



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

EXTRAÇÃO DE GELATINA DE PELES DE PESCADA-OLHUDA (*Cynoscion guatucupa*)
PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS

DANIELA CARDOZO BAGATINI
Engenheira de Alimentos

PROF. DR. CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ
Orientador

RIO GRANDE, RS
2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

EXTRAÇÃO DE GELATINA DE PELES DE PESCADA-OLHUDA (*Cynoscion guatucupa*)
PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS

DANIELA CARDOZO BAGATINI
Engenheira de Alimentos

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em
Engenharia e Ciência de Alimentos.

PROF. DR. CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ
Orientador

RIO GRANDE, RS

2017

Ficha catalográfica

B144e Bagatini, Daniela Cardozo.
Extração de gelatina de peles de pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*) para aplicação em embalagens biodegradáveis para alimentos / Daniela Cardozo Bagatini. – 2017.
70 p.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2017.

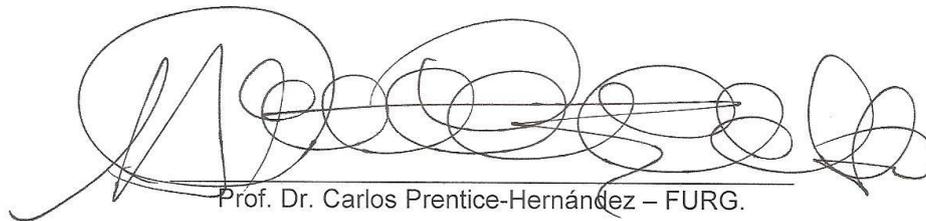
Orientador: Dr. Carlos Prentice-Hernández.

1. Embalagem 2. Subprodutos 3. Extração 4. Gelatina
5. Biodegradabilidade I. Prentice-Hernández, Carlos II. Título.

CDU 664

APROVAÇÃO

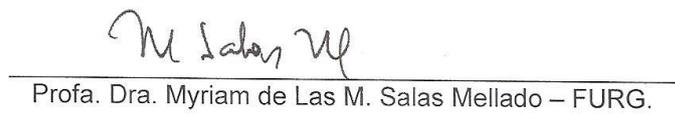
Dissertação defendida por Daniela Cardozo Bagatini e aprovada em 1º de junho de 2017, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Carlos Prentice-Hernández – FURG.



Prof. Dr. Eliezer Avila Gandra – UFPEL.



Profa. Dra. Myriam de Las M. Salas Mellado – FURG.



Dra. Meritaine da Rocha – FURG.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Ivanor e Vera, e aos meus irmãos Bruno e Lucas por serem minha base e tudo que tenho de mais valioso, minha família. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Sou grata a **vida** pelas oportunidades que tive, e a partir delas toda bagagem de conhecimento adquirido, bem como as pessoas que cruzaram meu caminho e que me ensinaram preciosas lições.

Agradeço aos meus pais **Ivanor e Vera** por tudo aquilo de mais valioso que eles poderiam me dar: amor, carinho, educação, incentivo e por terem me ensinado através do exemplo. Devo minha vida a vocês.

Agradeço aos meus irmãos **Bruno e Lucas** pelo amor e amizade de sempre, o chimarrão/café/cerveja sempre fizeram e fazem toda a diferença na minha vida.

Agradeço aos meus avós **Pedro e Rosa** pelo amor incondicional, incentivo e apoio, amo muito vocês!

Agradeço ao meu orientador **Prof. Dr. Carlos Prentice-Hernández** pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal. Obrigada!

Agradeço a mana **Adriana Abreu** pela amizade, incentivo e apoio, sem dúvidas essa caminhada foi mais amena e divertida com uma amiga arretada como tu ao meu lado.

Os amigos e colegas do **Laboratório de Tecnologia de Alimentos** foram de extrema importância nessa jornada, pois além dos conhecimentos compartilhados, dividiram o dia a dia comigo, e nele sentimentos como amizade, afeto, solidariedade... E isso é inestimável para mim. Estarão sempre guardados com carinho na minha lembrança, a vocês o meu muito mais que obrigada!

Agradeço a técnica do laboratório **Sabrine Aquino** por toda paciência e disponibilidade para me ajudar sempre que foi preciso. E as queridas **Juliana Latorres e Michele Coelho** que fizeram vezes de técnica quando a Sabine não pôde, este trabalho não seria possível sem a ajuda de todas vocês, portanto muito obrigada!

Minhas amigas da Engenharia pra vida **Micheli, Silvia, Paola, Cecília, Simone e Andressa**, pela amizade e paciência, e por entender minha ausência em diversos momentos. Obrigada por me divertirem e me proporcionarem momentos de alegria e distração!

Agradeço ainda ao **rugby** por manter minha saúde física e mental ao longo deste caminho, por ser alento nos momentos de tristeza, por todos os valores e lições ensinadas, vitórias e derrotas, e por todas as amizades sinceras que me trouxe e que estão no meu apoio sempre.

Muito obrigada!

RESUMO

EXTRAÇÃO DE GELATINA DE PELES DE PESCADA-OLHUDA (*Cynoscion guatucupa*) PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS

O colágeno é uma proteína de função estrutural presente nas peles de pescado, sendo que a partir de sua hidrólise parcial pode ser obtida a gelatina. A gelatina pode atuar como matriz polimérica na elaboração de filmes para aplicação em produtos alimentícios, o que se apresenta como uma alternativa à utilização de polímeros sintéticos derivados do petróleo e, portanto, poluentes. Além disso, a gelatina de pescado pode ser obtida devido à abundância de subprodutos de pescado produzidos pelas indústrias e ao seu baixo valor agregado. Em face disso, o objetivo deste estudo foi elaborar filmes utilizando gelatina extraída a partir de peles de pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*), a fim de desenvolver embalagens biodegradáveis para alimentos. Foi elaborado um planejamento experimental fatorial completo 2², onde foram estudadas as condições de tempo e temperatura de extração da gelatina de peles de pescada-olhuda. As diferentes gelatinas extraídas foram utilizadas na elaboração de filmes através da técnica de *casting* com adição de 3 % de gelatina e 30 % de glicerol, os quais foram avaliados mediante as análises de espessura, diferença total de cor e opacidade, resistência à tração e alongamento na ruptura, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água, sendo estas as respostas submetidas à análise de efeitos do planejamento, além do rendimento global das extrações de gelatina. Em seguida, o filme escolhido foi avaliado quanto à sua morfologia e propriedades térmicas, bem como seu potencial de biodegradabilidade no solo. Além disso, o mesmo foi utilizado no revestimento de filés de tainha (*Mugil liza*) para acompanhamento de sua estabilidade ao longo de 0, 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado, comparado com filés sem revestimento e revestidos com filme comercial de PVC, sendo submetidos a análises de perda de massa, diferença total de cor e de textura para cada dia de armazenamento. A partir do planejamento experimental elaborado, não foi possível verificar influência das condições de extração das gelatinas tanto no rendimento global quanto nos filmes testados, sendo assim os mesmos foram avaliados mediante teste de comparação das médias, e o filme que se destacou foi o obtido no EXP 5 (4h46min/60 °C). Este filme apresentou espessura de 0,045 mm, diferença total de cor de 16,60, opacidade de 8,36 %, resistência à tração de 10,00 MPa, alongamento na ruptura de 73,89 %, solubilidade em água de 34,52 % e permeabilidade ao vapor de água de 0,240 (g.mm/kPa.h.m²). O filme apresentou tempo igual ou inferior a 3 dias de degradação em solo. Através da aplicação do filme de gelatina de peles de pescada-olhuda em filés de tainha foi possível perceber que os filmes são uma barreira mais indicada para o revestimento de alimentos que apresentem uma atividade de água baixa ou intermediária.

Palavras-chave: Embalagem. Subprodutos. Extração. Gelatina. Biodegradabilidade.

ABSTRACT

GELATIN EXTRACTION FROM STRIPPED WEAKFISH (*Cynoscion guatucupa*) SKINS TO APPLICATION IN FOOD BIODEGRADABLE PACKAGING

Collagen is a structural function protein present in fish skins, and from its partial hydrolysis gelatin can be obtained. Gelatin can act as a polymeric matrix in preparation of films for food products application, which presents as an alternative to the use of synthetic polymers derived from petroleum and, therefore, pollutants. In addition, fish gelatin can be easily obtained because of the abundance of fish by-products produced in industries and because of their low value. The aim of this study was to elaborate films using gelatin extracted from stripped weakfish skins (*Cynoscion guatucupa*) in order to develop biodegradable food packaging. A complete factorial experimental design 2^2 was elaborated, where gelatin conditions of time and temperature from stripped weakfish skins were studied. The different gelatins extracted were applied on films elaboration through casting technique with addition of 3 % of gelatin and 30 % of glycerol, which were evaluated by the analysis of thickness, total color difference and opacity, tensile strength and elongation at break, water solubility and water vapor permeability, and these were the responses submitted to effect analysis from experimental design, besides the global yield of gelatin extractions. Then, the chosen film was evaluated for morphology and thermal properties, as well as the potential for soil biodegradation. In addition, it was used in mullet (*Mugil liza*) fillet packaging to observe its stability over 0, 3, 6 and 9 days of refrigerated storage compared to unpacked fillets and fillets packed with commercial PVC films, so they were subject to mass loss analysis, total color difference and texture for each day of storage. Starting from experimental design, it was not possible to verify the influence of gelatin extraction conditions both in global yield and the tested films, so they were evaluated through averages comparison, and the film that stood out was the one obtained for EXP 5 (4h46min/60 °C). This film presented thickness of 0,045 mm, total color difference of 16,60, opacity of 8,36 %, tensile strength of 10,00 MPa, elongation at break of 73,89 %, water solubility of 34,52 % and water vapor permeability of 0,240 (g.mm/kPa.h.m²). The film presented time equal to or less than 3 days of soil degradation. Through the application of gelatin film of stripped weakfish skins in mullet fillets it was possible to notice that the films are a more suitable barrier or coating food that present a low or intermediate water activity.

Keywords: Packaging. By-products. Extraction. Gelatin. Biodegradability.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variáveis reais e codificadas utilizadas no planejamento experimental 2^2 para extração de gelatina de peles de pescada-olhuda.....	27
Tabela 2 - Composição proximal das peles de pescada-olhuda.....	35
Tabela 3 - Matriz do planejamento experimental e resultados obtidos para o rendimento global de extração e para a caracterização dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda.....	37
Tabela 4 - Composição proximal dos filés de tainha para acompanhamento da estabilidade durante o armazenamento.....	55
Tabela 5 - Perda de massa (%) dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.....	69
Tabela 6 - Diferença total de cor dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.....	69
Tabela 7 - Força de cisalhamento (N) dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.....	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Pescada-olhuda (<i>Cynoscion guatucupa</i>).....	18
Figura 2 - Estruturas primária, secundária, terciária e quaternária das proteínas.....	19
Figura 3 - Representação de uma fibra de colágeno.....	21
Figura 4 - Fluxograma do processo de extração de gelatina.....	28
Figura 5 - Peles de pescada-olhuda (<i>Cynoscion guatucupa</i>).....	35
Figura 6 - Filmes elaborados utilizando o líquido residual do processo de filtração do colágeno.....	38
Figura 7 - Espessura (mm) obtida para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados.....	42
Figura 8 - Propriedades óticas de diferença total de cor e opacidade (%) obtidas para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados.....	44
Figura 9 - Filmes elaborados a partir de gelatina de peles de pescada-olhuda.....	45
Figura 10 - Propriedades mecânicas de resistência à tração (MPa) e alongamento na ruptura (%) obtidas para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados.....	46
Figura 11 - Solubilidade em água (%) obtida para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados.....	48
Figura 12 - Permeabilidade ao vapor de água (g.mm/kPa.m ² .h) obtida para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados.....	49
Figura 13 - Morfologia dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda referentes aos experimentos 4 (12 h/70 °C) e 5 (4h46min/60 °C).....	51
Figura 14 - Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda referentes aos experimentos 4 (12 h/70 °C) e 5 (4h46min/60 °C).....	52
Figura 15 - Avaliação da biodegradabilidade no solo do filme de gelatina de peles de pescada-olhuda.....	53
Figura 16 - Filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda antes e depois de 3 dias de degradação no solo.....	54
Figura 17 - Filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado sem revestimento, revestidos com os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda e revestidos com o filme comercial.....	56
Figura 18 - Perda de massa (%) dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.....	57

Figura 19 - Diferença total de cor dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.....	58
Figura 20 - Força de cisalhamento (N) dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.....	59

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Rendimento global da extração de gelatina.....	28
Equação 2 - Diferença total de cor.....	30
Equação 3 - Opacidade.....	30
Equação 4 - Resistência à tração.....	30
Equação 5 - Alongamento na ruptura.....	31
Equação 6 - Solubilidade em água.....	31
Equação 7 - Permeabilidade ao vapor de água.....	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 EMBALAGENS DE ALIMENTOS.....	16
3.2 EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS.....	16
3.3 PROTEÍNAS DE PESCADO.....	17
3.4 GELATINA.....	20
3.5 FILMES À BASE DE GELATINA DE PESCADO.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 MATERIAL.....	26
4.2 MÉTODOS.....	26
4.2.1 Preparo e caracterização da matéria-prima	26
4.2.2 Planejamento experimental para extração de gelatina	26
4.2.3 Pré-tratamento e extração da gelatina	27
4.2.4 Elaboração dos filmes	29
4.2.5 Caracterização dos filmes	29
4.2.5.1 Espessura.....	29
4.2.5.2 Propriedades óticas.....	30
4.2.5.3 Propriedades mecânicas.....	30
4.2.5.4 Solubilidade em água.....	31
4.2.5.5 Permeabilidade ao vapor de água.....	31
4.2.5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	32
4.2.5.7 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	32
4.2.5.8 Avaliação da biodegradabilidade no solo.	32
4.2.6 Estudo da estabilidade de filés de tainha durante o armazenamento	33
4.2.6.1 Composição proximal dos filés de tainha.....	33
4.2.6.2 Determinação da perda de massa.....	33
4.2.6.3 Determinação da diferença total de cor.....	33
4.2.6.4 Determinação da textura.....	34
4.2.7 Tratamento estatístico dos dados	34

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	35
5.2 EXTRAÇÃO DE GELATINA DE PELES DE PESCADA-OLHUDA E RESPOSTAS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	36
5.3 ELABORAÇÃO DOS FILMES.....	40
5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES.....	42
5.4.1 Espessura.....	42
5.4.2 Propriedades óticas.....	43
5.4.3 Propriedades mecânicas.....	45
5.4.4 Solubilidade em água.....	47
5.4.5 Permeabilidade ao vapor de água.....	49
5.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	50
5.4.7 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).....	52
5.4.8 Avaliação da biodegradabilidade no solo.....	53
5.5 ESTUDO DA ESTABILIDADE DE FILÉS DE TAINHA DURANTE O ARMAZENAMENTO.....	55
5.5.1 Composição proximal dos filés de tainha.....	55
5.5.2 Determinação da perda de massa.....	57
5.5.3 Determinação da diferença total de cor.....	58
5.5.4 Determinação de textura.....	59
6 CONCLUSÃO	61
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	62
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
APÊNDICE	68
Apêndice 1.....	69

1 INTRODUÇÃO

Transformar os materiais descartáveis e poluentes em coprodutos com valor agregado é hoje a base para o desenvolvimento sustentável do mundo moderno. Logo, reduzir o uso inconsciente de matéria-prima para evitar desperdícios e promover a reciclagem dos resíduos são condições essenciais para a garantia de processos mais econômicos e com menor impacto ambiental (EMBRAPA, 2013).

A necessidade de uma boa utilização dos subprodutos da indústria de pescado, quando aliada à grande problemática da poluição gerada por embalagens poliméricas convencionais, é uma das razões do interesse que abrange a exploração de novas técnicas de processamento e a otimização da extração de gelatina de pescado para aplicação em filmes biodegradáveis (CRUZ, 2014).

As proteínas de pescado se destacam devido à sua variedade de fontes, e nesse contexto, a gelatina vem sendo estudada para utilização em filmes comestíveis devido à abundância de sua matéria-prima, baixo custo de produção e disponibilidade global, além de boas propriedades de formação de filme. A gelatina de pescado tem interessado à comunidade científica devido à variedade de espécies e recursos, com destaque para as propriedades daquelas obtidas de resíduos de pele e ossos, por se tratar do aproveitamento de um resíduo industrial (CRUZ, 2014).

A desnaturação do colágeno provoca a separação total ou parcial das cadeias devido à destruição das pontes de hidrogênio, causando a perda da conformação da tripla hélice. Portanto, o colágeno e a gelatina são diferentes formas da mesma macromolécula, sendo que a gelatina é a forma parcialmente hidrolisada do colágeno. No entanto, dependendo do material utilizado, do processo de pré-tratamento empregado e da intensidade da hidrólise, vários tipos de gelatina com propriedades diferentes podem ser obtidos (BANDEIRA, 2009).

Os filmes ou coberturas à base de gelatina são projetados para recobrir os alimentos com a finalidade de se apresentar como uma barreira para impedir o intercâmbio de água, oxigênio e lipídios com o meio ambiente (LÓPEZ DE LACEY, 2013). As propriedades mecânicas e de barreira destes filmes dependem diretamente das características físico-químicas da gelatina, especialmente da composição de aminoácidos, o que varia bastante de acordo com a espécie do pescado, além da distribuição de peso molecular, que depende principalmente das condições utilizadas no processo de extração e obtenção da gelatina (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2009).

A elaboração dos filmes biodegradáveis requer ao menos um componente capaz de formar uma matriz estrutural, sendo esta capacidade muitas vezes atribuída às proteínas. Muitas

vezes é imprescindível a utilização de aditivos como os plastificantes à formulação dos filmes, pois sem eles os filmes seriam excessivamente frágeis e quebradiços. Além dos plastificantes poderão ser incluídos outros aditivos, por vez não tão necessários, porém sua inclusão na formulação pode acarretar uma melhora nas propriedades tecnológicas e funcionais das embalagens, tais como compostos antimicrobianos e antioxidantes (LÓPEZ DE LACEY, 2013).

