



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

JÁIRA THAYSE SOUZA BATISTA

**DIFERENTES MÉTODOS DE SECAGEM E DESODORIZAÇÃO POR FLUIDO
SUPERCRTICO DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE RESÍDUOS DE PEIXE
PARA ELABORAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS**

BELÉM
2021



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

JÁIRA THAYSE SOUZA BATISTA

**DIFERENTES MÉTODOS DE SECAGEM E DESODORIZAÇÃO POR FLUIDO
SUPERCRÍTICO DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE RESÍDUOS DE PEIXE
PARA ELABORAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará (UFPA), como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^{fa} Dr^a Lúcia de Fátima Henriques Lourenço

BELÉM
2021



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

JÁIRA THAYSE SOUZA BATISTA

DATA DA AVALIAÇÃO: ____ / ____ / ____

CONCEITO: _____

Banca examinadora:

Prof^ª. Dra. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço
(FEA/ITEC/UFPA- Orientadora)

Prof. Dra. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele
(IFPA/Campus Castanhal – Membro interno)

Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior
(FEA/ITEC/UFPA- Membro interno)

Prof. Dra. Natácia da Silva e Silva
(UEPA – Membro externo)

Prof^ª. Dra. Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro
(IFPA – Membro externo)

Prof^ª. Dra. Consuelo Lucia Sousa de Lima
(UFPA- Suplente interno)

Prof^ª. Dra. Carmelita de Fátima Amaral Ribeiro
(UEPA- Suplente externo)

BELÉM
2021

Aos meus pais Ivone Souza e Esmael
Batista pelo o apoio incondicional em todos
os momentos da minha vida.

Com amor dedico.

“Um passo à frente e você não está mais no mesmo lugar”

Chico Science

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me abençoar e conduzir diariamente ao longo dessa caminhada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal do Pará (UFPA) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Lúcia Lourenço, pela confiança, pelos ensinamentos, sugestões, críticas e atenção dispensada ao longo desses 6 anos que trabalhamos juntas.

A todos da família LAPOA. Em especial, a minha amiga Cleidiane Araújo, que sempre esteve ao meu lado me auxiliando direto e indiretamente ao longo desses 6 anos e que tornou-se uma referência pessoal e profissional.

Aos amigos que o PPGCTA me trouxe, em especial a Fernanda Wariss, Samíria Santos, Lorena Vieira, Eleda Neves, pela amizade e por tornarem essa caminhada mais leve.

Aos meus pais, Ivone e Esmael, por sempre me incentivarem a estudar e a batalhar pelos meus sonhos, por nunca medirem esforços para me ajudar a conquistar meus objetivos, pela compreensão nos momentos em que estive ausente, pelo amor incondicional, pela educação e exemplo que me deram e por sempre me guiarem no caminho do bem.

A minha avó Socorro Almeida, pelo amor e carinho, por sempre estar ao meu lado e pelo o exemplo de vida.

A meu irmão, Marcílio, pela paciência e companheirismo.

A minha tia Ilenize Souza, pelo carinho, incentivo e paciência.

A meu namorado, Romário Campos, pela paciência, carinho, companheirismo e por sempre me incentivar na busca pela realização dos meus sonhos.

A toda minha família, por todo o apoio e incentivo.

Aos amigos Vera Lúcia, Sávvia Coelho, Yasmim Moraes, Welliton Cavalcante, Paulo Sérgio pelos momentos de descontração e amizade.

A todos que de alguma forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A presente tese consta de várias etapas conectadas e os objetivos de cada uma são: a) estudar a influência da utilização de diferentes tipos de resíduos de peixe para extração de proteínas miofibrilares (PM) nas propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis; b) Estudar o efeito de diferentes métodos e temperaturas de secagem das PM de peixes sobre as propriedades tecnológicas dos filmes; c) Desodorizar as PM de peixe usando extração com CO₂ supercrítico, comparar com a extração com solvente em Soxhlet e elaborar filmes biodegradáveis com propriedades sensoriais adequadas para uso como embalagem de alimentos. Baseado nesses objetivos foram elaborado três manuscritos com os resultados das pesquisas. No primeiro manuscrito foram utilizados as carcaças com músculo aderido para obter a carne mecanicamente separada (CMS) e as aparas do toalete dos filés. As PM foram extraídas desses resíduos e os filmes produzidos. Os resultados mostraram que o tipo de resíduo utilizado influencia diretamente em todas as propriedades analisadas dos filmes, devido às diferentes composições centesimal das PM da CMS e das aparas com diferenças significativas principalmente quanto ao teor de lipídeos e cinzas. Esses compostos não protéicos na proteína extraída da CMS atuaram como interferente na formação do filme gerando propriedades tecnológicas e térmicas inferiores quando comparadas ao filme produzido com PM extraídas das aparas. Aumentar o número de lavagens na extração de PM de resíduos mais gordurosos e pigmentados poderia diminuir a concentração de compostos não protéicos. No segundo manuscrito as PM foram secas por liofilização a -60 ° C por 48 h e por secagem convectiva de ar quente a 40 ° C, 60 ° C a 80 ° C. Na secagem por convecção, foram construídas curvas de secagem e avaliados os ajustes dos modelos matemáticos. Os filmes foram produzidos com as proteínas secas nas diferentes condições e caracterizados. Os tempos de secagem encontrados foram 540 min (40 ° C), 300 min (60 ° C) e 120 min (80 ° C). Os modelos "logarítmicos" seguidos da "aproximação da difusão" foram os que melhor se ajustaram a todas as temperaturas. Os resultados da eletroforese de proteínas e a caracterização do filme mostraram que a secagem convectiva causou alterações na estrutura tridimensional das PM, favorecendo a formação de uma rede protéica altamente reticulada com inúmeras ligações de hidrogênio, hidrofóbicas e dissulfeto, gerando filmes com propriedades iguais ou melhores que os elaborados com as PM liofilizadas. Foi possível constatar que a secagem por convecção por ar quente pode ser empregada de forma eficiente em PM utilizadas na produção de filmes biodegradáveis reduzindo o tempo e o custo da produção dos filmes. No terceiro manuscrito, para desodorizar as PM foi utilizado CO₂

