer blends and mixtures**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publ.; 1985.

WOLFF, M.; KOCH, V.; ISAAC, V.A. (2000) Trophic flow model of the Caeté mangrove estuary (north Brazil) with considerations for the sustainable use of its resources. **Estuarine, coastal and shelf science**, 50:789-803. doi:10.1006/ecss.2000.0611

WU, Y., WELLER, C.L., HAMOUZ, F., CUPPETT, S.L.; SCHNEPF, M. (2002) Development and application of multicomponent edible coatings and films: a review. **Advances in Food and Nutrition Research**, 44:347-394. doi.org/10.1016/S1043-4526(02)44007-7

YOO, S.R.; KROCHTA, J. M. (2011) Whey protein- polysaccharide blended edible film formation and barrier, tensile, thermal and transparency properties. **Journal Science Food Agriculture**, 91(14):2628-2636. doi.org/10.1002/jsfa.4502

ZAVAREZE, E.R.; HALAL, S.L.M.; TELLES, A.C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. (2012). Biodegradable films based on myofibrillar proteins of fish. **Brazilian Journal of Food Technology**, 4:53-57. doi.org/10.1590/S1981-67232012005000038

CAPÍTULO II: EFEITO DA MISTURA DE POLÍMEROS NO DESENVOLVIMENTO DE BIOPLÁSTICO A PARTIR DE RESÍDUOS DE PEIXE¹

RESUMO

A bioconversão de proteínas de subprodutos da indústria pesqueira em bioplástico possibilita a valorização do material biológico, reduzindo a produção de descarte e consequentemente, de impactos ambientais negativos do uso de embalagens sintéticas. O objetivo deste trabalho foi misturar gelatina e proteínas miofibrilares de pescada gó (*Macrodon ancylodon*) com intuito de desenvolver filmes biodegradáveis com propriedades tecnológicas aprimoradas. As propriedades dos filmes de mistura foram comparadas com as de filmes dos polímeros individuais. A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier revelou boa compatibilidade química entre gelatina e proteínas miofibrilares na formação do filme de mistura. A interação entre os polímeros foi conduzida por ligações de hidrogênio, formando película coesa e reforçada. Os filmes de mistura além de apresentarem os menores valores de permeabilidade ao vapor de água e solubilidade, também foram transparentes e, termicamente resistentes. Assim a mistura entre gelatina e proteínas miofibrilares possibilitou a formação de películas biodegradáveis com propriedades tecnológicas superiores às produzidas com os polímeros separados.

Palavras-chave: filmes biodegradáveis; gelatina; proteínas miofibrilares de peixe, propriedades tecnológicas.

¹Artigo publicado no periódico Boletim do Instituto de Pesca. doi:10.20950/1678-2305.2019.45.4.518

1. INTRODUÇÃO

As embalagens convencionais obtidas a partir de petroquímicos possuem excelentes propriedades mecânicas e de barreira. No entanto, sua biodegradabilidade e a possível migração de agentes tóxicos para os alimentos têm sido motivo para inúmeros estudos com intuito de desenvolver embalagens usando biopolímeros como material base; que além de garantir segurança aos alimentos promova sustentabilidade ambiental (BRAVIN et al., 2006; LÓPEZ-RUBIO et al., 2008; NUR HANINI et al., 2014).

Muitas pesquisas têm utilizado proteínas como matéria prima no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, como proteína de soja (GUERRERO et al., 2011), glúten de trigo (ANSORENA et al., 2016), bem como proteínas de pescado (ALFARO et al., 2013; ROMANI et al., 2018). Isso porque as proteínas se configuram excelentes formadoras de películas devido à capacidade das cadeias proteicas para formar ligações intra e intermoleculares e que por meio de modificações químicas, físicas ou enzimáticas, possibilitam chegar às propriedades adequadas para aplicação final das embalagens (HAMMANN; SCHMID, 2014). Ademais, o uso de tais biopolímeros no fabrico de embalagens, como os filmes de revestimento, é interessante não só porque é favorável ambientalmente, mas também por possuírem características como comestibilidade, biocompatibilidade, propriedades texturais e estéticas, extensibilidade (BLANC et al, 2019).

As proteínas, especialmente de origem animal, são os biomateriais mais utilizados na indústria de alimentos, e vem sendo amplamente explorada. A escolha e/ou combinações de proteínas quanto as suas características intrínsecas como, estrutura e peso molecular, composição de aminoácidos, capacidade de interação química; associadas às condições do ambiente químico tais como temperatura e pH, favorece o desenvolvimento de estrutura e nanoestruturas que visam a disponibilidade de compostos bioativos, alimentos funcionais e também embalagens ativas (BOURBON et al, 2019).

A utilização de proteínas (miofibrilar e gelatina) de subprodutos de peixes no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis possibilita a diminuição de impactos ambientais oferecendo uma alternativa ao substituir as embalagens produzidas a partir de petroquímicos. Estudos recentes demonstram que filmes biodegradáveis com base nesses polímeros possuem propriedades mecânicas e de barreira promissoras para utilização na indústria de alimentos, no entanto, somente quando adicionados de óleos e/ou plastificantes (ARAÚJO et al., 2018; SILVA et al., 2018).

Apesar da boa permeabilidade ao vapor de água e boa resistência à tração, a rigidez dos filmes de proteínas miofibrilares é necessária adição de expressiva quantidade de plastificante, glicerol ou sorbitol, para conferir adequada flexibilidade ao filme. Porém, estas substâncias hidrofílicas conferem aos filmes baixa barreira ao vapor de água e alta solubilidade (CHINABHARK et al., 2007; PRODPRAN et al., 2007). Já os filmes de gelatina de peixe são transparentes e flexíveis, sendo excelente material para incorporação e dispersão de componentes bioativos (WANG et al., 2007). No entanto, filmes individuais de gelatina tendem a inchar e dissolver quando entram em contato com matérias alimentares com alta umidade (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

Para Arroyo et al. (2019) apesar de promissores a maioria das proteínas não apresentam um conjunto de propriedades apropriadas para o uso específico, sendo necessária a adição agentes modificadores ou a combinação de dois ou mais componentes para se obter as características desejadas. Por isso, vários métodos têm sido estudados com o objetivo de melhorar as características das embalagens biodegradáveis como incorporação de óleos com agentes antimicrobianos (ARFAT et al., 2014b) e antioxidantes (URANGA et al., 2018) impregnação supercrítica (SOUZA et al., 2014) e mistura de polímeros (HOQUE et al., 2011; ARFAT et al., 2014a, ABDELHEDI et al., 2018).

Misturar dois ou mais polímeros tem se mostrado eficaz na busca por filmes com propriedades tecnológicas superiores como, baixa permeabilidade ao vapor de água, filmes fortes e flexíveis, transparentes e bioativos (ABDELHEDI et al., 2018). HOSSEINI *et al.* (2016) obtiveram filmes com baixa permeabilidade ao oxigênio e vapor de água ao misturarem gelatina de peixe e ácido poli-láctico. Filmes de biopolímeros de peixe tiveram suas propriedades aprimoradas aos misturar-se proteína miofibrilar e gelatina comercial de peixe em diferentes proporções; a mistura conferiu aos filmes melhores propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água quando comparados com filmes de polímeros puros (ARFAT et al., 2014a).

Portanto, o objetivo desta pesquisa é estudar a mistura de biopolímeros como ferramenta para desenvolver filmes biodegradáveis com propriedades tecnológicas aprimoradas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATÉRIA-PRIMA

Os subprodutos provenientes da produção de filés (aparas da filetagem e pele) de pescada gó (*Macrodon ancylodon*) foram doados pela indústria pesqueira Ecomar Ltda, localizada no município de Vigia-PA, Brasil. Os resíduos foram lavados em água clorada (5 ppm) a ± 4 °C. As aparas foram trituradas por 1,5 minutos em Cutter (Filizzola, Sire Cutter). Após a remoção de escamas as peles foram cortadas em pedaços de aproximadamente de 4x4 cm. Em seguida, as amostras foram embaladas à vácuo e congeladas a $-26^{\circ}\text{C} \pm$ até o momento da extração de proteínas miofibrilares e da gelatina

2.2. OBTENÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS

2.2.1. Obtenção das proteínas miofibrilares

Para obtenção das proteínas miofibrilares, foi utilizada a metodologia de Zavareze et al. (2012) com modificações. Visando a desodorização, o músculo triturado de pescada amarela foi misturado com ácido fosfórico a 0,02% na proporção 1:3 (m/v) por 15 minutos e, em seguida a solução foi filtrada em tecido de faillet. A parte sólida obtida foi lavada com água destilada a 7°C na proporção de 1:3 (m/v) para a retirada do excesso de ácido sendo filtrada novamente.

O material resultante foi misturado com solução de cloreto de sódio 50 Mm a $\pm 7^{\circ}\text{C}$ na proporção de 1:3 (m/v) por 5 minutos seguido de centrifugação a 10.000 rpm por 4 min à $\pm 4^{\circ}\text{C}$ em centrifuga refrigerada (Thermo Fisher, Multifuge X1R), este processo foi repetido duas vezes e a pasta resultante (proteínas miofibrilares) foi distribuída em bandejas de aço inoxidável, congeladas a $\pm -26^{\circ}\text{C}$ e liofilizadas a $\pm -60^{\circ}\text{C}$ por 48h em liofilizador (Liotop, L101). Após a liofilização o material foi peneirado (Tyler 35 com abertura de 0,42 mm) obtendo-se a proteínas miofibrilares de pescada gó (PMP).

2.2.2. Extração da gelatina

A extração da gelatina da pele de pescada gó foi realizada conforme proposto por Bueno et al. (2011) com modificações. Cerca de 20g de pele foram misturadas à 100 mL de solução de NaCl 0,6 M, agitada em incubadora Shaker (Cielanb, modelo CE-725B) à 85 rpm a $25^{\circ}\text{C} \pm$ por 15 minutos, sendo drenadas e lavadas em água corrente. Em seguida foi adicionada à pele solução de NaOH 0,3 M (1:5 m/v) sendo agitadas à 85 rpm a $25^{\circ}\text{C} \pm$ por 15 minutos e logo após drenadas e lavadas em água corrente. Posteriormente foi utilizado ácido acético 0,02 M na proporção 1:5 (m/v) sob agitação por 1 hora, drenadas e lavadas em água corrente.

Em seguida, foi adicionada à pele água destilada na proporção 1:5 (m/v), levada ao banho-maria (TECNAL, TE-057) por 12 horas à 50°C ± e filtradas em tecido de faillet. A solução obtida foi recolhida em bandejas de aço inox, congelada a -26°C ± por 48, liofilizada a -60°C ± por 36 horas, obtendo-se a gelatina liofilizada de pescada gó (GP).

2.3. ELABORAÇÃO DOS FILMES

Para elaboração dos filmes “puros”, de proteínas miofibrilares (PMP) ou gelatina (GP), utilizou-se a metodologia proposta por Zavareze et al. (2012), com modificações. Estes filmes foram elaborados por suspensão dos polímeros com 1,0 e 3,0% (m/v), pH ajustado para 3,0 com ácido clorídrico (HCl) 2M, e glicerol à 20% como plastificante. A solução foi homogeneizada à 10.000 rpm durante 5 minutos em homogeneizador (Turratec, Tecnal, TE-102) e, em seguida aquecida à 70°C ± em banho-maria (Tecnal, TE-057) durante 40 minutos. A solução filmogênica obtida foi filtrada, colocada em bandejas de silicone com 22 cm de diâmetro, e seca em estufa incubadora com circulação de ar (Quimis, Q315M) a 30°C ± durante 18 horas.

Os filmes blendas (BL) obtidos a partir da mistura de proteínas miofibrilares e gelatina, foram elaborados de acordo com a metodologia de ARFAT et al. (2014) com modificações. Foram preparados nas concentrações de 1,0 e 3,0% (m/v), sendo os polímeros misturados na proporção 1:1 (PML:GP) e utilizando a mesma quantidade de glicerol dos filmes puros (20%).

A gelatina (GP) foi previamente dissolvida em 50 mL de água destilada e reservada. As proteínas miofibrilares (PML) foram solubilizadas em 100 mL de água e adicionadas ao plastificante (glicerol à 20%). Posteriormente o pH da solução foi ajustado para 3,0 com HCl 2M e homogeneizada (Turratec, Tecnal, TE-102) à 10.000 rpm durante 5 min. Em seguida a gelatina foi adicionada a solução de proteínas miofibrilares, novamente homogeneizada e aquecida em banho-maria à 70°C ± durante 40 minutos. A solução final foi filtrada em tecido de faillet, espalhada no suporte de silicone com 22 cm de diâmetro e seca nas mesmas condições dos filmes puros.

2.3.1. Determinação das propriedades dos filmes

Espessura do filme

A espessura do filme foi medida utilizando micrômetro digital (Insize, modelo IP54), em oito locais aleatórios em torno de cada filme obedecendo ao afastamento da borda de 60 mm (ZAVAREZE et al., 2012)

Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e porcentagem de alongamento na ruptura (E) dos filmes foram determinados empregando-se metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) utilizando texturômetro (QTS, Brookfield). A separação inicial das garras e a velocidade foram de 30 mm e $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente, e o corpo de prova (2,5 cm x 3,0 cm) de cada tipo de filme. A força máxima (N) e extensão final à ruptura foram utilizadas para calcular a RT e E, respectivamente.

Permeabilidade ao Vapor de Água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada utilizando o método modificado ASTM D882-95 descrito por ARFAT et al. (2014). O filme foi aderido à abertura de um becker com 4,5 cm de diâmetro e 7,0 cm de altura contendo 10 g de sílica gel a 0% UR; 0Pa de pressão de vapor de água a $30^{\circ}\text{C} \pm$. O conjunto de amostras foi colocado em dessecador contendo água destilada e mantidos estufa incubadora com circulação de ar (Quimis, Q315M) à 30°C a 99% UR, e 4244,9 Pa de pressão de vapor de água a $30^{\circ}\text{C} \pm$ por um período de 10 horas. A PVA foi calculada através da Equação 1.

$$PVA = \frac{W \cdot X}{A \cdot t \cdot \Delta P} \quad \text{Equação 1}$$

Onde: PVA: permeabilidade ao vapor de água ($\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Pa}^{-1}$); W: ganho de peso pelo dessecante (g); X: espessura do filme (mm); A: área da superfície do biofilme exposto (m^2); t: tempo de incubação (horas); ΔP : diferença de pressão parcial (Pa). Três corpos de provas de cada filme foram usados para o teste de PVA.

Solubilidade do filme

Para medir a solubilidade dos filmes foi utilizada metodologia de GONTARD et al. (1994). Os filmes foram recortados em discos de 2 cm de diâmetro e determinada a matéria seca em estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm$ por 24 horas. As amostras secas foram imersas em 50 mL de água. O sistema foi agitado em incubadora Shaker refrigerada (Cielanb, CE-725B) com velocidade de 150 rpm por 24 horas à $25^{\circ}\text{C} \pm$. Em seguida, as amostras foram removidas e secas (105°C por 24 horas), para determinar a matéria seca não dissolvida em água. O percentual de solubilidade foi calculado usando a Equação 2.

$$S = \frac{m_i - m_f}{m_i} \cdot 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde: S: solubilidade (%); m_i : massa seca inicial (g); m_f : massa seca final (g)

Transparência

A transparência dos filmes foi determinada a 600 nm por meio da Equação 3 de acordo com o método ASTM D1746 (HAN; FLOROS, 1997).

$$\text{Transparência} = \frac{\log\%T}{e} \quad \text{Equação 3}$$

Onde: T: transmitância a 600 nm; e: espessura do biofilme (mm).

Cor dos filmes

A cor dos filmes foi determinada usando colorímetro digital (Minolta, CR 310), sendo avaliados os parâmetros de L* (luminosidade), a* (intensidade do pigmento vermelho), b* (intensidade do pigmento amarelo), C* (croma), h* (ângulo matiz).

Termogravimetria (TG/DTG)

Os filmes foram analisados utilizando analisador termogravimétrico (Shimadzu, DTG-60AH) em atmosfera de nitrogênio com vazão de 20 mL.min⁻¹. As amostras foram aquecidas a partir da temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) até 600°C com taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹. A aquisição dos registros e tratamento dos dados foi realizada com auxílio do software TA60 versão 2.21 (Shimadzu).

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho foi realizada em espectrômetro com transformador de Fourier (Bruker, Vertex 70v). Os espectros foram obtidos na faixa espectral de 400 a 4000 cm⁻¹ coletados 32 varreduras com resolução de 4 cm⁻¹.

Caracterização microscópica do filme

A microestrutura dos filmes foi determinada utilizando microscópio eletrônico de varredura (Tescan, Vega3), com voltagem de aceleração de 15 kV. As amostras foram metalizadas com ouro para permitir condutividade elétrica necessária à formação das imagens com auxílio da metalizadora (Quorum Technologies, SC7620). As micrografias foram capturas com ampliação de 7000x para a superfície e 4000x para a secção transversal do filme.

2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos parâmetros de espessura, solubilidade, PVA, RT, %E, cor, e transparência foram submetidos à análise de variância (ANOVA) realizada através do programa Statistica® versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004).

3. RESULTADOS

Os filmes obtidos a partir de proteínas (miofibrilares e gelatina) de pescada gó apresentaram aparência homogênea, finos, transparentes, flexíveis e elásticos. Aproximando-se visualmente aos filmes convencionais.

3.1. PROPRIEDADES DOS FILMES

Os resultados das propriedades físicas, mecânicas e de barreira dos filmes puros e dos filmes de mistura (BL) são apresentados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1: Propriedades dos filmes puros e de mistura elaborado com gelatina e proteínas miofibrilares de pescada gó

| Composição do filme | Espessura (mm) | RT (MPa) | Elongação (%) | PVA ($\times 10^{-11} \text{ g.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$) | Solubilidade (%) |
|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---|--------------------|
| GP 1% | 0,037 \pm 0,002 d | 2,75 \pm 0,53 e | 538,26 \pm 3,96 a | 5,48 \pm 0,52 a | 93,75 \pm 1,67 a |
| GP 3% | 0,128 \pm 0,001 a | 3,13 \pm 0,02 c | 459,10 \pm 2,89 b | 5,40 \pm 0,16 a | 74,08 \pm 2,74 b |
| PMP 1% | 0,036 \pm 0,001 d | 9,58 \pm 0,51 b | 114,97 \pm 0,31 f | 5,41 \pm 0,54 a | 27,40 \pm 2,92 c |
| PMP 3% | 0,087 \pm 0,003 c | 12,31 \pm 0,42 a | 126,58 \pm 1,24 e | 4,26 \pm 0,12 b | 25,46 \pm 3,45 c |
| BL 1% | 0,031 \pm 0,002 e | 5,26 \pm 0,43 d | 315,65 \pm 3,06 d | 3,12 \pm 0,22 c | 27,04 \pm 057 c |
| BL 3% | 0,106 \pm 0,002 b | 6,49 \pm 0,36 c | 384,80 \pm 1,28 c | 2,69 \pm 0,16 c | 23,11 \pm 2,09 c |

* GP: gelatina de pescada gó; PMP: proteínas miofibrilares de pescada gó, BL: GP + PMP.

**Letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem significativamente ($p \leq 0,05$)

As espessuras dos filmes de GP, PMP e BL de pescada gó apresentaram diferença entre si ($p \leq 0,05$). Os filmes de gelatina (GP) foram os que tiveram maior espessura quando comparados com os filmes de proteínas miofibrilares (PMP) e os de mistura (BL) nas mesmas proporções. Observou-se ainda que a espessura dos filmes aumentou proporcionalmente com o aumento da concentração dos polímeros nas formulações. Dentre todos os filmes o de BL na concentração de 1% foi o mais fino e o filme de GP 3% o mais espesso. Isso indica que houve boa miscibilidade e interação entre gelatina e as proteínas miofibrilares na rede dos filmes de mistura.

As propriedades de resistência à tração (RT) e percentual de alongação (%E) dos filmes na tabela 2.1 mostrou que os filmes de PMP apresentam os maiores valores de RT, seguido dos filmes de GP. Nas mesmas concentrações de polímeros os filmes de BL tiveram os menores valores de RT, sugerindo que os filmes são mais maleáveis e flexíveis que os demais. Quanto ao %E os menores valores encontrados foram para os filmes de PMP, considerados filmes

tensos, característica comum a filmes elaborados somente com proteínas miofibrilares (HOQUE et al., 2011). Já os filmes de GP apresentaram maiores valores para %E, sendo muito superiores aos filmes de PMP, cerca de quatro vezes maior. Neste parâmetro os filmes de BL tiveram valores intermediários ($315,65 \pm 3,06$ e $384,80 \pm 1,28$) quando comparados aos filmes puros, chegando a ser quatro vezes mais elásticos que os filmes de PMP. Quando correlacionados RT e %E observa-se que os filmes de BL apresentaram características promissoras, pois é uma película resistente e elástica.

Os melhores valores de PVA foram encontrados nos filmes com menores concentrações de polímeros. A associação entre GP e PMP mostrou ser vantajosa no desenvolvimento de filmes biodegradáveis com baixa permeabilidade ao vapor de água. Os resultados mostram que os filmes de BL tiveram os menores valores para esta propriedade ($2,69 \pm 0,16$ e $3,12 \pm 0,22$) sendo até duas vezes menores que o PVA dos filmes puros. O mesmo comportamento pode ser observado no parâmetro solubilidade. Os filmes de BL foram os que apresentaram menor solubilidade, sendo até quatro vezes menor que a solubilidade dos filmes de GP. Neste parâmetro não houve diferença ($p \leq 0,05$) entre os filmes de BL e PMP, porém ao se avaliar conjuntamente com o PVA constata-se que os filmes de BL tiveram suas propriedades físicas e de barreira melhoradas. A boa interação entre os polímeros de gelatina e proteína miofibrilar nos filmes de BL, regida principalmente por ligações de hidrogênio (ver FTIR), resultou em alta densidade e conseqüente solubilidade reduzida dos filmes de mistura.