O objetivo deste estudo foi elaborar filmes à base de gelatina extraída de peles de pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*), a fim de desenvolver embalagens biodegradáveis para alimentos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar filmes à base de gelatina extraída de peles de pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*), a fim de desenvolver embalagens biodegradáveis para alimentos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair gelatina de peles de pescada-olhuda utilizando diferentes condições de tempo e temperatura;
- Elaborar e caracterizar filmes à base de gelatina extraída de peles de pescada-olhuda;
- Determinar a melhor condição de extração de gelatina de peles de pescada-olhuda com base na caracterização dos filmes elaborados;
- Determinar a biodegradabilidade no solo do melhor filme elaborado;
- Aplicar o filme biodegradável em filés de tainha (*Mugil liza*) para acompanhar sua estabilidade durante o armazenamento.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 EMBALAGENS DE ALIMENTOS

Tradicionalmente, embalagens de alimentos atuavam unicamente como um invólucro e uma barreira de isolamento de sistemas alimentares ao ambiente externo, mantendo o alimento inerte. Nas últimas duas décadas a tecnologia de embalagens para alimentos tem evoluído constantemente em resposta aos desafios crescentes da sociedade moderna. Estes desafios incluem alimentos mais seguros e saudáveis, com vida útil prolongada, conveniência, autenticidade, legislação, desperdícios e preocupações ambientais (SALGADO et al., 2015).

Plásticos provenientes da indústria petroquímica tais como poliestireno, poliamidas, polietileno, etc, são amplamente utilizados como embalagens, devido a suas excelentes propriedades estruturais, barreira à gases ou água, qualidades estéticas e custo. No entanto, há um atributo extremamente negativo associado a estes materiais, que é o fato de que eles são poluentes (HANANI; ROOS; KERRY, 2014). A fim de diminuir os problemas de impacto ambiental causados por polímeros sintéticos não-biodegradáveis à base de petróleo, coberturas comestíveis e/ou filmes biodegradáveis/bioativos vêm sendo desenvolvidos para atuar como embalagens. Polímeros naturais tais como polissacarídeos, proteínas e lipídeos são considerados como promissores para esta finalidade, visto que estes materiais são biodegradáveis, abundantemente disponíveis e renováveis (HOSSEINI et al., 2016).

3.2 EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS

Grande parte dos materiais plásticos não são recicláveis. De acordo com a Agência de Proteção Ambiental, mais de 13 milhões de toneladas de lixo plástico foram geradas nos Estados Unidos em 2010, quase 30 % originadas de embalagens, sendo que essa quantidade dobrou de volume desde 1990 (WIHODO; MORARU, 2013).

A crescente e difundida consciência ambiental, bem como os esforços para a redução do volume de resíduos gerados e aumento no uso de matérias-primas de fontes renováveis vem dando ênfase para as propriedades de diferentes materiais tais como as proteínas e os polissacarídeos. A natureza não-degradável e não-renovável de embalagens plásticas convencionais resultou em um interesse em materiais para embalagem à base de polímeros derivados de fontes naturais e renováveis, os biopolímeros (HOSSEINI et al., 2015a).

Embora a substituição completa de polímeros petroquímicos por polímeros de fontes naturais ainda não seja possível devido a suas propriedades físico-químicas inferiores, faz-se necessário que sejam desenvolvidos estudos a fim de melhorar estas propriedades bem como testar novas aplicações para estes biomateriais, de modo que os plásticos sintéticos possam ser parcialmente substituídos e ocupem uma posição cada vez menor no mercado (GÓMEZ-ESTACA et al., 2011).

Materiais de embalagem biodegradáveis compreendem polímeros que são capazes de ser completamente degradados por micro-organismos (bactérias, fungos e algas) através de processos de compostagem produzindo compostos naturais tais como dióxido de carbono, água, metano e biomassa (HANANI; ROOS; KERRY, 2014). Alguns exemplos de polímeros biodegradáveis são os materiais naturais, tais como amido, celulose e proteínas (WIHODO; MORARU, 2013).

A habilidade das proteínas de formar uma matriz contínua é conhecida há bastante tempo. Devido a esta razão, uma grande variedade de proteínas de origem animal e vegetal recebem atenção na tecnologia de filmes. As proteínas são interessantes como biomaterial pois possuem uma estrutura baseada em 20 aminoácidos, o que confere uma ampla variedade de propriedades funcionais e de formação de filmes em função de diversas condições intrínsecas e extrínsecas (VANIN et al., 2005).

3.3 PROTEÍNAS DE PESCADO

As indústrias de processamento de pescado geram grandes quantidades de resíduos, devido principalmente à falta de reconhecimento deste recurso como matéria-prima e fonte para outros produtos com alto valor agregado. Os resíduos produzidos pelas indústrias pesqueiras acabam muitas vezes se tornando sério problema ambiental, podendo gerar potenciais fontes poluidoras de recursos hídricos, do solo e do ar. A conversão do material residual em subprodutos e o aproveitamento destes pode trazer vantagens econômicas para as indústrias, minimizando assim o problema de eliminação de resíduos e poluentes (BANDEIRA, 2009).

Os subprodutos da industrialização do pescado apresentam grande potencial para implantação de tecnologias de reaproveitamento nas agroindústrias. Por conseguinte, podem apresentar alta capacidade de valorização desde que inseridos em processos adequados de reutilização consciente. No caso do pescado, o material residual pode ser constituído de aparas do toalete antes do enlatamento, barbatanas, carne escura, peixes fora do tamanho ideal para

industrialização, peles, vísceras, cabeças e carcaças, os quais possuem proteínas e frações lipídicas, bem como vitaminas e sais minerais (EMBRAPA, 2013).

As vísceras, peles, escamas e o esqueleto, por exemplo, são matérias-primas na fabricação de farinhas, silagens e óleo de pescado, comumente empregados na alimentação animal. A carcaça contendo carne residual da filetagem, por sua vez, é submetida a processos para obtenção da polpa de pescado, principal ingrediente na fabricação de empanados e embutidos, muito apreciados na alimentação humana e com excelente valor agregado (EMBRAPA, 2013).

No município de Rio Grande (RS), considerada área tradicional de captura de pescado, estão localizadas diferentes indústrias pesqueiras, as quais são responsáveis pelo descarte dos subprodutos da pesca. Alguns dos subprodutos do processamento são de espécies de baixo valor comercial, destinadas para a fabricação da farinha de pescado juntamente com os demais resíduos da indústria ou descartados no meio ambiente (CENTENARO; MELLADO, 2008).

A pesca industrial em Rio Grande é direcionada a diversas espécies, dentre elas à pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*) conforme Figura 1. A pesca de arrasto é realizada principalmente ao sul da cidade em profundidades de 80 e 100 m, e a incidência deste pescado ocorre mais no inverno e primavera (HAIMOVICI et al., 2015).

Figura 1 - Pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*)



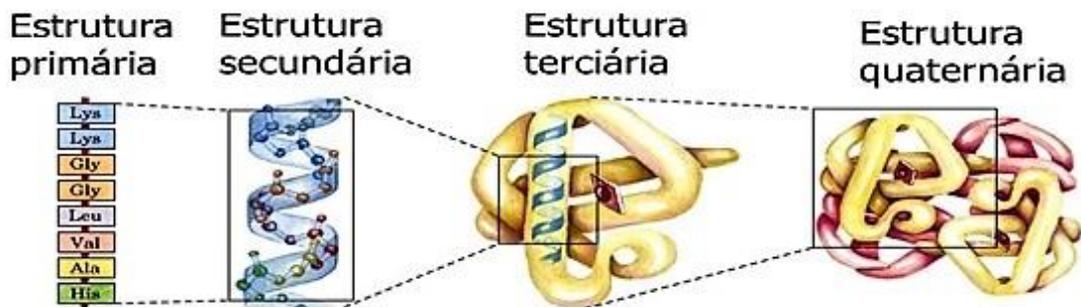
Fonte: A autora (2016).

Proteínas são moléculas complexas constituídas por carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e às vezes também por outros elementos, como enxofre, ferro, cobre, fósforo e zinco. São formadas essencialmente a partir de 20 aminoácidos unidos entre si por ligações peptídicas,

e são classificadas em função de sua solubilidade como sarcoplasmáticas (solúveis em água), miofibrilares (solúveis em soluções salinas), e as do estroma tal como o colágeno, o qual é insolúvel em água (ORDOÑEZ, 2005).

As proteínas existem na forma de quatro estruturas básicas: primária, secundária, terciária e quaternária, conforme visualizado na Figura 2. Uma estrutura de proteína primária é aquela onde a sequência dos aminoácidos é arranjada linearmente. Enquanto isso, uma estrutura de proteína secundária é aquela em que o formato das moléculas de proteína existe tanto nas formas alfa quanto beta, o que ocorre devido as pontes de hidrogênio entre os grupamentos $-C=O$ e $-N-H$ dentro da cadeia com os blocos de aminoácidos, gerando o formato de hélice. A estrutura terciária resulta quando as dobras da molécula de proteína ocorrem devido a interações com os grupamentos R dos aminoácidos. Esta interação pode ocorrer como resultado de pontes de hidrogênio, interações dipolo-dipolo, ligações covalentes ou pontes salinas, dependendo da polaridade dos grupamentos R. A estrutura quaternária resulta como consequência de interações não covalentes, as quais ligam diversos polipeptídios em um grande complexo macromolecular (HANANI; ROOS; KERRY, 2014).

Figura 2 - Estruturas primária, secundária, terciária e quaternária das proteínas



Dos subprodutos gerados na industrialização do pescado, a pele representa uma grande parte, sendo constituída por um alto teor de colágeno, o qual pode chegar a até 50 % do total de proteína das peles (KARIM; BHAT, 2009). A fim de obter gelatina, um pré-tratamento é necessário de modo a tornar o colágeno em uma forma mais disponível para extração. Isso implica a perda da conformação ordenada do colágeno nativo insolúvel, o que resulta em um colágeno intumescido mas ainda insolúvel. O aquecimento subsequente do colágeno cliva as pontes de hidrogênio, permitindo assim sua conversão em gelatina (ABDELMALEK et al., 2016).

3.4 GELATINA

A gelatina não é uma proteína de ocorrência natural, mas sim derivada de colágeno fibroso, o qual é o principal constituinte de peles, ossos e tecidos conectivos de origem animal. A gelatina é produzida através da hidrólise parcial do colágeno nativo. Durante o processo de extração da gelatina, a matéria-prima de origem animal pode ser tratada com sais, ácido ou álcali diluídos, resultado na clivagem parcial das ligações cruzadas: a estrutura é quebrada resultando na obtenção de um colágeno solúvel em água quente, a gelatina (KARIM; BHAT, 2009).

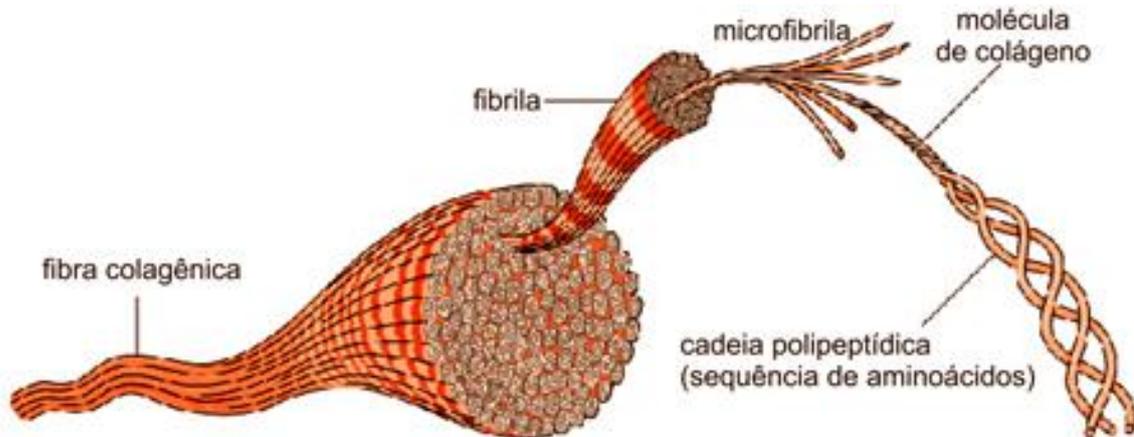
Atualmente, 98 % da produção de gelatina mundial é derivada da extração de ossos bovinos e pele bovina e suína. A indústria da gelatina vem constantemente buscando uma fonte alternativa, dadas algumas limitações destas matérias-primas relacionadas a motivos religiosos ou ainda doenças nestes animais. Desta forma, a produção de gelatina a partir dos subprodutos da indústria de pescado apresenta-se não só como uma alternativa para o aproveitamento destes resíduos, os quais podem constituir até 40 % do peso total do pescado, bem como uma nova fonte para a produção e obtenção de gelatina (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015).

As moléculas de colágeno são compostas de três cadeias alfa entrelaçadas, sendo então chamada de tripla hélice do colágeno, a qual apresenta uma estrutura tridimensional (Figura 3). A tripla hélice possui uma estrutura ideal para que ocorram pontes de hidrogênio entre as cadeias, sendo estabilizada por estas ligações. Portanto a desnaturação do colágeno ocasiona a destruição total ou parcial das pontes de hidrogênio, causando a perda de conformação da tripla hélice (KARIM; BHAT, 2009).

Sabe-se que o método de obtenção afeta as propriedades físico-químicas da gelatina, pois o grau de conversão de colágeno em gelatina está relacionado à severidade tanto do pré-tratamento quanto do processo de extração em si, os quais dependem de fatores como temperatura, tempo e pH. Ligações cruzadas covalentes entre cadeias alfa, pontes de hidrogênio que estabilizam a tripla hélice e até mesmo ligações peptídicas na estrutura primária são rompidas durante estas etapas (EYSTURSKARD et al., 2009).

O rendimento de extração de gelatina de pele de pescados de diferentes espécies abrange uma faixa entre 5,5 e 21 % ($\frac{g_{gelatina}}{100 g_{pele}}$). Esta variação está relacionada às diferenças na composição proximal de tais pescados, e a quantidade de componentes solúveis presentes nas peles, visto que estas propriedades variam de acordo com a espécie e a idade do pescado. Além disso, estas diferenças podem ser atribuídas às variações nos métodos de extração bem como ao conteúdo de colágeno presente na matéria-prima (KARIM; BHAT, 2009).

Figura 3 - Representação de uma fibra de colágeno



A gelatina de peixe possui aplicações limitadas devido à sua força de gel inferior e à sua baixa estabilidade nos géis formados quando comparados aos obtidos através de gelatina de mamíferos. Tais diferenças devem-se à distribuição de massa molecular e composição de aminoácidos, especialmente o conteúdo de prolina e hidroxiprolina presentes no colágeno, que é de cerca de 24 % em mamíferos e entre 16 e 18 % em espécies de peixe (GILSENAN; ROSS-MURPHY, 2000). Sendo assim, a alta incidência destes no colágeno tende a ocasionar maior força de gel e ponto de fusão à gelatina. Embora gelatinas sejam ricas em aminoácidos, a baixa força de gel pode ser obtida quando condições de extração severas são utilizadas, associadas principalmente à geração de frações de baixa massa molecular (KITTIHATTANABAWON et al., 2010).

De acordo com o método para extração de gelatina de matérias-primas de origem marinha desenvolvido por Gómez-Guillén e Montero (2001), a etapa de desnaturação do colágeno pode ser realizada em uma ampla faixa de tempo, entre 1 e 48 horas, bem como em uma ampla faixa de temperatura, porém sem exceder os 100 °C. Fatores como a origem e idade do peixe e seu tipo de colágeno possuem influência direta nas propriedades da gelatina obtida, além dos parâmetros da extração. O uso de condições mais severas tais como temperaturas elevadas durante tempo prolongado podem originar gelatinas com características inferiores aquelas extraídas utilizando condições mais amenas.

O uso de peles de peixe para a produção de gelatina deve levar em consideração dois diferentes aspectos. Primeiramente, a ampla diversidade das espécies de peixe, as quais apresentam diferenças intrínsecas nas moléculas de colágeno presentes nas peles. Além disso, a elevada susceptibilidade que o conteúdo colagenoso de peles de peixe possui com relação à degradação em função de seu baixo conteúdo de ligações cruzadas não redutíveis entre

cadeias, em contraste ao colágeno mais estável originado de mamíferos (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002).

Além das propriedades básicas de hidratação, tais como solubilidade em água e intumescimento, as mais importantes propriedades das gelatinas podem ser divididas em dois grupos: propriedades associadas ao seu poder de geleificação, formação de gel, como agente texturizador e capacidade de retenção de água; e propriedades relacionadas a seu comportamento na superfície, tal como emulsificante, agente estabilizador de espuma, adesão e coesão, e capacidade de formação de filmes. As propriedades funcionais das gelatinas são diretamente influenciadas pela composição de aminoácidos, a distribuição de massa molecular e a proporção de cadeias alfa e beta contidas na mesma (ABDELMALEK et al., 2016).

Durante a produção de gelatina, a conversão de colágeno em gelatina resulta em moléculas de massa variada, devido a clivagem de ligações covalentes entre cadeias e a quebra indesejável de algumas ligações peptídicas na cadeia principal. Como resultado, a gelatina obtida possui uma massa molecular inferior ao colágeno nativo, e consiste em uma mistura de fragmentos de massa molecular entre 80 e 250 kDa (KARIM; BHAT, 2009).

Altas concentrações de ácidos e álcalis ocasionam gelatinas com baixa habilidade de formação de gel, visto que ambos afetam o grau de ligações no colágeno durante o pré-tratamento. As principais diferenças nas propriedades entre gelatinas de mamíferos e de pescados é que as gelatinas de pescados possuem temperaturas de geleificação e de fusão mais baixas e viscosidades relativamente superiores. Os pontos de geleificação e de fusão para as gelatinas de mamíferos são de 20 a 25 °C e 28 a 31 °C, respectivamente, enquanto que as gelatinas de pescados apresentam ponto de geleificação entre 8 a 25 °C e ponto de fusão entre 11 e 28 °C (KARIM; BHAT, 2009).

A busca por produtos inovadores, com matéria-prima inicial de baixo custo e alto valor agregado do produto final, proveniente de fontes renováveis, não poluentes e que consigam suprir a demanda do mercado é constante. Desta forma, diversos estudos vêm sendo realizados buscando obter informações mais precisas a respeito da gelatina de pescado. Além das informações amplamente divulgadas das aplicações da gelatina de mamíferos como agentes espessantes e como revestimentos na indústria farmacêutica, por exemplo, nos últimos anos diversos autores vem comparando a gelatina extraída de mamíferos com gelatina de pescado (KARIM; BHAT, 2009), estabelecendo um comparativo entre a gelatina proveniente de diferentes espécies de pescado (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015; ABDELMALEK et al., 2016), bem como analisando como as condições de pré-tratamento e extração podem influenciar na qualidade e características finais da gelatina de pescado (ALFARO, 2004;

EYSTURSKARD et al., 2009; GÓMEZ-GUILLÉN; MONTERO, 2001; KITTIPHATTANABAWON et al., 2016).