supercrítico, construídas isotermas de rendimento global nas condições de 40 e 60 °C a 200, 300 e 400 bar. Na extração com solvente em Soxhlet foi usado o éter de petróleo a 52°C por 2h 30 min. Os filmes foram produzidos com a PM controle sem desodorização e com a PM desodorizadas com solvente em Soxhlet (devido as limitações originadas em decorrência da pandemia causada pelo novo corona vírus (*SARS-CoV-2*), até o momento não foi possível definir a melhor condição de desodorização com CO₂ supercrítico e elaborar o filme com a PM desodorizada por esse método). Os resultados mostraram que a melhor condição operacional com CO₂ supercrítico foi 40 °C/200 bar com rendimento de 5,06 b.s. A melhor condição de extração supercrítica considerando a maior eficiência na retirada do odor de peixe ainda não foi possível ser determinada devido a ausência da análise de compostos aromáticos, não sendo possível afirmar se o maior rendimento de extração do óleo está diretamente relacionado com maior extração de outros compostos aromáticos como a trimetilamina e dissulfeto de dimetilamina. O rendimento em relação a extração de óleo foi maior na extração com solvente em Soxhlet (8,04 b.s), possivelmente devido a baixa seletividade do solvente orgânico que também pode extrair outros compostos comparado ao CO₂ supercrítico que é altamente seletivo. O filme produzido com PM que passaram pela desodorização com solvente em Soxhlet apresentou todas as propriedades estudadas melhoradas em relação ao controle. Isso indica que a retirada de lipídeos pode solucionar não somente o problema com o odor de peixe nos filmes, como proporcionar uma proteína mais isolada e sem interferentes que favorecem a formação de filmes com melhores propriedades.

Palavras - chave: Resíduos de peixe, Proteínas miofibrilares, Secagem convectiva, Cinética de secagem, Desodorização, CO₂ supercrítico.

ABSTRACT

The present thesis consists of several connected stages and the objectives of each are: a) to study the influence of the use of different types of fish residues for the extraction of myofibrillar proteins (MP) on the technological properties of biodegradable films; b) To study the effect of different drying methods and temperatures of fish MP on the technological properties of the films; c) Deodorize fish MP using extraction with supercritical CO₂, compare with solvent extraction in Soxhlet and elaborate biodegradable films with sensory properties suitable for use as food packaging. Based on these objectives, three manuscripts were prepared with the research results. In the first manuscript, carcasses with adhered muscle were used to obtain the mechanically separated meat (MSM) and the fillet toilet parings. The MP were extracted from these residues and the films produced. The results showed that the type of waste used directly influences all the analyzed properties of the films, due to the different centesimal compositions of the MP of the MSM and of the parings with significant differences mainly in the content of lipids and ash. These non-protein compounds in the protein extracted from the MSM acted as an interference in the formation of the film, generating inferior technological and thermal properties when compared to the film produced with MP extracted from the parings. Increasing the number of washes in the extraction of MP from more fatty and pigmented residues could decrease the concentration of non-protein compounds. In the second manuscript, the MP were dried by lyophilization at -60 °C for 48 h and by convective drying of hot air at 40 °C, 60 °C at 80 °C. In convection drying, drying curves were constructed and the adjustments of the mathematical models were evaluated. The films were produced with dried proteins in different conditions and characterized. The drying times found were 540 min (40 °C), 300 min (60 °C) and 120 min (80 °C). The "logarithmic" models followed by the "diffusion approach" were the ones that best adjusted to all temperatures. The results of protein electrophoresis and the characterization of the film showed that the convective drying caused changes in the three-dimensional structure of MP, favoring the formation of a highly reticulated protein network with numerous hydrogen, hydrophobic and disulfide bonds, generating films with equal or better properties than those made with lyophilized MP. It was possible to verify that the convection drying by hot air can be used efficiently in MP used in the production of biodegradable films, reducing the time and the cost of producing the films. In the third manuscript, to deodorize the MP, supercritical CO₂ was used, with global yield isotherms built at 40 and 60 °C at 200, 300 and 400 bar. In solvent extraction in Soxhlet, petroleum ether was used at 52 °C for 2h 30 min. The films

were produced with MP control without deodorization and with MP deodorized with solvent in Soxhlet (due to the limitations caused by the pandemic caused by the new corona virus (SARS-CoV-2), until now it was not possible to define the best condition of deodorization with supercritical CO₂ and make the film with MP deodorized by this method). The results showed that the best operational condition with supercritical CO₂ was 40 ° C / 200 bar with a yield of 5.06 b.s. The best condition for supercritical extraction considering the greater efficiency in removing fish odor has not yet been determined due to the lack of analysis of aromatic compounds, it is not possible to say whether the higher oil extraction yield is directly related to greater extraction of oil other aromatic compounds such as trimethylamine and dimethylamine disulfide. The yield in relation to oil extraction was higher in solvent extraction in Soxhlet (8.04 b.s), possibly due to the low selectivity of the organic solvent that can also extract other compounds compared to the highly selective supercritical CO₂. The film produced with MP that underwent solvent deodorization in Soxhlet showed all the studied properties improved in relation to the control. This indicates that the removal of lipids can solve not only the problem with the odor of fish in the films, but also provide a more isolated protein without interferences that favor the formation of films with better properties.

Key words: Fish residues, Myofibrillar proteins, Convective drying, Drying kinetics, Deodorization, supercritical CO₂.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

- Figura 1.** Resíduos da filetagem da dourada. (a) carcaça; (b) carne mecanicamente separada (CMS) da carcaça; (c) aparas. 56
- Figura 2.** Teste de biodegradabilidade dos filmes em solo. 60
- Figura 3** Proteínas miofibrilares liofilizadas; (a) carne mecanicamente separada (CMS) e (b) aparas. 62
- Figura 4.** Filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares de peixe. (a) Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada (F-CMS). (b) Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas (F-APARAS). 64
- Figura 5.** Curvas de DSC. (A) Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada (F-CMS). (B) Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas (F-APARAS). 67
- Figura 6.** Microfotografias da superfície dos filmes nas ampliações 100X, 1000X. (a e b) Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada (F-CMS). (c e d) Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas (F-APARAS). 68
- Figura 7.** Aspecto macroscópico dos filmes antes e após 15 dias de incubação no solo e curvas de perda de massa em função do tempo de exposição no solo. F-CMS: Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada. F-APARAS: Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas. 70