Cor e Transparência

Tabela 2.2. Parâmetros de cor e transparência dos filmes de gelatina, proteínas miofibrilares e de blendas em diferentes concentrações.

| Filme | Parâmetros de cor | | | | | Transparência |
|--------|-------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|---------------|
| | L* | a* | b* | C* | h | |
| GP 1% | 89,51 ± 0,18 a | -4,59 ± 0,07 b | 6,20 ± 0,58 d | 7,72 ± 0,51 d | 126,63 ± 0,09 ab | 3,40 ± 0,06 d |
| GP 3% | 88,56 ± 0,44 b | -4,80 ± 0,04 a | 7,13 ± 0,06 c | 8,57 ± 0,07 c | 124,13 ± 0,13 b | 6,03 ± 0,03 a |
| PMP 1% | 87,11 ± 0,22 cd | -3,88 ± 0,02 f | 6,42 ± 0,19 cd | 7,50 ± 0,17 d | 121,09 ± 0,75 c | 5,21 ± 0,01 b |
| PMP 3% | 86,78 ± 0,12 d | -4,25 ± 0,02 c | 10,56 ± 0,08 a | 11,39 ± 0,07 a | 111,92 ± 0,20 e | 5,04 ± 0,01 c |
| BL 1% | 89,42 ± 0,22 a | -4,02 ± 0,01 e | 5,31 ± 0,28 e | 6,66 ± 0,17 e | 127,51 ± 0,11 a | 1,84 ± 0,01 e |
| BL 3% | 87,64 ± 0,18 c | -4,14 ± 0,01 d | 8,43 ± 0,08 b | 9,39 ± 0,07 b | 116,17 ± 0,20 d | 1,00 ± 0,01 f |

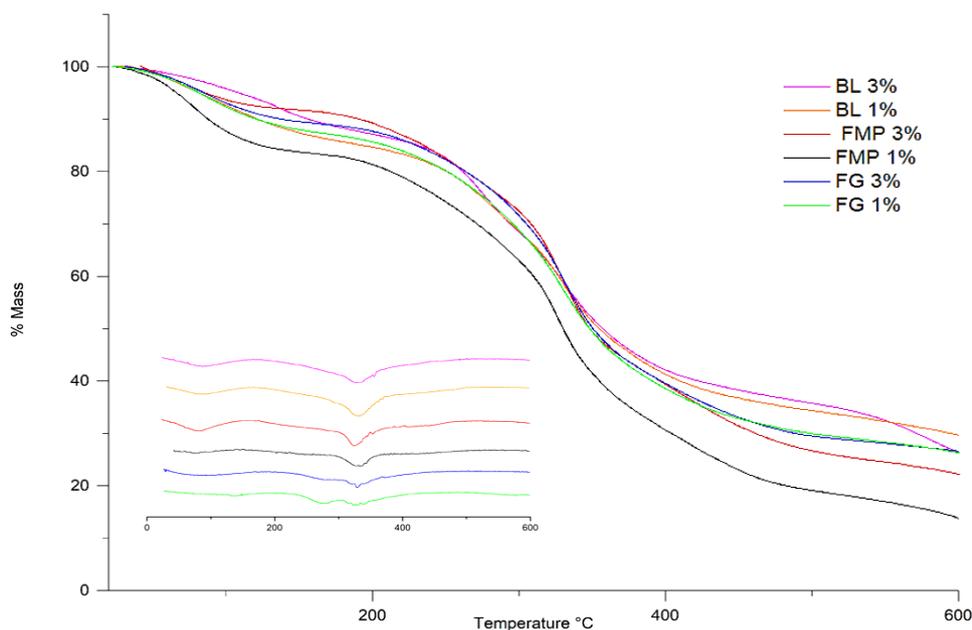
*GP: gelatina de pescada gó; PMP: proteínas miofibrilares de pescada gó; BL: mistura de GP + PMP
Letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

Transparência e cor são características fundamentais em embalagens de alimentos, onde a visualização do conteúdo é determinante na decisão de compra do consumidor. Os parâmetros (L*, a*, b*, c* e h) permitem caracterizar quantitativa e qualitativamente os filmes puros e de mistura. Na tabela 2.2, observa-se que tanto os filmes puros (GP e PMP) como os de mistura (BL) caracterizam-se pela predominância do pigmento amarelo (b*), sendo confirmados pelo ângulo de tonalidade h*, superiores à 100°, ou seja, mais próximo da coordenada cromática b*, assim como a intensidade e distinção da cor é ratificada pelo aumento do croma c*. Considerando que os filmes foram produzidos em condições ácidas (pH 3,0) o aumento na coordenada b* é compreensível, pois condições ácidas estimulam a formação de pigmentos amarelos. À medida que a concentração de polímeros aumentou foi observado incremento na intensidade do pigmento amarelo e leve diminuição na luminosidade (L) em todos os filmes. No entanto, os filmes de BL apresentaram-se claros e mais transparentes (menores valores), características recomendados para recobrimentos de alimentos.

Análises Térmicas

A termogravimetria (TG) e sua derivada (DTG) dos filmes puros e de mistura estão apresentadas na Figura 2.1. Nela pode-se analisar a estabilidade térmica dos filmes frente a temperatura através da mensuração da perda de massa. Por meio da curva de DTG os estágios de perda de massa, representados por picos, são mais facilmente visualizados.

Figura 2.1: Curvas de TG/DTG de filmes de gelatina (GP), proteína miofibrilar (PMP) e de mistura (BL) em diferentes concentrações.



As curvas de TG/DTG mostram que todos os filmes tiveram degradação térmica em dois estágios. O primeiro estágio foi observado entre 30,18 e 52,32°C alcançando 228°C, esta perda de massa corresponde à volatilização de água livre ou adsorvida da rede dos filmes, assim como componentes do glicerol e proteínas de baixo peso molecular (HOQUE et al., 2011). O segundo estágio se deu de 232,44 a 301,17°C pode ser atribuído à degradação de proteínas de alto peso molecular e que estabeleciam ligações fortes na formação da matriz dos filmes.

Tabela 2.3: Propriedades térmicas dos filmes puros e de mistura elaborados com gelatina e proteínas miofibrilares de pescada gó.

| FILME | Estagio 1 | | Estagio 2 | | Residuo (%) |
|--------|------------|---------|------------|---------|-------------|
| | Onset (°C) | % massa | Onset (°C) | % massa | |
| GP 1% | 34,28 | 18,35 | 252,42 | 53,65 | 27,99 |
| GP 3% | 33,55 | 23,43 | 254,02 | 54,45 | 22,12 |
| PMP 1% | 52,32 | 26,07 | 301,17 | 47,29 | 26,64 |
| PMP 3% | 31,31 | 18,69 | 232,44 | 48,55 | 32,76 |
| BL 1% | 41,38 | 20,28 | 258,24 | 57,20 | 22,52 |
| BL 3% | 30,18 | 21,92 | 254,63 | 54,26 | 23,82 |

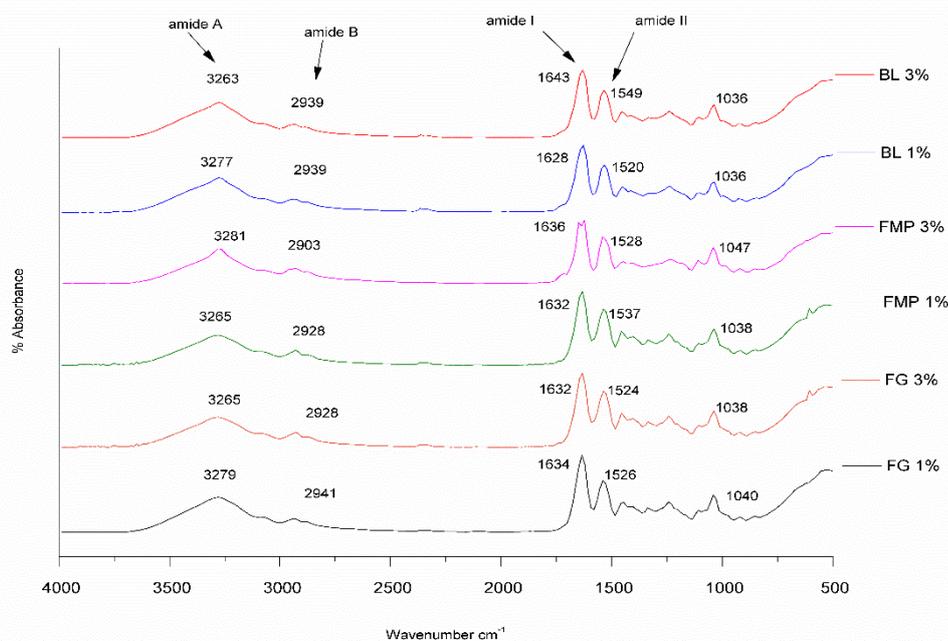
As temperaturas de perda de massa variaram entre os filmes devido sua composição e concentração de polímeros (Tabela 2.3). Entre todos os filmes o PMP 1% apresentou as maiores temperaturas de degradação (52,32-301,17°C), seguido de BL 1% (41,38-258,24°C). A perda

de massa no primeiro estágio foi maior para o filme de PMP 1% e no segundo estágio a maior perda de massa foi do filme BL 1% (57,20%). Todos apresentaram massa residual à 600°C (22,12-32,76%), no entanto, o filme PMP 3% teve o maior percentual (32,76%); o que significa dizer que foi o mais estável termicamente.

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros dos filmes de GP, PMP e BL são mostrados na Figura 2.2. Os espectros de todos os filmes apresentaram maiores vibrações nos comprimentos de ondas de 3279-3263 cm^{-1} correspondendo à amida A (vibrações de estiramento de NH unidos por ligações de hidrogênio); 2941-2903 cm^{-1} relativo à amida B que equivale a vibrações de estiramento de CH e NH_3 ; vibrações em 1643-1628 cm^{-1} sendo amida I (vibrações moleculares de estiramento em C=O/ligação hidrogênio acoplado ao grupo COO) e no comprimento de onda de 1549-1520 cm^{-1} que corresponde à amida II (vibração de flexão dos grupos N=H e estiramento de C=N), respectivamente. Dentre as blendas o filme de BL 3% apresentou menor espectro vibracional de amida A, possivelmente pela boa interação entre as cadeias de proteínas miofibrilares e gelatina.

Figura 2.2: Espectro de FTIR de filmes de gelatina (GP), proteína miofibrilar (PMP) e de mistura (BL) em diferentes concentrações.



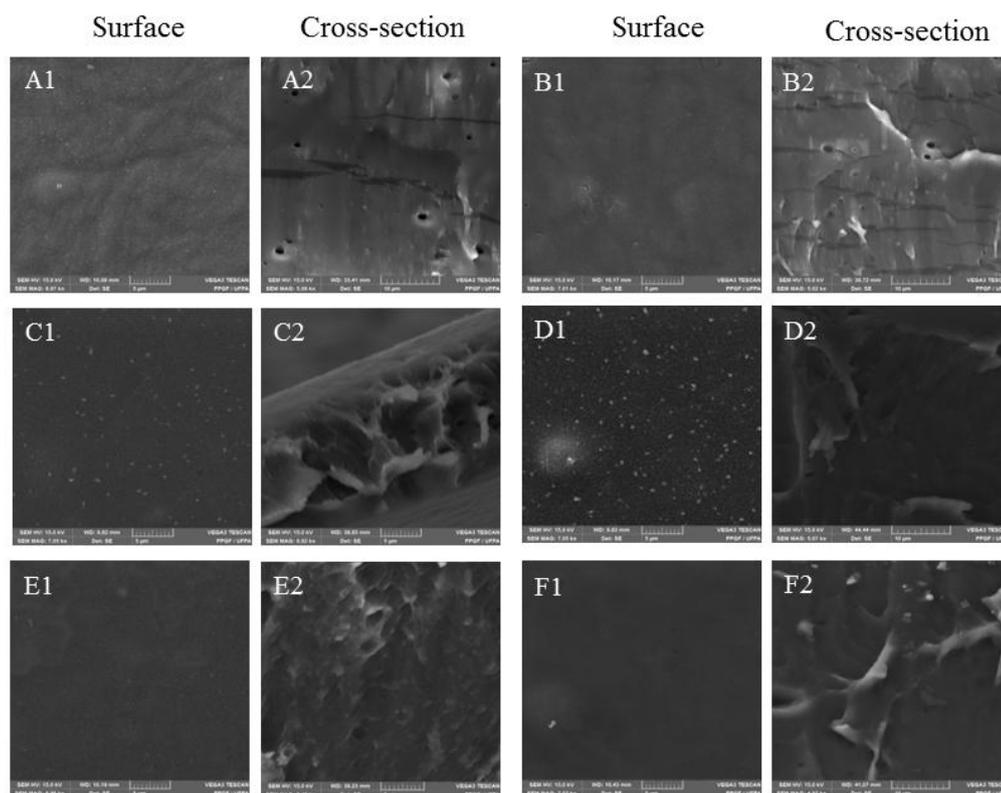
O maior pico de amida-I foi encontrado no filme BL 3%, esta faixa de absorção que fica entre 1600-1700 cm^{-1} , é citada na literatura como sendo muito importante no estudo da estrutura secundária das proteínas (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004). Os espectros permitem

analisar as possíveis interações entre os biopolímeros na matriz dos filmes de BL. Uma banda de absorção na faixa de 1047-1036 cm^{-1} foi observada para todos os filmes, sendo provavelmente a ligação entre plastificante (glicerol) e polímeros formadores dos filmes.

Caracterização microscópica dos filmes – MEV

As eletromicrografias dos filmes puros e de mistura são mostradas na Figura 2.3. Quando observados a olho nu percebia-se que tanto os filmes puros como os de mistura eram homogêneos, lisos e contínuos. Entretanto, observados através de microscopia notou-se que ambos os filmes de GP apresentaram superfície coesa, porém com rugosidade e partículas insolúveis. Na secção transversal é possível visualizar fissuras e orifícios.

Figura 2.3: Micrografias da superfície dos filmes (5000x) e secção transversal (7000x): filme FG1%: A1 e A2; Filme FG3%: B1 e B2; Filme FMP1%: C1 e C2; Filme FMP3%: D1 e D2; Filme BL1%: E1 e E2; Filme BL3%: F1 e F2.



Os filmes de PMP são notadamente densos e com aglomeração de material seco insolúvel e com pequenos espaços vazios na secção transversal. As micrografias nos filmes de BL mostraram boa compatibilidade entre GP e PMP. Observou-se que os filmes de mistura possuem superfície lisa e homogênea, sem pontos de aglomeração ou partículas, caracterizando

uma estrutura coesa e ordenada. Não se observou distinção entre os polímeros na rede dos filmes. Notadamente os filmes de BL formaram redes mais densas e ordenadas.

4. DISCUSSÃO

Filmes de PMP são em geral mais finos devido as fortes ligações dissulfetos covalentes na matriz proteica as quais estabelecem uma densidade constante. Nota-se que o aumento na concentração de polímeros na formulação dos filmes a espessura aumenta significativamente ($p \leq 0,05$). Essa mudança se dá logicamente pelo volume de polímeros na matriz dos filmes, mas também pela possível absorção de água circundante, pois o número de grupos polares existentes na superfície da proteína na rede dos filmes favorece o ganho de água do meio (KROCHTA, 2002).

A espessura dos filmes está fortemente relacionada com as propriedades mecânicas; quanto menos espesso, menor força será necessária para ruptura do mesmo, ou seja, diminui o valor de RT e aumenta a elasticidade, refletindo também na solubilidade do filme (Tabela 2.1). Os valores encontrados neste estudo foram superiores aos relatados por HOQUE et al. (2011) e ARFAT et al. (2014) ao estudarem blendas de gelatina de peixe com proteína de feijão-mungo, e gelatina e proteínas miofibrilares de peixe, respectivamente.

As propriedades mecânicas de resistência à tração (RT) e percentual de alongação (%E) dos filmes estudados mostram que os filmes de PMP são mais rijos, com valores elevados de RT e menores para %E. Segundo MIRZAKHANI; MOINI; EMAM-DJOMEH (2015) a presença de elevado teor dos aminoácidos glutamina e asparagina nas proteínas miofibrilares de peixe, conferem duplas ligações de hidrogênio (85 kJ/mol) entre os peptídeos da cadeia proteica, tornando-os menos extensíveis. No entanto, ao combinar proteína miofibrilar com gelatina nos filmes de BL observa-se que os filmes tornam-se mais flexíveis, porém ainda com valores consideráveis de RT. Diante da interação entre os polímeros as duplas ligações dão lugar às ligações de hidrogênio simples (25 kJ/mol), que são mais fracas, diminuindo a densidade e a força de cisalhamento entre os peptídeos. Este efeito pode ter sido favorecido pela ação do pH 3,0 usado na formulação das películas. Nuanmano et al. (2015) observou o mesmo efeito ao adicionar gelatina de peixe como plastificante em filmes de proteínas miofibrilares de tilápia vermelha.

Foi também observado que o acréscimo nos níveis dos polímeros usados na formulação foi acompanhado do aumento nos valores de RT. Provavelmente, devido ao aumento no número

de cadeias proteicas e, conseqüente elevação das interações intermoleculares na rede dos filmes (KAEWPRACHU et al., 2016).

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes biodegradáveis é umas das propriedades mais importantes para a aplicabilidade destes. Em geral os filmes a base de proteínas de peixe apresentam baixa barreira ao vapor de água o que dificulta sua utilização como embalagem. No entanto, o PVA é uma propriedade fortemente relacionada com as características do polímero e suas interações com polímeros associados. Quando ocorrem fortes interações inter e intramoleculares entre os biopolímeros, ligações cruzadas de dissulfeto e hidrofóbicas podem acontecer, resultando em baixo PVA (KAEWPRACHU et al., 2016). Como a migração de água através do filme também é regida pela rede do mesmo, a espessura deve ser levada em consideração, pois filmes mais espessos e com densa estrutura impedem a migração de água, diminuindo o PVA (OUJIFARD et al., 2013)

A solubilidade em água dos filmes biodegradáveis é em grande parte dependente da estrutura dos polímeros que os compõem e, em caso de mistura, das ligações estabelecidas entre eles (KAEWPRACHU; RAWDKUEN, 2014). Como esperado os filmes de GP apresentaram alta solubilidade; primeiramente, pela estrutura em espiral que o colágeno adquire após hidrólise parcial durante a extração da gelatina, e também devido à composição de aminoácidos hidrofílicos da mesma (HOQUE et al., 2011; YAO et al., 2017). O uso de glicerol como plastificante na formulação dos filmes contribuiu para este efeito, pois além de ser hidrofílico, o glicerol aumenta a mobilidade entre as cadeias peptídicas da gelatina, tornando-os mais solúveis (EKRAMI; EMAM-DJOMEH, 2014).

Os peptídeos das proteínas miofibrilares dos peixes são unidos principalmente por ligação dissulfeto covalente, tidas como ligações fortes. Estas ligações tornam a rede dos filmes mais densos e compactos, diminuindo ligações de hidrogênio com a água, dando aos filmes de PMP características de solubilidade muito inferiores aos de GP (CHINABHARK et al., 2007). Ao serem formulados filmes com gelatina e proteínas miofibrilares de peixe observa-se que a solubilidade destes não diferenciou ($p \leq 0,05$) dos filmes de PMP, provavelmente, devido à boa compatibilidade entre os polímeros, que propiciou interações inter e intramoleculares formando matriz dos filmes coesa (ARFAT et al., 2014).

Cor e transparência

A coloração amarelada predominante em todos os filmes pode estar associada à presença de lipídeos ainda retidos nas proteínas, especialmente na gelatina, pois é sabido que

peles de peixes contêm expressiva fração lipídica. Mesmo com repetidas lavagem durante a extração das proteínas (miofibrilar e colágeno) é possível que tenham permanecido resíduos de lipídeos e de agentes pró-oxidantes como hemoglobina e mioglobina, sendo substrato para oxidação e, conseqüente, aparecimento de pigmentos amarelados (TONGNUANCHAN et al., 2011). Comumente a coloração amarelada dos filmes também é associada a produtos da reação de Maillard, que é a reação química entre grupo amino e carbonila. No entanto, o músculo de peixe é pobre em carboidratos, especialmente, açúcares redutores (KROCHTA, 2002). Entretanto, aldeídos oriundos de oxidação lipídica podem servir como fonte de carbonila para a reação de Maillard, particularmente durante aquecimento a 70°C necessário para obtenção da solução filmogênica (BOYD et al., 1993).

A coloração foi intensificada com o aumento dos polímeros na formulação dos filmes fazendo com que a transparência diminuísse, e isso ocorre porque a concentração de polímeros impede que a luz ultrapasse a camada densa do filme. Resultados semelhantes são retratados por Tongnuanchan et al. (2011) ao estudarem a relação entre o processo de oxidação lipídica e o surgimento de coloração em filme de proteína muscular de tilápia vermelha durante armazenamento e também por Abdelhedi et al. (2018) em filmes de mistura de gelatina bovina e hidrolisado proteico de peixe.

Os filmes de PMP são em geral mais rijos e resistentes termicamente, devido a maior quantidade de ligações dissulfeto e ligações hidrofóbicas entre as cadeias proteicas (TONGNUANCHAN et al., 2011b). Os filmes de BL tiveram temperaturas de degradação superiores aos filmes de GP, possivelmente pelas interações entre PMP e GP que resultou em rede de filme mais robusta, o que lhes deu maior resistência ao calor. Resultados semelhantes foram descritos por Hoque et al. (2011) e Arfat et al. (2014) ao avaliarem filmes de mistura de gelatina de peixe com proteína de feijão-mungo e gelatina com proteína miofibrilar de peixe, respectivamente.

Como a perda inicial está mais relacionada com evaporação de água livre e adsorvida, certamente a água contida na superfície do filme foi mais facilmente removida, pois as ligações predominantes entre as cadeias proteicas das proteínas miofibrilares são de natureza hidrofóbicas. Por outro lado, no filme de BL 1%, esta perda só se deu em temperatura elevada (258°C) onde as fortes ligações entre PMP e GP foram quebradas e as proteínas de alto peso molecular degradadas (REDDY; RHIM, 2014; KAEWPRACHU et al., 2016; MOHAJER, REZAEI; HOSSEINI, 2017).

As relações estruturais observadas através dos espectros de FTIR para os filmes de puros e de mistura demonstram haver uma diminuição na intensidade das bandas de amida A no filme de BL 3% (3263 cm^{-1}), indicando boa interação entre os polímeros formadores do filme. Quando espectro vibracional é deslocado para menor comprimento de onda na faixa de amida A sugere-se que há um alargamento dos grupos OH e NH interagindo e formando ligações de hidrogênio entre as moléculas dos polímeros na rede do filme (HOQUE et al., 2010). Este resultado reforça a boa compatibilidade entre as cadeias das proteínas miofibrilares e de gelatina. Tais interações são refletidas nas propriedades mecânicas e de barreira dos filmes de mistura (Tabela 2.1). Porém, quando ocorre o deslocamento para maior comprimento de onda, as interações são de natureza hidrofóbica como interações entre grupos amina e carbonila (XIE et al., 2006).