3.5 FILMES À BASE DE GELATINA DE PESCADO

A gelatina foi um dos primeiros materiais utilizados na formação de filmes biodegradáveis, e tem sido estudada em diversas patentes. Continua a ser utilizada em estudos na área de filmes comestíveis visto que é uma matéria-prima abundante, produzida no mundo inteiro a baixo custo e possui excelentes propriedades de formação de filmes (VANIN et al., 2005).

A técnica de formação de filme demanda que a rede de polímeros interaja com todos os componentes na formação do mesmo, resultando na formação da estrutura de gel tridimensional. O processo por via úmida é baseado na solubilização ou dispersão de todos os ingredientes seguidos de uma secagem a fim de formar a estrutura do filme. São baseados nas propriedades termoplásticas dos ingredientes na formação do filme, visto que utiliza aquecimento e é aplicado a temperaturas acima do ponto de fusão dos materiais a fim de possibilitar seu escoamento. Técnicas de processamento convencional de polímeros sintéticos, tais como compressão, molde de injeção e extrusão estão sendo estudados para que possam processar biopolímeros e outros materiais. Além destas técnicas, o *casting* é amplamente utilizado e consiste em verter a solução filmogênica em uma placa, a qual é submetida a secagem. Há também as coberturas, as quais podem ser formadas na superfície dos alimentos através da imersão do produto na solução filmogênica, ou ainda através do *spraying* diretamente no alimento (SALGADO et al., 2015).

Filmes à base de proteína de músculo de peixe possuem boa resistência mecânica, porém podem apresentar elevada permeabilidade ao vapor de água. São bastante sensíveis às condições do ambiente, principalmente no que diz respeito a umidade relativa do ar, devido ao caráter altamente higroscópico deste material. Independentemente da proteína utilizada, a produção de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis requer o uso de um plastificante de modo a aumentar sua flexibilidade e facilidade de manuseio. Em termos de estrutura, os plastificantes são inseridos na matriz polimérica aumentando o espaço livre entre as cadeias, ocasionando uma diminuição nas forças intermoleculares ao longo da matriz (ANDREUCCETTI; CARVALHO; GROSSO, 2009). Plastificantes como glicerol, sorbitol e glicol são essenciais para tornar os filmes mais flexíveis, manuseáveis e evitar poros e rachaduras na matriz polimérica (HANANI; ROOS; KERRY, 2014).

Os filmes à base de gelatina de diversas espécies de pescado vêm sendo desenvolvidos por diversos autores, no entanto estes filmes biodegradáveis possuem algumas limitações (SHAKILA et al., 2012). Filmes elaborados a partir de gelatina de pescado em geral apresentam valores de permeabilidade ao vapor de água inferiores aos filmes de gelatina bovina. Isto pode ser explicado em termos de composição aminoacídica: sabe-se que as gelatinas de pescado apresentam uma hidrofobicidade mais elevada devido aos teores inferiores de prolina e hidroxiprolina, isto é, o grupamento hidroxila da hidroxiprolina normalmente está disposto a formar pontes de hidrogênio com a água, portanto devido à reduzida presença deste grupamento nos filmes de gelatina de pescado este passa a possuir menor afinidade pelas moléculas de água (KARIM; BHAT, 2009).

A distribuição de massa molecular e a composição de aminoácidos, os quais são os principais fatores que influenciam as propriedades físicas e estruturais das gelatinas, também são responsáveis por possuir influência sobre as propriedades mecânicas e de barreira nos filmes elaborados a partir destas gelatinas. Filmes frágeis e mais facilmente deformáveis normalmente são obtidos quando predominam fragmentos de baixa massa molecular na gelatina utilizada, o que pode ser atribuído à degradação da proteína por ação do calor durante a etapa de extração (GÓMEZ-GUILLEN et al., 2011).

A fim de melhorar as propriedades mecânicas e de barreira de filmes de gelatina, recentemente vem sendo testada a utilização de nanopartículas de argila, as quais são conhecidas por melhorar as propriedades mecânicas e de barreira de biopolímeros devido a sua estrutura e propriedades. Da mesma forma, a quitosana é outro polímero natural o qual possui habilidade de formação de filmes com boas propriedades, além de seu potencial antioxidante e antimicrobiano (HOSSEINI et al., 2016).

A proteína isolada do músculo de pescado é obtida através de uma solubilização alcalina seguida de precipitação ácida, e tem se mostrado um material interessante na elaboração de filmes, visto que possui baixo teor de lipídeos e elevado teor protéico. No entanto, os filmes a base de isolado protéico são rígidos devido a presença de fortes ligações covalentes, o que demanda o uso de elevadas quantidades de plastificantes hidrofílicos a fim de proporcionar uma flexibilidade adequada ao filme, o que é economicamente desfavorável (ARFAT et al., 2014).

Os filmes a partir de polímeros de fontes naturais são excelentes veículos para a incorporação de uma ampla variedade de aditivos, tais como agentes antimicrobianos, antioxidantes, antifúngicos, colorantes e outros nutrientes, conferindo assim maior qualidade aos produtos alimentícios embalados e uma vida útil mais prolongada (ARFAT et al., 2014). Embalagens antimicrobianas para alimentos são uma forma promissora de embalagens ativas.

São baseadas na incorporação de substâncias antimicrobianas naturais nos materiais de embalagem, de modo a minimizar o crescimento de micro-organismos contaminantes no pós-processamento, aumentando sua vida útil e a segurança alimentar (HOSSEINI et al., 2016).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

A matéria-prima utilizada para obtenção da gelatina foi pele de pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*) fornecida pela indústria Torquato Pontes Pescados S/A da cidade de Rio Grande/RS. As peles foram transportadas em caixas térmicas com gelo em escamas até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos, onde foram processadas na Planta de Processamento de Pescado pertencente à Universidade Federal do Rio Grande (FURG), onde foi desenvolvido o trabalho experimental desta dissertação.

A tainha (*Mugil liza*) utilizada para a avaliação da estabilidade durante o armazenamento refrigerado foi adquirida no Entrepasto de Pescados de Rio Grande/RS.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Preparo e caracterização da matéria-prima

As peles de pescada-olhuda foram armazenadas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ em porções de aproximadamente 300 g até sua posterior utilização. Cada porção, após sofrer descongelamento para o uso, passou por uma etapa de toalete onde todo o músculo aderido foi retirado utilizando faca de corte. Em seguida, as peles foram lavadas em água corrente para remoção de escamas e restos de músculo aderidos, bem como demais materiais superficiais, e sofreram um banho em água clorada para realizar a sanitização da matéria-prima. Após, foram novamente lavadas em água corrente, sendo removido o excesso de água, e foram posteriormente cortadas em peças de aproximadamente 2 cm x 2 cm com tesoura de aço inoxidável.

As peles foram caracterizadas quanto aos teores de umidade, cinzas, lipídios e proteínas, todos de acordo com os métodos oficiais da A.O.A.C. (2000).

4.2.2 Planejamento experimental para extração de gelatina

Foi realizado um teste preliminar de extração de gelatina utilizando os parâmetros de 6 h/ $45\text{ }^{\circ}\text{C}$, e com base nos resultados obtidos verificou-se a necessidade de realizar um estudo testando outras condições de tempo e temperatura no processo de extração.

As diferentes condições para extração de gelatina foram descritas conforme planejamento experimental 2^2 do tipo Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) com três repetições no ponto central. Foram variados os parâmetros de tempo (h) e temperatura ($^{\circ}\text{C}$) de extração. As condições podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Variáveis reais e codificadas utilizadas no planejamento experimental 2^2 para extração de gelatina de peles de pescada-olhuda

Variáveis codificadas	Variáveis reais	
	Tempo (h)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
-1,41	4h46min	45,9
-1	6	50
0	9	60
1	12	70
1,41	13h14min	74,1

Foram avaliados os efeitos gerados pelas variáveis independentes do processo (tempo e temperatura) sobre as variáveis dependentes: rendimento global de extração de gelatina, e sobre as propriedades de espessura, diferença total de cor, opacidade, resistência à tração, alongamento na ruptura, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água obtidas para a caracterização dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda.

4.2.3 Pré-tratamento e extração da gelatina

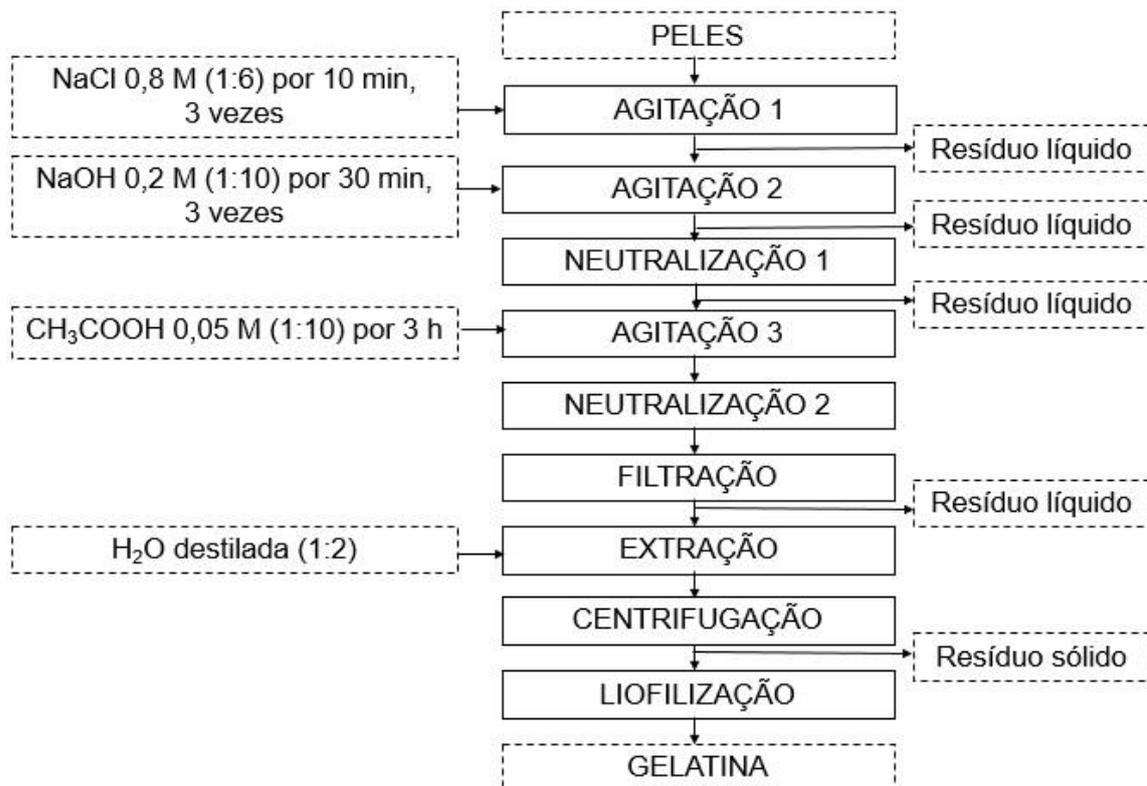
A metodologia utilizada para a extração de gelatina foi a descrita por Gómez-Guillén e Montero (2001). As peles sofreram lavagem com NaCl 0,8 M (cloreto de sódio) na proporção de 1:6 (p/V) e foram mantidas sob agitação constante durante 10 min (Agitador eixo-hélice Fisatom, 713D). Este procedimento foi repetido 3 vezes, descartando-se o líquido da lavagem. Após, as peles sofreram nova lavagem utilizando NaOH 0,2 M (hidróxido de sódio) na proporção de 1:10 (p/V) sob agitação durante 30 min. Este procedimento também foi repetido 3 vezes, descartando-se o líquido da lavagem e realizando-se uma neutralização em água corrente. Em seguida, as peles sofreram a adição de CH_3COOH 0,05 M (ácido acético) na proporção de 1:10 (p/V) e foram mantidas sob agitação constante durante 3 h, sofrendo novo processo de neutralização em água corrente com o auxílio de tecidos de filtração para separação do colágeno obtido.

Posteriormente, este colágeno foi submetido ao processo de extração da gelatina, a qual foi realizada sob agitação constante utilizando água destilada na proporção 1:2 (p/V) em reator aberto sob os parâmetros de tempo e temperatura de acordo com o descrito no planejamento experimental. Após a extração o material foi centrifugado (Hanil, Supra 22K) a 5000 rpm durante 15 min a 20 °C descartando-se o precipitado, sendo então a gelatina solubilizada posteriormente liofilizada (Liotop, LI08) e armazenada até sua utilização. O percentual de rendimento global (RG) do processo foi calculado de acordo com a Equação 1, onde m_i corresponde a massa de peles inicial (g) e m_f corresponde a massa de gelatina liofilizada (g).

$$RG = \frac{m_f}{m_i} \cdot 100\% \quad (1)$$

O processo pode ser melhor visualizado através do fluxograma na Figura 4.

Figura 4 - Fluxograma do processo de extração de gelatina



Previamente à realização de todas as extrações do planejamento, foi realizado um teste a fim de verificar se a etapa de filtração seria um fator limitante no rendimento final no processo de extração. Foi utilizado o resíduo líquido filtrado proveniente da neutralização da lavagem

ácida, onde o mesmo foi submetido a centrifugação a fim de precipitar o possível colágeno suspenso. O precipitado foi submetido a extração com água destilada (6 h/50 °C), foi liofilizado e posteriormente testado quanto à sua habilidade de formar filmes nas condições descritas no item 4.2.4.

4.2.4 Elaboração dos filmes

Foram realizados testes preliminares para a elaboração dos filmes utilizando a gelatina cuja condição de extração foi de 50 °C/6 h. Foram testadas as temperaturas de 45 e 70 °C para a elaboração da solução filmogênica (SF), além das quantidades de 10 e 30 % de glicerol ($\frac{g_{\text{glicerol}}}{g_{\text{gelatina}}}$) na formulação dos filmes. Foram testadas diferentes quantidades de SF vertidas nas placas de Petri, e a partir de então os filmes foram avaliados qualitativamente quanto à homogeneidade, espessura e propriedades mecânicas.

Com base nos resultados obtidos nos testes preliminares realizados, foram elaborados os filmes utilizando as gelatinas extraídas utilizando o planejamento experimental sob diferentes condições de tempo e temperatura de processo de obtenção de gelatina. Os filmes foram elaborados utilizando 3 % de gelatina (p/V) e 30 % de glicerol ($\frac{g_{\text{glicerol}}}{g_{\text{gelatina}}}$).

Os filmes foram elaborados através da técnica de *casting* conforme descrito por Gómez-Estaca et al. (2011) e Hosseini et al. (2015a) com modificações. A gelatina foi solubilizada em água destilada sob agitação constante a 70 °C durante 30 min. Em seguida, foi adicionado o plastificante glicerol, e manteve-se a agitação da SF por mais 15 min. Posteriormente, a SF foi vertida em placas de Petri na quantidade de 9 g de solução por placa e então os filmes foram secos em estufa com circulação forçada de ar (BioPar, S150BA) a 25 °C por até 24 h ou até total evaporação do excesso de água. Os filmes foram então acondicionados em dessecador a 25 °C com umidade relativa controlada de 50 % durante 48 h até posteriores análises.

4.2.5 Caracterização dos filmes

4.2.5.1 Espessura

A espessura (mm) dos filmes foi medida através do uso de micrômetro digital (INSIZE IP54, Brasil) a partir da média de 10 medidas em diferentes pontos dos filmes em quadruplicata.

4.2.5.2 Propriedades óticas

A cor e a opacidade dos filmes foram determinadas utilizando colorímetro (MINOLTA, CR 400, Japão) através do sistema CIEL*a*b, a partir da média de 3 medidas em diferentes pontos de um mesmo filme, em quadruplicata para diferentes filmes. Para a medida de cor dos filmes foram avaliados os parâmetros L^* (luminosidade), a^* (verde e vermelho) e b^* (azul e amarelo), sendo que os resultados foram expressos como diferença total de cor (ΔE^*), a qual é calculada através da Equação 2. Os valores de L^* , a^* e b^* são os valores do padrão branco ($L^* = 97,32$, $a^* = -0,52$, $b^* = 2,03$), e L , a e b são os valores medidos para cada amostra.

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

Para a determinação da opacidade (OP) foram realizadas as leituras posicionando o filme sobre um padrão preto (Y_{preto}) e sobre um padrão branco (Y_{branco}), sendo analisada em 3 diferentes pontos de um mesmo filmes, em quadruplicata para diferentes filmes. O cálculo do percentual de opacidade foi determinado pela Equação 3.

$$OP = \frac{Y_{\text{preto}}}{Y_{\text{branco}}} \cdot 100\% \quad (3)$$

4.2.5.3 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas de resistência à tração (RT) e alongamento na ruptura (AR) foram determinadas em texturômetro (*Stable Micro Systems*, TA.XTplus, Reino Unido) através da metodologia da ASTM D882-02 (ASTM, 2002). A separação inicial das garras do texturômetro foi de 50 mm e a velocidade do *probe* foi de 1 mm/s à temperatura ambiente (25 °C). Os filmes foram cortados em tiras de 8,6 cm de comprimento e 2,5 cm de largura. Para calcular a resistência à tração (MPa) foi utilizada a Equação 4, onde F é a força necessária para a ruptura do filme (N) e A é a área da seção transversal do filme (m^2).

$$RT = \frac{F}{A} \quad (4)$$

A porcentagem do alongamento na ruptura foi determinada utilizando a Equação 5, onde d_i é a distância inicial entre as garras (50 mm) e d_f é a distância final de alongamento do filme (mm). Ambas análises foram realizadas em quadruplicata para os diferentes filmes.

$$AR = \frac{d_f}{d_i} \cdot 100\% \quad (5)$$

4.2.5.4 Solubilidade em água

Para a determinação da solubilidade em água (SA) foi utilizado o método descrito por Zactiti e Kieckbusch (2004). Os filmes foram cortados em discos de 2,5 cm de diâmetro e secos em estufa (DeLeo, A1SE) a 105 °C, a fim de determinar sua massa seca inicial. Após, estes discos foram imersos em recipientes contendo 50 mL de água destilada e mantidos sob agitação em *shaker* (Cientec, CT712RNT) a 175 rpm durante 24 h. Passado este período os filmes foram novamente levados a estufa a 105 °C durante 24 h a fim de determinar sua massa seca final, sendo esta a massa da matéria que não foi dissolvida, avaliada em quadruplicata para os diferentes filmes. O cálculo do percentual de solubilidade foi realizado através da Equação 6, onde m_i e m_f correspondem às massas secas inicial e final (g), respectivamente.

$$SA = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \cdot 100\% \quad (6)$$

4.2.5.5 Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes foi determinada gravimetricamente de acordo com o método da ASTM E96-00 (ASTM, 2000) em quadruplicata para os diferentes filmes. Os filmes foram selados em recipientes contendo CaCl_2 (cloreto de cálcio) em seu interior, sendo posteriormente mantidos em dessecadores com umidade relativa controlada (75 % a 25 °C). O ganho de massa através do filme foi analisado a cada 24 h durante 4 dias. Para o cálculo da permeabilidade ao vapor de água ($\text{g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{MPa}$) foi utilizada a Equação 7, onde M é o ganho de massa do CaCl_2 (g), E é a espessura do filme (mm), A é a área de permeação (m^2), t é o tempo (dias) e ΔP é o diferencial de pressão de vapor (kPa).

$$PVA = \frac{M.E}{A.t.\Delta P} \quad (7)$$

4.2.5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A fim de obter mais informações a respeito da morfologia dos filmes, foi realizada a análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) no Centro de Microscopia Eletrônica da Zona Sul (CEME-SUL) da Universidade Federal do Rio Grande. As amostras dos filmes foram posicionadas sobre *stubs* de alumínio e revestidas com uma camada de ouro previamente à leitura utilizando um microscópio eletrônico de varredura (JSM 6060, JEOL, Japão) operando a 10 kV. As imagens foram obtidas com 1000 e 2000 vezes de ampliação.