Capítulo III

- Figura 1.** Curvas de secagem de proteínas miofibrilares de peixe secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C. 88
- Figura 2.** Perfil eletroforético SDS-PAGE das amostras de MP. MP-L: MP secas por liofilização; MP-40, MP-60 e MP-80: proteínas miofibrilares secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente. P: padrão BIO-RAD. 90
- Figura 3.** (A) Curvas de tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento. (B) Curvas de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento. F-L: solução filmogênica de PM secas por liofilização; F-40; F-60 e F-80: soluções filmogênicas de PM secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente. 91

- Figura 4.** Espectros de FTIR dos filmes. (A) Espectros de 4000 -500 cm^{-1} . 96
 (B) Espectros ampliado na região 4000-2500 cm^{-1} . F-L: filme de PM secas por liofilização; F-40, F-60 e F-80: filmes de PM secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente.
- Figura 5.** (A) Curvas de TGA dos filmes. (B) Difratoograma dos filmes F-L: 97
 filme de PM secas por liofilização; F-40, F-60 e F-80: filmes de PM secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente.
- Figura 6.** Microfotografias da superfície dos filmes nas ampliações 100X, 99
 1000X e 2000X. A - C: filme de PM secas por liofilização (F-L). D - F: filme de PM secas por convecção a 40°C (F-40). G - I: filme de PM secas por convecção a 60°C (F-60). J - M: filme de PM secas por convecção a 80°C (F-80).

Capítulo VI

- Figura 1.** Fluxograma de extração com CO_2 supercrítico da unidade 113
 experimental Spe-edTMSFE. 1. Tanque de CO_2 ; 2. Banho de refrigeração; 3. Bomba; 4. Compressor; 5. Forno; 6. Vaso extrator; 7. Monitor; 8. Frasco coletor; 9. Medidor de vazão; 10. Saída de CO_2 ; Válvulas de controle de fluxo V1 - V6 .
- Figura 2.** Isotermas de rendimento global do óleo das proteínas miofibrilares 120
 de peixe (a) Rendimento em função da pressão, (b) Rendimento em função da densidade, (●) 40°C e (■) 60°C.
- Figura 3.** Curvas termogravimétricas (TG). F-CON: filme controle de PM 124
 sem desodorização; F-SOX e F-ESC: filmes de PM desodorizadas com solvente em Soxhlet e com CO_2 supercrítico respectivamente.

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1.	Espécies de peixe, origem do material muscular e métodos de conservação das proteínas miofibrilares de peixe utilizadas na produção de filmes biodegradáveis de trabalhos publicados no período de 2010-2020.	33
------------------	---	----

Capítulo II

Tabela 1.	Composição centesimal e cor instrumental das proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada e das aparas.	61
Tabela 2.	Caracterização física, de barreira e cor dos filmes biodegradáveis produzidos a partir de proteínas miofibrilares extraídas da carne mecanicamente separada e das aparas.	62
Tabela 3.	Transmissão de luz, transparência e opacidade dos filmes biodegradáveis produzidos a partir de proteínas miofibrilares extraídas da carne mecanicamente separada e das aparas.	65
Tabela 4.	Análise química por energia dispersiva dos filmes produzidos com proteínas miofibrilares extraídas da carne mecanicamente separada e das aparas.	69

Capítulo III

Tabela 1.	Modelos utilizados para descrever as curvas de secagem das PM	82
Tabela 2.	Valores do R^2 , X^2 e RMSE para as regressões não lineares dos modelos ajustados aos dados de secagem de PM de peixe secas a 40°C, 60°C e 80°C.	88
Tabela 3.	Composição centesimal e teor de oxidação lipídica das PM secas por liofilização e por convecção em diferentes temperaturas.	89
Tabela 4.	Parâmetros do modelo de Ostwald de Waele e viscosidade aparente calculados para as soluções filmogênicas.	92
Tabela 5.	Caracterização mecânica, física, de barreira e cor dos filmes biodegradáveis obtidos com MP secas por liofilização e por convecção.	93
Tabela 6.	Temperatura de degradação térmica (T , °C) e perda de peso (ΔP , %) dos filmes biodegradáveis obtidos com PM de peixe secas por liofilização e por convecção	98

Capítulo IV

Tabela 1.	Rendimento global do óleo das proteínas miofibrilares de peixe.	117
Tabela 2.	Propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares (PM) sem desodorização e desodorizadas com solvente em Soxhlet e com CO ₂ supercrítico.	121
Tabela 3.	Temperatura de degradação térmica (T, ° C) e perda de peso (ΔP ,%) dos filmes biodegradáveis produzidos com proteínas miofibrilares sem desodorização e desodorizadas por extração com solvente em Soxhlet e por extração com fluido supercrítico.	125

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
INTRODUÇÃO GERAL	19
OBJETIVOS	21
OBJETIVO GERAL	21
OBJETIVO ESPECÍFICO	21
Capítulo I	
1. REVISÃO DE LITERATURA	22
1.2. FILMES BIODEGRADÁVEIS DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE PEIXE	22
1.3. PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE PEIXE	24
1.4. FONTES DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE PEIXE UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE FILMES	25
1.4.1. Carne Mecanicamente Separada (CMS)	26
1.4.2. Aparas	27
1.5. MÉTODOS DE SECAGEM DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE PEIXE UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE FILMES	27
1.5.1. Liofilização	29
1.5.2. Secagem convectiva	30
1.5.2.1. Cinética de secagem	31
1.6. COMPOSTOS AROMÁTICOS DO PESCADO E SUA INFLUENCIA NOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	35
1.6.1. Trimetilamina (TMA)	36
1.6.2. Lipídeos	37
1.7. DESODORIZAÇÃO USANDO FLUIDO SUPERCRÍTICO	38
REFERENCIAS	39
Capítulo II	
RESUMO	54
1. INTRODUÇÃO	55
2. MATERIAIS E MÉTODOS	56
2.1. MATÉRIA PRIMA	56
2.2. EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES	57
2.2.1. Composição centesimal e cor instrumental das proteínas miofibrilares	57

2.3. OBTENÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	57
2.4. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	58
2.4.1. Espessura	58
2.4.2. Propriedades mecânicas	58
2.4.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	58
2.4.4. Solubilidade	59
2.4.5. Transmissão de luz, transparência e opacidade	59
2.4.6. Parâmetros de cor	59
2.4.7. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	59
2.4.8. Microscopia eletrônica de varredura e análise química por energia dispersiva	60
2.4.9. Teste de biodegradabilidade dos filmes	60
2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
3.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E COR DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES	61
3.2. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	62
4. CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS	72