Arfat et al. (2014) reportam resultados semelhantes ao produzir filmes misturando proteínas miofibrilares e gelatina de peixe. Assim como os espectros relatados por Hoque et al. (2011) ao combinar gelatina de peixe e proteína de feijão-mungo.

Quanto ao espectro vibracional observado na faixa $1047\text{-}1036\text{ cm}^{-1}$ em todos os filmes é atribuído as possíveis interações entre o plastificante e a estrutura dos polímeros na matriz do filme, sendo favorecidas por ligações de hidrogênio derivada dos grupos OH do glicerol, confirmando assim a mistura homogênea entre os polímeros e glicerol (BERGO; SOBRAL, 2006).

Considerando as micrografias dos filmes de GP onde são mostradas rugosidade e fissuras é possível supor que tais características tenham diminuído as taxas de RT e elevado os valores de %E, deixando-os mais elásticos. Por outro lado, tais aberturas facilitaram a penetração de gases e água, tornando-os mais solúveis e permeáveis (MIRZAKHANI et al., 2015). Já os filmes de PMP são mais densos e rijos, porém a presença de grande quantidade de partículas insolúveis provoca aglomeração e os torna áspero ao toque. Ademais, o material seco na rede do filme provoca rigidez e eleva a resistência à tração, no entanto, diminui sua solubilidade (Tabela 2.1). Observações semelhantes foram relatadas por SOBRAL et al. (2002) em filmes obtidos de proteína miofibrilar de tilápia.

Sendo a estrutura dos filmes de BL mais compacta, com poucas fissuras e sem partículas insolúveis, pode-se afirmar que há boa compatibilidade entre proteínas miofibrilares e gelatina de peixe. A organização molecular entre os polímeros na rede dos filmes de BL possibilitou fortes interações entre os mesmos, dando aos filmes características mecânicas promissoras

(Tabela 2.1). Arfat et al. (2014) observou resultados próximos aos desta investigação ao estudar filmes obtidos de mistura entre proteínas miofibrilares e gelatina de peixe.

5. CONCLUSÃO

A mistura entre gelatina e proteínas miofibrilares de subprodutos de peixe produziu filmes com matriz coesa e homogênea. Os filmes de mistura tiveram melhores propriedades mecânicas e de barreira quando comparados com os filmes dos polímeros individuais. A boa interação química entre os biopolímeros possibilitou a formação de uma película resistente e flexível, com baixa permeabilidade ao vapor de água, além de visualmente claros e transparentes; características desejadas em embalagens de alimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio disponibilizado pela Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal do Pará, pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil), e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ, Brasil).

REFERÊNCIAS

ABDELHEDI, O.; NASRI, R.; JRIDI, M.; KCHAOU, H.; NASREDDINE, B.; KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F.; NASRI, M. (2018) Composite bioactive films based on smooth-hound viscera proteins and gelatin: Physicochemical characterization and antioxidant properties. **Food Hydrocolloids**, 74: 176-186. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.006>.

ALFARO, A.T.; FONSECA, G.G.; BALBINOT, E.; PRENTICE, C. (2014) Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food Science & Technology International**, 20(5): 373-381. <http://dx.doi.org/10.1177/1082013213488776>. PMID:23751549.

ANSORENA, M.R.; ZUBELDÍA, F.; MARCOVICK, N.E. (2016) Active wheat gluten films obtained by thermoplastic processing. **Food Science and Technology**, 69: 47-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.020>.

ARAÚJO, C.S.; RODRIGUES, A.M.C.; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; ARAÚJO, E.A.F.; LOURENÇO, L.F.H. (2018) Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, 16: 23-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodpsl.2018.01.009>.

ARFAT, Y.A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. (2014a). Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, 39: 58-67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.028>.

ARFAT, Y.A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SUMPAPAVAPOL, P.; SONGTIPYA, P. (2014b). Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film

containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, 41: 265-273. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.04.023.

ARROYO, B.J.; SANTOS, A.P.; MELO, E.A.; CAMPOS, A.; LINS, L.; BOYANO-OROZCO, L.C. (2019) Bioactive compounds and their potential use as ingredients for food and its application in food packaging. In: Campos, M.R.S. (Ed.). **Bioactive compounds**, 8:146-153. doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00008-6.

ASTM – American Society for Testing and Materials. (1986) ASTM D882: standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting. Philadelphia: ASTM.

BERGO, P.; SOBRAL, P.J.A. (2007) Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**, 21(8):1285-1289. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.09.014.

BLANC, S.; MASSAGLIA, S.; BRUN, F.; PEANO, C.; MOSSO, A.; GIUGGIOLI, N.R. (2019) Use of bio-based plastics in the fruit supply chain: an integrated approach to assess environmental, economic, and social sustainability. **Sustainability**, 11(9):2475-2493. doi.org/10.3390/su11092475.

BOURBON, A.I.; PEREIRA, R.N.; PASTRANA, L.M.; VICENTE, A.A.; CERQUEIRA, M.A. (2019) Protein-Based nanostructures for food applications. **Gels**, 5(1):9. doi.org/10.3390/gels5010009. PMID:30813359.

BOYD, L.C.; GREEN, D.P.; GIESBRECHT, F.B.; KING, M.F. (1993) Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tert butyl-hydroquinone and rosemary extract. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 61(1):87-93. doi.org/10.1002/jsfa.2740610114.

BRAVIN, B.; PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. (2006) Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. **Journal of Food Engineering**, 76(3):280-290. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.021.

BUENO, C.M.; ALVIM, I.D.; KOBERSTEIN, T.C.R.D.; PORTELLA, M.C.; GROSSO, C. (2011) Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, 14(1):65-73. doi.org/10.4260/BJFT2011140100009.

CHINABHARK, K.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. (2007) Effect of pH on properties of protein-based film from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) surimi. **Bioresource Technology**, 98(1):221-225. doi.org/10.1016/j.biortech.2005.11.012. PMID:16378726.

EKRAMI, M.; EMAM-DJOMEH, Z. (2014) Water vapor permeability, optical and mechanical properties of salep-based edible film. **Journal of Food Processing and Preservation**, 38(4):1812-1820. doi.org/10.1111/jfpp.12152.

GUILBERT, S.; GONTARD, N. (2005). Agro-polymers for edible and biodegradable films: review of agricultural polymeric materials, physical and mechanical characteristics. **Innovations in Food Packaging**, 263-276. https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50048-6

- GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; MONTERO, M.P. (2011) Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. **Food Hydrocolloids**, 25(8):1813-1827. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. (1996) Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, 58(8):206-211. doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x.
- GUERRERO, P.; STEFANI, P.M.; RUSECKAITE, R.A.; DE LA CABA, K. (2011) Functional properties of films based on soy protein isolate and gelatin processed by compression molding. **Journal of Food Engineering**, 105(1):65-72. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.003.
- HAMMANN, F.; SCHMID, M. (2014) Determination and quantification of molecular interactions in protein films: a review. **Materials**, 7(12):7975-7996. doi.org/10.3390/ma7127975. PMID:28788285.
- HAN, J.H.; FLOROS, J.D. (1997) Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. **Journal of Plastic Film & Sheeting**, 13(4):287-298. doi.org/10.1177/875608799701300405.
- HOQUE, M.S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. (2011) Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, 25(1):82-90. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.05.008.
- HOSSEINI, S.F.; JAVIDI, Z.; REZAEI, M. (2016) Efficient gas barrier properties of multi-layer films based on poly(lactic acid) and fish gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, 92:1205-1214. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.034.PMID:27524275.
- KAEWPRACHU, P.; RAWDKUEN, S. (2014) Mechanical and physico-chemical properties of biodegradable protein-based films: a comparative study. **Food and Applied Bioscience Journal**, 2(1):15-30. doi.org/10.14456/fabj.2014.2.
- KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; TONGDEESOONTORN, W.; RAWDKUEN, S. (2016) Biodegradable protein-based films and their properties: a comparative study. **Packaging Technology & Science**, 29(2):77-90. doi.org/10.1002/pts.2183.
- KROCHTA, J.M. (2002) Protein as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: Gennadios, A. (Ed.). **Protein-based films and coating**. New York: CRC Press. p.1-39. doi.org/10.1201/9781420031980.ch1.
- LOPEZ-RUBIO, A.; LAGARÓN, J.M.; OCIO, M.J. (2008) Active polymer packaging of non-meat food products. **Smart Packaging Technologies**, 2:19-30. doi.org/10.1002/9780470753699.ch2.
- MIRZAKHANI, M.; MOINI, S.; EMAM-DJOMEH, Z. (2015) Physical and mechanical features investigation of protein-based biodegradable films obtained from trout fish waste. **Journal of Food and Bioprocess Engineering**, 1(2):49-62.
- MOHAJER, S.; REZAEI, M.; HOSSEINI, S.F. (2017) Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. **Carbohydrate Polymers**, 157:784-793. doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.061. PMID:27987991.

MUYONGA, J.H.; COLE, C.G.B.; DUODU, K.G. (2004) Characterization of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, 85(1):81-89. doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.006.

NUANMANO, S.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S. (2015) Potential use of gelatin hydrolysate as plasticizer in fish myofibrillar protein film. **Food Hydrocolloids**, 47:61-68. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.005.

NUR HANANI, Z.A.; ROOS, Y.H.; KERRY, J.P. (2012) Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties. **Food Hydrocolloids**, 29(1):144-151. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.01.015.

NUR HANANI, Z.A.; ROOS, Y.H.; KERRY, J.P. (2014) Use and applications of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of Biological Macromolecules**, 71:94-102. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.027. PMID:24769086.

OUIJIFARD, A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SEYFABADI, J. (2013) Properties of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein based film as affected by cryoprotectants. **Food Hydrocolloids**, 32(2):245-251. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.12.023.

PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; ARTHARN, A. (2007) Properties and microstructure of protein-based film from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle as affected by palm oil and chitosan incorporation. **International Journal of Biological Macromolecules**, 41(5):605-614. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.07.020. PMID:17868827.

ROMANI, V.P.; MACHADO, A.V.; OLSEN, B.D.; MARTINS, V.G. (2018) Effects of pH modification in proteins from fish (Whitemouth croaker) and their application in food packaging films. **Food Hydrocolloids**, 74:307-314. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.021.

STATSOFT. 2004. Statistica for Windows, versão 7.0.

SILVA, N.S.; HERNÁNDEZ, E.J.G.P.; ARAÚJO, C.S.; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; LOURENÇO, L.F.H. (2018) Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. **CYTA: Journal of Food**, 16(1):340-349. doi.org/10.1080/19476337.2017.1406005.

SOBRAL, P.J.A.; Monterrey-Q, E.S.; Habitante, A.M.Q.B. (2002) Glass transition study of Nile tilapia myofibrillar protein films plasticized by glycerin and water. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 67(2):499-504. doi.org/10.1023/A:1013905400900.

SOUZA, A.C.; DIAS, A.M.A.; SOUSA, H.S.; TADINI, C.C. (2014) Impregnation of cinnamaldehyde into cassava starch biocomposite films using supercritical fluid technology for the development of food active packaging. **Carbohydrate Polymers**, 102:830-837. doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.082. PMID:24507353.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. (2011) Roles of lipid oxidation and pH on properties and yellow discoloration during storage of film from red tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle protein. **Food Hydrocolloids**, 25(3):426-433. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.07.013.

URANGA, J.; ETXABIDE, A.; GUERRERO, P.; DE LA CABA, K. (2018) Development of active fish gelatin films with anthocyanins by compression molding. **Food Hydrocolloids**, 84:313-320. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.018.

WANG, L.; LIU, L.; HOLMES, J.; KERRY, J.F.; KERRY, J.P. (2007) Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. **International Journal of Food Science & Technology**, 42(9):1128-1138. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01440.x.

XIE, Y.; ZHOU, H.M.; QIAN, H.F. (2006) Effect of addition of peach gum on physicochemical properties of gelatin-based microcapsule. **Journal of Food Biochemistry**, 30(3):302-312. doi.org/10.1111/j.1745-4514.2006.00061.x.

YAO, Y.; DING, D.; SHAO, H.; PENG, Q.; HUANG, Y. (2017) Antibacterial activity and physical properties of fish gelatin-chitosan edible films supplemented with D-Limonene. **International Journal of Polymer Science**, 1-9. doi.org/10.1155/2017/1837171.

ZAVAREZE, E.R.; HALAL, S.L.M.; TELLES, A.C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. (2012) Biodegradable films based on myofibrillar proteins of fish. **Brazilian Journal of Food Technology**, 4:53-57. doi.org/10.1590/S1981-67232012005000038.

CAPÍTULO III: MISTURA DE BIOPOLÍMEROS PARA O DESENVOLVIMENTO DE BIOPLÁSTICOS COM PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS APRIMORADAS¹

RESUMO

Este estudo foi conduzido com o objetivo de melhorar as propriedades físicas e de barreira de filmes à base de gelatina de peixe (GP) e de proteínas miofibrilares de peixe (PMP) e de blendas (BL) com a mistura dos dois polímeros. Os filmes elaborados com GP, PMP e as BL foram analisados e os resultados obtidos mostraram que a BL produziu películas com boa permeabilidade ao vapor de água-PVA ($2,22 \times 10^{-11}$) e que as propriedades mecânicas de resistência à tração e percentual de alongação foram favorecidas pela mistura dos polímeros. A estabilidade térmica (TG/DTG) dos filmes de BL foi melhor em comparação com a dos filmes com as proteínas puras. A análise espectroscópica (FTIR) revelou boa interação entre os polímeros, sendo regidas por ligação de hidrogênio, o que foi confirmado pela baixa solubilidade (23,82%). A técnica de mistura de polímeros influenciou positivamente nas propriedades mecânicas e de barreiras de filmes biodegradáveis.

Palavras-chave: gelatina de peixe, proteína miofibrilar de peixe, filme biodegradável, propriedades funcionais.

¹Artigo submetido ao periódico Journal Food Engineering

1. INTRODUÇÃO

Filmes biodegradáveis vêm sendo produzidos como alternativa à embalagens convencionais. Diversos polímeros naturais são utilizados para obtenção de filmes, dentre os quais as proteínas têm apresentado grande vantagem, pois são provenientes de fontes renováveis e capazes de formar uma matriz contínua e coesa (RHIM; NG, 2007). A capacidade de formação de filmes e as propriedades funcionais da gelatina e proteínas miofibrilares de peixe estão sendo amplamente exploradas em estudos, visando o desenvolvimento de filmes biodegradáveis (CUQ, 1996; HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004; KOŁODZIEJSKA, 2008; ZAVAREZE et al., 2012; ALFARO et al., 2013; ARFAT et al., 2014).

Filmes à base de proteínas miofibrilares de peixe têm sido citados na literatura, por possuírem propriedades de barreiras seletivas ao oxigênio, à oxidação lipídica e perdas de compostos voláteis (GARCIA; SOBRAL, 2005). No entanto, pesquisas mostram que os filmes formados somente por proteínas miofibrilares apresentam baixa propriedade de barreira de vapor de água, devido à hidrofiliabilidade de aminoácidos. Além de serem rígidas, pela presença de forte ligação covalente, especialmente de dissulfeto, sendo necessária adição significativa de plastificantes (40 a 60%), tais como glicerol e sorbitol, para conferir a flexibilidade adequada ao filme (PASCHOALICK, 2003; PRODPRAN; BENJAKUL; ARTHARN, 2007).

Filmes à base de gelatina de pescado em geral são transparentes, apresentam propriedades mecânicas interessantes, como elasticidade e maleabilidade, porém mais susceptíveis ao vapor de água. Visando melhorar suas características, diversos métodos têm sido estudados, como: modificação química, térmica e enzimática (CARVALHO; GROSSO, 2004; HERNANDEZ-MUNOZ; VILLALOBOS; CHIRALT, 2004; JIANG et al., 2007; LEI et al., 2007).

Outra alternativa é a mistura de proteínas à outros biopolímeros com o objetivo de melhorar propriedades dos filmes como a alongação, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e resistência à tração (WU et al., 2002, DENAVI et al., 2009; HOQUE et al., 2011; ARFAT et al., 2014).

As propriedades de geleificação, retenção de água, emulsificação, plasticidade, elasticidade e boa barreira ao oxigênio tornam esses biopolímeros promissores à aplicação de filmes biodegradáveis; além de serem matérias-primas abundantes e de baixo custo. A técnica de produzir filmes a partir de misturas de biopolímeros favorece a formação de filmes com características superiores e sem a necessidade de pré-tratamentos (HOQUE et al., 2011).

Arfat et al. (2014) produziram filmes a partir de mistura de gelatina e proteínas miofibrilares de peixe em diferentes proporções, pH e quantidades de plastificante e constataram que as propriedades de barreira mecânica, permeabilidade ao vapor de água e alongação na ruptura foram melhoradas. A melhoria das propriedades dos filmes se dá pela interação e arranjo entre as proteínas miofibrilares e a gelatina de peixe. De acordo com Hoque et al. (2011) a mistura realizada em proporções e miscibilidade adequadas produz novos materiais com propriedades superiores a materiais similares. A proposta desta pesquisa é elaborar filmes biodegradáveis a partir da mistura de proteínas miofibrilares e gelatina de pele de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) com propriedades físicas e mecânicas melhoradas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATÉRIA-PRIMA

Os resíduos provenientes da produção de filés (aparas da filetagem e pele) de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) foram doados pela indústria pesqueira Ecomar Ltda, localizada no município de Vigia-PA, Brasil. Os resíduos foram lavados em água clorada (5 ppm) a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm$. As aparas da filetagem foram trituradas por 1,5 minutos em Cutter (Filizzola, Sire Cutter). As peles foram descamadas e cortadas em pedaços de aproximadamente de 4x4 cm. Ambas as amostras foram embaladas à vácuo e congeladas a $-26^{\circ}\text{C} \pm$ até o momento da extração de proteínas miofibrilares e da gelatina

2.2. OBTENÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS

2.2.1. Obtenção das proteínas miofibrilares

Para obtenção das proteínas miofibrilares, foi utilizada a metodologia de Zavareze et al (2012) adaptada. Visando a desodorização, o músculo triturado de pescada amarela foi misturada à ácido fosfórico a 0,02% na proporção 1:3 (m/v) por 15 minutos e, em seguida filtrada em tecido de faillet. A parte sólida obtida foi lavada com água destilada fria (7°C) na proporção de 1:3 (m/v) para a retirada do excesso de ácido sendo filtrada novamente (XAVIER NEVES et al, 2019).

O material resultante foi misturado com solução de cloreto de sódio 50 Mm a $7^{\circ}\text{C} \pm$ na proporção de 1:3 (m/v) por 5 minutos seguido de centrifugação a 10.000 rpm por 4 min à $4^{\circ}\text{C} \pm$ em centrifuga refrigerada (Thermo Fisher, Multifuge X1R), este processo foi repetido duas vezes e a pasta resultante (proteínas miofibrilares) foi distribuída em bandejas de aço inoxidável, congeladas a $-26^{\circ}\text{C} \pm$ e liofilizadas a $-60^{\circ}\text{C} \pm$ por 48h em liofilizador (Liotop,

L101). A o processo de liofilização o material foi peneirado (Tyler 35 com abertura de 0,42 mm) obtendo-se a proteínas miofibrilares de pescada amarela (PMP).

2.2.2. Obtenção da gelatina

A extração da gelatina da pele de pescada amarela foi realizada como proposto por Bueno (2011) com modificações, cerca 20g de pele foram misturadas à 100 mL de solução de NaCl 0,6 M, agitada em incubadora Shaker (Cielanb, modelo CE-725B) à 85 rpm a 25°C ± por 15 minutos e logo após drenadas e lavadas em água corrente. Em seguida foi adicionada às peles solução de NaOH 0,3 M (1:5 m/v) agitadas à 85 rpm a 25°C ± por 15 minutos e logo após drenadas e lavadas em água corrente. Posteriormente as peles foram adicionadas de ácido acético 0,02 M na proporção 1:5 (m/v) sob agitação por 1 hora, drenadas e lavadas em água corrente.

Em seguida as peles foram adicionadas a água destilada na proporção 1:5 (m/v), levadas ao banho-maria (TECNAL, TE-057) por 12 horas à 50°C ± e filtradas em tecido de faillet. A solução obtida foi recolhida em bandejas de aço inox, congelada a -26°C ± por 48, liofilizada a -60°C ± por 36 horas, obtendo-se a gelatina liofilizada de pescada amarela (GP)

2.2.3. Perfil de aminoácidos totais dos biopolímeros de pescada amarela

O perfil de aminoácidos totais da gelatina de foi determinado utilizando cromatógrafo líquido de alta performance Waters-PICO Tag™, Waters Model 712 WISP (Waters, Watford, Herts, UK) (WHITE; HART; FRY, 1986). Foi usado como referência o perfil de aminoácidos totais da proteína miofibrilar da pescada amarela, determinado em trabalho anterior (PEREIRA, 2015).

2.3. ELABORAÇÃO DOS FILMES

Para elaboração dos filmes “puros”, de proteínas miofibrilares (PMP) ou gelatina (GP), utilizou-se a metodologia proposta Zavareze et al (2012) adaptada por Xavier Neves et al. (2019). Estes filmes foram preparados por suspensão dos polímeros com 1,0 e 3,0% (m/v), pH ajustado para 3,0 com ácido clorídrico (HCl) 2M, e glicerol à 20% como plastificante. A solução foi homogeneizada à 10.000 rpm durante 5 minutos em homogeneizador (Turratec, Tecnal, TE-102) e, em seguida aquecida à 70°C ± em banho-maria (Tecnal, TE-057) durante 40 minutos. A solução filmogênica obtida foi filtrada e espalhada em bandejas de silicone com 22 cm de diâmetro, sendo colocadas em estufa incubadora com circulação de ar (Quimis, Q315M) a 30°C ± durante 18 horas.

Os filmes blendas (BL) obtidos a partir da mistura de proteínas miofibrilares e gelatina, foram elaborados de acordo com a metodologia de Arfat et al. (2014) com modificações. Foram preparados nas concentrações de 1,0 e 3,0% (m/v), sendo os polímeros misturados na proporção 1:1 (PML:GP) e utilizando a mesma quantidade de glicerol dos filmes puros (20%).