4.2.5.7 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A análise calorimétrica das amostras de filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda foi realizada utilizando um calorímetro diferencial de varredura (SHIMADZU, DSC-60 *plus*) a fim de verificar a variação de entalpia dos filmes conforme a variação de temperatura. Porções de 5 mg das amostras foram adicionadas a recipientes de alumínio, seladas e analisadas em uma faixa de temperatura de 30 a 200 °C, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min.

4.2.5.8 Avaliação da biodegradabilidade no solo

A biodegradabilidade dos filmes foi avaliada mediante o acompanhamento de sua degradação no solo ao longo dos dias segundo o método descrito por Dalev et al. (2000) com algumas modificações. O solo foi colocado em uma caixa plástica a uma altura de 10 cm. Os filmes (2 cm x 2 cm) foram posicionados sobre um tecido, o qual foi enterrado verticalmente na caixa contendo a terra a uma profundidade de aproximadamente 2 cm da superfície. A caixa foi mantida a temperatura ambiente (25 °C) em incubadora, sendo umidificada com água duas vezes por dia a fim de manter a umidade. Foi feita a verificação visual da degradação dos filmes após 3 dias.

4.2.6 Estudo da estabilidade de filés de tainha durante o armazenamento

Com base nos resultados obtidos, foi realizada a aplicação do filme elaborado utilizando a gelatina extraída a 4h46min/60 °C (experimento 5) em filés de tainha fresca. Foi utilizado um controle negativo (filé *in natura*) e um controle positivo (filé embalado com filme comercial de PVC – policloreto de vinil). Os filés foram avaliados quanto à perda de massa, diferença total de cor e textura nos tempos 0, 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado (4 °C). Os experimentos foram identificados como -1 (pescado *in natura*), 0 (pescado revestido com filme de gelatina) e 1 (pescado revestido com filme comercial), tendo sido utilizadas porções de 5 g de filé em triplicata para cada tratamento em todas as análises realizadas.

4.2.6.1 Composição proximal dos filés de tainha

Para a determinação da composição proximal dos filés de tainha foi utilizado o método descrito pela A.O.A.C. (2000), onde foi determinado o teor de proteínas, lipídios, umidade e cinzas.

4.2.6.2 Determinação da perda de massa

Foi realizado o acompanhamento da perda de massa dos filés embalados através da pesagem em balança analítica das mesmas triplicatas para cada revestimento, nos tempos de 0, 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado em triplicata para cada experimento.

4.2.6.3 Determinação da diferença total de cor

A diferença total de cor (ΔE^*) dos filés foi determinada através do uso de colorímetro. Foram realizadas medidas em diferentes pontos de porções dos filés no primeiro dia, sendo este o padrão ($L^* = 49,59$, $a^* = -0,50$, $b^* = -0,89$). Em seguida foi avaliada a diferença da coloração nos tempos 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado para cada experimento, tendo sido realizada em triplicata para cada um e calculada conforme Equação 2 descrita no item 4.2.5.2.

4.2.6.4 Determinação da textura

A textura do pescado foi determinada em texturômetro através da medida de resistência ao corte (força de cisalhamento) cuja unidade é expressa em Newton (N), tendo sido realizada em triplicata para cada experimento nos tempos 0, 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado.

4.2.7 Tratamento estatístico dos dados

A partir dos dados obtidos no planejamento experimental foram avaliados estatisticamente os efeitos gerados pelas diferentes condições das variáveis independentes do processo sobre as variáveis dependentes através de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 95 % de confiança. Além disso, foi utilizado o teste Tukey de diferença entre médias para comparação dos demais resultados obtidos. Os dados foram tratados no *Software* Statistica 5.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

A Figura 5 apresenta a matéria-prima, peles de pescada-olhuda, utilizadas no presente estudo.

Figura 5 - Peles de pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*)



As peles estavam frescas, apresentavam textura firme e aparência brilhosa. Algumas estavam sem nenhum músculo remanescente aderido, porém outras demandaram uma etapa de toalete mais rigorosa a fim de conseguir remover todos os interferentes de forma eficaz. Após o preparo das peles, as mesmas foram caracterizadas quanto à sua composição proximal. A Tabela 2 apresenta os teores de umidade, cinzas, lipídios e proteínas referentes à matéria-prima.

Tabela 2 - Composição proximal das peles de pescada-olhuda

Matéria-prima	Umidade (%)*	Proteína (%)*	Lipídios (%)*	Cinzas (%)*
Peles (BU)	73,2 ± 0,51	23,4 ± 2,06	3,3 ± 0,04	0,4 ± 0,01
Peles (BS)	-	87,2 ± 7,67	12,2 ± 0,15	1,6 ± 0,05

Onde: * = média de 3 repetições; BU = base úmida; BS = base seca.

Bueno et al. (2011) observaram os valores de 68,0 % de umidade, 28,5 % de proteína, 2,4 % de lipídios e 1,9 % de cinzas na composição proximal de peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Já Hilbig et al. (2013) obtiveram os valores de 73,1 % de umidade, 24,3 % de proteína, 4,3 % de lipídios e 0,6 % de cinzas para peles da mesma espécie. Os valores

descritos foram semelhantes à composição obtida para as peles de pescada-olhuda. A pele é um tecido de revestimento e sustentação, sendo assim apresenta um teor elevado de proteínas. Considerando que até 50 % do total de proteínas pode ser constituído unicamente de colágeno, isto reflete diretamente no rendimento máximo que pode ser obtido no processo de extração de gelatina. Neste caso, considerando-se o teor de 23,4 % de proteínas obtido, o teor de colágeno para esta matéria-prima pode chegar a no máximo $11,7 \text{ g}_{\text{colágeno}}/100 \text{ g}_{\text{pele}}$, então o rendimento em termos de extração de gelatina necessariamente deve ser inferior a este valor, considerando-se que todo processo apresenta um mínimo de perdas.

5.2 EXTRAÇÃO DE GELATINA DE PELES DE PESCADA-OLHUDA E RESPOSTAS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Primeiramente, foi realizado um teste de extração utilizando a condição de 45 °C/6 h, uma vez que Kittiphattanabawon et al. (2016) realizaram um estudo testando diferentes temperaturas e tempos de extração, e observaram que a gelatina extraída na condição mencionada apresentou qualidade superior às demais, embora, por outro lado, o rendimento fosse menor quando comparado àquelas extraídas sob condições mais severas de tempo e temperatura. O rendimento global obtido no teste realizado foi de 5,62 % ($\text{g}_{\text{gelatina}}/100 \text{ g}_{\text{pele}}$). Embora, possivelmente, esta gelatina apresentasse boa qualidade para sua aplicação em filmes, o rendimento obtido sob esta condição de extração foi considerado baixo e insatisfatório, visto que Hoque, Benjakul e Prodpran (2010) relataram valores de rendimento de 13,21 % ($\text{g}_{\text{gelatina}}/100 \text{ g}_{\text{pele}}$) na extração de gelatina de pele de sépia (*Sepia pharaonis*). Observando isto, fez-se necessário testar outras condições de extração a fim de verificar possíveis diferenças no rendimento e na qualidade das gelatinas extraídas desta matéria-prima utilizando para isto um planejamento experimental.

Na Tabela 3 apresenta-se a matriz utilizada no planejamento experimental com as respostas de rendimento global de extração de gelatina e as propriedades avaliadas na caracterização dos filmes: espessura, diferença total de cor, opacidade, resistência à tração, alongamento na ruptura, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água obtidas para cada experimento.

Tabela 3 - Matriz do planejamento experimental e resultados obtidos para o rendimento global de extração e para a caracterização dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda

EXP	Tempo	Temperatura	Gelatina		Filmes					
	VC/VR (h)	VC/VR (°C)	RG (%)	ESP (mm)	ΔE^*	OP (%)	RT (MPa)	AR (%)	SA (%)	PVA (g.mm/kPa.h.m ²)
1	-1/6	-1/50	5,94	0,051 ± 0,002 ^a	15,03 ± 0,69 ^f	11,48 ± 0,15 ^b	11,46 ± 2,28 ^{a,b,c}	47,04 ± 7,05 ^{d,e}	26,02 ± 0,65 ^{e,f,g}	0,369 ± 0,018 ^a
2	+1/12	-1/50	5,02	0,045 ± 0,002 ^a	14,63 ± 0,65 ^f	11,50 ± 0,38 ^b	13,28 ± 0,22 ^a	55,66 ± 11,57 ^{d,e}	27,74 ± 1,69 ^{d,e,f}	0,278 ± 0,020 ^{d,e}
3	-1/6	+1/70	5,00	0,048 ± 0,007 ^a	18,97 ± 0,31 ^d	13,04 ± 0,46 ^a	11,93 ± 0,57 ^{a,b,c}	34,96 ± 2,84 ^e	29,82 ± 2,45 ^{c,d,e}	0,357 ± 0,019 ^{a,b}
4	+1/12	+1/70	5,93	0,049 ± 0,003 ^a	26,64 ± 0,50 ^a	11,56 ± 0,16 ^b	5,63 ± 0,67 ^e	124,14 ± 6,82 ^e	34,22 ± 0,54 ^{b,c}	0,248 ± 0,016 ^{d,e,f}
5	-1,41/4h46	0/60	5,13	0,045 ± 0,005 ^a	16,60 ± 0,35 ^e	8,36 ± 0,20 ^e	10,00 ± 0,92 ^{b,c}	73,89 ± 8,17 ^d	34,52 ± 1,83 ^b	0,240 ± 0,004 ^{e,f}
6	+1,41/13h14	0/60	5,57	0,048 ± 0,006 ^a	25,93 ± 0,77 ^a	9,69 ± 0,37 ^d	6,57 ± 1,31 ^{d,e}	154,36 ± 9,55 ^b	22,95 ± 0,46 ^g	0,231 ± 0,019 ^f
7	0/9	-1,41/45,9	7,49	0,050 ± 0,003 ^a	14,68 ± 0,35 ^f	9,63 ± 0,16 ^d	8,84 ± 0,12 ^{e,d,e}	217,76 ± 14,05 ^a	35,81 ± 1,90 ^b	0,288 ± 0,007 ^{c,d}
8	0/9	+1,41/74,1	8,52	0,046 ± 0,004 ^a	25,80 ± 0,63 ^a	8,60 ± 0,31 ^e	6,54 ± 1,78 ^{d,e}	161,87 ± 13,65 ^b	46,88 ± 2,90 ^a	0,279 ± 0,009 ^{d,e}
9	0/9	0/60	5,78	0,047 ± 0,003 ^a	24,44 ± 0,16 ^b	8,37 ± 0,23 ^e	12,80 ± 0,72 ^{a,b}	195,53 ± 14,16 ^a	24,62 ± 0,63 ^{f,g}	0,263 ± 0,005 ^{d,e,f}
10	0/9	0/60	7,40	0,047 ± 0,004 ^a	20,50 ± 0,30 ^c	8,65 ± 0,17 ^e	12,52 ± 0,76 ^{a,b}	112,43 ± 5,52 ^c	31,70 ± 0,81 ^{b,c,d}	0,261 ± 0,012 ^{d,e,f}
11	0/9	0/60	7,05	0,046 ± 0,005 ^a	20,02 ± 0,34 ^{c,d}	10,70 ± 0,31 ^c	9,18 ± 1,01 ^{c,d}	139,93 ± 12,33 ^{b,c}	34,77 ± 0,16 ^b	0,323 ± 0,011 ^{b,c}

Onde: EXP = experimento; VC = variável codificada; VR = variável real; RG = rendimento global; ESP = espessura; ΔE^* = diferença total de cor; OP = opacidade; RT = resistência à tração; AR = alongamento na ruptura; SA = solubilidade em água; PVA = permeabilidade ao vapor de água; letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Após realizar as extrações de alguns dos experimentos, verificou-se que o rendimento sofreu poucas alterações no valor obtido entre os mesmos, embora as condições de extração fossem diferentes. Sendo assim, considerou-se a hipótese de que houvesse algum fator que estivesse limitando o rendimento, ou seja, que pudesse estar ocorrendo uma perda no processo de extração. A suposta perda poderia estar ocorrendo através do resíduo líquido gerado no momento da filtração em função da neutralização em água após lavagem ácida. A filtração era necessária a fim de possibilitar a recuperação do colágeno, o qual encontrava-se suspenso na forma de uma pasta gelatinosa. Essa pasta era neutralizada com água e filtrada, sendo recuperados os sólidos que não passavam pelo tecido filtrante, ou seja, o colágeno. Foi considerada a possibilidade de que a lavagem ácida estivesse clivando as proteínas em partículas muito pequenas, e que as mesmas estivessem sendo arrastadas pelo líquido no momento da filtração e posteriormente descartadas junto com o resíduo líquido.

A fim de testar se realmente estava ocorrendo perda que pudesse influenciar no rendimento final, submeteu-se o resíduo líquido descrito anteriormente à centrifugação, de modo a separar o possível colágeno suspenso, e este precipitado foi submetido ao processo de extração (50 °C/6 h), logo foi liofilizado e testado quanto à sua capacidade de formar filmes conforme metodologia descrita na seção 4.2.4. Os filmes obtidos neste teste estão representados na Figura 6.

Figura 6 - Filmes elaborados utilizando o líquido residual do processo de filtração do colágeno



O liofilizado apresentou aspecto bastante diferente das gelatinas que já haviam sido extraídas. Durante a elaboração da solução filmogênica não foi possível realizar a solubilização completa do liofilizado, o mesmo permaneceu com muitos grumos embora tivesse sido realizada a tentativa de solubilizá-lo por um tempo mais prolongado de agitação. Conforme pode ser visualizado na Figura 6, os filmes ficaram com um aspecto heterogêneo, com uma superfície extremamente irregular. Ao tentar retirá-los das placas, demonstraram-se excessivamente pegajosos e maleáveis, não apresentando resistência alguma à deformação. Assim, concluiu-se que o resíduo líquido recuperado não caracterizou uma perda, visto que ao ser submetido ao processo de extração de gelatina e elaboração de filmes não apresentou comportamento característico.

Desta forma, com base no teste realizado, procedeu-se aos demais experimentos sem alteração no processo de extração. Os valores de rendimento global apresentados na Tabela 3 foram submetidos à análise de efeitos, no entanto não foi verificada influência dos parâmetros de extração (tempo e temperatura) na resposta obtida. Alfaro et al. (2013) obtiveram o rendimento de $5,10 \text{ g}_{\text{gelatina}}/100 \text{ g}_{\text{pele}}$ na extração de gelatina de peles de tilápia Wami (*Oreochromis urolepis hornorum*), o qual foi justificado pela perda de colágeno durante as diversas etapas de lavagem durante a extração da gelatina. Além disso, os autores atribuíram a este valor o fato de que temperaturas baixas (entre 40 e 50 °C) ocasionam rendimentos baixos e podem resultar em uma extração incompleta. Já temperaturas elevadas (entre 70 e 80 °C) tendem a degradar a gelatina produzida e afetar negativamente a qualidade da mesma. As mesmas possibilidades mencionadas pelos autores se aplicam a este estudo, visto que se acredita que as variáveis independentes do processo possam ter limitado as respostas geradas, o que impossibilitou verificar o efeito destes fatores sobre as mesmas. Além disso, há ainda a especificidade da matéria-prima, a qual possui uma composição de aminoácidos característica para esta espécie de pescado, e que varia em função de fatores como habitat, alimentação, idade do pescado, etc.

Este resultado vai de encontro ao descrito por Kasankala et al. (2007), os quais obtiveram rendimentos entre 10,96 e 19,83 % ($\text{g}_{\text{gelatina}}/100 \text{ g}_{\text{pele}}$) na extração de gelatina de peles de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*), sendo que os maiores rendimentos foram obtidos mediante a extração nas temperaturas entre 70 e 80 °C, e os menores rendimentos nas temperaturas entre 40 e 50 °C. Acredita-se que o rendimento possa sofrer a influência de diversos fatores, uma vez que tentou-se aumentar a escala do processo de extração e isto refletiu em um decréscimo no rendimento, bem como uma agitação mais vigorosa durante as lavagens

também resultou em rendimento menor. Desta forma, manteve-se sempre as mesmas condições de extração a fim de alcançar maior reprodutibilidade e confiabilidade nos resultados obtidos.

As respostas obtidas na caracterização dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda também foram submetidas à análise de efeitos e não foi verificada influência dos parâmetros de extração sobre as mesmas. Isto está de acordo com o observado para o rendimento global pois, uma vez que não foi possível verificar a influência das variáveis independentes sobre o rendimento da extração, era esperado que os mesmos fatores que levaram a esta resposta, conforme discutido anteriormente, tivessem influência também sobre as características dos filmes elaborados com as gelatinas extraídas no planejamento experimental. Isto difere do verificado por Kasankala et al. (2007), os quais utilizaram a metodologia de superfície de resposta para estudar o efeito das condições de extração: tempo, temperatura e concentração do ácido sobre a qualidade de gelatina de peles de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*), e observaram modelos matemáticos para as respostas analisadas. Sendo assim, utilizou-se a comparação entre as médias obtidas nas análises de caracterização dos filmes para determinar qual a condição de extração originou a melhor gelatina para elaboração de filmes neste estudo.