Capítulo III

RESUMO	77
RESUMO GRÁFICO	78
1. INTRODUÇÃO	79
2. MATERIAIS E MÉTODOS	80
2.1. MATÉRIAS PRIMAS	80
2.2. EXTRAÇÃO DAS PM	80
2.3. SECAGEM DAS PM	81
2.3.1. Cálculo da difusividade efetiva para a secagem	81
2.3.2. Modelagem matemática das curvas de secagem	82
2.4. CARACTERIZAÇÃO DAS PM	83
2.4.1. Composição centesimal e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico	83
2.4.2. Eletroforese	83
2.5. OBTENÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	84
2.6. CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DA SOLUÇÃO FILMOGÊNICA	84
2.7. AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS FILMES	84

BIODEGRADÁVEIS	
2.7.1. Espessura	84
2.7.2. Propriedades mecânicas	85
2.7.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	85
2.7.4. Solubilidade	85
2.7.5. Parâmetros de cor	86
2.8. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	86
2.8.1. Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier	86
2.8.2. Análise termogravimétrica	86
2.8.3. Difração de Raio- X	86
2.8.4. Microscópica eletrônica de varredura da superfície dos filmes biodegradáveis	87
2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	87
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.1. SECAGEM DAS PM	87
3.1.1. Curva de secagem	87
3.2. CARACTERIZAÇÃO DAS PM SECAS POR LIOFILIZAÇÃO E POR CONVECÇÃO	88
3.3. ELETROFORESE (SDS-PAGE)	89
3.4. CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DAS SOLUÇÕES FILMOGÊNICAS	90
3.5. DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	92
3.6. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	94
3.6.1. FTIR	94
3.6.2. TGA e difração de raio-x	96
3.6.3. MEV da superfície dos filmes	98
4. CONCLUSÃO	100
REFERÊNCIAS	101
Capítulo IV	
RESUMO	108
1. INTRODUÇÃO	109
2. MATERIAIS E MÉTODOS	110
2.1. MATÉRIA PRIMA	110
2.2. EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES (PM)	111

2.3. PREPARO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES PARA DESODORIZAÇÃO	111
2.3.1. Determinação granulométrica	111
2.4. DESODORIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES	112
2.4.1. Extração com solvente em Soxhlet	112
2.4.2. Extração com fluido supercrítico (ESC)	112
2.5. CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DESODORIZADAS	113
2.5.1. Análise dos compostos voláteis (aromas)	113
2.5.2. Eletroforese (SDS-PAGE)	113
2.6. OBTENÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	114
2.7. AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	114
2.7.1. Espessura	114
2.7.2. Propriedades mecânicas	114
2.7.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)	115
2.7.4. Solubilidade	115
2.7.5. Transparência e opacidade	116
2.7.6. Parâmetros de cor	116
2.7.7. Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR-ATR)	116
2.7.8. Análise termogravimétrica (TG)	116
2.7.9. Análise dos compostos voláteis (aromas)	116
2.7.10. Caracterização microscópica da superfície dos filmes biodegradáveis	117
2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	117
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	117
3.1. DESODORIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES (PM)	117
3.2. DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS	120
3.2.1. Análise termogravimétrica (TG)	124
4. CONCLUSÃO	126
REFERENCIAS	128
CONSIDERAÇÕES FINAIS	133

INTRODUÇÃO GERAL

Filmes biodegradáveis são materiais produzidos com biopolímeros como carboidratos, proteínas e lipídeos que tem se tornado cada vez mais popular por serem uma boa possibilidade de substituição ou diminuição do uso de embalagens sintéticas, sendo portanto considerado ambientalmente adequadas (MISHRA et al., 2020).

As proteínas miofibrilares de peixe são extensivamente utilizadas nas pesquisas de produção de filmes. Essas proteínas podem ser extraídas de todo o material muscular do peixe, isso inclui o resíduo gerado durante o processamento. A utilização de resíduos para extração de proteínas, apresenta a vantagem de contribuir ainda mais a diminuição de danos ambientais, minimizando o descarte inadequado desses resíduos. O tipo de material muscular (resíduos, filé etc.) e a espécie de peixe utilizado na extração das proteínas poderá interferir diretamente na composição da proteína final obtida, logo, também poderá afetar as propriedades dos filmes produzidos. Neste trabalho foi utilizado resíduos da dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*), espécie muito utilizado para filetagem nas indústrias e mercados da região e produz grande volume de resíduos na etapa de filetagem (CHAMALIAH et al., 2012; GAUTAM; KAKATKAR; KARANI, 2016; BATISTA et al., 2020).

Após a extração das proteínas miofibrilares, o concentrado de proteínas precisam ser armazenados e conservados até sua utilização para a produção dos filmes. Os métodos comumente usados são o congelamento e secagem por liofilização ou secagem convectiva. A opção de conservação pela secagem apresenta as vantagens de reduzir a umidade e atividade de água que causará a redução do crescimento microbiano e conseqüentemente prolongará a vida útil dessas proteínas. Além disso, também diminui peso e volume que acarreta na redução dos custos de transporte e armazenamento. No entanto, a secagem pode ocasionar alterações nas propriedades das proteínas requerendo análise cautelosa para definir o melhor método de secagem utilizado em proteínas usadas para produção de filmes (DEHNAD; JAFARI; AFRASIABI, 2016; KAVEH; ABBASPOUR-GILANDEH, 2020; LI et al., 2020)

Além disso, os filmes produzidos com proteínas miofibrilares de peixe possuem uma particularidade, que é o odor característico de peixe, que apesar de não ser relatado na literatura, está presente assim como nos demais produtos de peixe. Essa peculiaridade pode ser um fator limitante na sua utilização como embalagem de alimentos, uma vez que esses materiais entram em contato direto ou interagem com os alimentos embalados e precisam apresentar propriedades sensoriais aceitáveis (SHIMODA et al., 2000; PAN et al., 2018). O odor de peixe é atribuído a compostos, incluindo álcoois, aldeídos, cetonas, pirazina, furano,

trimetilamina, etc. acumulados do ambiente aquático ou formados por oxidação lipídica e reações enzimáticas no corpo do peixe (PAN et al., 2018). Desta forma, infere-se que o odor característico de peixe pode ser reduzido ou eliminado pela diminuição dos lipídeos e dos compostos nitrogenados.