A gelatina (GP) foi previamente dissolvida em 50 mL de água destilada e reservada. As proteínas miofibrilares (PML) foram solubilizadas em 100 mL de água e adicionadas ao plastificante (glicerol à 20%). Posteriormente o pH da solução foi ajustado para 3,0 com HCl 2M e homogeneizada (Turratec, Tecnal, TE-102) à 10.000 rpm durante 5 min. Em seguida a gelatina foi adicionada a solução de proteínas miofibrilares, novamente homogeneizada e aquecida em banho-maria à 70°C ± durante 40 minutos. A solução final foi filtrada em tecido de faillet, espalhada no suporte de silicone com 22 cm de diâmetro e levada à secagem nas mesmas condições dos filmes puros.

2.3.1. Determinação das propriedades dos filmes

Espessura

A espessura do filme foi medida utilizando micrômetro digital (Insize, modelo IP54). Foram medidos oito locais aleatórios em torno de cada filme obedecendo ao afastamento da borda de 60 mm (ZAVAREZE et al., 2012)

Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e porcentagem de alongamento na ruptura (E) dos filmes foram determinados empregando-se metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) utilizando texturômetro (QTS, Brookfield). A separação inicial das garras e a velocidade foram de 30 mm e 1mm.s⁻¹, respectivamente, e o corpo de prova (2,5 cm x 3,0 cm) de cada tipo de filme. A força máxima (N) e extensão final à ruptura foram utilizadas para calcular a RT e E, respectivamente.

Permeabilidade ao Vapor de Água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada utilizando o método modificado ASTM D882-95 descrito por Arfat et al. (2014). O filme foi aderido à abertura de um becker com 4,5 cm de diâmetro e 7,0 cm de altura contendo 10 g de sílica gel a 0% UR; 0Pa de pressão de vapor de água a 30°C ±. O conjunto de amostras foram colocados em dessecador contendo água destilada e mantidos estufa incubadora com circulação de ar (Quimis, Q315M) à 30°C a 99% UR, e 4244,9 Pa de pressão de vapor de água a 30°C ± por um período de 10 horas. A PVA foi calculada através da Equação 1.

$$PVA = \frac{W.X}{A.t.\Delta P} \quad \text{Equação 1}$$

Onde: PVA: permeabilidade ao vapor de água ($\text{g.m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$); W: ganho de peso pelo dessecante (g); X: espessura do filme (mm); A: área da superfície do biofilme exposto (m^2); t: tempo de incubação (horas); ΔP : diferença de pressão parcial (Pa). Três corpos de provas de cada filme foram usados para o teste de PVA.

Solubilidade do filme

Os filmes foram recortados em discos de 2 cm de diâmetro e determinada a matéria seca em estufa a $105^\circ\text{C} \pm$ por 24 horas. As amostras secas foram imersas em 50 mL de água. O sistema foi agitado em incubadora Shaker refrigerada (Cielanb, CE-725B) com velocidade de 150 rpm por 24 horas à $25^\circ\text{C} \pm$. Em seguida, as amostras foram removidas e secas (105°C por 24 horas), para determinar a matéria seca não dissolvida em água (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1994). O percentual de solubilidade foi calculado usando a Equação 2.

$$S = \frac{m_i - m_f}{m_i} \cdot 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde: S: solubilidade (%); m_i : massa seca inicial (g); m_f : massa seca final (g)

Transmissão de luz e Transparência

A barreira à luz ultravioleta e do visível dos filmes foi medida na faixa de 200 e 800 nm em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22) conforme descrito por Shiku et al. (2004). A transparência dos filmes foi determinada a 600 nm por meio da Equação 3 de acordo com o método ASTM D1746 (HAN; FLOROS, 1997).

$$\text{Transparência} = \frac{\log\%T}{e} \quad \text{Equação 3}$$

Onde: T: transmitância a 600 nm; e: espessura do biofilme (mm).

Parâmetros de Cor

A cor dos filmes foi determinada em colorímetro (Minolta, CR 310) obtendo-se parâmetros de L^* (luminosidade), a^* (intensidade do vermelho), b^* (intensidade do amarelo), C^* (valor do croma), h^* (ângulo de tonalidade) e a diferença total de cor (ΔE^*) calculado de acordo com a Equação 4.

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{Equação 4}$$

Onde: Δ é a diferença dos parâmetros de cor da amostra

Termogravimetria (TG/DTG)

Os filmes foram analisados utilizando analisador termogravimétrico (Shimadzu, DTG-60AH) em atmosfera de nitrogênio com vazão de $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. As amostras foram aquecidas a

partir da temperatura ambiente até $600^{\circ}\text{C} \pm$ com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. A aquisição dos registros e tratamento dos dados foi realizada com auxílio do software TA60 versão 2.21 (Shimadzu).

Difração de Raio X (DRX)

As medidas de DRX dos filmes foram realizadas com o uso de difratômetro (Bruker, D8 Advance) com geometria Bragg-Brentano e detector LynxEye Tubo de Cu, operando a 40 kV e 40 mA, e o raios derivados de radical filtrada por níquel Cu $K\alpha$ ($1,540598\text{\AA}$). Os difratogramas foram registrados entre os ângulos de 2θ de 5° e 60° com taxa de varredura de $0,02^{\circ}\text{ s}^{-1}$.

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho foi realizada em espectrômetro com transformador de Fourier (Bruker, Vertex 70v). Os espectros foram obtidos na faixa espectral de 400 a 4000 cm^{-1} coletados 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} .

Caracterização microscópica do filme

A microestrutura dos filmes foi determinada utilizando microscópio eletrônico de varredura (Tescan, Vega3), com voltagem de aceleração de 15 kV. As amostras foram metalizadas com ouro para permitir condutividade elétrica necessária à formação das imagens com auxílio da metalizadora (Quorum Technologies, SC7620). As micrografias foram capturas com ampliação de 7000x para a superfície e 4000x para a secção transversal do filme.

2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de espessura, solubilidade, PVA, RT, %E, cor, e transparência foram submetidos à análise de variância (ANOVA) realizada através do programa Statistica® versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os filmes de gelatina, proteínas miofibrilares e de mistura mostraram-se visualmente homogêneos, finos e transparentes. Quando submetidos à pressão de alongamento manualmente foram flexíveis e elásticos. Sua aparência geral aproxima-se aos filmes derivados de petroquímicos.

3.1. PROPRIEDADES DOS FILMES

3.1.1. Perfil de aminoácidos totais dos biopolímeros de pescada amarela

O perfil de aminoácidos totais obtido para gelatina de pescada amarela (Tabela 3.1) é semelhante a outros peixes amazônicos, como a dourada (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a), e o filhote (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017b) comprovando que o habitat é determinante na composição. Os aminoácidos predominantes foram a glicina (GLY), prolina (PRO), alanina (ALA) e hidroxiprolina (HPRO). É desejável que a gelatina possua maior teor possível de iminoácidos, pois estes influenciam positivamente nas propriedades tecnofuncionais, como força do gel e ponto de fusão (OLIVEIRA et al., 2019).

Tabela 3.1. Perfil de aminoácidos totais dos biopolímeros de pescada amarela

| Resíduos /100 Resíduos | | Gelatina ¹ | Proteína Miofibrilar ² |
|------------------------|------------|-----------------------|-----------------------------------|
| Aspartato | ASP | 5,28 | 9,53 |
| Ácido glutâmico | GLU | 9,26 | 15,29 |
| Serina | SER | 3,17 | 3,55 |
| Histidina | HYS | 0,91 | 1,53 |
| Taurina | TAU | Não detectado | 0,07 |
| Arginina | ARG | 8,86 | 6,57 |
| Treonina | THR | 3,16 | 4,51 |
| Alanina | ALA | 10,08 | 5,39 |
| Tirosina | TYR | 0,78 | 3,43 |
| Valina | VAL | 1,98 | 4,67 |
| Metionina | MET | 1,71 | 2,94 |
| Cisteína | CYS | 1,07 | 0,49 |
| Isoleucina | ILE | 1,08 | 4,49 |
| Leucina | LEU | 2,50 | 7,63 |
| Fenilalanina | PHE | 1,89 | 3,61 |
| Lisina | LIS | 3,24 | 9,02 |
| Glicina | GLY | 24,34 | 3,78 |
| Prolina | PRO | 11,86 | 3,37 |
| Hidroxiprolina | HPRO | 7,05 | 0,47 |
| Iminoácidos totais | PRO + HPRO | 18,91 | 3,77 |
| TOTAL | | 98,22 | 90,36 |

¹Erro máximo de 15% e 5% nos picos mais altos e intermediários, respectivamente

²Adaptado de (PEREIRA, 2015)

Em relação à proteína miofibrilar (Tabela 3.1), os aminoácidos predominantes são o ácido glutâmico (GLU), aspartato (ASP) e lisina (LIS). Uma maior solubilidade em água pode ser atribuída a estes aminoácidos, principalmente, possuírem radicais contendo grupo carbonila (-OH) e amino (-NH₂), aumentando a capacidade de ligação com a água (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

Aspartato (ASP), Ácido glutâmico (GLU), Histidina (HYS), Arginina (ARG) e Lisina (LIS) representam, aproximadamente, 27% do total de aminoácidos na gelatina e 42% na proteína miofibrilar de pescada amarela (Tabela 3.1). Eles possuem grupo R' contendo aminas livres, com maior afinidade para ligação com ácidos graxos e outros grupos funcionais de carga oposta, o que resulta em menor solubilidade em água e promove as ligações proteínas-gorduras.

3.1.2. Propriedades dos filmes biodegradáveis

Os resultados das propriedades dos filmes puros, bem como os filmes de mistura (BL) nas concentrações de 1 e 3% são apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Propriedades dos filmes puros e de blenda polimérica

| Filme | Espessura (mm) | RT (MPa) | Elongação (%) | PVA (g.m ⁻¹ . s ⁻¹ . Pa ⁻¹) | Solubilidade % |
|---------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---|----------------------------|
| *GP 1% | 0,074 ± 0,01 ^d | 2,90 ± 0,19 ^d | 542,50 ± 2,79 ^b | 1,15 x 10 ⁻¹⁰ ± 0,11 ^c | 90,86 ± 2,29 ^a |
| GP 3% | 0,169 ± 0,01 ^a | 1,12 ± 0,05 ^d | 597,46 ± 0,17 ^a | 2,39 x 10 ⁻¹⁰ ± 0,28 ^a | 75,06 ± 1,07 ^b |
| *PMP 1% | 0,039 ± 0,03 ^e | 10,31 ± 1,25 ^{cb} | 131,01 ± 3,20 ^e | 1,45 x 10 ⁻¹⁰ ± 0,01 ^b | 27,09 ± 0,96 ^c |
| PMP 3% | 0,112 ± 0,01 ^b | 12,48 ± 0,43 ^a | 117,28 ± 0,94 ^f | 9,15 x 10 ⁻¹¹ ± 0,02 ^d | 21,65 ± 0,59 ^d |
| *BL 1% | 0,019 ± 0,01 ^f | 11,20 ± 1,68 ^b | 284,38 ± 1,00 ^d | 2,22 x 10 ⁻¹¹ ± 0,02 ^f | 23,82 ± 3,45 ^{cd} |
| BL 3% | 0,097 ± 0,01 ^c | 9,07 ± 0,31 ^c | 378,24 ± 1,31 ^c | 5,24 x 10 ⁻¹¹ ± 0,38 ^e | 29,88 ± 1,54 ^c |

*GP: gelatina de pescada amarela; PMP: proteína miofibrilar de pescada amarela; BL: mistura de GP + PMP;

**Letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem significativamente (p < 0,05).

Espessura

Observou-se que a espessura dos filmes aumentou com o aumento na concentração dos polímeros (Tabela 3.2). Os filmes de GP apresentaram maior espessura que os filmes PMP e BL nas mesmas concentrações. Isso ocorre devido a forte interação proteína/proteína determinada principalmente por ligações iônicas, tornando a cadeia mais ordenada e linear, obtendo-se filmes de proteína com menor espessura (MARINIELLO et al., 2003). Quando comparados, os filmes puros e os filmes de mistura apresentam diferença significativa (p ≤ 0,05), sendo que os filmes de mistura são menos espessos que os puros nas mesmas concentrações. Comportamento contrário foi relatado por Arfat et al. (2014) que constatou

aumento na espessura dos filmes ao misturar gelatina e proteína miofibrilar de peixe nas mesmas proporções. Lefebvre e Antonov (2001) investigaram a agregação de micelas de caseína com gelatinas alcalinas e ácidas, e observaram que as ácidas formaram os melhores complexos (gelatina-caseína), resultando em uma rede mais ordenada. Possivelmente o uso de pH 3,0 neste estudo favoreceu à miscibilidade dos polímeros na matriz dos filmes.

Por ser uma propriedade que afeta diretamente as demais características dos filmes, a espessura deve ser estudada para aplicações específicas. Geralmente filmes mais finos são melhores para serem aplicados como embalagem de alimento por serem mais transparentes, o que favorece a visualização do produto embalado (KAEWPRACHU; RAWDKUEN, 2014). No entanto, manter boas propriedades tecnológicas como resistência à tração, alongação e PVA, é fundamental para o sucesso da aplicação. Neste estudo a técnica de mistura proporcionou a elaboração de filmes finos e com boas características mecânicas e de barreira, sendo promissores à aplicação em alimentos.

Propriedades mecânicas

Ao observar os filmes de GP, PMP, BL (Tabela 3.2) nota-se que os filmes de GP apresentaram menor resistência à tração e maior percentual de alongação, em função Essa da estrutura colagenosa, formada principalmente por glicina, prolina e hidroxiprolina (Tabela 3.1). Segundo Montero et al. (1990) o baixo grau de interação inter e intramolecular da gelatina torna sua estrutura mais flexível e extensível, causando mesmas características aos filmes obtidos. Os filmes de PMP obtiveram maiores valores de RT e mais baixos para alongação, mostrando serem mais rígidos e pouco elásticos, característica comum aos filmes de proteínas miofibrilares.

Os filmes de mistura exibiram menor resistência à tração que os filmes de PMP e maiores que os de GP. Quanto à alongação os filmes de BL apresentaram-se mais flexíveis que os filmes de PMP e pouco menos que os de GP. Neste estudo, a resistência à tração dos filmes de mistura diminuiu entre 10,26 a 12,02% e a alongação aumentou cerca 142,15 a 288,71% quando comparados com os filmes de PMP; implicando em películas flexíveis, porém com rede reforçada. Além de flexíveis e resistentes os filmes de BL mostraram ser contráteis, pois ao serem alongados estes se deformavam e em seguida reconstituíam a sua forma original. Hamaguchi; Wuyin e Tanaka (2007) explicam que as proteínas miofibrilares formam rede tridimensional de proteínas unidas por ligações iônicas e hidrofóbicas, tornando os filmes rijos e resistentes. De outro modo, a gelatina possui estrutura terciária fibrosa, seguida de estrutura

quaternária hecoidal e reticulada. Sua estrutura linear e polidispersidade a torna mais extensível e disponível para associações inter e intramoleculares (GUERRERO et al, 2011; SIMON-LUKASIK; LUDESCHER, 2004). A reticulação entre as moléculas de gelatina e proteínas miofibrilares formaram filmes com boa resistência à tração e flexibilidade, propriedades mecânicas melhoradas.

Permeabilidade ao vapor de Água (PVA)

Os filmes de GP apresentaram resultados mais elevados de PVA, observando-se maiores valores com o aumento na concentração de gelatina. Para Hoque et al. (2011) a natureza hidrofílica da gelatina favorece a ligação da água aos filmes aumentando o PVA. Os filmes de BL obtiveram menores valores de PVA apesar da gelatina na sua composição. Pronato; Lee e Park (2006) reportaram o mesmo efeito ao misturar gelatina de tilápia e gellan (polissacarídeo substituto ao ágar) e explicam que a permeabilidade reduzida nos filmes pode ter sido determinada pela forte interação e organização das moléculas de proteína e gelatina na matriz dos filmes e essa compactação dificulta a penetração do vapor de água. Observa-se também que o aumento do PVA acompanha a espessura dos filmes.

Solubilidade

Os filmes de GP tiveram maiores valores de solubilidade ao compará-los com os filmes elaborados com PMP e com as BL (Tabela 3.2). Para Gómez-Guillén et al. (2009) isso corre porque a gelatina contém alta quantidade de aminoácidos hidrofílicos e possuem ligações fracas, facilitando sua solubilidade em água. Os filmes de PMP e de BL mostraram solubilidade semelhantes ($p \leq 0,05$), nas concentrações 1 e 3%, e muito inferiores aos de GP. Este comportamento é justificado pelas fortes ligações covalentes, principalmente de dissulfeto, das proteínas miofibrilares que compõem os filmes de PMP e BL. Além disso, os aminoácidos predominantes observados na PMP (Tabela 3.1) possuem maior afinidade com moléculas polares, reduzindo a solubilidade em água. A solubilidade dos filmes de BL manteve-se baixa, em função da ocupação dos sítios ativos em ligações peptídicas, restando poucos aminoácidos hidrofílicos para ligação com solvente (HOQUE et al., 2011)

Transmissão de luz e Transparência

Tabela 3.3: Os valores de transmissão de luz e transparência dos filmes de gelatina, proteínas miofibrilares e blendas em diferentes concentrações.

| Filme | Transmissão de luz | | | | | | | | Transparência |
|---------|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------------------|
| | 200 | 280 | 350 | 400 | 500 | 600 | 700 | 800 | |
| *GP 1% | 77 ± 0,80 | 53,07 ± 1,72 | 71,13 ± 0,31 | 77,33 ± 0,21 | 82,17 ± 0,35 | 82,60 ± 0,44 | 85,30 ± 0,30 | 84,47 ± 0,40 | 1,12 ± 0,03 ^e |
| GP 3% | 88,55 ± 2,33 | 61,60 ± 0,28 | 77,37 ± 0,12 | 82,67 ± 0,06 | 87,73 ± 0,68 | 89,27 ± 1,33 | 90,80 ± 0,10 | 90,47 ± 0,12 | 0,31 ± 0,00 ^f |
| *PMP 1% | 64,70 ± 0,42 | 23,03 ± 0,46 | 74,50 ± 0,26 | 76,93 ± 0,21 | 79,87 ± 0,15 | 79,87 ± 0,31 | 82,00 ± 0,30 | 80,77 ± 0,25 | 2,50 ± 0,04 ^b |
| PMP 3% | 46,40 ± 2,12 | 0,90 ± 0,00 | 61,83 ± 0,40 | 68,77 ± 0,25 | 75,63 ± 0,15 | 76,77 ± 0,06 | 80,37 ± 0,15 | 79,67 ± 0,25 | 6,04 ± 0,01 ^a |
| *BL 1% | 38,90 ± 0,71 | 0,10 ± 0,00 | 43,27 ± 0,06 | 55,60 ± 0,10 | 67,10 ± 0,26 | 69,53 ± 0,25 | 74,50 ± 0,26 | 74,20 ± 0,26 | 1,40 ± 0,01 ^d |
| BL 3% | 16,90 ± 1,27 | 0,10 ± 0,00 | 33,80 ± 0,17 | 46,07 ± 0,15 | 57,33 ± 0,15 | 60,27 ± 0,15 | 67,33 ± 0,21 | 68,30 ± 0,26 | 2,01 ± 0,01 ^c |

*GP: gelatina de pescada amarela; PMP: proteína miofibrilar de pescada amarela, BL: mistura de GP + PMP

Letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem significativamente ($p < 0,05$).

Na Tabela 3.3 observa-se que os valores de transmissão de luz UV (200-280 nm) para os filmes de PMP e BL foram inferiores aos de GP. Os filmes de BL foram os que apresentaram menor transmissão de luz. Para Hamaguchi et al. (2007) o alto teor de aminoácidos aromáticos, principalmente tirosina e fenilalanina (Tabela 3.1), absorvem luz UV presentes nas proteínas miofibrilares foram responsáveis pela diminuição no percentual de transmissão. Observa-se que ao aumentar a concentração de polímeros nos filmes e, conseqüente aumento no teor de proteína, os valores de transmissão de luz diminuem. Valores mais baixos como do filme BL 3% ($16,90 \pm 1,27$ %) são desejáveis em embalagens para alimentos, pois retardam a oxidação lipídica induzida pela luz UV (FANG et al., 2002).

Na faixa do visível (350-800 nm) os filmes de BL também tiveram os menores valores, sendo mais baixos no BL 3%. A forte interação ou rearranjo entre os polímeros na matriz do filme propiciou a baixa transmissão de luz, além do aumento da concentração de aminoácidos aromáticos (Tabela 3.1). Filmes elaborados com proteínas miofibrilares em sua composição apresentam boa barreira à luz (SKIKU et al., 2004; LIMPAN et al., 2010), em comparação com os de gelatina, em função do maior percentual de aminoácidos aromáticos (tirosina e fenilalanina).

Os valores de transparência foram menores (mais transparentes) para os filmes de GP, sendo que a 3% foi o mais transparente entre todos os filmes. Os filmes de BL apresentaram valores de transparência ligeiramente superior (menos transparentes) aos de GP, mas ainda podendo ser considerados como filmes com boa transparência. O uso de pH 3,0 na elaboração dos filmes pode ter favorecido a valores baixos de transparência (LIMPAN et al., 2010; ARFAT et al., 2014).

Parâmetros de Cor

Observa-se na Tabela 3.4 que tanto os filmes puros como as blends apresentaram alta luminosidade (L^*), caracterizando os filmes como claros e de boa transparência. A coordenada cromática a^* indica tendência ao pigmento verde em todos os filmes e na coordenada b^* ao do pigmento amarelo, sendo mais intenso para os filmes com maiores concentrações de polímeros. A pigmentação amarelada pode ser explicada por possível oxidação de lipídeos residuais na gelatina ou proteína miofibrilar (TONGNUANCHAN et al., 2011). Verifica-se também que a medida que aumentou a concentração de polímeros nos filmes os valores de b^* , c^* e ΔE aumentaram. Sendo diminuídos os valores de luminosidade (L^*).