5.3 ELABORAÇÃO DOS FILMES

Com o intuito de determinar quais as melhores condições para elaboração dos filmes, foram realizados alguns testes preliminares. Primeiramente foi utilizado 10 % de glicerol e as temperaturas de 45 e 70 °C na elaboração das SF, sendo testadas as quantidades de 10 e 15 g de SF vertida nas placas. Os filmes de 15 g elaborados em ambas as temperaturas apresentaram espessura bastante variável quando realizada a medição em diferentes pontos. Quando avaliadas suas propriedades mecânicas, os mesmos demonstraram-se extremamente resistentes à tração, e por outro lado apresentaram pouca capacidade de alongamento na ruptura, demonstrando-se quebradiços após o rompimento. Os valores obtidos nos ensaios mecânicos foram variáveis, e isto pode ser explicado pela espessura heterogênea observada. Faz-se fundamental que a espessura dos filmes seja padronizada e que os mesmos possuam espessura equivalente, a fim de tornar possível a comparação dos resultados de filmes diferentes nas demais propriedades avaliadas e atrelar os valores obtidos às diferenças nas matrizes poliméricas. Para os filmes de 10 g foram verificados valores de propriedades mecânicas semelhantes aos de 15 g, e a partir de então optou-se por aumentar a concentração de glicerol nos testes posteriores para 30 %, na tentativa de obter filmes menos rígidos e com uma maior alongação, conforme comprovado por Arfat et al. (2014). Sua espessura apresentou uma menor variabilidade, o que levou a considerar

a possibilidade de testar quantidades próximas a 10 g de SF nas placas a fim de obter filmes mais homogêneos e conseguir assim padronizar qual quantidade de SF deveria ser pesada por placa para obter uma espessura padrão.

Desta forma, foram elaborados filmes utilizando 30 % de glicerol a 45 e 70 °C, testando as quantidades de 8, 9, 10 e 11 g de SF por placa. Foi percebida uma melhora significativa no aspecto geral dos filmes e em todas as propriedades avaliadas nos mesmos, o que atribuiu-se ao aumento do percentual de glicerol adicionado às formulações. Acredita-se que o glicerol adicionado na proporção anterior (10 %) estivesse presente em uma concentração baixa, e que apesar de ter executado sua função como plastificante, seria necessária uma quantidade maior para que surtisse um efeito melhor nos filmes. Todos os filmes elaborados a 70 °C apresentaram-se mais homogêneos nas avaliações realizadas para todas as quantidades de SF por placa testadas, quando comparados com os elaborados a 45 °C na quantidade de SF correspondente. As temperaturas de 45 e 70 °C foram utilizadas por diversos autores na elaboração de filmes com gelatina de subprodutos de pescado (MOHAJER; REZAEI; HOSSEINI, 2017; TONGNUANCHAN et al., 2015), no entanto são valores diferentes, e por este motivo foram testados. O fato de que os filmes elaborados a 70 °C apresentaram uma maior homogeneidade leva a crer que esta temperatura ocasiona uma abertura maior nas cadeias poliméricas, permitindo assim que o glicerol se ligue às cadeias e forme uma estrutura mais compacta e homogênea do que quando utilizados 45 °C, o que também causa uma alteração nas cadeias, mas não possui o mesmo impacto que uma temperatura mais elevada seria capaz de causar na estrutura do polímero. Temperaturas acima de 80 °C causam danos irreversíveis à estrutura das proteínas e passam a ocasionar perdas e danos ao processo em função da desnaturação proteica, portanto o uso de temperaturas acima de 80 °C são pouco usuais. Com relação às quantidades de SF adicionada às placas, 9 g demonstrou-se a quantidade mais adequada a ser utilizada, uma vez que apresentou boas propriedades mecânicas, espessura homogênea e boa reprodutibilidade.

Assim, com base nos testes preliminares realizados, optou-se por elaborar os filmes utilizando a temperatura de 70 °C e adicionar 9 g de SF às placas, de modo a obter filmes com espessura padronizada. Sendo assim, procedeu-se à elaboração dos filmes utilizando as gelatinas extraídas de peles de pescada-olhuda nos 11 experimentos do planejamento experimental a fim de testar sua qualidade através da caracterização dos filmes elaborados.

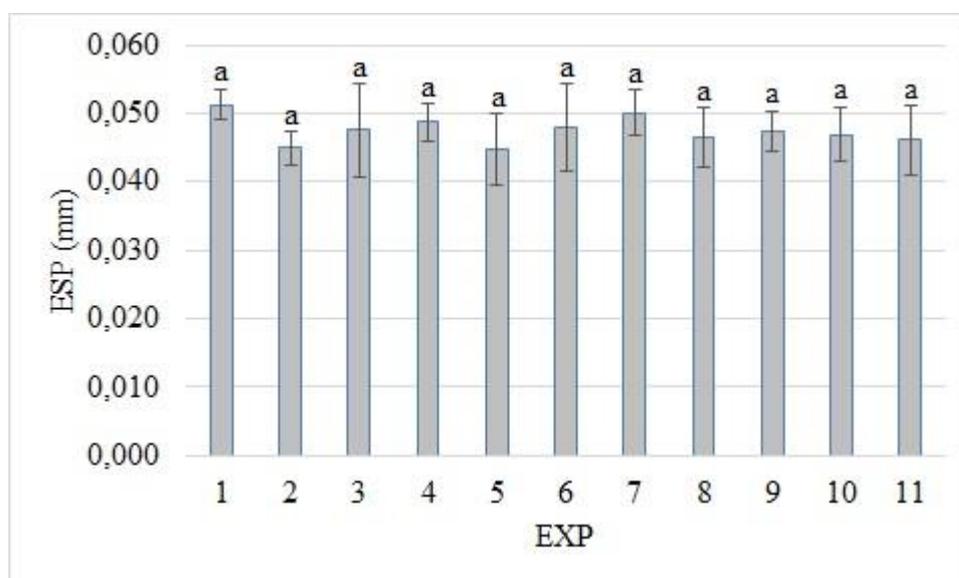
5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

Os filmes foram caracterizados quanto à sua espessura, diferença total de cor e opacidade, resistência à tração e alongamento na ruptura, solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água, conforme visualizado anteriormente na Tabela 3. Todas as respostas foram submetidas à análise de efeitos, no entanto não foi possível verificar influência dos parâmetros estudados (tempo e temperatura) nas respostas obtidas. Desta forma, as respostas obtidas na caracterização dos filmes foram comparadas entre si através do teste Tukey de diferença de médias.

5.4.1 Espessura

A Figura 7 apresenta os valores de espessura obtidos para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda.

Figura 7 - Espessura (mm) obtida para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados



Onde: ESP = espessura; EXP = experimento; letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os experimentos ($p \leq 0,05$).

Através dos resultados obtidos para a medida da espessura dos filmes foi possível verificar que não houve diferença estatística entre os experimentos, ou seja, houve uma boa homogeneidade na espessura dos filmes. Essa medida é de grande importância pois a partir dela

é possível realizar as demais avaliações das propriedades dos filmes as quais demandam, para efeito comparativo, que os filmes em questão possuam uma espessura padronizada, caso contrário não seria válida a comparação entre os mesmos. Sendo assim, os filmes elaborados neste trabalho são passíveis de comparação entre si para as demais avaliações realizadas visto que possuem espessuras estatisticamente iguais, cuja espessura média é de 0,047 mm.

Tongnuanchan et al. (2015) e Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran (2013) elaboraram filmes utilizando 3,5 % de gelatina de pele de tilápia e 30 % de glicerol e obtiveram os valores de 0,048 e 0,043 mm. Já Clarke et al. (2016) elaboraram filmes utilizando 5 % de gelatina bovina comercial e 33 % de glicerol e obteve 0,051 mm de espessura. Desta forma, pode-se dizer que os valores obtidos neste estudo foram bastante próximos dos valores apresentados pelos autores mencionados.

5.4.2 Propriedades óticas

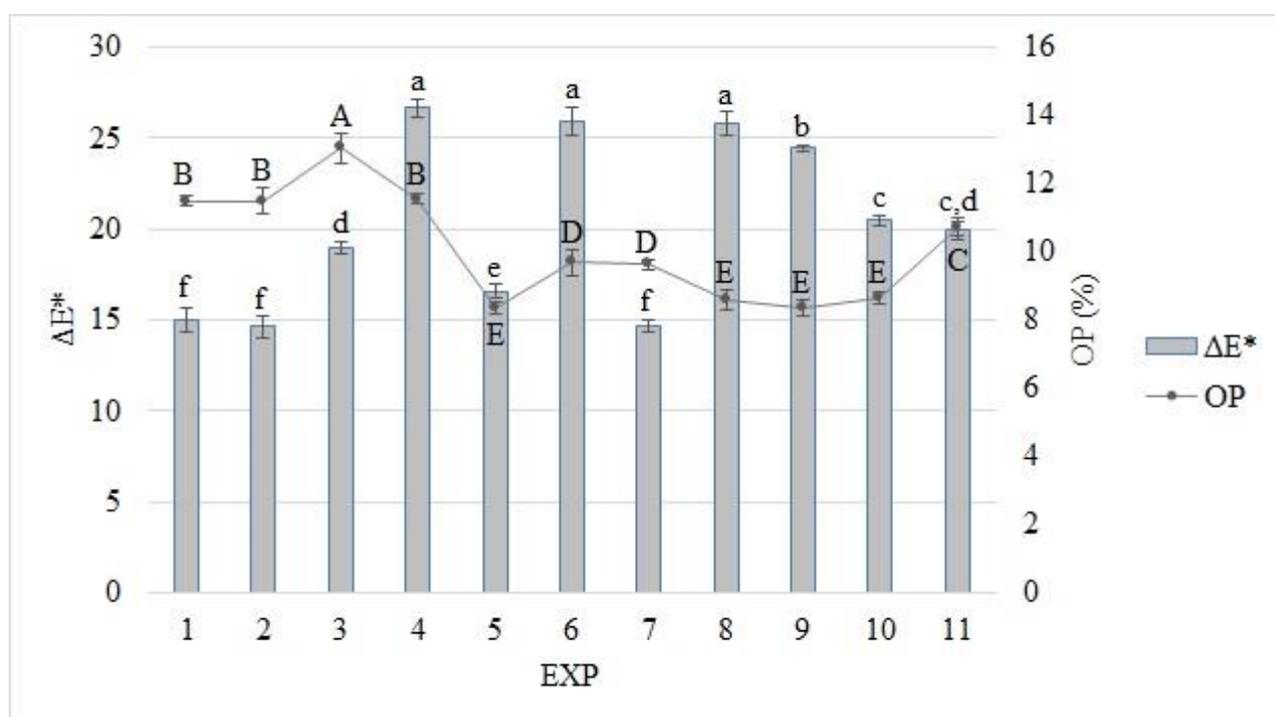
Conforme pode ser visualizado na Figura 8, os filmes que obtiveram os maiores valores de diferença total de cor com relação ao padrão branco utilizado foram aqueles cuja gelatina foi submetida a processos mais agressivos de extração, tanto pelas altas temperaturas utilizadas quanto pelo tempo mais prolongado de processo. Paralelamente a isso, foi possível verificar que alguns dos filmes que se apresentaram mais opacos foram principalmente os experimentos correspondentes à extração utilizando as temperaturas mais baixas. Estes resultados levam a crer que a temperatura de extração das gelatinas influencia no aspecto visual dos filmes elaborados a partir das mesmas.

Segundo Mohajer, Rezaei e Hosseini (2017) a opacidade está relacionada ao quanto a matriz polimérica do filme está compactada, uma vez que o espaçamento entre as cadeias do polímero é menor, a estrutura do filme torna-se mais compacta e conseqüentemente diminui o espaço hábil para a passagem de luz, tornando o filme mais opaco. Isto leva a crer que o glicerol também possa ter influenciado neste resultado, visto que ele se liga à matriz justamente nos espaços entre as cadeias do polímero, o que pode ter contribuído para diminuir ainda mais os espaços para a passagem da luz e assim aumentar a opacidade dos filmes. Acredita-se que as altas temperaturas utilizadas no processo de extração das gelatinas possam ter ocasionado um dano à estrutura das mesmas, tornando suas cadeias menos ramificadas e conseqüentemente fragilizando-as, de modo que a ligação do glicerol com a matriz não foi tão eficiente para proporcionar uma maior opacidade aos filmes correspondentes. López et al. (2017) obtiveram filmes com opacidade inferior a 5 % para filmes elaborados com 3 % de gelatina de peles de

salmão do Atlântico (*Salmo salar*) e 45 % de sorbitol, ou seja, foram considerados filmes transparentes, ao contrário dos valores observados neste estudo, os quais ficaram entre 8,36 e 13,04 %.

A Figura 8 apresentada as respostas obtidas na avaliação das propriedades óticas de diferença total de cor (ΔE^*) e opacidade (OP) dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda.

Figura 8 - Propriedades óticas de diferença total de cor e opacidade (%) obtidas para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados



Onde: ΔE^* = diferença total de cor; OP = opacidade; EXP = experimento; letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os experimentos ($p \leq 0,05$) para a análise de diferença total de cor; letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os experimentos ($p \leq 0,05$) para a análise de opacidade.

Quanto à diferença total de cor mais elevada observada para os experimentos 4, 6 e 8 justifica-se pelo fato de que os mesmos apresentaram menor luminosidade e maior tendência ao amarelo que os demais filmes, o que também foi possível verificar nas gelatinas. Todas as gelatinas extraídas utilizando tempo prolongado e/ou temperaturas elevadas já apresentavam aspecto visual menos luminoso e tendendo ao amarelo, enquanto as demais eram bastante claras, muito próximas ao branco, o que também pôde ser verificado após sua utilização na elaboração dos filmes. Hoque, Benjakul e Prodpran (2010) descreveram que a formação de

pigmentos amarelados ocorre devido ao tratamento térmico, principalmente em função da reação de Maillard.

O aspecto visual dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda pode ser visualizado na Figura 9.

Figura 9 - Filmes elaborados a partir de gelatina de peles de pescada-olhuda



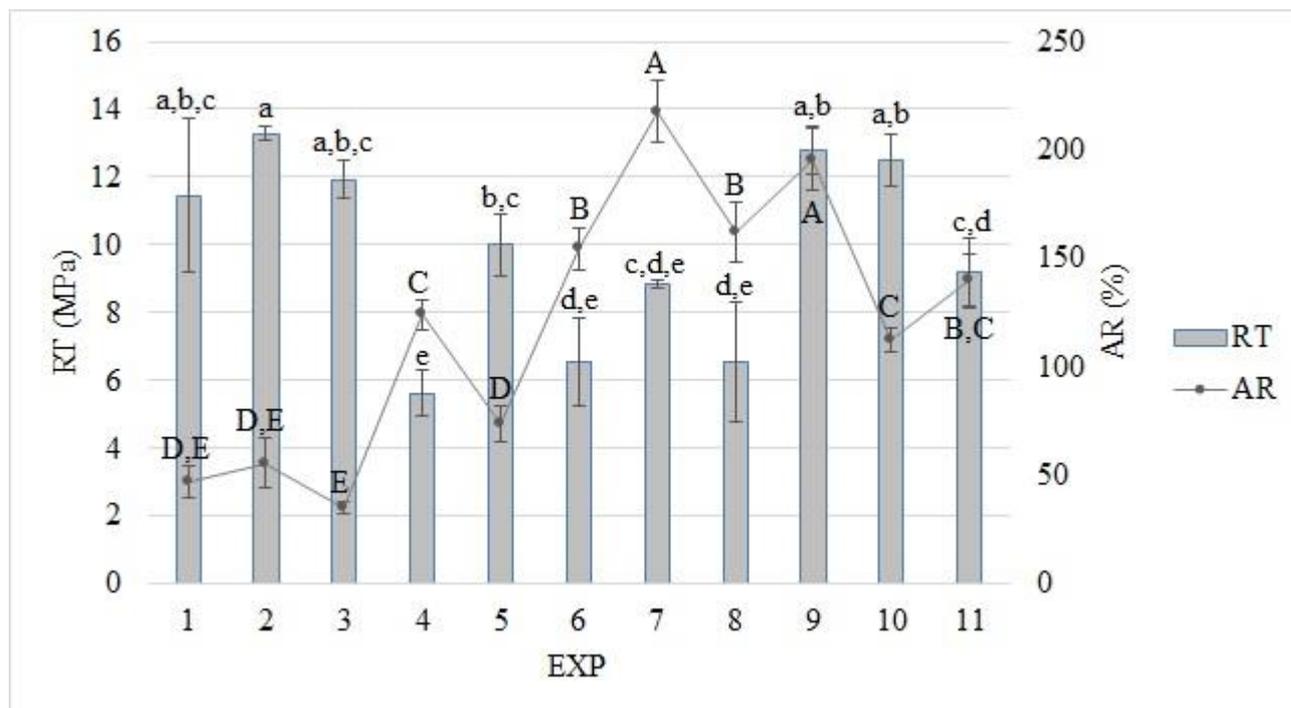
Desta forma, o aspecto visual dos filmes pode ser um fator determinante e vir a influenciar na aplicação final, uma vez que possa ser desejável uma maior opacidade, por exemplo, para o revestimento de produtos alimentícios mais suscetíveis à incidência de luz.

5.4.3 Propriedades mecânicas

Ao analisar a Figura 10, observa-se que os filmes correspondentes aos menores tempos de extração (EXP 1, 3 e 5) apresentaram alguns dos valores mais elevados de resistência à tração, enquanto que o alongamento na ruptura para os mesmos filmes foram alguns dos menores valores obtidos. Conforme já mencionado anteriormente na análise de propriedades óticas dos filmes, acredita-se que as temperaturas menores e/ou tempos reduzidos no processo de extração de gelatina ocasionem menos danos às cadeias poliméricas, tornando-as mais compactas e resistentes, no entanto diminuindo assim seu poder de alongação. Por outro lado, as gelatinas extraídas através do uso de condições mais severas sofreram danos maiores em sua cadeia, o que lhes confere uma estrutura menos resistente, mas com um maior poder de alongação.

A Figura 10 apresenta os resultados obtidos na avaliação das propriedades mecânicas de resistência à tração e alongamento na ruptura dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda.

Figura 10 - Propriedades mecânicas de resistência à tração (MPa) e alongamento na ruptura (%) obtidas para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados



Onde: RT = resistência à tração; AR = alongamento na ruptura; EXP = experimento; letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os experimentos ($p \leq 0,05$) para a análise de resistência à tração; letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os experimentos ($p \leq 0,05$) para a análise de alongamento na ruptura.