Para embasar estas afirmações, o **primeiro capítulo** foi elaborado com uma “Revisão da Literatura”, para subsidiar a validade científica dessa tese.

O **segundo capítulo** tem como título “Propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis produzidos com proteínas miofibrilares extraídas de diferentes tipos de resíduos de peixes”. O objetivo foi investigar se o tipo de resíduo de peixe utilizado na extração de proteínas miofibrilares impacta nas propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis.

O título do **terceiro capítulo** é “Efeito da secagem por convecção e liofilização de proteínas miofibrilares de peixe sobre as propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis”. Que analisa o efeito de diferentes métodos e temperaturas de secagem de proteínas miofibrilares extraídas de resíduos de peixe nas propriedades tecnológicas dos filmes, e assim definir o melhor método e condição de secagem.

E finalmente, visando obter filmes biodegradáveis sem odor característico de peixe, o **quarto capítulo** tem como título “Desodorização de proteínas miofibrilares de peixe com fluido supercrítico para produção de filmes biodegradáveis com melhores características sensoriais”. Teve como objetivo desodorizar as proteínas miofibrilares de peixe por extração com CO₂ supercrítico, comparar com extração com solvente em Soxhlet, e produzir filmes com propriedades sensoriais adequadas para uso como embalagem de alimentos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Estudar a influência da utilização de diferentes tipos de resíduos de peixe, de métodos de secagem e desodorização com fluido supercrítico de proteínas miofibrilares nas propriedades tecnológicas e sensoriais de filmes biodegradáveis.

OBJETIVO ESPECÍFICO

- Investigar se o tipo de resíduo de peixe utilizado para extração de proteínas miofibrilares afeta as propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis.
- Estudar o efeito de diferentes métodos e temperaturas de secagem de proteínas miofibrilares de peixes sobre as propriedades tecnológicas dos filmes.
- Desodorizar proteínas miofibrilares de peixe usando extração com CO₂ supercrítico, comparar com extração com solvente em Soxhlet e posteriormente elaborar filmes biodegradáveis com propriedades sensoriais adequadas para uso como embalagem de alimentos.

Capítulo I

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.2. FILMES BIODEGRADÁVEIS DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE PEIXE

Filmes biodegradáveis são materiais produzidos com matérias primas não tóxicas e de fontes renováveis como carboidratos, proteínas e lipídeos. Sua produção é fortemente impulsionada por questões ambientais, principalmente devido ao uso indiscriminado de embalagens sintéticas de derivados de petróleo, que apesar de suas excelentes propriedades como flexibilidade, capacidade de impressão, resistência contra diferentes fatores ambientais e mecânicos e baixo custo, levam anos para se decompor e são prejudiciais aos animais terrestres e marinhos, bem como às aves que tendem a se alimentar desses resíduos plásticos. Além disso, também é uma demanda ambiental a busca por matérias primas de fontes renováveis, que possam substituir pelo menos parcialmente o uso de derivados de petróleo (BHARGAVA et al., 2020; MISHRA et al., 2020).

Os filmes devem atender a alguns requisitos que são avaliados por algumas características importantes como resistência mecânica (resistência a tração, módulo de Young e alongação), taxa de transmissão de vapor d'água (PVA) cor e transparência do filme. A resistência mecânica é essencial para proteger o alimento contido das cargas externas. As propriedades de barreira são essenciais para prevenir a transmissão de líquidos/gases entre o alimento contido e o meio ambiente. A cor e transparência do filme são essenciais para melhorar a aceitação pelos consumidores. Além disso, a aceitabilidade do consumidor também depende das propriedades sensoriais, como aparência do filme, textura, sabor, odor, entre outras (JEEVAHAN et al., 2020).

A escolha do método de aplicação na forma de filme ou revestimento em produtos alimentícios irá depender da natureza do alimento que irá ser revestido, os atributos da superfície e o objetivo principal da aplicação (SUHAG et al., 2020). A principal diferença é que os revestimentos são aplicados na forma líquida no alimento, geralmente por imersão do produto em solução ou por aspersão borrifando a solução sobre o alimento, formando uma camada fina e protetora. Já os filmes são primeiro moldados como folhas sólidas e depois aplicados como material de embalagem que envolve o produto alimentar, ambos atuam como uma barreira contra a transmissão de solutos, vapores e gases preservando a qualidade dos

alimentos desempenhando papel importante na conservação, distribuição e comercialização (FALGUERA et al., 2011; MISHRA et al., 2020).

Para serem considerados comestíveis os filmes precisam atender a requisitos que assegurem que sejam adequados para consumo humano, tais como, excelentes qualidades sensoriais, alta estabilidade microbiana, livre de tóxicos e seguro para a saúde. Ao serem seguros para consumo humano, também garantem que a difusão de moléculas da embalagem para o alimento não criará problemas de saúde. Com filme biodegradável e comestível, o problema de eliminação de resíduos é quase zero, pois mesmo que não sejam ingeridos, degrada-se mais rapidamente no meio ambiente em comparação com os produtos sintéticos (JEEVAHAN et al., 2020).

A produção de filmes biodegradáveis além de ser uma possível solução ao uso indiscriminado de embalagens sintéticas, também é uma alternativa para o reaproveitamento de resíduos gerados em indústrias alimentícias, e dessa forma auxiliar na valorização e no gerenciamento desses resíduos industriais.

A indústria de pesca gera grande variedade de resíduos sólidos que podem ser utilizados para produção de filmes. Carcaça com músculo aderido e aparas resultante do processo de filetagem podem ser utilizados para extração de proteínas miofibrilares (BATISTA et al., 2020). Proteínas miofibrilares são biopolímeros adequados para formar filmes com boas propriedades de barreira ao oxigênio e dióxido de carbono, no entanto, devido a natureza hidrofílica dessas proteínas e dos plastificantes adicionados, a propriedade de barreira ao vapor de água é pobre (MISHRA et al., 2020). Possuem também melhores propriedades mecânicas quando comparada a filmes produzidos com outros biopolímeros, isso ocorre porque as proteínas contêm 20 tipos diferentes de aminoácidos que tornam as características funcionais mais variadas, permitindo ampla gama de interações intermoleculares em comparação com os polissacarídeos, que são na sua maioria homopolímeros (FRASISCA et al., 2020).