Tabela 3.4. Parâmetros de cor dos filmes de gelatina, proteína miofibrilar e de blendas em diferentes concentrações.

| Filme | Parâmetros de cor | | | | | |
|---------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | L* | a* | b* | C* | h | ΔE |
| *GP 1% | 88,94 ± 0,09 ^a | -4,13 ± 0,02 ^b | 5,98 ± 0,11 ^d | 7,32 ± 0,11 ^d | 125,31 ± 0,28 ^a | 7,09 ± 0,16 ^e |
| GP 3% | 87,43 ± 0,86 ^b | -4,23 ± 0,05 ^{ab} | 6,38 ± 0,30 ^d | 7,60 ± 0,22 ^d | 122,96 ± 1,09 ^b | 8,40 ± 0,78 ^d |
| *PMP 1% | 87,93 ± 0,24 ^{ab} | -4,12 ± 0,07 ^b | 7,77 ± 0,38 ^c | 8,80 ± 0,31 ^c | 117,25 ± 1,64 ^c | 9,61 ± 0,28 ^c |
| PMP 3% | 83,36 ± 0,74 ^c | -4,27 ± 0,05 ^a | 10,19 ± 0,38 ^a | 11,06 ± 0,34 ^a | 112,47 ± 0,33 ^d | 15,61 ± 0,14 ^a |
| *BL 1% | 88,66 ± 0,44 ^{ab} | -4,08 ± 0,01 ^{bc} | 5,81 ± 0,14 ^d | 7,18 ± 0,11 ^d | 124,21 ± 0,18 ^{ab} | 9,24 ± 0,19 ^{cd} |
| BL 3% | 86,51 ± 0,21 ^b | -4,17 ± 0,02 ^c | 8,74 ± 0,18 ^b | 9,61 ± 0,16 ^b | 114,69 ± 0,26 ^d | 11,33 ± 0,26 ^b |

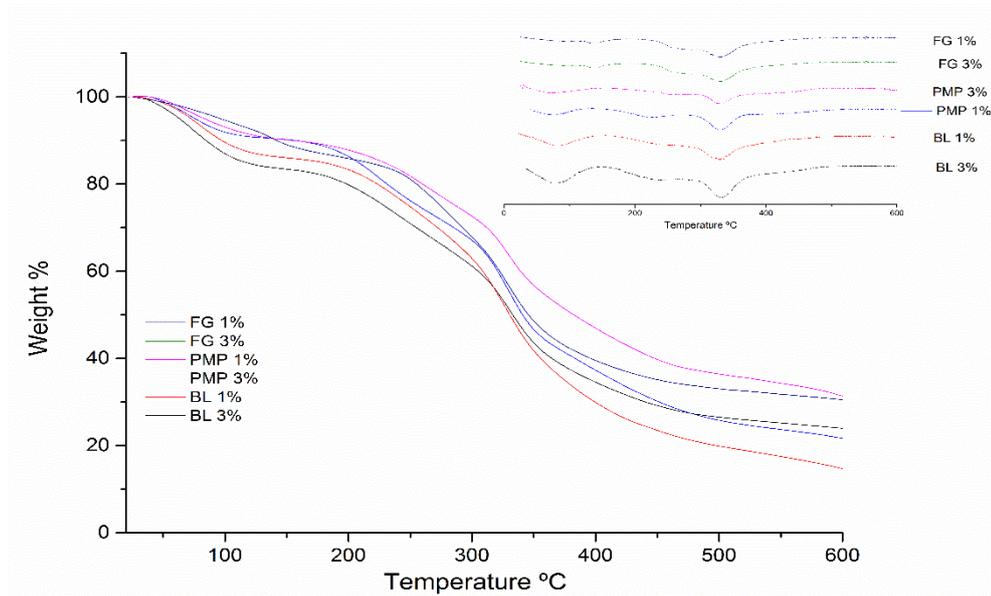
*GP: gelatina de pescada amarela; PMP: proteína miofibrilar de pescada amarela; BL: mistura de GP + PMP
 Letras iguais na mesma coluna indicam que as médias não diferem significativamente ($p < 0,05$).

O aumento no valor de b* indica que a cor amarelada foi mais intensa nos filmes com maiores concentrações de polímeros. Sendo o croma C* o parâmetro relacionado à diferenciação entre as tonalidades dos filmes, o aumento no seu valor indica a tendência de a coloração se tornar mais homogênea e distinta. Para Garcia e Sobral (2005) a diferença no valor de cor filmes (ΔE) pode ser afetada pela concentração dos polímeros, pois à medida que o volume de proteínas no filme é aumentado, aumenta-se proporcionalmente a quantidade de aminoácidos, os quais podem reagir com o glicerol e ocasionar escurecimento enzimático.

Análises Térmicas

A termogravimetria (TG) mostra a estabilidade térmica dos filmes através da determinação da perda de massa diante do aumento gradativo da temperatura. Para melhor interpretação da curva TG pode-se obter sua derivada (DTG). Esta a curva apresenta os eventos de perda de massa representados por picos, que facilita a análise do pesquisador. As curvas TG/DTG dos filmes estão apresentadas na Figura 3.1.

Figura 3.1: Curvas de TG/DTG de filmes de gelatina (GP), proteína miofibrilar (PMP) e de blendas (BL) em diferentes concentrações.



As curvas de TG/DTG mostram que os filmes de PMP e BL tiveram degradação térmica em dois estágios, enquanto que os filmes de GP apresentaram três estágios de perda de massa. O primeiro estágio (50,73 - 94,63°C) deve-se a perda de água livre ou adsorvida. O segundo estágio (189,89 - 281,49°C) pode ser atribuído à volatilização de glicerol e à degradação de frações de proteínas de baixo peso molecular. O terceiro estágio de perda de massa (272,38-299,89°C) é devido à degradação térmica de proteínas mais estáveis e fortemente arranjadas à rede dos filmes. (HOQUE et al., 2011, REDDY; RHIM, 2014, MOHAJER, REZAEI; HOSSEINI, 2017).

A quantidade de resíduo deixada no final da decomposição térmica dos filmes foi maior para o filme de BL 3% que para os demais. Esse resultado sugere que o filme de mistura apresenta maior estabilidade térmica do que os filmes puros, uma vez que se pode afirmar que quanto maior a quantidade de resíduo maior a resistência do filme a altas temperaturas. O resíduo final dos filmes somente de GP de 26,05 e 26,34 % chegou a 38,19% no filme de BL à 3% (Tabela 3.5).

Tabela 3.5: Temperatura de degradação térmica (onset °C) e perda de massa (% massa) de filmes de gelatina, proteínas miofibrilares e blendas em diferentes concentrações.

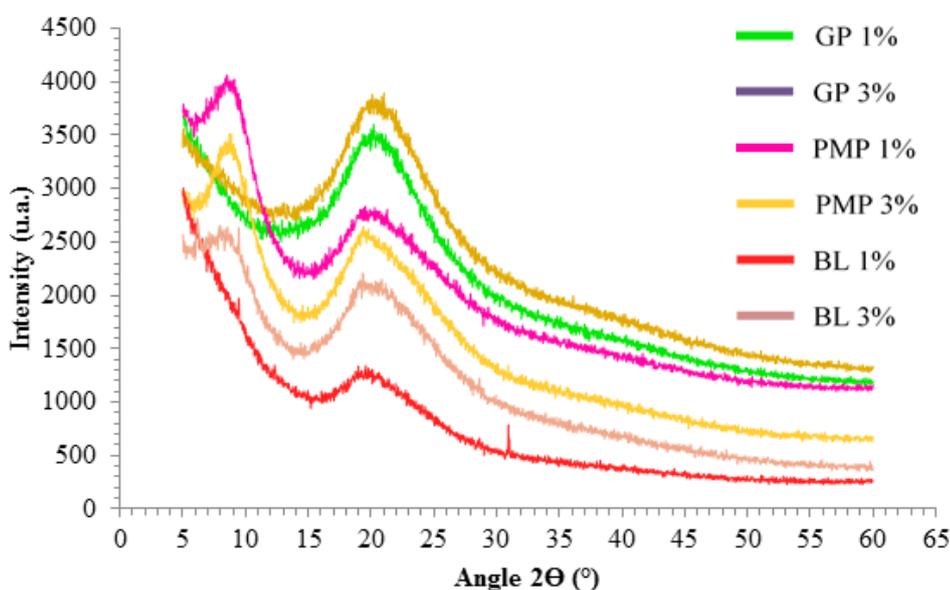
| FILME | Estagio 1 | | Estagio 2 | | Estagio 3 | | RESIDUO (%) |
|--------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|-------------|
| | Onset (°C) | % massa | Onset (°C) | % massa | Onset (°C) | % massa | |
| GP 1% | 65,32 | 71,14 | 222,2 | 13,60 | 272,38 | 60,93 | 26,05 |
| GP 3% | 50,73 | 11,79 | 189,89 | 13,47 | 299,89 | 48,29 | 26,34 |
| PMP 1% | 94,63 | 12,85 | 276,95 | 44,08 | | | 31,50 |
| PMP 3% | 70,55 | 8,44 | 281,49 | 48,52 | | | 36,81 |
| BL 1% | 57,13 | 17,8 | 265,55 | 54,83 | | | 16,71 |
| BL 3% | 57,26 | 10,01 | 266,75 | 34,14 | | | 38,19 |

A taxa mais elevada de resíduo para os filmes de BL 3% é devido à forte interação ocorrida entre PMP e GP na matriz do filme. A boa miscibilidade e interação entre os polímeros, assim como as estruturas coexistentes ordenadas produziram rede tridimensional do filme mais forte e mais resistente a altas temperaturas (HOQUE et al., 2011; ARFAT et al., 2014; MOHAJER et al., 2017).

Difração de Raio X (DRX)

Os difratogramas dos filmes de GP, PMP e BL (Figura 3.2) mostram estruturas praticamente ausentes de picos. Para todos os filmes identificar-se uma banda alargada concentrada em cerca de $2\theta = 19, 81^\circ$; e uma pequena banda de baixa amplitude e intensidade à $2\theta = 8, 77^\circ$ para os filmes de PMP 1%, PMP 3% e BL à 3%. A presença de picos pouco expressivos indica a predominância de estrutura difusa e amorfizada dos filmes.

Figura 3.2: Difratograma de filmes de gelatina (GP), proteínas miofibrilares (PMP) e blendas (BL) em diferentes concentrações.

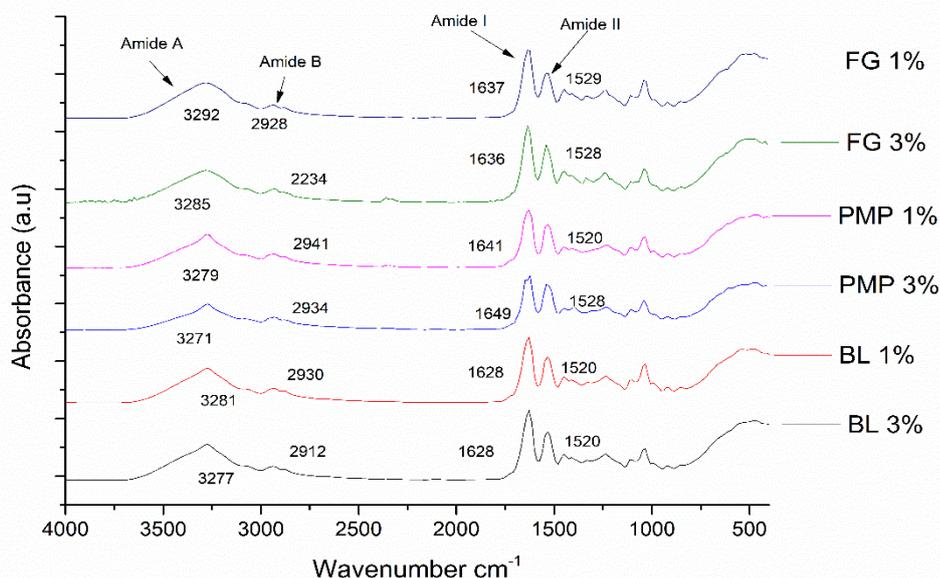


Em geral, filmes com proteínas puras apresentam estrutura com baixo grau de cristalinidade. Porém quando misturados os polímeros GP/PMP nos filmes de BL 1% e BL 3% observou-se picos de cristalinidade, sendo para o filme BL 1% no ângulo de $30,93^\circ$ (espaçamento $d = 2,89 \text{ \AA}$). No biofilme BL 3% também é possível observar uma região cristalina com pico de maior intensidade de $2\theta = 6,17^\circ$ (espaçamento $d = 14,32 \text{ \AA}$) e outros picos menores nos ângulos de $9,46^\circ$ e $19,17^\circ$ ($9,35 \text{ \AA}$ e $4,63 \text{ \AA}$ de espaçamento d , respectivamente). O aparecimento de picos nos filmes blendas indica intercalação das cadeias dos polímeros propiciada por ligações de hidrogênio. Pois a proporção de 50% de GP e 50% de PMP nas formulações pode ter favorecido a formação de estruturas ordenadas e fortemente ligadas, conferindo aos filmes de mistura certo grau de cristalinidade e, conseqüentemente, melhores propriedades mecânicas e de barreira.

Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros vibracionais obtidos por FTIR para os filmes de GP, PMP e BL encontram-se na Figura 3.3. Os espectros dos diferentes filmes apresentaram o padrão característico de filmes proteicos, porém com bandas de diferentes amplitudes e número de onda, em função de sua constituição diversa e conseqüentemente diferentes interações químicas. As bandas de absorção da fingerprint dos espectros vibraram entre 1649 a 1520 cm^{-1} abrangendo as bandas de amida I e II. Sendo as principais bandas em torno 1649 - 1624 cm^{-1} que corresponde à amida I (vibrações moleculares de estiramento em $\text{C}=\text{O}$ /ligação hidrogênio acoplado ao grupo COO) e 1529 - 1393 cm^{-1} correspondente a amida II (vibração de flexão dos grupos $\text{N}=\text{H}$ e estiramento de $\text{C}=\text{N}$) (WU et al., 2009)

Figura 3.3: Espectro de FTIR de filmes de gelatina (GP), proteína miofibrilar (PMP) e blendas (BL) em diferentes concentrações.



Bandas de absorção na região de 1250 a 1030 cm^{-1} foram encontradas em todos os filmes. Provavelmente corresponde a interações entre o glicerol, usado como plastificante, e as proteínas. (BERGO; SOBRAL, 2007; HOQUE et al., 2011; GUERRERO et al., 2013).

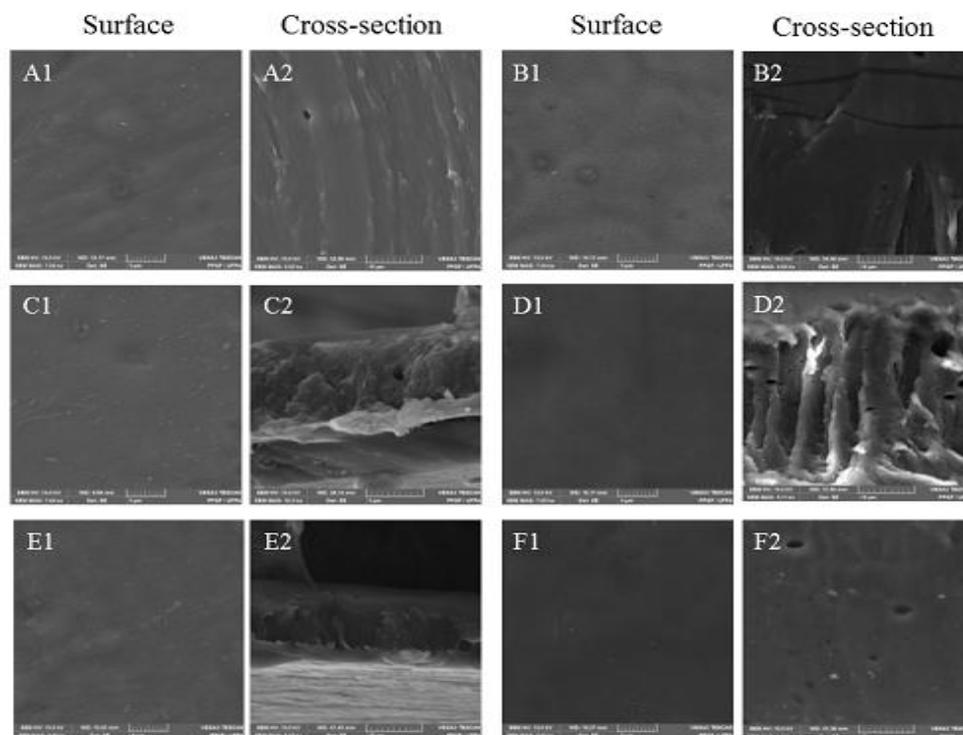
Bandas de absorção encontradas na região de 3292-3271 cm^{-1} são diagnóstico de vibrações moleculares do grupamento amida A que representa vibrações de estiramento de NH unidos por ligações de hidrogênio. Observa-se que as bandas de amida A para os filmes proteicos apresentam uma diferença de amplitude que corresponde à diferença de comprimento de onda onde foram encontradas (GP 1%= 3292 cm^{-1} , GP 3%= 3285 cm^{-1} , PMP 1%= 3279 cm^{-1} , BL1%= 3271 cm^{-1} e BL 3%= 3277 cm^{-1}) Figura 3. Um número de ondas e amplitude mais baixos sugere interações na rede polimérica, principalmente, via pontes de hidrogênio (ARFAT et al., 2014).

Bandas de absorção na região de 2934-2912 cm^{-1} são diagnósticos de vibrações moleculares de grupamento amida B que equivale a vibrações de estiramento de CH e NH_3 (GUERRERO et al., 2011). Quando se comparam os filmes puros com as blends nota-se que as bandas de amida I e II foram deslocadas para menor comprimento de onda e amplitude nos filmes de blends. Este deslocamento pode ser atribuído às interações entre os grupos NH e COOH dos polímeros na rede dos filmes (CAO; FU; HE, 2007). Estas fortes interações favoreceram características mecânicas de resistência à tração e alongação, bem como melhorado propriedades de barreira (PVA) nos filmes mistos (Tabela 3.2).

Caracterização microscópica do filme – MEV

As micrografias com as imagens da superfície e secção transversal dos filmes de GP, PMP e BL estão ilustrados na Figura 3.4. Os filmes de GP apresentaram superfície contínua com rugosidade aparente, partículas insolúveis e com fissuras na secção transversal. Isto pode estar associado baixa interação e organização das moléculas de gelatina, indicadas pela também maior espessura e solubilidade encontradas nos filmes de GP. As películas de PMP tiveram superfície lisa, porém com partículas insolúveis, ásperas e com zonas descontínuas ou microfissuras na secção transversal.

Figura 3.4: Micrografias da superfície dos filmes (5000x) e secção transversal (7000x): filme FG1%: A1 e A2; Filme FG3%: B1 e B2; Filme FMP1%: C1 e C2; Filme FMP3%: D1 e D2; Filme BL1%: E1 e E2; Filme BL3%: F1 e F2.



Dentre todos os filmes o BL 3% apresentou superfície mais lisa e homogênea. Nos filmes de BL não foi observada separação distinta dos polímeros na rede dos filmes. Sugerindo a boa interação e compatibilidade entre os mesmos, apesar de na secção transversal mostrar espaços vazios na rede dos filmes. A formação de rede densa e ordenada entre os polímeros pode ter favorecido a boas propriedades de PVA, solubilidade e RT e E dos filmes de BL (Tabela 3.2). Arfat et al. (2014) também observaram que os filmes de blenda apresentaram menos fissuras que os filmes de PMP, afirmando que a microestrutura dos filmes depende dos tipos de proteínas e da interação entre elas na matriz de filme.

O perfil de aminoácidos (Tabela 3.1) e o FTIR (Figura 3.3), onde se compreende a interação entre GP e PMP, descreve uma melhor interação entre diferentes aminoácidos. Ocorre o favorecimento de ligações peptídicas entre os principais aminoácidos na gelatina (glicina, prolina e hidroxiprolina), alifáticos e apolares, e os da proteína miofibrilar (ácido glutâmico, aspartato e lisina), pelo caráter eletronegativo (OLIVEIRA et al., 2019).

4. CONCLUSÃO

As propriedades de filmes biodegradáveis podem ser melhoradas aos misturar biopolímeros. A película obtida neste estudo mostrou boa compatibilidade entre GP e PMP. Os filmes de blenda apresentaram melhores propriedades mecânicas, de barreira, térmicas e solubilidade em comparação aos filmes das proteínas puras. A melhoria é atribuída as fortes interações inter e intramoleculares entre as moléculas de gelatina e proteínas miofibrilares de peixe. Com tais características, a blenda polimérica pode ser estudada como possível embalagem para alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFARO, A. T.; FONSECA, G.G.; BALBINOT, E.; PRENTICE, C. (2013) Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food Science and Technology International**, 20(5):373-381. doi.org/10.1177/1082013213488776.

Arfat, Y. A; Benjakul, S.; Prodpran, T.; Osako, K. (2014) Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, 39:58-67. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.028.

ASTM - American Society for Testing and Materials. **Annual book of ASTM standards**. Philadelphia, PA, USA: ASTM. 1989.

BERGO, P., SOBRAL, P. J. A. (2007). Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**, 21(8):1285-1289. doi.10.1016 / j.foodhyd.2006.09.014

BUENO, C.M.; ALVIM, I.; KOBERSTEIN, T.; PORTELLA, M.; GROSSO, C. (2011) Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, 14(01):65-73. doi.10.4260/BJFT2011140100009

CAO, N.; FU, Y.; HE, J. (2007) Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. **Food Hydrocolloids**, 21(7):1153-1162. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.09.001

CUQ, B. Mise en Forme et Caractérisation de Biomatériaux à Base de Protéines Myofibrillaires. **Tese (Doutorado)**. Université Montpellier, Academie de Montpellier, 1996.

DENAVI, G.A., PEREZ-MATEOS, M., ANON, M.C., MONTERO, P., MAURI, A. N.; GOMEZ-GUILLEN, M.C. (2009) Structural and functional properties of soy protein isolate and cod gelatin blend films. **Food Hydrocolloids**, 23(8):2094-2101. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.007

FANG, Y.; TUNG, M.A.; BRITT, I.J.; YADA, S.; DALGLEISH, D.G. (2002). Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. **Journal of Food Science**, 67(1):188-193. doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11381.x

GARCIA, F.T.; SOBRAL, P.J.A (2005) Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of Tilapia. **LWT-Food Science and Technology**, 38(3):289-296. doi.org/10.1016/j.lwt.2004.06.002

GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; PÉREZ-MATEOS, M.; GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-CABALLERO, E.; GIMÉNEZ, B.; MONTERO, P. (2009) Fish gelatin: A renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science & Technology**, 20(1):3-16. doi:10.1016/j.tifs.2008.10.002

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. (2011) Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, 25:1813-1827. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. (1996) Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, 58(8):206-211. doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x.