Arfat et al. (2014) elaboraram filmes com 3 % de gelatina de peles de tilápia comercial e 30 % de glicerol e obtiveram os valores de RT e AR de 11,94 MPa e 68,38 %, respectivamente, para filmes com espessura de 0,036 mm. O valor obtido para o EXP 5 foi bastante próximo ao apresentado por estes autores, o que é um bom indicativo visto que se trata do experimento que utilizou o menor tempo de extração, o que denota um custo de produção reduzido com relação às demais gelatinas. Hosseini et al. (2015a) elaboraram filmes com 4 % de gelatina de peles de pescado comercial e 30 % de glicerol, cuja espessura foi de 0,050 mm, e verificaram os valores de 7,44 MPa na RT e 102,04 % para o AR, enquanto que a mesma formulação incorporada com 6 % de quitosana apresentou os valores de RT de 10,57 MPa e AR de 44,71 %. Isto indica que

a adição de partículas como a quitosana pode ajudar a direcionar as propriedades mecânicas do filme de acordo com a característica que se deseja obter, visto que houve um decréscimo no poder de alongação do filme, mas ao mesmo tempo obteve-se uma maior resistência. Por outro lado, a adição de um composto hidrofóbico como os óleos essenciais pode surtir efeito contrário, diminuir a RT e aumentar o AR conforme verificado por Tongnuanchan et al. (2015) na aplicação de óleo de palma em filmes com 3,5 % de gelatina de tilápia comercial e 30 % de glicerol, os quais obtiveram os valores de RT de 28,77 e AR de 44,09 % para o filme padrão, e RT de 15,75 e AR de 125,34 % para o filme com adição de 75 % ($\frac{g_{\text{óleo}}}{g_{\text{gelatina}}}$) de óleo de palma. Desta forma, além de permitir manipular as propriedades mecânicas direcionando-as de acordo com aplicação pretendida, torna-se possível ainda agregar um efeito antimicrobiano e/ou antioxidante mediante a adição de outros compostos nos filmes de gelatina de peles de pescado.

A propriedades mecânicas dos filmes influenciam o tipo de produto alimentício no qual os mesmos poderão ser aplicados. Filmes muito rígidos são adequados para revestir alimentos que possam sofrer danos em função principalmente de sua manipulação. Por outro lado, uma boa alongação pode ser desejável para revestir produtos não tão suscetíveis aos danos mecânicos, porém que requerem uma barreira à gases e luminosidade, ao ressecamento por perda de umidade e/ou contaminação da superfície.

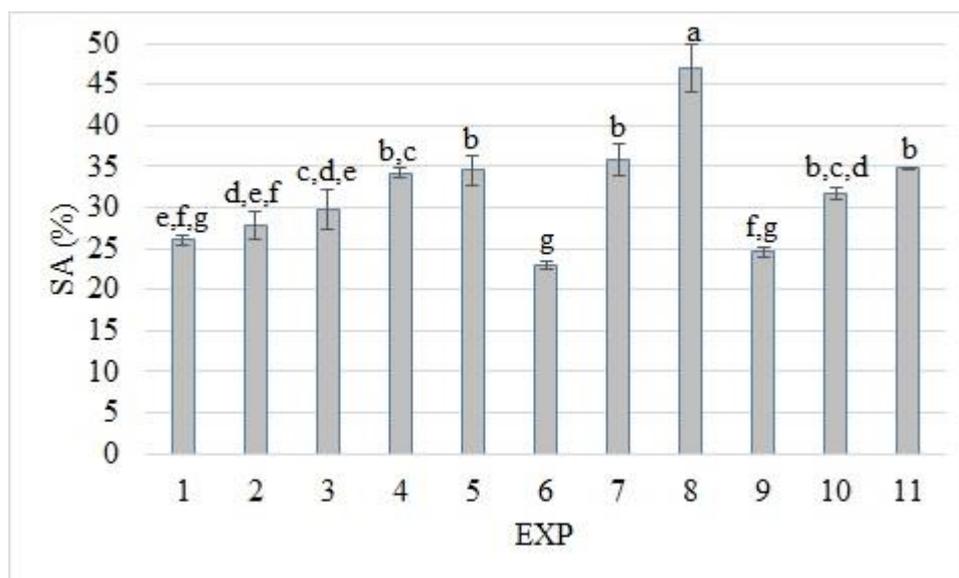
5.4.4 Solubilidade em água

Através da Figura 11 foi possível perceber que o filme que apresentou o maior teor de solubilidade foi o EXP 8, o qual foi elaborado utilizando a gelatina extraída através da condição de temperatura mais elevada (74,1 °C). Arfat et al. (2014) atribuem valores elevados de solubilidade dos filmes ao caráter hidrofílico de alguns aminoácidos presentes na matriz, ou seja, os mesmos apresentam uma maior afinidade pela água, e isto associado a ligações de hidrogênio fracas, pode promover mais facilmente a solubilização dos filmes em água. Outro fator que também pode favorecer a solubilidade dos filmes é a presença do agente plastificante glicerol. Conforme visualizado na análise de resistência à tração, o EXP 8 apresentou um dos menores valores, o que indica, entre outros fatores, que o efeito plastificante do glicerol não foi tão eficaz quanto nos demais filmes. Desta forma, acredita-se que a associação do glicerol à matriz polimérica ocorre tornando o filme mais vulnerável, visto que as cadeias encontram-se mais danificadas e conseqüentemente menos ramificadas em função das condições do processo de extração desta gelatina. Assim, o glicerol ocupa uma área maior na superfície do filme, e

dado seu caráter hidrofílico, solubiliza-se mais facilmente ao entrar em contato com a água (HOSSEINI et al., 2015b).

Na Figura 11 estão dispostos os valores obtidos para a análise de solubilidade em água dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda.

Figura 11 - Solubilidade em água (%) obtida para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados



Onde: SA = solubilidade em água; EXP = experimento; letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os experimentos ($p \leq 0,05$).

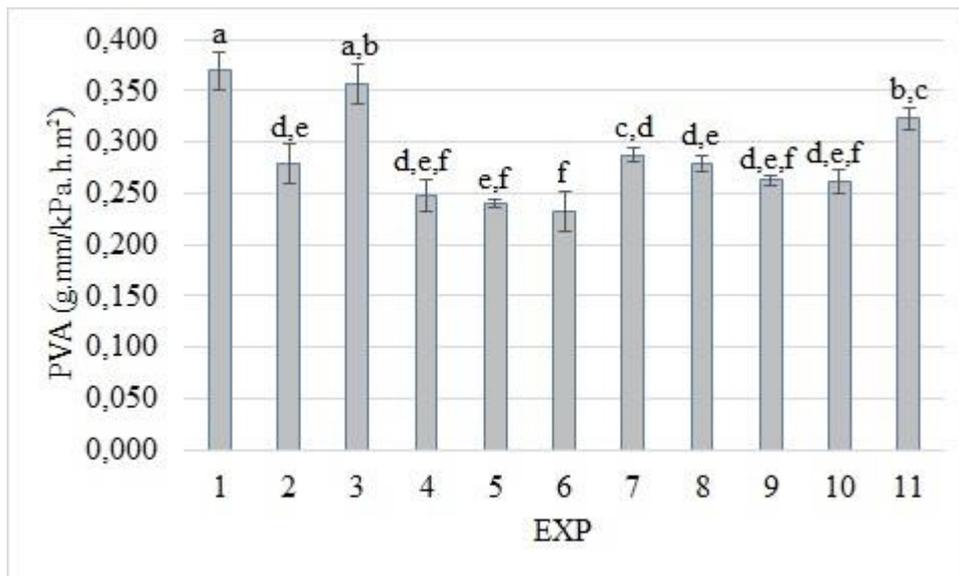
Gómez-Estaca et al. (2010) obtiveram o valor de SA de 26,2 % para filmes contendo 4 % de gelatina comercial de pele bovina e 15 % de glicerol, com uma espessura de 0,100 mm. Já Hosseini et al. (2015b) obtiveram o valor de 35,72 % de SA para filmes com 2 % de gelatina de peles de pescado comercial e 30 % de glicerol, cuja espessura era de 0,070 mm. Sendo assim, os valores obtidos neste estudo são bastante próximos aos resultados expressos por diferentes autores em condições semelhantes de elaboração dos filmes.

A solubilidade dos filmes no seu papel como revestimento de alimentos é um fator extremamente importante, uma vez que diversos produtos alimentícios apresentam altos teores de atividade de água. Portanto um filme com baixa solubilidade em água bem como com um caráter pouco higroscópico constitui um desafio para a pesquisa, dado o caráter higroscópico de grande parte dos materiais utilizados na elaboração de filmes biodegradáveis.

5.4.5 Permeabilidade ao vapor de água

A Figura 12 apresenta os valores obtidos para a análise de permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda.

Figura 12 - Permeabilidade ao vapor de água ($\text{g}\cdot\text{mm}/\text{kPa}\cdot\text{h}\cdot\text{m}^2$) obtida para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda nos diferentes experimentos elaborados



Onde: PVA = permeabilidade ao vapor de água; EXP = experimento; letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os experimentos ($p \leq 0,05$).

Através da Figura 12 foi possível perceber que os experimentos 5 e 6 obtiveram os menores valores de permeabilidade ao vapor de água. De acordo com Mohajer, Rezaei e Hosseini (2017), a espessura dos filmes pode influenciar diretamente em sua permeabilidade. Filmes de gelatina mais espessos possuem consequentemente maior quantidade de proteínas presente, as quais podem absorver mais água do ambiente ou até mesmo retirar água do próprio produto alimentício em função da presença de diversos aminoácidos de caráter hidrofílico na gelatina. Este autor testou a adição de ágar em filmes de gelatina de pescado comercial e obteve para os filmes com 3 % de gelatina e 30 % de glicerol na proporção 100:0 (gelatina/ágar) e 50:50 (gelatina/ágar) os valores de 1,490 e 0,873 $\text{g}\cdot\text{mm}/\text{kPa}\cdot\text{h}\cdot\text{m}^2$, respectivamente.

Hosseini et al. (2016) relatam que a adição de compostos hidrofóbicos tais como óleos essenciais em até 1 % pode contribuir para a diminuição da permeabilidade dos filmes em função da interação dos componentes do óleo com algumas proteínas. Ao testar a adição de óleo essencial de orégano em filmes de gelatina de pescado comercial com 4 % de gelatina e

30 % de glicerol, observou os valores de 0,717 g.mm/kPa.h.m² para o filme padrão (sem óleo) e 0,487 g.mm/kPa.h.m² para o filme adicionado de 0,8 % de óleo essencial. O maior valor obtido para os filmes testados foi de 0,369 para o EXP 1. Isto indica que todos os filmes elaborados neste estudo apresentaram valores de permeabilidade inferiores aos citados anteriormente, o que denota que são filmes com potencial aplicação para o revestimento de produtos alimentícios com elevada atividade de água.

Desta forma, com base nas propriedades avaliadas na caracterização dos filmes de peles de gelatina de pescada-olhuda, optou-se por dar continuidade ao estudo utilizando a gelatina referente ao EXP 5 (4h46min/60 °C). Os filmes elaborados com a referida gelatina apresentaram propriedades mecânicas e óticas satisfatórias, e valores de PVA excelentes quando comparados aos dados contidos na literatura. O valor de SA obtido foi intermediário com relação aos demais filmes testados, no entanto este experimento utiliza o menor tempo de extração do planejamento, o que promove uma redução de custos no processo. Visando uma aplicação futura, faz-se necessário aliar a qualidade das embalagens produzidas ao seu custo de produção, portanto o EXP 5 apresenta vantagem com relação a isto.

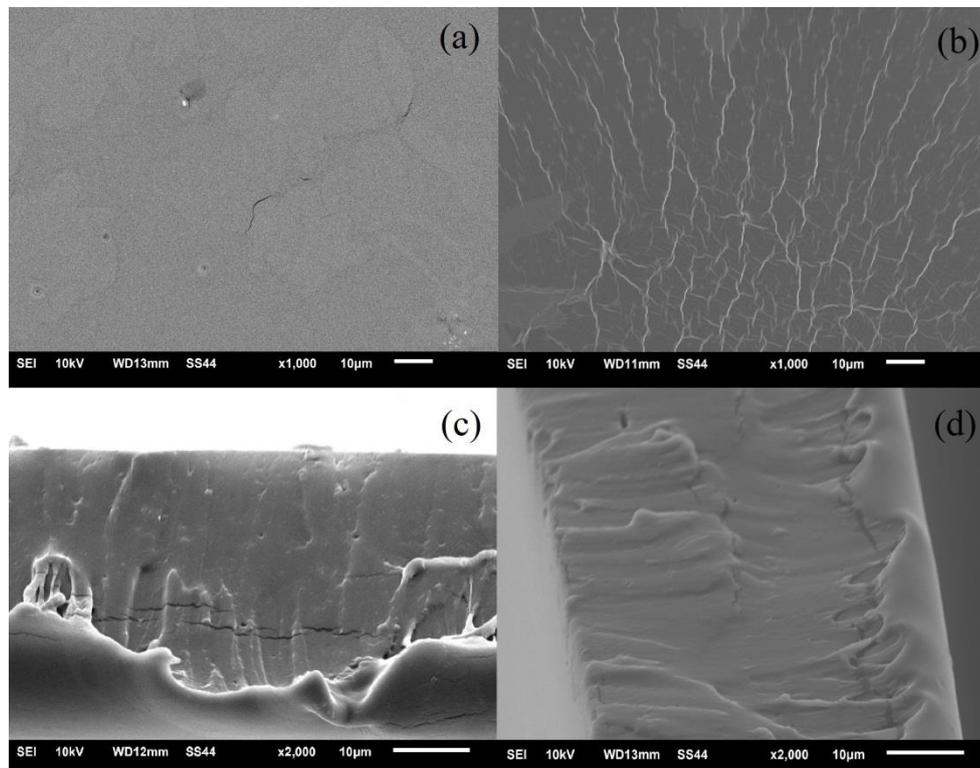
Foi possível verificar que a triplicata do planejamento (EXP 9, 10 e 11) obteve diferença estatística em algumas das análises realizadas. Isto justifica-se pelo fato de que a matéria-prima utilizada foram subprodutos da indústria, ou seja, há outros fatores além dos parâmetros de extração da gelatina que podem influenciar na qualidade e características da mesma, tais como a composição das peles e teor de aminoácidos. Variáveis como a idade do pescado, alimentação, gênero, etc, afetam a qualidade da matéria-prima, desta forma torna-se bastante complicado controlar a homogeneidade e padronização da mesma. Embora não haja uma reprodutibilidade dos resultados proveniente de diferentes bateladas de extração, deve-se considerar o fato de que o estudo do aproveitamento destes subprodutos objetiva um destino mais nobre, além de minimizar o impacto causado pela geração destes resíduos da indústria visa a produção de embalagens menos poluentes.

5.4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada a fim de analisar a microestrutura dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda. Foram geradas imagens do filme do EXP 4 (12 h/70 °C) e do EXP 5 (4h46min/60 °C) para efeito de comparação.

A morfologia dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda está apresentada na Figura 13 a seguir.

Figura 13 - Morfologia dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda referentes aos experimentos 4 (12 h/70 °C) e 5 (4h46min/60 °C)



Onde: (a) = experimento 4 superficial; (b) = experimento 5 superficial; (c) = experimento 4 lateral; (d) = experimento 5 lateral.

Através da Figura 13 foi possível verificar que a superfície do filme se apresentou lisa e homogênea para o EXP 4. Considerando as condições de extração da gelatina utilizada neste experimento, acredita-se que a temperatura elevada e o tempo prolongado de extração tenham causado alterações na estrutura das proteínas tornando sua cadeia mais danificada e conseqüentemente com menos ramificações, o que pôde ser comprovado pelas propriedades avaliadas nos filmes discutidas anteriormente. Sua imagem lateral apresenta algumas rachaduras e pequenos poros, o que indica a fragilidade da mesma.

O EXP 5 demonstrou diversas rugosidades tanto em sua superfície quanto na imagem lateral, o que se acredita ser em função da estrutura da gelatina, a qual foi extraída mediante um processo menos agressivo e assim conservou diversas estruturas, considerando que este filme foi eleito como o melhor dentre todos avaliados. Apesar da irregularidade aparente, o filme não apresentou diferença estatística na espessura quando comparado aos demais.

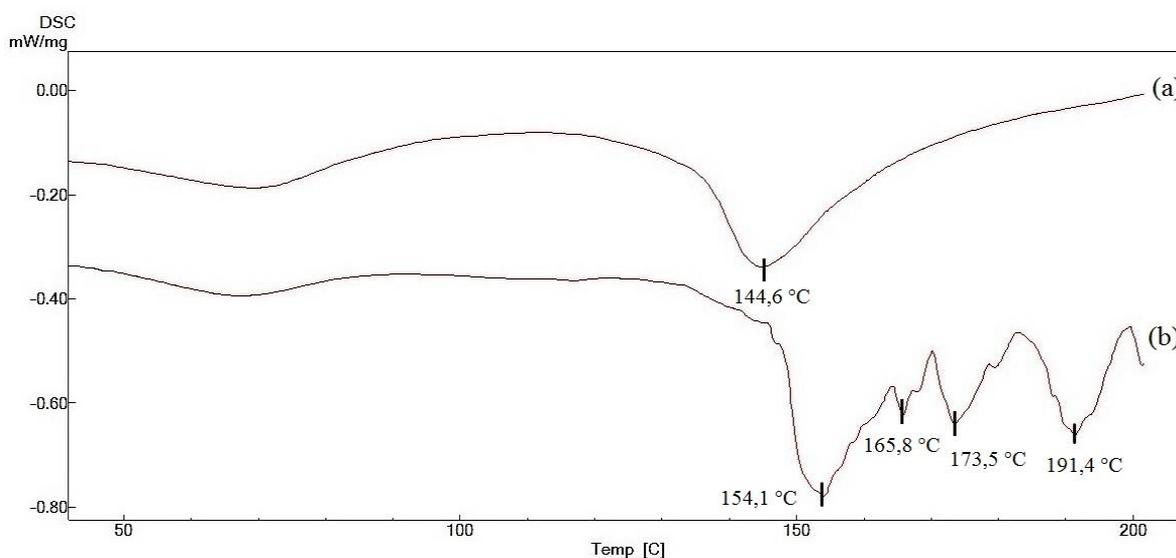
Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran (2013) verificaram uma superfície bastante lisa em filmes de gelatina de peles de pescado comercial, no entanto ao testar a adição de óleos essenciais em diferentes proporções obtiveram filmes com uma superfície rugosa, sendo que

quanto maior a adição de óleo mais evidente foi uma separação de fases, onde o óleo depositou-se mais na superfície. Os autores verificaram que de um modo geral o filme controle (sem adição de óleo) apresentou-se mais homogêneo, porém tendo em vista que a adição de quantidades baixas pode melhorar propriedades como a permeabilidade ao vapor de água, dado o caráter hidrofóbico dos óleos, a estrutura dos filmes sofre alterações não tão significativas, ou seja, a adição torna-se válida.

5.4.7 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

A Figura 14 apresenta as curvas de calorimetria diferencial de varredura obtidas para os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda referentes aos experimentos 4 (12 h/70 °C) e 5 (4h46min/60 °C).