Os estudos de filmes biodegradáveis com proteínas miofibrilares de peixe começou na década de 90 quando Cuq et al. (1995) trabalharam com sardinha do Atlântico e demonstraram a capacidade dessas proteínas de formar filmes transparentes e resistentes. Desde então, muitos outros trabalhos já foram realizados.

Para serem utilizadas no processo de elaboração dos filmes, primeiro as proteínas miofibrilares precisam ser extraídas adequadamente. Essa extração é feita com sucessivas lavagens do material muscular com água e solução salina para eliminar sangue, gordura e as proteínas sarcoplasmáticas. Depois disso, o material é congelado ou seco, quando seco,

posteriormente é triturado e peneirado para retirada de tecido conjuntivo (proteínas insolúveis) (ARAÚJO et al., 2018; BATISTA et al., 2020).

Na elaboração dos filmes, as proteínas miofibrilares sozinhas formam películas quebradiças, devido à presença de fortes ligações covalentes, principalmente dissulfeto, e nessas condições, não tem aplicação prática. Para aumentar a flexibilidade dessas películas é adicionado um plastificante, são geralmente polióis, com baixo peso molecular e não voláteis, objetivando reduzir as interações proteína-proteína, resultando em um aumento da mobilidade destas cadeias e, conseqüentemente, em películas flexíveis e a diminuição de possíveis zonas descontinuas e/ou quebradiças (MISHRA et al., 2020).

Durante a elaboração do filme também é necessário controlar o pH da solução filmogênica, uma vez que as proteínas miofibrilares são insolúveis em água. Com o ajuste do pH essas proteínas são totalmente distendidas e intimamente associadas umas com as outras em estruturas paralelas. O tratamento térmico da solução filmogênica também é importante, visto que praticamente todos os estudos mostram a necessidade da desnaturação e desdobramento da proteína como passos prévios para interações ordenadas proteína-proteína e formação de agregados proteicos. Esses tratamentos permitem que essas proteínas sejam capazes de formar uma matriz contínua durante a secagem da solução (CUQ et al., 1995; IWATA et al., 2000).

1.3. PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DO PEIXE

As proteínas do peixe podem ser divididas em três grupos, baseado na solubilidade. Cerca de 70 a 80% são proteínas estruturais formadas pelas proteínas miofibrilares que são solúveis em soluções salinas e responsáveis pela atividade muscular. De 10 a 20% são proteínas sarcoplasmáticas, solúveis em água, encontradas principalmente no plasma celular. E de 2 a 3% são proteínas estruturais, insolúveis em soluções salinas e formam o tecido conectivo, sendo compostas principalmente pelo colágeno (OGAWA; MAIA, 1999; KUHN, SOARES, 2002).

As proteínas miofibrilares são as principais proteínas estruturais no músculo do peixe e podem ser divididas em três subgrupos: proteínas contráteis representadas pela miosina e a actina. A miosina constitui de 50 a 60% da fração miofibrilar e a actina 15 a 20% e são diretamente responsáveis pela contração muscular. Proteínas reguladoras que são a tropomiosina e troponina, representam de 8 a 10% do total das proteínas miofibrilares. E as proteínas citoesqueléticas que tem como principais a titina, conectina, nebulina, desmina. As

proteínas do citoesqueleto funcionam para apoiar e estabilizar a proteínas contráteis do músculo (XIONG; BREKKE, 1989; SIKORSKI, 1990; MCCORMICK, 1994; XIONG, 1997).

Do ponto de vista alimentar, as proteínas miofibrilares são as principais proteínas do músculo do peixe, medindo cada fibra de 0,01 a 0,1 mm de comprimento por 1 a 2 μm de diâmetro (OGAWA; MAIA, 1999).

As proteínas miofibrilares têm papel fundamental na coagulação e formação de gel quando se processa o músculo de pescado. Estas formam as miofibrilas, e conferem às células musculares sua propriedade contráctil. Influenciam tecnologicamente nas qualidades culinária e comercial de carnes, pois são responsáveis pela capacidade de retenção de água, propriedades emulsificantes e maciez, contendo ainda quantidades importantes de aminoácidos essenciais, contribuindo em mais de 70% do suporte proteico. São as proteínas mais importantes nutricionalmente, por fornecer aminoácidos essenciais em quantidades adequadas para a necessidade dos seres humanos (SIKORSKI, 1994; KUHN; SOARES, 2002).

São proteínas normalmente insolúveis em água, mas podem ser solubilizadas controlando-se o pH da solução ou em soluções salinas de alta força iônica ($i \geq 0,5$). Podem ser extraídas com soluções salinas neutras de força iônica acima de 0,15 (SIKORSKI, 1990; XIONG, 1997; OGAWA; MAIA, 1999; IWATA et al., 2000).

1.4. FONTES DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE PEIXE UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE FILMES

De todo material muscular do peixe é possível extrair proteínas miofibrilares, isso inclui resíduos gerados durante o processamento (CHAMALIAH et al., 2012; ZHANG et al., 2020).

Na produção de filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares de peixe, a maioria das pesquisas extraíram as proteínas de todo material muscular do peixe ou de filés, aparas e carne mecanicamente separada (CMS) (Tabela 1). As aparas e a carcaça usada na obtenção da CMS são resíduos produzidos durante o processo de filetagem (BATISTA et al., 2020).

Resíduos como sobras de músculo, cabeça, carcaça, pele, ossos, escamas e tripas constituem cerca de 60-70% da matéria-prima e são descartados pelas indústrias de filetagem (EL HALAL et al., 2016). A utilização de resíduos para extração de PM apresenta a vantagem de ajudar a eliminar ou diminuir o descarte inadequado minimizando danos ambientais e

possibilita e gerar receita adicional para indústria (GAUTAM; KAKATKAR; KARANI, 2016).

A dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*), espécie estudada nesse trabalho, é uma das espécies de peixes mais importantes comercializadas na Amazônia (GONZALEZ et al. 2009). É um peixe grande, frequentemente utilizado para filetagem nas indústrias e mercados da região, e produz grande volume de resíduos. Durante o processamento do pescado, a etapa de filetagem, gera diferentes tipos de resíduos, como a carcaça e as aparas (BATISTA et al., 2020).