GUERRERO, P.; NUR HANANI, Z. A.; KERRY, J. P.; DE LA CABA, K. (2011) Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. **Journal of Food Engineering**, 107(1):41-49. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.003

GUERRERO, P.; GARRIDO, T.; LECETA, I.; DE LA CABA, K. (2013) Films based on proteins and polysaccharides: Preparation and physical-chemical characterization. **European Polymer Journal**, 49(11):3713-3721. doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.08.014

HAMAGUCHI, P.Y.; WUYIN, W.; TANAKA, M. (2007) Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins of blue marlin (*Makaira mazara*). **Food Chemistry**, 100(3):914-920. doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.045

HAN, J.H.; FLOROS, J.D. (1997) Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. **Journal of Plastic Film & Sheeting**, 13(4):287-298. doi.org/10.1177/875608799701300405.

HAUG, I.J.; DRAGET, K.I.; SMIDSRØD, O. (2004) Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, 18(2):203-213. doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00065-1

HOQUE, M.S., BENJAKUL, S., PRODPRAN, T., SONGTIPYA, P. (2011) Properties of blend film based on cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin and mungbean protein isolate. **International Journal of Biological Macromolecules**, 49:663-673. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.05.008.

JIANG, Y.; TANG, C.H.; WEN, Q.B.; LI, L.; YANG, X.Q. (2007) Effect of processing parameters on the properties of transglutaminase-treated soy protein isolate films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8(2):218-225. doi.org/10.1016/j.ifset.2006.11.002

KARNNET S.; POTIYARAJ P.; PIMPAN V. (2005) Preparation and properties of biodegradable stearic acid-modified gelatin films. **Polymer Degradation and Stability**, 90(1):106-110. doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.02.016

KAEWPRACHU, P.; RAWDKUEN, S. (2014) Mechanical and physico-chemical properties of biodegradable protein-based films: a comparative study. **Food and Applied Bioscience Journal**, 2(1):15-30. doi.org/10.14456/fabj.2014.2.

KOŁODZIEJSKA, I. (2008) Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**, 107(2):700-706. doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.071.

LEFEBVRE, J.; ANTONOV, Y. (2001) The effect of the melting of the collagen-like gelatin aggregates on the stability against aggregation of the bovine casein micelles. **Colloid Polymer Science**, 279(2):393-397. doi.10.1007/s003960000438

LEI, L.; ZHI, H.; XIUJIN, Z.; TAKASUKE, I.; ZAIGUI, L. (2007) Effects of different heating methods on the production of protein-lipid film. **Journal of Food Engineering**, 82(3):292-297. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.02.030

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. (2010) Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal Food Engineering**, 100(1):85-92. doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.031

MARINIELLO, L.; DI PIERRO, P.; ESPOSITO, C.; SORRENTINO, A.; MASI, P.; PORTA, R. (2003) Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase. **Journal of Biotechnology**, 102(2):191-198. doi.org/10.1016/S0168-1656(03)00025-7

MOHAJER, S.; REZAEI, M.; HOSSEINI, S.F. (2017) Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. **Carbohydrate Polymers**, 157(10):784-793. doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.061. PMID:27987991.

MONTERO, P.; BORDERÍAS, J.; TURNAY, J.; LEYZARBE, M.A. (1990) Characterization of hake (*Merluccius merluccius* L.) and trout (*Salmo irideus* Gibb) collagen. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 38(3):604-609. doi.org/10.1021/jf00093a004

OLIVEIRA, L.C.; BARBOSA, J.R.; RIBEIRO, S.C.A.; VACONCELOS, M.A.M.; AGUIAR, B.A.; PEREIRA, G.V.S.; ALBUQUERQUE, G.A.; SILVA, F.N.L.; CRIZEL, R.L.; CAMPELO, P.H.; LOURENÇO, L.F.H. (2019) Improvement of the characteristics of fish gelatin – gum arabic through the formation of the polyelectrolyte complex. **Carbohydrate Polymers**, 223(1):115068. doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115068

PEREIRA, G. V. S. Otimização do processo de obtenção de filmes biodegradáveis com proteínas miofibrilares a partir de subprodutos de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*). **Dissertação**. Programa de Pós-graduação em Ciencia e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará, 2015.

PRODPRAN, T., BENJAKUL, S., ; ARTHARN, A. (2007) Properties and microstructure of protein-based film from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle as affected by palm oil and chitosan incorporation. **International Journal of Biological Macromolecules**, 41(5):605-614. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.07.020

REDDY, J.P.; RHIM, J.W. (2014) Characterization of bionanocomposite films pre-prepared with agar and paper-mulberry pulp nanocellulose. **Carbohydrate Polymers**, 110(1):480-488. doi: 10.1016 / j.carbpol.2014.04.056.

RHIM, J.W.; NG, P.K.W. (2007) Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 47(4):411-433. doi.10.1080 / 10408390600846366

SILVA, E.V.C.; LOURENÇO, L.F.H.; PENA, R.S. (2017a) Obtaining Gelatin from the Skin of Gilthead Bream (*Brachyplatystoma rousseauxii*) using Two Pre-treatment. **Advance Journal of Food Science and Technology**, 13(5):182–189, 2017a. doi.10.19026/ajfst.13.5067

SILVA, E. V. C. DA; LOURENÇO, L. DE F. H.; PENA, R. DA S. (2017 b) Optimization and characterization of gelatin from kumakuma (*Brachyplatystoma filamentosum*) skin. **CyTA - Journal of Food**, 15(3):361–368. doi.10.1080 / 19476337.2016.1266391

SIMON-LUKASIK, K.V.; LUDESCHER, R.D. (2004). Erythrosin B phosphorescence as a probe of oxygen diffusion in amorphous gelatin films. **Food Hydrocolloids**. 18(4):621-630. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.09.006

SHIKU, Y.; HAMAGUCHI, P. Y.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. (2004) Effect of surimi quality on properties of edible films based on Alaska pollack. **Food Chemistry**, 86(4):493-499. doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.022

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SONGTIPYA, P. (2011) Characteristics of film based on protein isolate from red tilapia muscle with negligible yellow discoloration. **International Journal of Biological Macromolecules**, 48(5):758-767. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.02.017

VICENTINI, N. M. Elaboração e caracterização de filmes comestíveis a base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita. 2003. 198 f. **Tese** (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

WHITE, J.A; HART, R. J.; FRY, J. C. (1986) An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of automatic chemistry**, 8(4):170-177. Doi.10.1155 / S1463924686000330

WU, Y., WELLER, C.L., HAMOUZ, F., CUPPETT, S.L.; SCHNEPF, M. (2002) Development and application of multicomponent edible coatings and films: a review. **Advances in Food and Nutrition Research**, 44:347-394. doi.org/10.1016/S1043-4526(02)44007-7

XAVIER NEVES, E.M.P.; PEREIRA,R.R.; PEREIRA,G.V.S.; PEREIRA, G.V.S; VIEIRA, L.L.; LOURENÇO, L.F.H. (2019) Effect of polymer mixture on bioplastic development from fish waste. **Boletim do Instituto de Pesca**, 45(4):e518. doi.10.20950/1678-2305.2019.45.4.518

ZAVAREZE, E.R.; HALAL, S.L.M.; TELLES, A.C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. (2012) Biodegradable films based on myofibrillar proteins of fish. **Brazilian Journal of Food Technology**, 4:53-57. doi.org/10.1590/S1981-67232012005000038.

CAPÍTULO IV: ESTUDO DA ESTABILIDADE AO ARMAZENAMENTO DE FILME ELABORADO COM BIOPOLÍMEROS OBTIDOS DE RESÍDUOS DE PEIXE

RESUMO

Foram estudadas as propriedades de filmes de proteínas miofibrilares e de gelatina, extraídas de resíduos de pesca quanto à estabilidade durante armazenamento. As películas foram estocadas à temperatura ambiente (25°C), em refrigeração (5°) e sob congelamento (-13°) por 80 dias. Foram avaliados os parâmetros de cor e ópticos, as propriedades de barreira à água e as características mecânicas durante 0, 20, 40, 60 e 80 dias. Os filmes inicialmente eram transparentes, claros e apresentavam boas propriedades mecânicas e de barreira. Após 20 dias de armazenamento foi possível observar em todas as condições estudadas alterações na cor, transparência, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água. As propriedades mecânicas foram significativamente afetadas; a elongação diminuiu cerca 64% em função do tempo, e as reorganizações na microestrutura dos filmes, como agregação de proteínas e ligações covalentes, aumentou consideravelmente a resistência à tração. Os maiores efeitos foram observados durante armazenamento à 25°C e umidade relativa de 60%. No entanto, os filmes armazenados sob baixas temperaturas tornaram-se ásperos e quebradiços. No final do estudo os filmes encontravam-se opacos, amarelados e escuros, rijos e pouco extensíveis. Essas descobertas podem ser usadas para direcionar possíveis aplicações dos filmes de mistura de proteínas miofibrilares e gelatina de resíduos de peixe e/ou melhorar aspectos da formulação dos filmes, através de substâncias de reforço.

Palavras-chave: filme biodegradável, vida útil, propriedades tecnológicas

1. INTRODUÇÃO

Os plásticos sintéticos possuem excelentes propriedades tecnológicas para o uso em embalagens, são duráveis, tem baixo custo de produção, são resistentes, maleáveis e impermeáveis. No entanto, os diversos problemas relacionados com os plásticos petroquímicos como, a presença de poliolefinas, e os danos ambientais causados por elas, especialmente a vida marinha; assim como sua resistência à biodegradabilidade no ambiente, tem estimulado a busca por polímeros biodegradáveis para utilizar na produção de novos materiais plásticos (GEYER et al., 2017; LAYCOCK et al., 2017). Estudos estimam que o mercado global de plásticos com base biológica passará dos atuais 1,4 milhões de toneladas para cerca de 6,2 milhões de toneladas nos próximos dez anos (LETTNER et al., 2017).

Proteínas tanto de origem animal quanto vegetal são materiais ideais para produzir bioplásticos. A presença de grupos de aminoácidos polares e apolares favorece a interação com diversos compostos, possibilitando uma gama de propriedades funcionais e estruturais (SIRACUSA; LOTTI, 2018). Vários autores estudaram as características físico-químicas de filmes a partir de proteínas de peixe, mostrando que esses filmes são flexíveis, resistentes e altamente brilhantes, além de apresentarem excelentes propriedades de barreira ao oxigênio e razoável barreira à umidade (ARFAT et al., 2014; SARTORI et al., 2018; BATISTA et al., 2019; PEREIRA et al., 2019; XAVIER NEVES et al., 2019).

Embora todas essas características sejam desejáveis para aplicações em embalagem, existem poucas informações sobre a vida útil ou ciclo de vida dos mesmos. No entanto, conhecer se os polímeros biodegradáveis manterão sua integridade e, conseqüentemente, as propriedades dos bioplásticos quando expostos em condições ambientais adversas é o maior desafio, pois podem alterar significativamente a vida útil do material (LAYCOCK et al., 2017).

O conceito de “vida útil” ou estabilidade de matérias biológicas surgiu devido à utilização polímeros biodegradáveis e bioativos em aplicações biomédicas, como a liberação de fármacos, regeneração de tecidos e próteses. Segundo Laycock et al. (2017) este conceito está relacionado com o “tempo que um determinado material leva para perda da sua função num sistema específico”. Porém, mais recentemente este termo vem ganhando significado diferente dependendo da função que o material desempenha.

Nos filmes biodegradáveis a estabilidade das propriedades em função do tempo é pouco conhecida; apesar de ser, provavelmente o maior obstáculo, é objeto de poucas pesquisas, considerando a relevância do tema (CUQ et al., 1996; LEERAHAWONG, 2012; CIANNAMEA et al., 2015; PICCIRILLI et al., 2019). No entanto, para inibir a perda das

propriedades inerentes às embalagens biodegradáveis é preciso identificar e entender os mecanismos e causas do “envelhecimento”, e assim dar a devida aplicação ou corrigir os fatores limitantes. As pesquisas existentes mostram que os principais fatores que afetam a estabilidade dos filmes são a umidade, temperatura, radiação e ventilação; que alteram significativamente propriedades físicas-químicas e estruturais de filmes biodegradáveis com o tempo. Ressalta-se que essas alterações podem comprometer a segurança e aceitabilidade dos produtos embalados (NICOLIC et al., 2017)

Para que o uso das embalagens bioplásticas seja possível é necessário garantir a estabilidade de suas propriedades tecnológicas em condições ambientais diversas e por longos períodos de armazenamento (OSÉS et al., 2009). A reação de Maillard, migração e difusão de componentes de baixo peso molecular (plastificantes), agregação de proteínas, fissuras, rachaduras, alteração de cor, perda de barreira à umidade e gases, dentre outras são as principais alterações citadas na literatura (OLABARRIETA et al., 2006; PICCIRILLI et al., 2019, SHI et al., 2019; KEDPRAVEEN et al., 2020).

A maioria dos estudos que abordam esse tema está direcionada para filmes de proteínas de leite (ANKER et al., 2001; OSÉS et al., 2009; KET-ON et al., 2016; Ramos et al., 2013; Schmid et al., 2015). Poucos são os que investigam a estabilidade de filmes de proteínas miofibrilares (LEERAHAWONG et al., 2012; TONGNUANCHAN et al., 2013; BLANCO-PASCUAL et al., 2014) ou de gelatina de peixe (PÉREZ-MATEOS et al., 2009; NEIRA et al., 2019); não havendo menção de estudo da estabilidade de filmes que misturem os dois biopolímeros. Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar a estabilidade das propriedades tecnológicas de filmes de mistura de polímeros de resíduos de peixe durante armazenamento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. OBTENÇÃO DOS BIOPOLÍMEROS E PREPARAÇÃO DO FILME

Os biopolímeros foram obtidos a partir de resíduos de filetagem (aparas de filetagem e pele) da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) doados pela indústria pesqueira Ecomar Ltda, localizada no município de Vigia-PA, Brasil. Os resíduos foram higienizados em água clorada (5 ppm) à 4 °C. O músculo removido das aparas de filetagem foi triturado por 1,5 minutos em Cutter (Filizzola, Sire Cutter). A pele sem as escamas foi cortada em pedaços de 4x4 cm.

Para a obtenção das proteínas miofibrilares foi utilizada metodologia proposta por Xavier Neves et al. (2019). Para remover o odor característico de peixe, o músculo triturado foi misturado com ácido fosfórico a 0,02% na proporção 1:3 (m/v) por 15 minutos, filtrado; lavado com água destilada resfriada (7°C) na mesma proporção anterior e novamente filtrado. A massa

obtida foi misturada com solução salina de cloreto de sódio 50 Mm a 7°C na proporção de 1:3 (m/v). A mistura homogeneizada foi centrifugada a 10.000 rpm/4 min. em centrifuga refrigerada (4°C) (Thermo Fisher, Multifuge X1R); este processo foi repetido mais duas vezes. A pasta resultante foi distribuída em bandejas de aço inoxidável, congeladas à -26°C e liofilizadas à -60°C por 48h em liofilizador (Liotop, L101). O material liofilizado foi reduzido à granulometria de 0,42 mm obtendo-se a proteínas miofibrilares liofilizadas (PML).

A gelatina da pele de pescada amarela foi extraída segundo Silva et al. (2018). Cerca de 20g de pele e 100 mL de solução de NaCl 0,6 M foram agitados à 85 rpm a 25°C por 15 minutos em incubadora Shaker (Cielanb, modelo CE-725B), drenadas e lavadas em água corrente. O processo foi repetido com solução de NaOH 0,3 M nas mesmas condições. Em seguida adicionou-se 100 mL de ácido acético 0,02 M nas peles, que foram agitadas por 1 hora, drenadas e lavadas em água corrente. Na última etapa a pele e a água destilada na proporção 1:5 (m/v) foram aquecidas à 50°C em banho-maria (TECNAL, TE-057) por 9 horas. Posteriormente foram filtradas em tecido de faillet e a solução obtida foi colocada em bandejas de aço inox, congelada e liofilizada a -60°C por 36 horas, obtendo-se a gelatina liofilizada (GL).

2.1.1. Preparação do filme biodegradável

No presente estudo foi filme de mistura com de 3% dos biopolímeros (proteínas miofibrilares e gelatina) e esta formulação foi definida através de estudo preliminar e selecionada por apresentar as melhores propriedades tecnológicas em comparação com outras formulações analisadas.

O filme de blenda polimérica (BP) foi produzido misturando proteínas miofibrilares e gelatina na proporção 1:1 (m/m) utilizando metodologia proposta por Xavier Neves et al. (2019). O filme foi elaborado por suspensão dos biopolímeros na concentração de 3,0% (m/v). A gelatina (GL) foi previamente dissolvida em 50 mL de água destilada e reservada. As proteínas miofibrilares (PML) foram solubilizadas em 100 mL de água destilada e adicionado glicerol (20%). Posteriormente o pH da solução foi ajustado para 3,0 (HCl 2M) e homogeneizada (Turratec, Tecnal, TE-102) à 10.000 rpm durante 5 min. Em seguida as soluções de GL e PML foram misturadas, homogeneizada e aquecida em banho-maria à 70°C por 40 minutos. A solução formadora de filme foi filtrada em tecido de faillet, colocada em suporte de silicone com 22 cm de diâmetro e seca à 30°C por aproximadamente 18 horas.

2.2. ESTUDO DA ESTABILIDADE DO FILME AO ARMAZENAMENTO

2.2.1. Propriedades do filme

O filme de blenda polimérica foi avaliado quanto a estabilidade de suas propriedades tecnológicas no período de 80 dias nas temperaturas, ambiente ($\pm 25^\circ$), refrigeração ($\pm 5^\circ\text{C}$) e congelamento ($\pm -13^\circ\text{C}$). Amostras do material foram coletadas nos dias 0, 20, 40, 60 e 80 para avaliação das propriedades do filme:

Espessura

Para mensurar a espessura do filme foi usado micrômetro digital (Insize, modelo IP54) com resolução de 0,001 mm. Foram feitas oito medidas aleatórias em torno do filme (ZAVAREZE et al., 2012)

Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e porcentagem de alongamento na ruptura (E) foram determinadas empregando-se metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) utilizando texturômetro (QTS, Brookfield). Cinco cortes de 100 mm de comprimento e 25 mm de largura foram utilizadas nos testes, o quais foram realizados em temperatura de cerca de 22°C . A distância inicial das garras e a velocidade foram de 50 mm e $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente. A resistência à tração (RT) e a porcentagem de alongamento (E) foram calculadas usando as Equações 1 e 2, respectivamente.

$$RT = \frac{Fm}{A} \quad \text{Equação 1}$$

Onde: RT: resistência à tração (MPa); Fm: força máxima no momento da ruptura do filme (N); A: área da seção transversal do filme (m^2).

$$E = \frac{d_T}{d_{inicial}} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

Onde: E: alongamento (%); d_T : distância total no momento da ruptura (mm); $d_{inicial}$: distância inicial de separação das garras (50 mm).

Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada segundo método modificado ASTM D882-95 descrito por Arfat et al. (2014). Amostras do filme foram aderidas na abertura de backer de vidro de 50 mL contendo 10 g de sílica gel a 0% UR; 0Pa de pressão de vapor de água a 30°C . Os backer foram colocados em dessecador contendo água destilada a 30°C a 99% UR; 4244,9 Pa de pressão de vapor de água a 30°C . Foram pesados em intervalos de 1h por um período de 10 horas. O valor de PVA foi calculado com auxílio da Equação 3.

$$PVA = \frac{W.X}{A.t.\Delta P} \quad \text{Equação 3}$$

Onde: PVA: permeabilidade ao vapor de água (g.mm. m⁻². s⁻¹. Pa⁻¹.); W: ganho de peso pelo dessecante (g); X: espessura do filme (mm); A: área da superfície do biofilme exposto (m²) t: tempo de incubação (horas); ΔP: diferença de pressão parcial (Pa).

Solubilidade

Discos de 2 cm de diâmetro do filme foram secos em estufa a 105°C por 24 horas para determinar a matéria seca inicial. Em seguida as amostras foram imersas em recipientes com 50 mL de água destilada. O conjunto foi agitado em incubadora Shaker (Cielanb, modelo CE-725B) na velocidade de 150 rpm por 24 horas, a 25°C. Após este período as amostras foram drenadas e secas em estufa à 105°C por 24 horas para determinar a matéria seca não dissolvida em água (GONTARD et al., 1994). Os sólidos solúveis totais (base seca) foram calculados como a diferença percentual entre o peso seco inicial e o peso seco final.

Teor de umidade

O teor de umidade do filme foi determinado por meio da perda de peso das amostras (2 × 5 cm) após secagem em estufa a 105°C até peso constante (cerca de 24 h). Os filmes foram analisados em triplicata e os resultados expressos como porcentagem do peso total.

Atividade de água

A análise de atividade de água foi determinada utilizando higrômetro eletrônico Aqualab (3TE – Decagon Devices Inc. USA). Segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Parâmetros de cor

As características de cor foram determinadas com auxílio do colorímetro digital (Minolta, CR 310), sendo avaliados os parâmetros de L* (luminosidade), a* (- verde ou + vermelho), b* (- azul ou + amarelo). E o valor de ΔE* calculado através da Equação 4, conforme Soazo et al. (2016).

$$\Delta E^* = \sqrt{(a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2 + (L^* - L_0^*)^2} \quad \text{Equação 4}$$

Onde a₀^{*}, b₀^{*} e L₀^{*} são os valores para filmes no dia 0 e a^{*}, b^{*} e L^{*} são os valores para as amostras de filmes em momentos diferentes de coleta de dados.

O Índice de Escurecimento (IE) foi calculado de acordo com Palou et al. (1999), usando a Equação 5. Em que $X = (a^* + 1,75L) / (5,645L + a^* - 3,02b^*)$.

$$IE = [100 (X - 0,31)]/0,172 \quad \text{Equação 5}$$

Transmissão de luz e transparência

A transparência dos filmes foi determinada a 600 nm em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22) de acordo com o método ASTM D1746 descrito por Arfat et al., (2014), utilizando a Equação 6.

$$\text{Transparência} = \frac{\log \%T}{e} \quad \text{Equação 6}$$

Onde: T = transmitância a 600 nm; e = espessura do biofilme (mm).