Figura 14 - Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda referentes aos experimentos 4 (12 h/70 °C) e 5 (4h46min/60 °C)



Onde: DSC = Calorimetria Diferencial de Varredura (*Differential Scanning Calorimetry*); (a) = curva de DSC do experimento 4; (b) = curva de DSC do experimento 5.

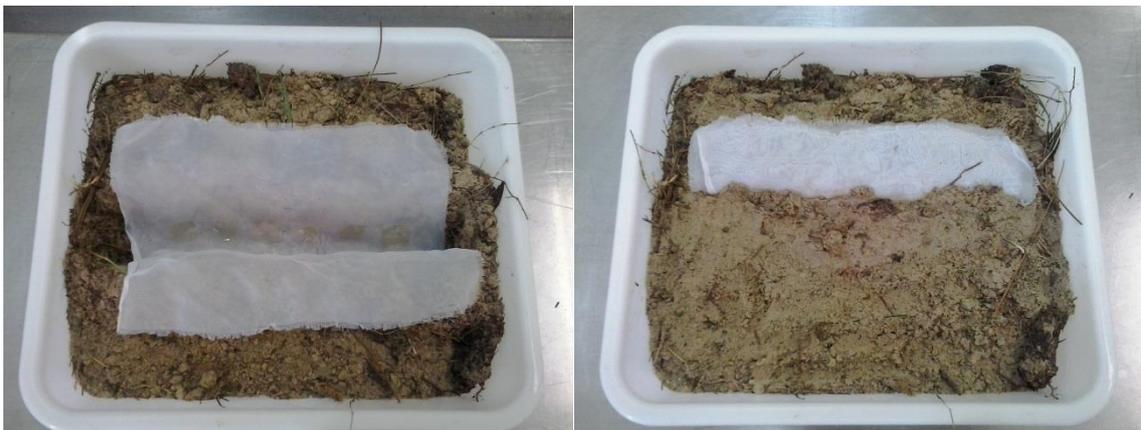
Através das curvas foi possível visualizar que o EXP 4 apresentou um pico exotérmico, enquanto que o filme do EXP 5 apresentou quatro picos exotérmicos a diferentes temperaturas. Isso indica que a composição do filme do EXP 5 possui uma estrutura diferente do EXP 4, onde há a presença de mais grupamentos, os quais tornam a estrutura do filme mais complexa. Este fato já era esperado visto que o EXP 4 utiliza 70 °C na extração da gelatina e por um tempo

prolongado, o que certamente degrada e modifica algumas estruturas da proteína quando comparada ao EXP 5, o qual apresenta menos danos em sua estrutura em função do processo de extração. Hosseini et al. (2015b) observaram temperaturas na faixa de 240 a 263 °C na análise de DSC de filmes de gelatina de pele de peixe adicionados de quitosana e óleo essencial, e justificaram estes valores pelo fato de que a adição de óleo essencial promove um aumento de volume e sólidos presentes na cadeia do polímero, desta forma requer uma temperatura maior de aquecimento a fim de degradar os polímeros. O mesmo pôde ser visualizado neste estudo, onde foram necessárias temperaturas mais elevadas e foram formados diferentes picos a fim de promover a degradação das cadeias poliméricas e cadeias de aminoácidos.

5.4.8 Avaliação da biodegradabilidade no solo

Na Figura 15 está apresentada a avaliação da biodegradabilidade no solo do filme de gelatina de peles de pescada-olhuda elaborado utilizando a gelatina referente ao EXP 5 (4h46min/60 °C).

Figura 15 - Avaliação da biodegradabilidade no solo do filme de gelatina de peles de pescada-olhuda

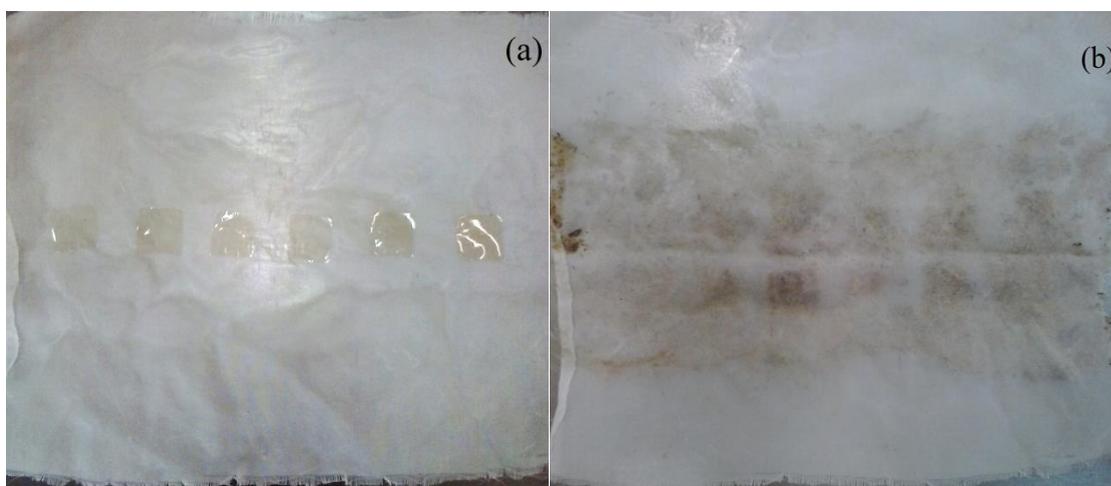


Os filmes apresentaram uma velocidade muito elevada de degradação no solo, visto que após 3 dias todos os filmes haviam degradado completamente, ou seja, os mesmos desapareceram por completo da superfície do tecido (Figura 16). Desta forma, não foi possível verificar a perda de massa ao longo dos dias, apenas concluir que os filmes possuem um tempo de degradação em solo igual ou inferior a 3 dias. Foi possível verificar que no local onde os

filmes estavam posicionados sobre o tecido, após transcorrido o tempo avaliado, havia um acúmulo de terra úmida aderida ao tecido, o que indica que os filmes estavam absorvendo a umidade da terra.

A Figura 16 apresenta a aparência dos filmes antes de serem submetidos à análise de degradação no solo sobre o tecido utilizado e após os 3 dias da mesma. A função do tecido foi permitir a visualização da degradação e a manipulação dos filmes.

Figura 16 - Filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda antes e depois de 3 dias de degradação no solo



Onde: (a) = antes da degradação; (b) = depois da degradação.

Os fatores ambientais influenciam fortemente a velocidade em que a degradação ocorre. Parâmetros como temperatura, umidade, pH e a disponibilidade de nutrientes podem favorecer a sobrevivência e multiplicação da microbiota ali presente, a qual irá promover a biodegradação do polímero e a produção de produtos de degradação como dióxido de carbono, metano e água (LEJA; LEWANDOWICZ, 2009). O filme avaliado possuía 34,52 % de solubilidade em água, ou seja, quando inserido na terra o mesmo solubilizou-se parcialmente em função da umidade do ambiente. Aliado a isto, os micro-organismos presentes utilizam o próprio filme como substrato para sua sobrevivência, o que favoreceu a degradação do polímero. Dalev et al. (2000) observou a degradação completa de filmes de gelatina bovina quimicamente modificada após 6 dias, o que caracteriza o dobro do tempo visualizado neste estudo, no entanto também pode ser considerado um tempo curto para que ocorra a degradação.

5.5 ESTUDO DA ESTABILIDADE DE FILÉS DE TAINHA DURANTE O ARMAZENAMENTO

As respostas obtidas no item 5.4 levaram a escolher o filme de gelatina de peles de pescada-olhuda referente ao EXP 5 (4h46min/60 °C) como o mais adequado para dar continuidade ao estudo, visto que o mesmo aliou boas propriedades de filme ao menor custo de obtenção de sua matriz polimérica. Sendo assim, o mesmo foi aplicado no revestimento de filés de tainha a fim de comparar sua capacidade de atuar como barreira quando comparado com os filés revestidos com filme comercial e com os filés sem revestimento (*in natura*). O filé de tainha foi escolhido como o produto alimentício a ser avaliado visto que apresenta um elevado teor de umidade e alta atividade de água, possibilitando assim testar a capacidade dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda de atuar como revestimento para produtos com características semelhantes aos filés. Os valores obtidos apresentados nas análises estão dispostos na Tabelas 5, 6 e 7 (Apêndice 1).

5.5.1 Composição proximal dos filés de tainha

A Tabela 4 a seguir apresenta os valores obtidos na composição proximal dos filés de tainha frescos.

Tabela 4 - Composição proximal dos filés de tainha para acompanhamento da estabilidade durante o armazenamento

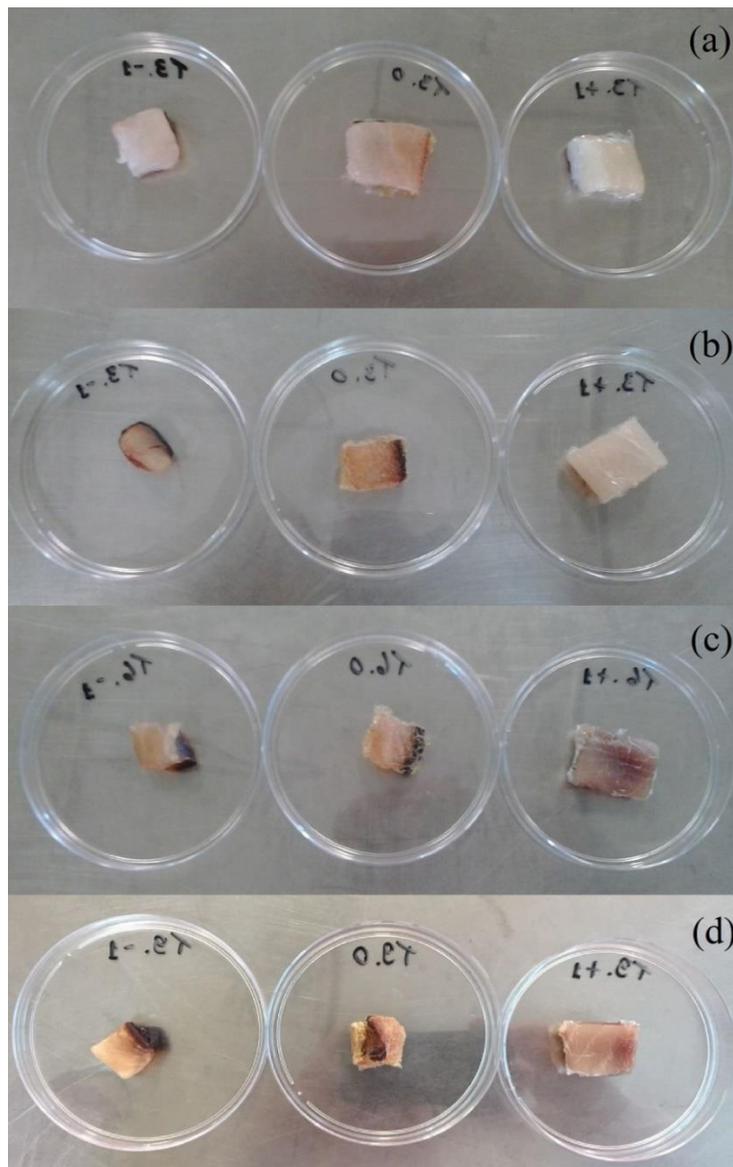
Amostra	Umidade (%)*	Proteína (%)*	Lipídios (%)*	Cinzas (%)*
Filés de tainha (BÚ)	76,2±0,10	20,1±0,25	0,4±0,03	1,4±0,01
Filés de tainha (BS)	-	84,5±1,04	1,7±0,11	5,9±0,04

Onde: * = média de 4 repetições ± desvio padrão; BÚ = base úmida; BS = base seca.

Menezes et al. (2008) obtiveram os valores em base seca de 97,1 %, 11,6 % e 4,9 % para os teores de proteína, lipídios e cinzas de filés de tainha, respectivamente, sendo que a umidade foi de 78,4 %. Os valores demonstrados na Tabela 4 foram próximos aos citados anteriormente, considerando que o pescado pode sofrer uma variação em sua composição pela influência de diversos fatores, tais como tamanho, idade, gênero, etc.

Os filés frescos foram avaliados para o tempo 0 e embalados com os respectivos envoltórios para serem analisados nos tempos de 3, 6 e 9 dias de armazenamento refrigerado, cujo aspecto ao longo dos dias de análise está representado na Figura 17.

Figura 17 - Filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado sem revestimento, revestidos com os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda e revestidos com o filme comercial

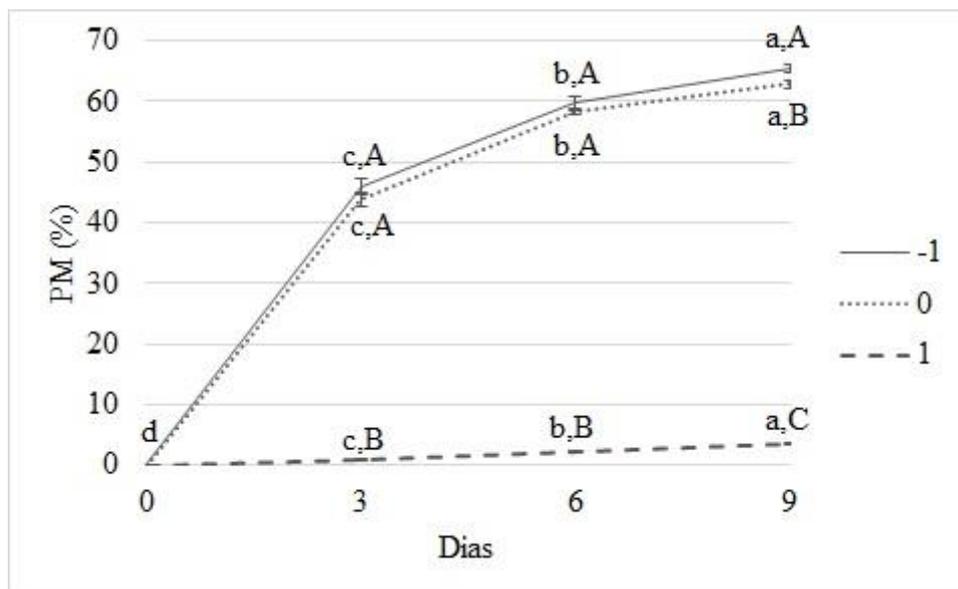


Onde: (a), (b), (c) e (d) representam os filés de tainha nos tempos 0, 3, 6 e 9 dias, respectivamente; -1, 0 e 1 estão respectivamente dispostos da esquerda para a direita em cada foto; -1 = filé de tainha *in natura*; 0 = filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda; 1 = filé de tainha revestido com filme comercial.

5.5.2 Determinação da perda de massa

Na Figura 18 dispõem-se os valores de perda de massa verificados para os filés de tainha embalados com diferentes revestimentos ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.

Figura 18 - Perda de massa (%) dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado



Onde: PM = perda de massa; -1 = filé de tainha *in natura*; 0 = filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda; 1 = filé de tainha revestido com filme comercial; letras minúsculas diferentes para o mesmo tratamento indicam diferença estatística entre os dias ($p \leq 0,05$); letras maiúsculas diferentes entre os tratamentos indicam diferença estatística para o mesmo dia ($p \leq 0,05$).

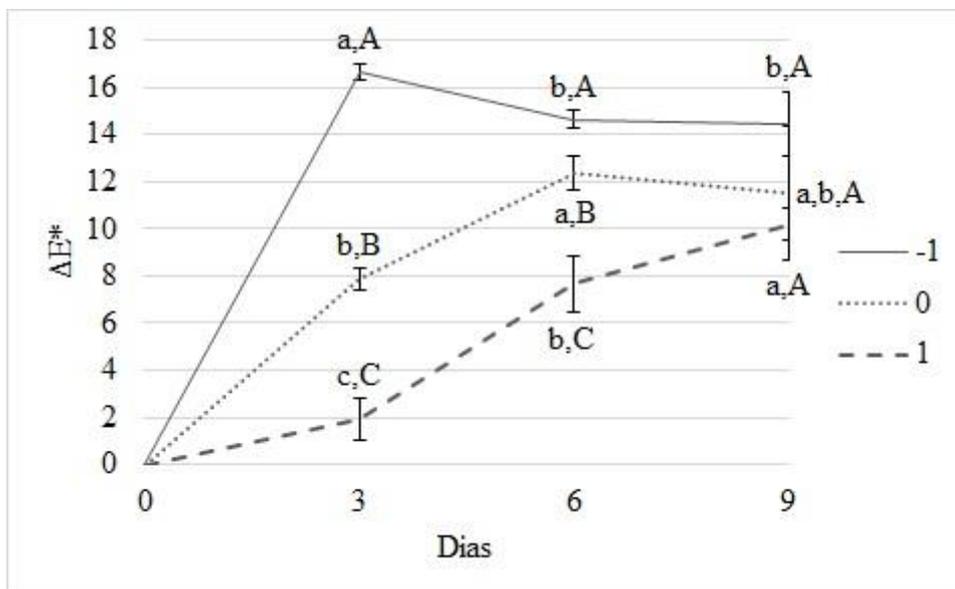
Através da Figura 18 foi possível verificar que houve uma perda de massa significativamente maior para os tratamentos -1 (filé de tainha *in natura*) e 0 (filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda) no decorrer dos dias de armazenamento. Esta perda era esperada para o tratamento -1 visto que não havia nenhuma barreira física que pudesse minimizar a perda de água do produto. Apenas no 9º dia de armazenamento houve diferença estatística entre estes dois tratamentos, no entanto após todos esses dias havia ocorrido uma perda muito grande de umidade e a aparência dos filés estava muito comprometida e distante do produto considerado ideal. Ambos se apresentaram rígidos e ressecados (Figura 17) a partir do 3º dia de armazenamento quando comparados ao tratamento 1 (filé de tainha revestido com filme comercial), o qual destacou-se positivamente pois apresentou uma perda de umidade muito pequena. Considerando que o filé de tainha fresco

apresentava 76,2 % de umidade, através desta análise é possível perceber que a carne desidratou quase completamente para os tratamentos -1 e 0. A perda de massa sofreu pouca alteração do 6º para o 9º dia para os três tratamentos, portanto acredita-se que caso o tamanho do filé fosse maior seria possível continuar visualizando a perda de umidade, e possivelmente o ressecamento seria apenas superficial, ao invés do filé inteiro tal como ocorreu. Através desta análise foi possível perceber que apesar do filme de gelatina ter apresentado um valor de PVA de 0,240 g.mm/kPa.m².h, sua permeabilidade ainda é elevada quando comparada ao filme comercial.