A origem do material muscular utilizado (filé, aparas ou carne mecanicamente separada) para extrair as proteínas terá influência direta nas propriedades dos filmes que serão produzidos. Isso ocorre porque no músculo do peixe existem diferentes regiões com diferentes composições físico-químicas (SHAMIM; AHMED; ABDULLAH, 2011), consequentemente, as PM extraídas também apresentarão variações em sua composição e isso influenciará no filme produzido. Da mesma forma, a espécie de peixe utilizada também tem influência, devido grandes variações entre espécies, e mesmo dentro da mesma espécie, que ocorre por fatores como tamanho, idade, estação, sexo e localização geográfica (BEGUM; AKTER; MINAR, 2012).

Neste trabalho as proteínas miofibrilares foram extraídas de resíduos presente na carcaça que foi processada e gerou a carne mecanicamente separada (CMS) e das aparas da filetagem.

1.4.1. Carne Mecanicamente Separada (CMS)

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), entende-se por carne mecanicamente separada (CMS), a carne retirada a partir de ossos, carcaças ou partes de carcaças, com exceção dos ossos da cabeça, submetidos à separação mecânica em equipamentos especiais (máquinas de separação mecânica).

A CMS é uma tecnologia japonesa de 1940, sua criação foi reflexo da necessidade da indústria de viabilizar a melhor utilização e aproveitamento de espécies de pequeno porte, de baixo valor comercial, de fauna acompanhante e da crescente demanda por produtos de pescado. Posteriormente a técnica foi estendida para o aproveitamento de carcaças com carne aderida após filetagem, que também geram CMS de ótima qualidade, aumentando o rendimento do processo, diminuindo perdas e gerando matéria prima versátil para o desenvolvimento de diversos produtos. A utilização dessa tecnologia pode resgatar uma parcela do pescado normalmente destinada à produção de farinha para ração animal,

agregando valor a uma parte depreciada das capturas (MORAIS; MARTINS, 1981; GUIMARÃES; CALIXTO; MESQUITA, 2017).

O rendimento da CMS depende da espécie e do tamanho do peixe utilizado, variando de 40 a 60% do peso total do pescado. Se a CMS for resultante da carcaça do processo de filetagem, rende cerca de 10% do peso total do pescado (BOSCOLO; FEIDEN, 2007).

1.4.2. Aparas

As aparas são obtidas do toailete realizado no filé para padronizar o formato e é feito durante o processamento de peixes. Aparas dorsal e ventral e do corte em “v” do filé, representam em média 5% do peso total do peixe inteiro. Desse total de aparas, cerca de 15% são provenientes do corte em “v” para a retirada de espinhas remanescentes no filé, e 85% são provenientes do corte dorsal e ventral da padronização. Assim, uma planta de filetagem que processa 6 toneladas/dia, obtém 300 kg/dia de aparas, matéria-prima de alta qualidade capaz de gerar excelentes produtos para o consumo humano (VIDOTTI; BORINI, 2006).

1.5. MÉTODOS DE SECAGEM DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DE PEIXE UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE FILMES

Após a extração das proteínas miofibrilares, o concentrado de proteínas obtido precisa ser armazenado e conservado para posterior utilização. As proteínas usadas para produção de filmes biodegradáveis, as pesquisas usam o congelamento ou secagem, quando optam pela secagem, comumente usam o método de liofilização e em minoria a secagem convectiva por ar quente em estufa (Tabela 1).

A conservação por secagem apresenta a vantagem de diminuir o peso e o volume do produto seco e com isso agregar praticidade. Ao remover/reduzir a umidade, a atividade da água é reduzida, o crescimento microbiano é reduzido e a vida útil é prolongada pelo aumento da estabilidade do produto, além da redução dos custos de transporte e armazenamento. Ao secar, as propriedades do produto podem sofrer alterações e reações químicas. A intensidade dessas alterações vai depender do tipo de secagem utilizado (KAVEH; ABBASPOUR-GILANDEH, 2020; LI et al., 2020).

A secagem de alimentos é um processo complexo e acompanhado por uma série de transformações físico-químicas que induzem a mudanças nos atributos nutricionais, funcionais e sensoriais. Essas mudanças geralmente são vistas como negativas em relação à qualidade do produto final. Consiste em uma operação por meio da qual a água ou qualquer

outro líquido é removido de um material. Ocorre com a aplicação de calor sob condições controladas, para remover por evaporação a maioria da água presente em um alimento, ou no caso da liofilização, por sublimação, onde a amostra é congelada a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ aproximadamente, e sob vácuo todo o gelo presente é retirado sem causar grandes alterações no produto (LI et al., 2020).

A secagem de proteínas pode afetar diretamente a sua estrutura. Se usado métodos de secagem por aquecimento algum nível de desnaturação e desdobraimento das proteínas pode impactar em suas propriedades funcionais e nutricionais (DEHNAD; JAFARI; AFRASIABI, 2016). Possivelmente seja por isso que a maioria dos trabalhos que fizeram filmes biodegradáveis com proteínas miofibrilares previamente secas, optaram pela liofilização (Tabela 1) que é um método que possui como uma de suas principais vantagens a preservação das características do produto (FENG et al., 2020).

A segunda opção de secagem usada nos trabalhos que fizeram filmes biodegradáveis com proteínas miofibrilares previamente secas é a secagem convectiva (Tabela 1). Esse método possui a vantagem de ser mais simples e econômico entre os diversos processos de secagem. No entanto, por ser uma secagem feita com ar quente, esse contato com o calor pode ser desvantajoso (SINGH; TALUKDAR, 2020; VILLA-CORRALES et al., 2010).

No caso das proteínas miofibrilares de peixe, a secagem convectiva pode causar perda de propriedades funcionais das proteínas pela mudança em sua estrutura. No entanto, um questionamento precisa ser considerado: será que essa mudança na estrutura da proteína seria um problema quando se trata de proteínas que serão utilizadas para produção de filmes biodegradáveis? Analisando como ocorre a formação do filme, o importante é que as diferentes moléculas de proteínas consigam se unir por ligações de hidrogênio, iônicas, hidrofóbicas e covalentes formando uma rede tridimensional de proteínas. Levando isso em consideração, as alterações na conformação da proteína podem ser ruim para as propriedades funcionais, no entanto, para a produção de filme podem ser até favoráveis. O desdobraimento da proteína expõe grupos que podem favorecer a formação de mais ligações dissulfeto e hidrofóbica entre as diferentes moléculas de proteínas, que são ligações fortes, e portando, pode gerar filmes com melhores propriedades (HAMMANN; SCHMID, 2014; KOWALCZYK et al., 2014).