Análise Estatística

Os resultados das análises foram tratados através do teste tukey com o auxílio do programa Statistica® versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ESTUDO DA ESTABILIDADE DO FILME

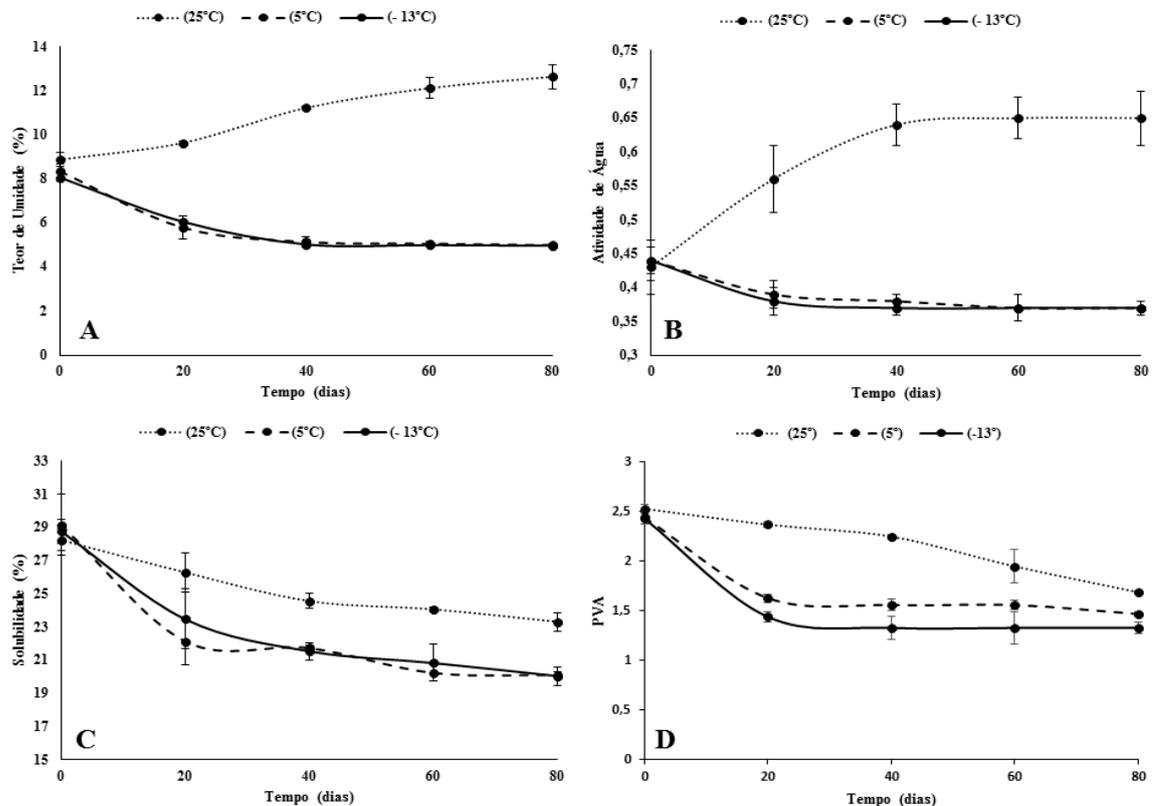
O estudo da estabilidade dos filmes de blenda polimérica, durante o armazenamento, mostrou que inicialmente eles eram extensíveis, transparentes, com superfície lisa e homogênea visivelmente, livre de fissuras ou orifícios.

3.1.1. Propriedades do filme

Propriedades de barreira à umidade

Os valores de umidade, atividade de água (Aa) e solubilidade são mostrados na Figura 4.1. O teor de umidade inicial dos filmes alterou significativa durante o armazenamento nas três temperaturas estudadas, principalmente nos 20 primeiros dias. Na temperatura de 25°C houve aumento progressivo e significativo durante todo o período de estocagem, atingindo valores máximos de 12,64% no 80º dia. Por outro lado, nas temperaturas de refrigeração (5°C) e de congelamento (-13°C) foi observada diminuição gradual até o 40º dia, permanecendo constante até o final do estudo. Quando comparadas, observa-se que não houve diferença significativa no teor de umidade entre estas duas temperaturas, as quais apresentaram valores de 5,00 % ($\pm 0,08$) e 4,97% (0,04) no último dia de armazenagem, respectivamente.

Figura 4.1: Propriedades de barreira à umidade de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento.



Observa-se que a temperatura e o tempo de armazenamento afetaram as características de barreira à umidade do filme de blenda polimérica, no entanto, a UR dos ambientes experimentais também foi determinante. Na temperatura de 25°C (60% de UR) o ganho de umidade no decorrer da estocagem chega a 42,34%, sendo acompanhado pelo aumento da Aa que alcançou o máximo de 0,65; valor considerado suficiente para o crescimento microbiano, especialmente de bolores (LABUZA et al., 1970). Neste caso a umidade acrescida ao filme foi proveniente da UR do ambiente.

Osés et al. (2009) observaram o mesmo comportamento ao estudarem a estabilidade no armazenamento de filmes de proteínas de soro de leite em diferentes umidades relativas. Observaram que a taxa de adsorção de água pelos filmes aumentava significativamente com a elevação da UR do meio; e que o uso do plastificante glicerol (também usado neste estudo) potencializou este comportamento. Segundo Huntrakul e Harnkarnsujarit (2020) o baixo peso molecular deste plastificante e fraca interação química com as cadeias poliméricas faz com que ocorra sua migração para a superfície do filme. Devido o glicerol conter 3 grupos de OH/mol favoreceu sua ligação com água, acarretando ao filme umectação ao tato no final dos 80 dias da estocagem.

Os filmes armazenados na temperatura de refrigeração (39% de UR) e de congelamento (31% de UR) apresentaram diminuição significativa no teor de umidade e Aa nos primeiros quarenta dias, e em seguida mantendo-se constante. Mas no final do estudo os filmes eram ásperos, ressecados e quebradiços. Provavelmente a UR mais baixa associada à ventilação forçada nas câmaras de refrigeração e congelamento tenha favorecido a perda de água e, conseqüente ressecamento. Segundo Mali et al. (2005) a água em matrizes poliméricas pode estar associada por diferentes mecanismos e em diferentes regiões hídras; quando ligada às macromoléculas, como proteínas, a capacidade de adsorção é diminuída. Filmes de proteínas de soja mostraram menor capacidade de adsorção de água do que filmes de amido de mandioca, nas mesmas condições e armazenamento. Além disso, as temperaturas de refrigeração e congelamento diminuem a taxa de migração do glicerol para superfície do filme impedindo que seus grupos hidrofílicos se ligassem à água (KET-ON et al., 2016)

Os efeitos do tempo, temperatura e UR também refletiram na solubilidade em água dos filmes (Figura 4.2), sendo observada diminuição progressiva em todas as temperaturas até o 40º dia, mantendo-se sem alterações ($p \leq 0,05$) após esse período. Nota-se a baixas temperaturas a solubilidade diminui mais rapidamente que à 25°C. Após vinte dias de armazenamento os filmes já haviam diminuído sua solubilidade em cerca de 24% (dia 0: $29,14 \pm 1,83\%$; dia 20: $22,12 \pm 1,44\%$), sendo que à temperatura ambiente (25°C) a perda total ao longo do armazenamento foi de aproximadamente 17% (dia 0: $28,23 \pm 0,65\%$; dia 80: $23,30 \pm 0,55\%$).

Diversos autores relacionam a diminuição da solubilidade de filmes a partir de proteínas com a migração de plastificante para superfície. Com a saída do glicerol da matriz da película há um rearranjo entre as moléculas de proteínas através de ligações covalentes e não covalentes, como ligações de hidrogênio e de dissulfeto. O que favorece as inter e intramoleculares, uma vez que o filme estudado é uma mistura de gelatina e proteínas miofibrilares. A agregação e forte interação das cadeias poliméricas torna a rede do filme mais densa e conseqüentemente, diminui a solubilidade em água (PÉREZ-MATEOS et al., 2009; BLANCO-PASCUAL et al., 2014; CIANNAMEA et al., 2015; SCHMID et al., 2015; 2018, PICCIRILLI et al., 2019). A menor perda de solubilidade observada nem filmes armazenados à 25°C pode estar associada a UR do meio que proporcionou maior teor de umidade e atividade de água, tornando a superfície do filme mais susceptível a ligação com a água.

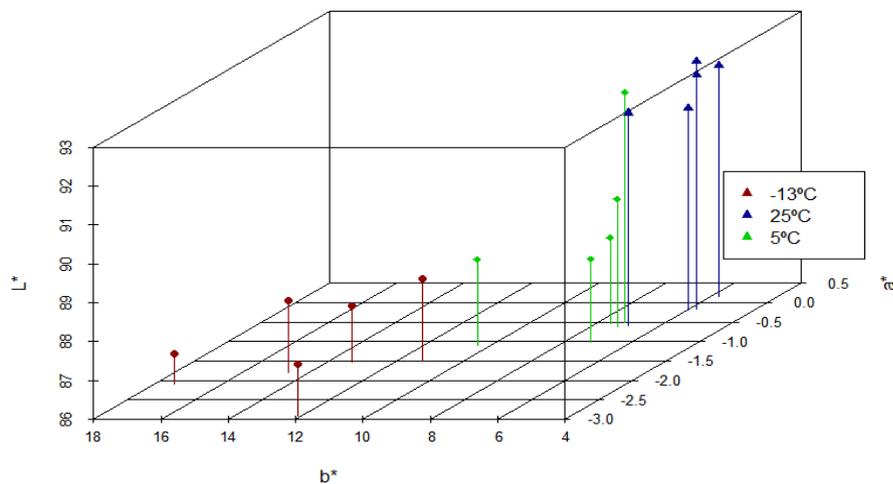
Todos os filmes apresentaram diminuição significativa na permeabilidade ao vapor de água (PVA) durante armazenamento. As maiores perdas foram vistas à baixas temperaturas (5°C e -13°C); os filmes expostos a essas temperaturas ficaram ressecados e quebradiços,

semelhantes a fibras finas. Essas mudanças podiam ser observadas já no início do estudo; nas duas primeiras semanas a permeabilidade diminuiu cerca de 40,74% em geral. Ciannamea et al. (2015) ao estudarem alterações em filmes de proteína de soro de leite em relação ao tempo observaram através de FTIR, que a migração do glicerol para a superfície dos filmes fez com que a afinidade com a água fosse diminuída, induzindo interações específicas entre as proteínas, como ligações dissulfeto e pontes de hidrogênio. Como resultado dessas interações houve agregação e compactação na microestrutura dos filmes diminuindo consideravelmente a difusão de vapor d'água. À medida que o tempo de armazenamento aumenta, a formação de ligações é acelerada, tornando a matriz cada vez densa (SCHIMID et al. 2015).

Características óticas e parâmetros de cor

A indústria de alimentos tem cada vez mais investido cuidados com a apresentação de seus produtos, fazendo com que a embalagem deixe de ter meramente função protetiva e passe a ser parte atrativa do mesmo. Por isso, atributos de cor e transparência são de extrema importância, visto que estes podem determinar a aceitação e consequente decisão de compra pelo consumidor. Os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* dos filmes de mistura de polímeros de resíduos de peixe são mostrados na Figura 4.2.

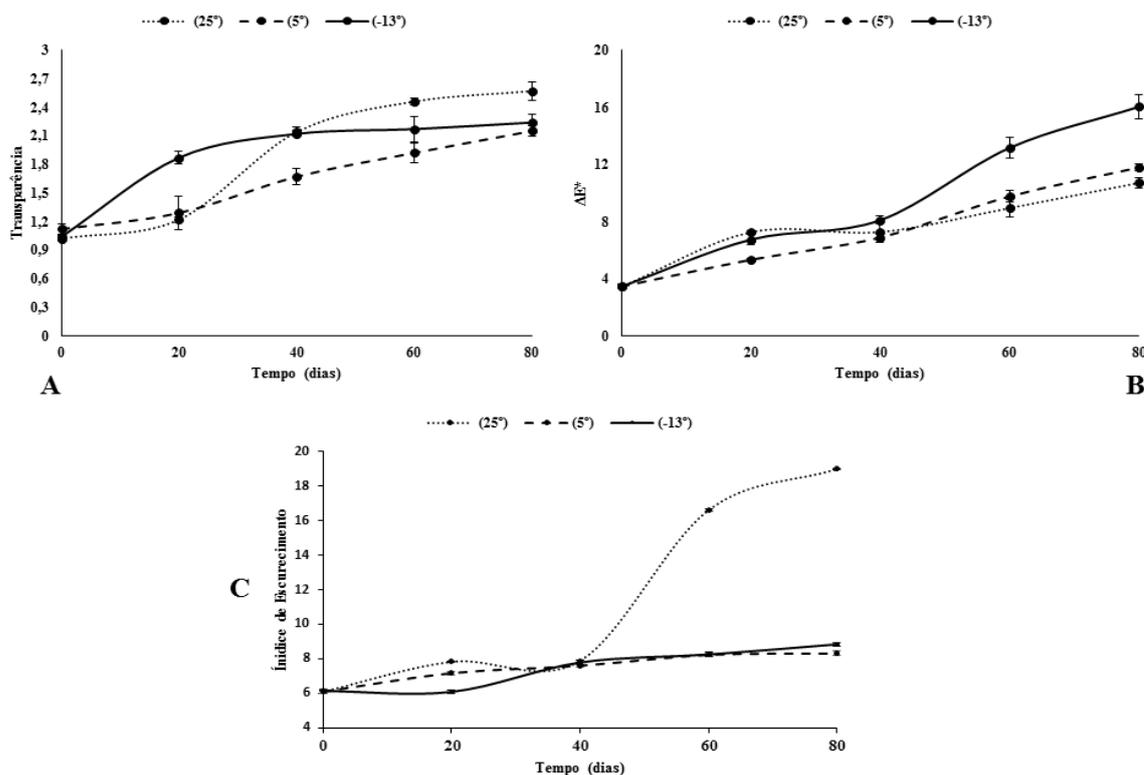
Figura 4.2: Parâmetros de cor L^* , a^* e b^* de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento.



Os valores iniciais de L^* (Figura 4.2) e transparência (Figura 4.3) mostram que filmes produzidos a partir de mistura de biopolímeros de resíduos de peixes são claros, brilhantes e transparentes. No entanto, no armazenamento percebem-se mudanças significativas, especialmente quanto à transparência, que apresentou no final do experimento valores 151,47% maiores que os iniciais, ou seja, menor transparência. Como citado anteriormente, com o decorrer do tempo podem ocorrer reorganizações moleculares, principalmente quando se tem

mais de um polímero envolvido. Essas interações tornam a matriz do filme mais compacta, deixando-os opacos e menos transparentes (BLANCO-PASCUAL et al., 2014).

Figura 4.3: Valores de transparência (A), ΔE^* (B) e IE (C) de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento.



Os valores das coordenadas a^* e b^* mostram que os filmes tendem a uma cor levemente amarela, sendo aumentada ao longo do armazenamento (+ b^*). Os efeitos mais significativos na cor foram observados à 25°C, onde a coordenada b^* que inicialmente era de $5,75 \pm 0,11$, e aumentou para $17,42 \pm 0,34$. Para auxiliar na interpretação dos resultados foi calculado o ΔE^* (Figura 4.3), que apresentaram valores baixos ($3,45 \pm 0,18$) no dia 0. Houve diferença significativa nos valores de ΔE^* até o 40º dia para todas as temperaturas; no entanto, os filmes armazenados sob refrigeração e à temperatura ambiente sofreram alteração de cor durante todo o período de estocagem (80 dias). Os maiores valores de ΔE^* ocorreram em 25°C; e no 20º dia de armazenamento foram observados valores superiores a 5, que segundo Mokrzycki e Tatol (2011) é o mínimo para que a diferença de cor seja perceptível ao olho humano.

Aumento nos parâmetros de cor em função do tempo foi relatado por diversos autores, os quais consideram que as alterações, especialmente, amarelamento e escurecimento, são

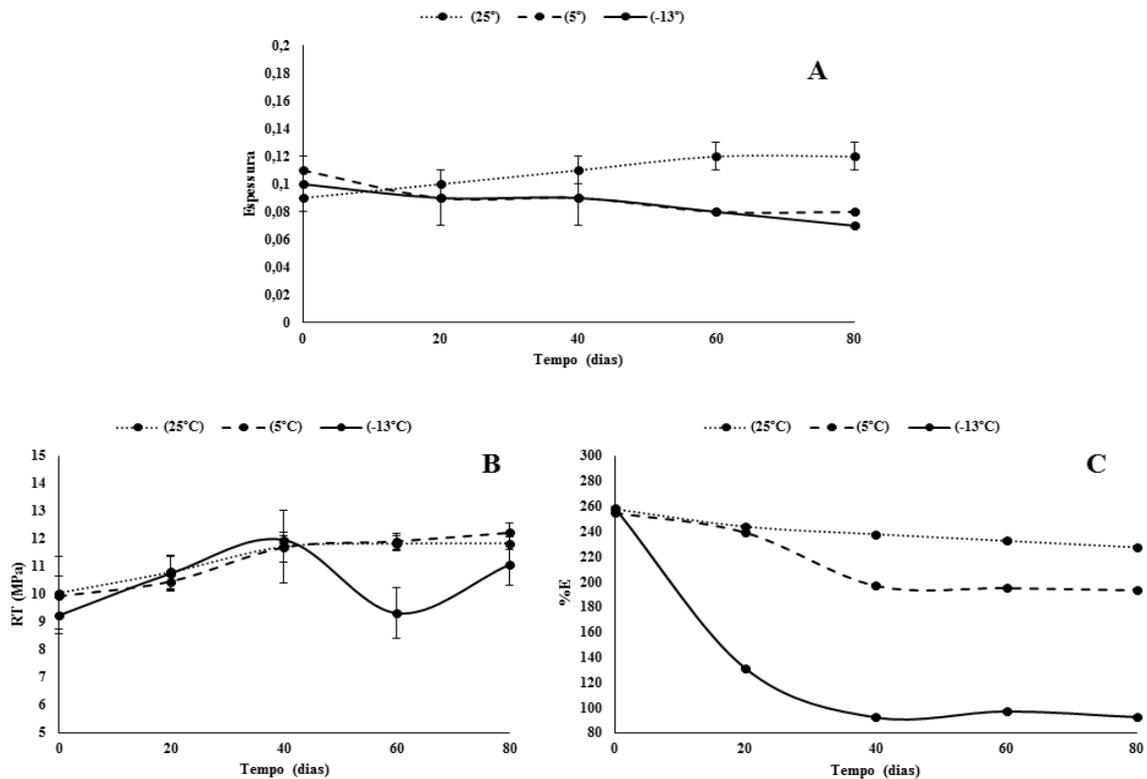
resultado de pigmentos finais da reação de Maillard (ARTHARN et al., 2009; LEERAHAWONG et al., 2012; BLANCO-PASCUAL et al., 2014). A reação de Maillard necessita de um açúcar redutor e um grupo amino para possa ocorrer; porém, a condensação entre grupos amino livres de aminoácidos, provenientes de proteínas hidrolisadas (especialmente em pH ácido utilizado nas soluções formadoras de filme) e grupos carbonila do glicerol, pode iniciar a reação e contribuir para mudanças na cor dos filmes armazenados (LECETA et al., 2015; PÉREZ et al., 2016).

O Índice de Escurecimento (IE) é um parâmetro que correlacionando a luminosidade (L^*) e as coordenadas a^* e b^* pode identificar alterações de cor; é utilizado principalmente para acompanhar os estágios da reação de Maillard em produtos armazenados (FONTES et al., 2008). Os valores iniciais de IE (Figura 4.3 C) mostram que os filmes são claros. Em todas as condições estudadas pode-se observar um aumento significativo no IE em função do tempo de armazenamento; nas condições frias os filmes escureceram, porém lenta e gradualmente, sem alcançar valores elevados. Enquanto que à 25°C houve escurecimento bastante expressivo dos filmes, especialmente a partir do 40º dia, reforçando a hipótese do escurecimento dos filmes pela reação de Maillard favorecida pela maior temperatura e tempo de armazenamento (UMEMURA et al., 2010; GOMEZ-NARVAEZ et al., 2017).

Espessura e propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas estimam a resistência e durabilidade de um material, e também suas possíveis utilidades. Os dados obtidos para espessura e propriedades mecânicas podem ser vistos na Figura 4.4.

Figura 4.4.: Espessura (A) e propriedades mecânicas RT (B), %E (C) de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento.



O período de armazenamento afetou significativamente a espessura dos filmes em todas as condições estudadas. Os filmes armazenados à 25°C tiveram a espessura aumentada a partir do 40º dia, tornando-se 25% mais espessos que no início do experimento ($0,12 \pm 0,01$ mm), provavelmente devido a água adsorvida pelo glicerol que causou inchaço na superfície do filme. Já os filmes armazenados em temperaturas e UR mais baixas apresentaram comportamento contrário com o tempo; a espessura diminuiu consideravelmente do dia 0 para o último dia de estudo. O mesmo efeito foi observado por Piccirilli et al. (2019) quando avaliou os efeitos de temperatura e tempo de armazenamento sobre as propriedades de filmes do soro de leite.

As propriedades mecânicas dos filmes sofreram efeito do tempo e condições de armazenamento; a RT teve seus valores aumentados em todas as condições estudadas. Alterações significativas foram vistas somente nos primeiros 20 dias de armazenagem, ficando constante até o final do estudo. No armazenamento a 5°C os filmes ficaram cerca de 19% mais resistentes ao longo do tempo. O reflexo no aumento da rigidez dos filmes pode ser visto na diminuição da %E. Os filmes armazenados à -13°C perderam aproximadamente 64,15% da capacidade de extensão; tendo grande perda observada já no 20º dia. O frio e a baixa UR

favoreceram o ressecamento dos filmes deixando-os quebradiços; fator, que inclusive, dificultou a realização das análises mecânicas.