5.5.3 Determinação da diferença total de cor

A Figura 19 apresenta os valores de diferença total de cor verificados para os filés de tainha embalados com diferentes revestimentos ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.

Figura 19 - Diferença total de cor dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado



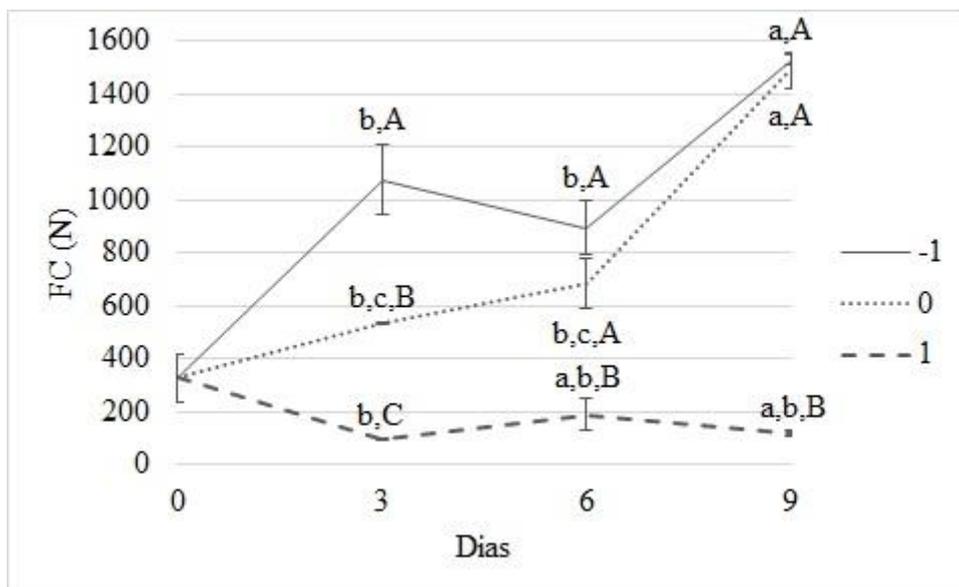
Onde: ΔE^* = diferença total de cor; -1 = filé de tainha *in natura*; 0 = filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda; 1 = filé de tainha revestido com filme comercial; letras minúsculas diferentes para o mesmo tratamento indicam diferença estatística entre os dias ($p \leq 0,05$); letras maiúsculas diferentes entre os tratamentos indicam diferença estatística para o mesmo dia ($p \leq 0,05$).

Ao observar a Figura 19 foi possível visualizar que as diferenças na coloração dos filés de tainha entre os tratamentos foram mais evidentes no tempo 3. No 6º dia de armazenamento as diferenças atenuaram-se e no 9º não houve diferença estatística na diferença total de cor entre os filés com relação ao padrão (tempo 0) para os três tratamentos. Isso indica que até 6 dias de armazenamento refrigerado os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda atuaram como uma barreira à luz incidente sobre o alimento minimizando seu efeito. O filme de gelatina de peles de pescada-olhuda foi uma barreira menos eficiente que o filme comercial, porém isso também está relacionado ao fato de que o tratamento 1 (filé de tainha revestido com filme comercial) manteve quase inalterada a umidade da carne, enquanto que os tratamentos -1 (filé de tainha *in natura*) e 0 (filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda) obtiveram maiores diferenças na coloração pois a perda de água foi mais acentuada.

5.5.4 Determinação de textura

Na Figura 20 estão dispostos os valores de textura verificados para os filés de tainha embalados com diferentes revestimentos ao longo dos dias de armazenamento refrigerado.

Figura 20 - Força de cisalhamento (N) dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado



Onde: FC = força de cisalhamento; -1 = filé de tainha *in natura*; 0 = filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda; 1 = filé de tainha revestido com filme comercial; letras minúsculas diferentes para o mesmo tratamento indicam diferença estatística entre os dias ($p \leq 0,05$); letras maiúsculas diferentes entre os tratamentos indicam diferença estatística para o mesmo dia ($p \leq 0,05$).

Na Figura 20 foi possível visualizar que os filés referentes aos tratamentos -1 (filé de tainha *in natura*) e 0 (filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda) apresentaram um aumento na força necessária ao cisalhamento com o decorrer dos dias de armazenamento, sendo que no 9º e último dia não houve diferença estatística entre as mesmas. A força de cisalhamento está diretamente ligada à umidade do produto, e neste caso, conforme discutido anteriormente, os tratamentos -1 e 0 apresentaram elevada perda de massa em decorrência da perda de umidade. Sendo assim, ambos se apresentaram rígidos e ressecados, portanto os valores obtidos para a força de cisalhamento dos filés estão de acordo com o esperado. O tratamento 1 (filé de tainha revestido com filme comercial) apresentou valores de força de cisalhamento praticamente inalterados ao longo dos 9 dias de armazenamento, o que se justifica pela baixa perda de massa discutida anteriormente.

Através da aplicação dos filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda no revestimento de filés de tainha foi possível perceber que apesar do mesmo ter demonstrado propriedades mecânicas, óticas, de barreira e solubilidade consideradas compatíveis com valores discutidos na literatura, os filmes ainda necessitam aperfeiçoamento a fim de aproximarem-se mais próximos das qualidades apresentadas pelos filmes comerciais tais como o PVC utilizado neste estudo.

Em função dos dados apresentados, os filmes de gelatina de peles de pescada-olhuda são uma barreira mais indicada para o revestimento de alimentos que apresentem uma atividade de água baixa ou intermediária.

6 CONCLUSÃO

Foi possível elaborar filmes proteicos utilizando a gelatina extraída de peles de pescada-olhuda (*Cynoscion guatucupa*), de modo a desenvolver embalagens biodegradáveis para alimentos.

A gelatina de peles de pescada-olhuda extraída em diferentes condições de tempo e temperatura originou filmes com características distintas. A caracterização dos filmes demonstrou que temperaturas até 60 °C e tempos menores de extração foram capazes de produzir gelatina de peles de pescada-olhuda de melhor qualidade para aplicação em filmes.

A caracterização dos filmes demonstrou que a melhor condição de extração de gelatina de peles de pescada-olhuda foi 4h46min/60 °C, o que resultou em um filme com espessura de $0,045 \pm 0,005$ mm, diferença total de cor de $16,60 \pm 0,35$, opacidade de $8,36 \pm 0,20$ %, resistência à tração de $10,00 \pm 0,92$ MPa, alongamento na ruptura de $73,89 \pm 8,17$ %, solubilidade em água de $34,52 \pm 1,83$ %, permeabilidade ao vapor de água de $0,240 \pm 0,004$ g.mm/kPa.h.m² e tempo de biodegradabilidade igual ou inferior a 3 dias.

Através da aplicação do filme de gelatina de peles de pescada-olhuda em filés de tainha foi possível perceber que os filmes são uma barreira mais indicada para o revestimento de alimentos que apresentem uma atividade de água baixa ou intermediária.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Caracterizar o perfil de aminoácidos das peles de pescada-olhuda e da gelatina;
- Testar tempos para extração de gelatina inferiores a 4h46min, visto que este foi o menor tempo avaliado e o que apresentou melhores resultados na caracterização dos filmes;
- Testar o efeito de diferentes concentrações de glicerol e gelatina na formulação dos filmes;
- Testar a adição de um composto antimicrobiano, tal como bactérias acidoláticas, e/ou um composto antioxidante, tal como um óleo essencial, e avaliar seus efeitos;
- Testar a aplicação dos filmes em um produto alimentício com baixa atividade de água e determinar sua estabilidade e vida útil;
- Testar blendas e/ou bicamadas utilizando os filmes de gelatina juntamente com filmes produzidos a partir de outras matrizes poliméricas, bem como realizar sua caracterização.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELMALEK, B. E.; GÓMEZ-ESTACA, J.; SILA, A.; MARTINEZ-ALVAREZ, O.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; CHAABOUNI-ELLOUZ, S.; AYADI, M. A.; BOUGATEF, A. Characteristics and functional properties of gelatin extracted from squid (*Loligo vulgaris*) skin. **Food Science and Technology**, v. 65, p. 924-931, 2016.
- ALFARO, A. T. **Otimização do processo e determinação das propriedades funcionais da gelatina de ossos de pescado**. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, FURG, Rio Grande, 2004.
- ALFARO, A. T.; FONSECA, G. G.; BALBINOT, E.; MACHADO, A.; PRENTICE, C. Physical and chemical properties of wami tilapia skin gelatin. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, p. 592-595, 2013.
- ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Effect of hydrophobic plasticizers on functional properties of gelatin-based films. **Food Research International**, v. 42, p. 1113-1121, 2009.
- A.O.A.C. **Association Of Official Analytical Chemistry**. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 17. ed. Washington, 2000.
- ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 58-67, 2014a.
- ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SUMPAPAPOL, P.; SONGTIPYA, P. Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 265-273, 2014b.
- ASTM - **American Society for Testing and Materials**. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials (E96-00). In: Annual book of ASTM standards, Philadelphia, 2000.
- ASTM - **American Society for Testing and Materials**. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting (D882-02). In: Annual book of ASTM standards, Philadelphia, 2002.
- BANDEIRA, S. F. **Extração e caracterização de gelatina obtida de cabeças de carpa (*Aristichthys mobilis*)**. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande, 2009.
- BUENO, C. M.; ALVIM, I. D.; KOBERSTEIN, T. C. R. D.; PORTELLA, M. C.; GROSSO, C. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 1, p. 65-73, 2011.

CENTENARO, G. S.; MELLADO, M. S. Influência das concentrações de enzima e de substrato no grau de hidrólise e no conteúdo proteico de hidrolisados enzimáticos de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Boletim do CEPPA**, v. 26, p. 61-70, 2008.

CHANDRA, M. V.; SHAMASUNDAR, B. A. Rheological properties of gelatin prepared from the swim bladders of freshwater fish *Catla catla*. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 47-54, 2015.

CLARKE, D.; MOLINARO, S.; TYUFTIN, A.; BOLTON, D.; FANNING, S.; KERRY, J. P. Incorporation of commercially-derived antimicrobials into gelatin-based films and assessment of their antimicrobial activity and impact on physical film properties. **Food Control**, v. 64, p. 202-211, 2016.

CRUZ, M. R. **Filmes de gelatina e galactomanana incorporados com nanocelulose de fibra de algaroba (*Prosopis juliflora*)**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, 2014.

DALEV, P. G.; PATIL, R. D.; MARK, J. E.; VASSILEVA, E.; FAKIROV. **Biodegradation of chemically modified gelatin films in soil**. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 78, p. 1341-1347, 2000.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Reaproveitamento de resíduos sólidos na cadeia agroindustrial do pescado**. EMBRAPA Pesca e Aquicultura, Palmas/TO, 2013.

EYSTURSKARD, J.; HAUG, I. J.; ELHARFAOUI, N.; DJABOUROV, M.; DRAGET, K. I. Structural and mechanical properties of fish gelatin as a function of extraction conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1702-1711, 2009.

GILSENAN, P. M.; ROSS-MURPHY, S. B. Rheological characterization of gelatins from mammalian and marine sources. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 191-195, 2000.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ DE LACEY, A.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v. 27, p. 889-896, 2010.

GÓMEZ-ESTACA, J.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; MONTERO, P. Effects of gelatin origin, bovine-hide and tune-skin, on the properties of compound gelatin-chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1461-1469, 2011.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatina from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1813-1827, 2011.

GOMÉZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Method for the production of gelatin of marine origin and product thus obtained. **International Patent PCT /ES01/00275**, 2001.

GOMÉZ-GUILLÉN, M. C.; PÉREZ-MATEOS, M.; GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ-CABALLERO, E.; GIMÉNEZ, B.; MONTERO, P. Fish gelatin: a renewable material for

developing active biodegradable films. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 3-16, 2009.

GOMÉZ-GUILLÉN, M. C.; TURNAY, J.; FERNÁNDEZ-DÍAZ, N.; ULMO, N.; LIZARBE, M. A.; MONTERO, P. Structural and physical properties of gelatina extracted from diferente marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 25-34, 2002.

HAIMOVICI, M.; VASCONCELLOS, M.; KALIKOSKI, D, C.; ABDALAH, P.; CASTELLO, J. P.; HELLEBRANDT, D. **Diagnóstico da pesca no litoral do estado do Rio Grande do Sul**. 2015, disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Denis_Hellebrandt/publication/268286804_DIAGNOSTICO_DA_PESCA_NO_LITORAL_DO_ESTADO_DO RIO GRANDE DO SUL/links/54ec62c00cf2465f532e7167/DIAGNOSTICO-DA-PESCA-NO-LITORAL-DO-ESTADO-DO-RIO-GRANDE-DO-SUL.pdf>, acesso em: 31 mar, 2017.

HANANI, Z. A. N.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 71, p. 94-102, 2014.

HILBIG, C. C.; FOCKINK, D. H.; MALUF, M. L. F.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Resistência do couro de tilápia e composição centesimal da pele nas operações de ribeira e curtimento. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 12, n. 4, p. 258-266, 2013.

HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 66-73, 2010.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 172-182, 2015a.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 403-413, 2015b.

HOSSEINI, S. F.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAHI, F. Development of bioactive fish gelatin/chitosan nanoparticles composite films with antimicrobial properties. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1266-1274, 2016.

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

KASANKALA, L. M.; XUE, Y.; WEILONG, Y.; HONG, S. D.; HE, Q. Optimization of gelatin extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3338-3343, 2007.

KITTIPHATTANABAWON, P.; BENJAKUL, S.; SINTHUSAMRAN, S.; KISHIMURA, H. Gelatin from clown featherback skin: Extraction conditions. **Food Science and Technology**, v. 66, p. 186-192, 2016.

KITTIPHATTANABAWON, P.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; SHAHIDI, F. Comparative study on characteristics of gelatin from the skins of brownbanded bamboo shark and blacktip shark as affected by extraction conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 164-171, 2010.

LEJA, K.; LEWANDOWICZ, G. Polymer biodegradation and biodegradable polymers – A Review. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 19, n. 2, p. 255-266, 2010.

LÓPEZ, D.; MÁRQUEZ, A.; CUTIÑO, M. G.; YAZIGI, D. V.; BUSTOS, R.; MATIACEVICH, S. Edible film with antioxidant capacity based on salmon gelatin and boldine. **Food Science and Technology**, v. 77, p. 160-169, 2017.

LÓPEZ DE LACEY, A. M. **Diseño, desarrollo y aplicación de envases comestibles potencialmente bioactivos**. Tese de Doutorado em Nutrição, Bromatologia e Tecnologia de Alimentos, Universidad Complutense de Madrid - UCM, Madrid, 2013.

MENEZES, M. E. S.; LIRA, G. M.; OMENA, C. M. B.; FREITAS, J. D.; SANT'ANA, A. E. G. Composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos dos peixes tainha (*Mugil cephalus*) e camurim (*Centropomus undecimalis*) da Lagoa Mundaú, AL/Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 2, p. 89-95, 2008.

MOHAJER, S.; REZAEI, M.; HOSSEINI, S. F. Physico-chemical and microstructural properties of fish gelatin/agar bio-based blend films. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 784-793, 2017.

ORDOÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos: Componentes de alimentos e processos**. Porto Alegre, Editora ARTMED, 2005.

SALGADO, P. R.; ORTIZ, C. M.; MUSSO, Y. S.; DI GIORGIO, L.; MAURI, A. N. Edible films and coatings containing bioactives. **Current Opinion in Food Science**, v. 5, p. 86-92, 2015.

SHAKILA, R. J.; JEEVITHAN, E.; VARATHARAJAKUMAR, A.; JEYASEKARAN, G. SUKUMAR, D. Comparison of the properties of multi-composite fish gelatin films with that of mammalian gelatin films. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2260-2267, 2012.

TACO - **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 4ª ed., Campinas/SP, 2011.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 350-360, 2013.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; NILSUWAN, K. Emulsion film based on fish skin gelatin and palm oil: Physical, structural, and thermal properties. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 248-259, 2015.

VANIN, F. M.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C.; CARVALHO, R. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Effects of plasticizers and their concentrations on thermal and functional properties of gelatin-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 899-907, 2005.

WIHODO, M.; MORARU, C. I. Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 114, p. 292-302, 2013.

ZACTITI, E. M.; KIECKBUSCH, T. G. **Manufacture of calcium alginate films of low solubility**. International Conference Engineering and Food - ICEF9, França, 2004.

APÊNDICE

Apêndice 1 – Valores obtidos no estudo da estabilidade dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado

Tabela 5 - Perda de massa (%) dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado

Dia	PM (%)		
	-1	0	1
0	0,00 ^d	0,00 ^d	0,00 ^d
3	45,82±1,30 ^{c,A}	43,91±1,16 ^{c,A}	1,01±0,18 ^{c,B}
6	59,67±1,07 ^{b,A}	58,37±0,48 ^{b,A}	2,29±0,16 ^{b,B}
9	65,46±0,72 ^{a,A}	62,79±0,74 ^{a,B}	3,49±0,28 ^{a,C}

Onde: PM = perda de massa; -1 = filé de tainha *in natura*; 0 = filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda; 1 = filé de tainha revestido com filme comercial; letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$); letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Tabela 6 - Diferença total de cor dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado

Dia	ΔE^*		
	-1	0	1
0	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
3	16,65±0,36 ^{a,A}	7,86±0,50 ^{b,B}	1,95±0,88 ^{c,C}
6	14,64±0,37 ^{b,A}	12,34±0,71 ^{a,B}	7,66±1,20 ^{b,C}
9	14,43±1,38 ^{b,A}	11,52±2,87 ^{a,b,A}	10,18±0,69 ^{a,A}

Onde: ΔE^* = diferença total de cor; -1 = filé de tainha *in natura*; 0 = filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda; 1 = filé de tainha revestido com filme comercial; letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$); letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Tabela 7 - Força de cisalhamento (N) dos filés de tainha ao longo dos dias de armazenamento refrigerado

Dia	FC (N)		
	-1	0	1
0	328,30±89,56 ^c	328,30±89,56 ^c	328,30±89,56 ^a
3	1073,56±131,03 ^{b,A}	536,46±3,96 ^{b,c,B}	96,68±3,68 ^{b,C}
6	895,02±99,82 ^{b,A}	684,79±95,24 ^{b,c,A}	187,62±60,83 ^{a,b,B}
9	1528,21±15,82 ^{a,A}	1489,35±69,37 ^{a,A}	116,50±11,59 ^{a,b,B}

Onde: FC = força de cisalhamento; -1 = filé de tainha *in natura*; 0 = filé de tainha revestido com filme de gelatina de peles de pescada-olhuda; 1 = filé de tainha revestido com filme comercial; letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$); letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).