Este comportamento em geral é comum em filmes proteicos. Artharn et al. (2009) também observaram que com o tempo de armazenamento os filmes de proteínas miofibrilares de peixe tornaram-se rijos e menos extensíveis. Segundo eles tais alterações mecânicas são resultado perda de mobilidade, em detrimento da migração do plastificante, bem como agregação e/ou reticulação entre os polímeros durante o armazenamento. O pH 3,0 usado no preparo das soluções formadoras de filme pode ter favorecido a reticulação entre as proteínas miofibrilares e a gelatina na matriz da película (Blanco-Pascual et al., 2014). A perda das propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis com o tempo de armazenamento é confirmada não apenas pelos dados obtidos neste trabalho, mas também por outros resultados da literatura (LECETA et al., 2015; KET-ON et al., 2016; SCHIMID et al., 2018; PICCIRILLI et al., 2019)

4. CONCLUSÃO

O armazenamento de filmes biodegradáveis mostrou que estes sofrem alterações significativas em suas características. À 25°C e UR de 60% onde os filmes tornaram-se opacos, escuros e com coloração amarela, diminuição da solubilidade e do PVA, além de perda das propriedades mecânicas apresentando-se mais rijos e menos flexíveis. A literatura atual relaciona tais alterações com perda de componentes de baixo peso molecular (glicerol), agregação de proteínas, reação de Maillard e reorganização na microestrutura da película. Apesar das limitações, a incorporação de substâncias de reforço, como óleos; ou uso de tecnologias que altere estruturas químicas da superfície do material, como plasma à frio, poderia viabilizar o uso dos filmes biodegradáveis como embalagens de alimentos.

REFERÊNCIAS

American Society for Testing and Materials. **Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting**. Standard designation: D882, USA: ASTM International, 2013.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16^a ed. Washington, 2: 850, 1997.

ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. (2014) Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, 39:58-67. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.028.

ARTHARN, A., PRODPRAN, T., BENJAKUL, S. (2009) Round scad protein-based film: Storage stability and its effectiveness for shelf-life extension of dried fish powder. *LWT- Food Science and Technology*, 42(7):1238-1244. doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.009

BATISTA, J.T.S.; ARAÚJO, C.S; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; SILVA JUNIOR, J.O.C.; LOURENCO, L.F.H. (2019) Study of the effect of the chitosan use on the properties of biodegradable films of myofibrillar proteins of fish residues using response surface methodology. *Food Packaging and Shelf Life*, 20:100306. doi:10.1016/j.fpsl.2019.100306

BLANCO-PASCUAL, N.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; MONTERO, P. (2014) Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) myofibrillar protein concentrate for edible packaging films and storage stability. *LWT - Food Science and Technology*, 55:543-550. doi.10.1016/j.lwt.2013.10.025

CIANNAMEA, E. M., STEFANI, P. M., RUSECKAITE, R. A. (2015) Storage-induced changes in functional properties of glycerol plasticized-soybean protein concentrate films produced by casting. *Food Hydrocolloids*, 45:247-255. Doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.012

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. (1996) Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Journal of Food Science*, 58(8):206-211. doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x.

FONTES, L.C.B.; SARMENTO, S.B.S.; SPOTO, M.H.F.; DIAS, C.T.S. (2008) Conservação de maçã minimamente processada com o uso de películas comestíveis. *Ciência Tecnologia Alimentos*, 28(4):872-880.

GEYER, R., JAMBECK, J.R., LAW, K.L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7):e1700782. doi:10.1126/sciadv.1700782.

GOMEZ-NARVAEZ, F.; MEDINA-PINEDA, Y.; CONTRERAS-CALDERON, J. (2017) Evaluation of the heat damage of whey and whey proteins using multivariate analysis. *Food Research International*, 102:768-775. doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.074

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J.L. (1996) Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. *Food Science*, 58:206-211. doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x.

Instituto Adolfo Lutz - IAL. Aditivos. In: IAL, **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**, 4ª Edição. Secretaria de Estado da Saúde Coordenadoria de Controle de Doenças, p. 161–278, 2008

KET-ON, A.; PONGMONGKOL, N.; SOMWANGTHANAROJ, A.; JANJARASSKUL, T.; TANANUWONG, K. (2016) Properties and storage stability of whey protein edible film with spice powders. *Journal of Food Science and Technology*, 53(7):2933-2942. Doi.10.1007/s13197-016-2259-z

LABUZA, T. P; TANNENBAUM, S. R; KAREL, M. (1970) Water content and stability of low-moisture and intermediate-moisture foods. *Food Technology*, 24:543–550

LAYCOCK, B.; NIKOLI, M.; COLWELL, J. M.; GAUTHIER, M.; HALLEY, P.; BOTTLE, S.; GEORGE, G. (2017) Lifetime prediction of biodegradable polymers. **Progress in Polymer Science**, 71:144-189. doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2017.02.004

LEERAHAWONG, A.; TANAKA, M.; OKAZAKI, E.; OSAKO, K. (2012). Stability of the physical properties of plasticized edible films from squid (*Todarodes pacificus*) mantle muscle during storage. **Journal of Food Science**, 77(6):159-165. doi.10.1111 / j.1750-3841.2012.02728.x

LECETA, I., PEÑALBA, M., ARANA, P., GUERRERO, P., DE LA CABA, K. (2015). Ageing of chitosan films: Effect of storage time on structure and optical, barrier and mechanical properties. **European Polymer Journal**, 66:170-179. doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.02.015.

LETTNER, M.; SCHÖGGL, J.P.; STERN, T. (2017) Factors influencing the market diffusion of bio-based plastics: Results of four comparative scenario analyses. **Journal of Cleaner Production**, 157:289-298. doi.10.1016 / j.jclepro.2017.04.077

MALI, S., SAKANAKA, L.S., YAMASHITA, F., GROSSMANN, M.V.E., (2005) Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. *Carbohydrate Polymer*, 60 (3):283-289. doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.01.003

MOKRZYCKI, W.S., TATOL, M. (2011). Color difference ΔE - a survey. **Machine Graphics and Vision**, 20(4): 383-411.

NICOLIC, M.A.L.; GAUTHIER, E.; COLWELL, J.M.; HALLEY, P.; BOTTLE, S.E.; LAYCOCK, B.; TRUSS, R. (2017) The challenges in lifetime prediction of oxodegradable polyolefin and biodegradable polymer films. **Polymer Degradation and Stability**, 145:102-119. doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2017.07.018

OSÉS, J.; FERNÁNDEZ-PAN, I.; MENDOZA, M.; MATÉ, J.I. (2009) Stability of the mechanical properties of edible films based on whey protein isolate during storage at different relative humidity. **Food Hydrocolloids**, 23(1):125-131. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.12.003.

PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSAON, B.G. (1999) Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. **Journal of Food Science**, 64(1):42-45. doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb09857.x

PEREIRA, G.V.S; PEREIRA, G.V.S; NEVES, E.M.P.X; JOELE, M.R.S.P.; LIMA, C.L.S.; LOURENÇO, L.F.H. (2019) Effect of adding fatty acids and surfactant on the functional properties of biodegradable films prepared with myofibrillar proteins from acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*). **Food Science Technology**, 39(1):287-294. doi.10.1590/fst.03718

PÉREZ, L.M.; PICCIRILLI, G.N.; DELORENZI, N.J.; VERDINI, R.A. (2016) Effect of different combinations of glycerol and/or trehalose on physical and structural properties of whey protein concentrate-based edible films. **Food Hydrocolloids**, 56:352-359. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.12.037

PÉREZ-MATEOS, M.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. (2009) Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. **Food Hydrocolloids**, 23:53-61. doi.10.1016/j.foodhyd.2007.11.011

PICCIRILLI, G.N; SOAZO, M.; PÉREZ, L.M.; DELORENZI, N.J.; VERDINI, R.A (2019) Effect of storage conditions on the physicochemical characteristics of edible films based on whey protein concentrate and liquid smoke. **Food Hydrocolloids**, 87:221-228. doi. 10.1016/j.foodhyd.2018.08.015

RAPPAPORT, H. **Ethylene and polyethylene global overview SPI Film and Bag Conference**, p.46. 2011.

SARTORI, T.; FELTRE, G.; , SOBRAL, P. J. A. , CUNHA, R. L.; MENEGALLI, F. C. (2018) Properties of films produced from blends of pectin and gluten. **Food Packaging and Shelf Life**, (18):221–229. doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.007

SCHMID, M.; REICHERT, K.; HAMMANN, F.; STÄBLER, A. (2015). Storage time-dependent alteration of molecular interaction–property relationships of whey protein isolatebased films and coatings. **Journal of Materials Science**, 50(12):4396-4404. doi.10.1007/s10853-015-8994-0

SCHMID, M., MERZBACHER, S., MÜLLER, K. (2018) Time-dependent crosslinking of whey protein based films during storage. **Materials Letters**, 215:8-10. doi.org/10.1016/j.matlet.2017.12.047

SIGURGISLADOTTIR, S.; HAFSTEINSSON, H.; JONSSON, A.; LIE, O.; NORTVEDT, R.; THOMASSEN, M.; TORRISSEN, O. (1999) Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. **Journal of Food Science**, 64(1):99-104.

SILVA, N.S.; HERNÁNDEZ, E.J.G.P.; ARAÚJO, C.S.; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; LOURENÇO, L.F.H. (2018) Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. **CYTA: Journal of Food**, 16(1): 340-349. doi.org/10.1080/19476337.2017.1406005.

SIRACUSA, V.; LOTTI, N. (2018) Biobased plastics for food packaging. **Reference Module in Food Science**, 1-17. doi.10.1016/B978-0-08-100596-5.22413-X.

SOAZO, M., PÉREZ, L.M., PICCIRILLI, G.N., DELORENZI, N.J., VERDINI, R. A. (2016) Antimicrobial and physicochemical characterization of whey protein concentrate edible films incorporated with liquid smoke. **LWT - Food Science and Technology**, 72:285-291. doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.027

UMEMURA, K.; MIHARA, A.; KAWAI, S. (2010). Development of new natural polymer-based wood adhesives III: Effects of glucose addition on properties of chitosan. **Journal of Wood Science**, 56(5):387–394. doi.10.1007/s10086.010.1117.2

XAVIER NEVES, E.M.P.; PEREIRA,R.R.; PEREIRA,G.V.S.; PEREIRA, G.V.S; VIEIRA, L.L.; LOURENÇO, L.F.H. (2019) Effect of polymer mixture on bioplastic development from fish waste. **Boletim do Instituto de Pesca**, 45(4):e518. doi.10.20950/1678-2305.2019.45.4.518

ZAVAREZE, E.R.; HALAL, S.L.M.; TELLES, A.C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. (2012). Biodegradable films based on myofibrillar proteins of fish. **Brazilian Journal of Food Technology**, 4:53-57. doi.org/10.1590/S1981-67232012005000038

ZION (2016). Plastic packaging (Rigid plastic packaging and flexible plastic packaging) market for food and beverages, industrial, household products, personal care, medical and other applications-Global industry perspective. **Comprehensive Analysis and Forecast, 2014-2020**.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 4.1: Valores de média e desvio padrão das propriedades de barreira à umidade de blenda polimérica em diferentes condições de armazenamento.

| T°C/ UR | Parâmetros | Tempo de armazenamento (dias) | | | | |
|----------------|--------------|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| | | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 |
| 25°C ± 60% | Umidade | 8,88 ± 0,30 dA | 9,64 ± 0,07 cA | 11,23 ± 0,05 bA | 12,12 ± 0,48 aA | 12,64 ± 0,56 aA |
| | Aa | 0,43 ± 0,04 cA | 0,56 ± 0,05 bA | 0,64 ± 0,03 aA | 0,65 ± 0,03 aA | 0,65 ± 0,04 aA |
| | Solubilidade | 28,23 ± 0,65 aA | 26,28 ± 1,20 bA | 24,55 ± 0,47 cA | 24,05 ± 0,15 cA | 23,30 ± 0,55 cA |
| | PVA | 2,53 ± 0,04 aA | 2,37 ± 0,03 bA | 2,25 ± 0,02 bA | 1,95 ± 0,17 cA | 1,69 ± 0,01 dA |
| 5°C ± 39% | Umidade | 8,35 ± 0,31 aB | 5,79 ± 0,53 bB | 5,14 ± 0,23 cB | 5,06 ± 0,11 cB | 5,00 ± 0,08 cB |
| | Aa | 0,44 ± 0,02 aA | 0,39 ± 0,02 bB | 0,38 ± 0,01 bB | 0,37 ± 0,00 bB | 0,37 ± 0,01 bB |
| | Solubil | 29,14 ± 1,83 aA | 22,12 ± 1,44 bB | 21,71 ± 0,15 bcB | 20,21 ± 0,50 bcB | 20,08 ± 0,17 cB |
| | PVA | 2,44 ± 0,06 aB | 1,63 ± 0,04 bB | 1,56 ± 0,06 bcB | 1,56 ± 0,05 bB | 1,47 ± 0,02 cB |
| -13°C ± 31% | Umidade | 8,07 ± 0,17 aB | 6,06 ± 0,26 bB | 5,03 ± 0,13 cB | 5,00 ± 0,06 cB | 4,97 ± 0,04 cB |
| | Aa | 0,44 ± 0,03 aA | 0,38 ± 0,02 bB | 0,37 ± 0,01 bB | 0,37 ± 0,02 bB | 0,37 ± 0,00 bB |
| | Solubilid | 28,76 ± 0,74 aA | 23,45 ± 1,81 bAB | 21,52 ± 0,53 cB | 20,81 ± 1,11 cB | 20,02 ± 0,57 cB |
| | PVA | 2,43 ± 0,05 aB | 1,44 ± 0,05 bC | 1,33 ± 0,12 bC | 1,33 ± 0,16 bB | 1,33 ± 0,06 bC |

*Letras minúsculas diferentes mostram diferenças significativas entre os dias de armazenamento a mesma temperatura e letras maiúsculas diferentes mostram diferenças significativas entre as temperaturas de armazenamento no mesmo dia ($p \leq 0,05$). ** T°C: temperatura; UR: umidade relativa

Tabela 4.2. Valores transparência e cor de filmes de mistura polimérica em diferentes condições de armazenamento.

| T°C/ UR | Parâmetros | Tempo de armazenamento (dias) | | | | |
|----------------|------------|-------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 |
| 25°C ± 58% | TRASNP | 1,02 ± 0,03 eB | 1,22 ± 0,03 dA | 2,14 ± 0,05 cA | 2,46 ± 0,04 bA | 2,57 ± 0,10 aA |
| | L* | 92,03 ± 0,09 aA | 91,19 ± 0,18 bA | 88,13 ± 0,48 cB | 88,20 ± 0,26 cA | 87,35 ± 0,10 dA |
| | a* | -0,17 ± 0,01 cA | -0,19 ± 0,03 cB | -1,02 ± 0,06 bA | -1,09 ± 0,12 bC | -2,93 ± 0,02 aA |
| | b* | 5,75 ± 0,11 eA | 7,22 ± 0,04 dB | 7,60 ± 0,04 cB | 14,61 ± 0,66 bB | 17,42 ± 0,34 aC |
| | ΔE | 3,43 ± 0,15 dA | 7,25 ± 0,09 cA | 7,26 ± 0,75 cAB | 13,15 ± 0,75 bB | 16,03 ± 0,83 aC |
| | IE | 6,10 ± 0,08 dA | 7,83 ± 0,04 cA | 7,88 ± 0,07 cA | 16,61 ± 0,04 bA | 18,99 ± 0,06 aA |
| 5°C ± 39% | TRASNP | 1,02 ± 0,03 eB | 1,22 ± 0,03 dA | 2,14 ± 0,05 cA | 2,46 ± 0,04 bA | 2,57 ± 0,10 aA |
| | L* | 92,37 ± 0,38 aA | 91,47 ± 0,20 bA | 89,30 ± 0,34 cA | 88,10 ± 0,09 dA | 87,45 ± 0,10 eA |
| | a* | -0,17 ± 0,02 cA | -0,59 ± 0,06 bA | -0,63 ± 0,02 bB | -1,50 ± 0,04 aB | -1,54 ± 0,04 aC |
| | b* | 5,77 ± 0,07 cA | 6,95 ± 0,08 bcC | 7,19 ± 0,04 bB | 8,22 ± 0,37 aB | 8,26 ± 0,16 aB |
| | ΔE | 3,45 ± 0,18 eA | 5,32 ± 0,10 dC | 6,88 ± 0,21 cB | 8,75 ± 0,38 bB | 9,78 ± 0,22 aB |
| | IE | 6,10 ± 0,13 dA | 7,17 ± 0,09 cB | 7,60 ± 0,05 bA | 8,23 ± 0,11 aB | 8,31 ± 0,15 aC |
| -13°C ± 31% | TRASNP | 1,04 ± 0,03 cB | 1,87 ± 0,07 bB | 2,12 ± 0,03 aA | 2,17 ± 0,13 aB | 2,24 ± 0,09 aB |
| | L* | 91,93 ± 0,32 aA | 91,91 ± 0,58 aA | 88,20 ± 0,29 bB | 87,85 ± 0,24 bA | 86,77 ± 0,11 cB |
| | a* | -0,17 ± 0,02 dA | -0,50 ± 0,07 cA | -0,53 ± 0,03 cB | -1,81 ± 0,05 bA | -1,87 ± 0,05 aB |
| | b* | 5,78 ± 0,07 cA | 5,96 ± 0,04 cA | 7,19 ± 0,33 bA | 8,43 ± 0,75 abA | 8,86 ± 0,86 aA |
| | ΔE | 3,44 ± 0,16 dA | 6,73 ± 0,37 cB | 8,09 ± 0,29 bA | 8,94 ± 0,62 abA | 9,73 ± 0,34 aA |
| | IE | 6,14 ± 0,02 dA | 6,09 ± 0,08 dC | 7,79 ± 0,12 cA | 8,25 ± 0,11 bB | 8,84 ± 0,09 aB |

*Letras minúsculas diferentes mostram diferenças significativas entre os dias de armazenamento a mesma temperatura e letras maiúsculas diferentes mostram diferenças significativas entre as temperaturas de armazenamento no mesmo dia ($p \leq 0,05$). ** T°C: temperatura; UR: umidade relativa; IE: índice de escurecimento.

Tabela 4.3. Valores de espessura e propriedades mecânicas de blenda polimérica em diferentes condições de armazenamento.

| T°C/ UR | Parâmetros | Tempo de armazenamento (dias) | | | | |
|----------------|------------|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | 0 | 20 | 40 | 60 | 80 |
| 25°C ± 60% | Espessura | 0,09 ± 0,01 cA | 0,10 ± 0,00 cA | 0,11 ± 0,01 bA | 0,12 ± 0,01 abA | 0,12 ± 0,01 aA |
| | RT | 10,06 ± 1,33 bA | 10,82 ± 0,62 aA | 11,74 ± 1,33 aA | 11,85 ± 0,28 aA | 11,86 ± 0,24 aB |
| | %E | 258,20±0,80 aA | 244,30 ± 1,16 bA | 238,24 ± 0,76 cA | 232,98±1,18 dA | 227,84± 0,78 eA |
| 5°C ± 39% | Espessura | 0,11 ± 0,01 aA | 0,09 ± 0,00 bB | 0,09 ± 0,02 bB | 0,08 ± 0,00 cB | 0,08 ± 0,00 cB |
| | RT | 9,94 ± 0,75 bA | 10,48 ± 0,34 bA | 11,71 ± 0,53 aA | 11,93 ± 0,28 aA | 12,24± 0,36 aA |
| | %E | 255,23±0,45 aB | 239,55 ± 1,10 bB | 197,19 ± 1,18 cB | 195,41 ± 0,80 dB | 193,67 ± 1,03 eB |
| -13°C ± 31% | Espessura | 0,10 ± 0,01 aA | 0,09 ± 0,02 bB | 0,09 ± 0,00 bB | 0,08 ± 0,00 cB | 0,07 ± 0,00 dC |
| | RT | 9,24 ± 0,65 bA | 10,77 ± 0,59 aA | 11,98 ± 0,14 aA | 9,33 ± 0,91 bB | 11,08 ± 0,74 aB |
| | %E | 259,09±0,62 aB | 131,63 ± 0,99 bC | 92,66 ± 1,12 cC | 97,45 ± 1,28 dC | 92,88 ± 1,00 cC |

*Letras minúsculas diferentes mostram diferenças significativas entre os dias de armazenamento a mesma temperatura e letras maiúsculas diferentes mostram diferenças significativas entre as temperaturas de armazenamento no mesmo dia ($p \leq 0,05$). ** T°C: temperatura; UR: umidade relativa

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos nesta pesquisa pode-se concluir que:

- A bioconversão de proteínas (gelatina e proteínas miofibrilares) de resíduos de peixes em bioplástico possibilita o aproveitamento do material biológico, reduzindo o descarte e, conseqüentemente minimizando impactos ambientais negativos;
- Gelatina extraída de resíduos de pescada gó e de pescada amarela produzem filmes biodegradáveis transparentes, flexíveis, porém com alta permeabilidade à água, baixa resistência mecânica e termicamente sensíveis;
- Já as proteínas miofibrilares de ambas espécies formam filmes levemente opacos, rijos e menos permeáveis à umidade, porém pouco elásticos;
- A espectroscopia de FTIR mostrou boa compatibilidade e fortes interações químicas (pontes de hidrogênio) entre gelatina e proteínas miofibrilares;
- A mistura dos dois biopolímeros na mesma proporção favoreceu a formação de filmes biodegradáveis com propriedade de barreira à umidade superior aos filmes produzidos a partir de biopolímeros individuais;
- Os filmes de mistura polimérica foram mais fortes e flexíveis, transparentes e termicamente mais estáveis;
- Quanto ao estudo da estabilidade ao armazenamento dos filmes de blenda polimérica, os resultados mostraram que houve alterações significativas das propriedades em função do tempo e condições de estocagem;
- Os filmes tornaram-se opacos, escuros e com coloração amarela, diminuição da solubilidade e do PVA, além de perda das propriedades mecânicas, apresentando-se mais rijos e menos flexíveis;
- Notou-se ainda que as alterações foram mais intensas quando o armazenamento se deu à 25°C e com UR de 60%; e que tais alterações já podiam ser vistas a partir do 20º dia de estocagem;
- Diante das boas propriedades de barreira, mecânicas, térmicas e características ópticas e de cor dos filmes de mistura, as limitações inerentes à perda das propriedades tecno-funcionais em função do tempo, podem ser corrigidas através da incorporação de substâncias de reforço como óleos e nanopartículas, ou uso de tecnologias que altere a estrutura química superficial como plasma frio ou radiação de UV.