Apesar de a liofilização oferecer uma proteína com propriedades funcionais e nutricionais preservadas, é um método de secagem que gera altos custos de energia para manter o vácuo e a baixa temperatura visto que são necessários longos períodos de secagem que podem se estender de várias horas a dias (FENG et al., 2020).

Fora as questões de preservação das propriedades nutricionais e funcionais, outros fatores do processo de secagem também precisam ser considerados ao mesmo tempo, como o consumo de energia, tempo e custo (LI et al., 2020). Além da necessidade de também avaliar qual o objetivo da secagem desse material, para não usar um método caro sem a real necessidade. A economia de energia de um por cento nos processos de secagem pode economizar mais de 10% nos custos totais de produção em uma indústria (PHAM; KHAM; KARIM, 2020).

Atualmente, o custo de produção de filmes biodegradáveis no geral é em torno de 10 a 50 vezes maior que os filmes plásticos derivados do petróleo. Porém, como esta produção filmes está em fase de desenvolvimento, o alto custo não pode ser tomado como um ponto negativo neste momento. No entanto, é preciso aperfeiçoar todo o processo de produção para que o custo total da embalagem seja 10% inferior ao custo do produto embalado. O custo de filmes biodegradáveis devem ser menor ou igual aos filmes sintéticos para poder ter competitividade e atrair clientes (JEEVAHAN et al., 2020). Nesse contexto, é crucial escolher cuidadosamente o método de secagem mais adequado para as proteínas miofibrilares utilizadas na produção de filmes, podendo contribuir para diminuição desse custo de produção do filme.

1.5.1. Liofilização

Liofilização é um método de secagem baseado na sublimação do gelo contido no material. Foi desenvolvida para reduzir as perdas dos compostos responsáveis pelo sabor e aroma dos alimentos, que são muito afetados pelas altas temperaturas de processos de secagem convencionais. Isso ocorre porque a secagem é realizada a temperaturas muito baixas e o produto final sofre poucos danos causados por degradação térmica e química (PISANO; BARRESI; FISSORE, 2011; OIKONOMOPOULOU; KROKIDA; KARATHANOS, 2011).

O processo de liofilização envolve três etapas (1) estágio de congelamento, (2) estágio de secagem primária, e (3) estágio de secagem secundária. Na primeira etapa a amostra é previamente congelada. Na segunda etapa ocorre o estágio primário de secagem onde o solvente congelado é removido por sublimação, isso requer que a pressão do sistema (liofilizador) em que o produto é seco seja menor ou próximo à pressão de vapor de equilíbrio do solvente congelado. A hora em que não há mais nenhuma camada congelada (ou seja, não há mais sublimação na interface) é considerado o fim do estágio de secagem primária. A etapa de secagem secundária envolve a remoção da água que não congelou (isso é denominado água sorvida ou água ligada) e começa no fim da etapa de secagem primária,

nessa etapa a água é desorvida e o vapor é transportado através dos poros do material que é seco (DUAN et al., 2016).

É considerado o mais nobre processo conhecido de conservação de produtos biológicos, porque reúne os dois métodos mais fiáveis de conservação, o congelamento e a desidratação. No entanto, apesar de muitas vantagens, é uma forma muito cara de desidratação de alimentos, devido a velocidade lenta de secagem, a necessidade de usar vácuo e a aplicação de tratamentos prévio de congelamento. A análise comparativa da quantidade de energia gasta entre os métodos convencionais de secagem e a liofilização mostrou que a energia necessária para remover 1 kg de água é quase o dobro para a liofilização do que para secagens convencionais (DUAN et al., 2016; FENG et al., 2020).

Diante disso, a liofilização tornou-se uma alternativa industrial importante para a secagem de produtos de alto valor, como alimentos sensíveis ao calor (frutas e legumes que perdem seu aroma e sabor se permanecerem em alta temperatura por muito tempo), produtos farmacêuticos entre outros (OIKONOMOPOULOU; KROKIDA; KARATHANOS, 2011; KUMAR; TIWARI; BELORKAR, 2015).

1.5.2. Secagem convectiva

A secagem por convecção é considerado um processo simultâneo de transferência de calor e massa. Utiliza uma câmara de isolamento térmico apropriada, com sistema de aquecimento do ar circulante sobre ou através das bandejas. É considerado o método mais simples e econômico entre os diversos processos de secagem e o mais utilizado na conservação de alimentos (DEMIRAY; TULEK, 2014; SINGH; TALUKDAR, 2020).

Durante a secagem, o calor é transferido do ar do ambiente para a superfície da amostra por convecção, e da superfície para o interior da amostra através da condução, aumentando a temperatura do sólido e da umidade presente. Em seguida, a umidade do interior da amostra é transferida para superfície por difusão, e da superfície para o ar ambiente por evaporação. A força motriz para a evaporação durante o processo de secagem é a diferença entre a pressão de vapor de água na amostra e a pressão parcial de vapor de água na atmosfera circundante. A umidade migra de uma área de alta pressão de vapor para uma de baixa pressão, ou seja, a umidade migrará de dentro da amostra aquecida onde está com alta pressão de vapor, através de microporos, até a superfície circundante que possui uma pressão parcial mais baixa, onde é evaporada para a atmosfera como vapor de água. As taxas de transferência de calor e umidade serão diretamente relacionadas a velocidade e temperatura do ar de secagem (SAHIN; DINCER, 2005; SINGH; TALUKDAR, 2020).

Modelos matemáticos dos processos de secagem são usados para projetar novos ou melhorar sistemas de secagem existentes, ou mesmo para o controle do processo de secagem (DEMIRAY; TULEK, 2014).

1.5.2.1. Cinética de secagem

A modelagem de cinéticas de secagem é uma ferramenta para controle de processo sendo necessário escolher o método adequado de secagem para cada produto específico. Os modelos desenvolvidos são usados para projetar sistemas de secagem novos e aplicáveis, bem como a otimização dos parâmetros com a seleção das condições de secagem desejadas, para a previsão precisa de fenômenos simultâneos de transferência de calor e massa. Isto também leva a produzir produtos de alta qualidade e economizar mais energia. Diferentes métodos físicos, matemáticos e numéricos têm sido utilizados para descrever processos de secagem (ESFAHANI; MAJDI; BARATI, 2014).

Os dados para construir uma cinética de secagem de um produto podem ser obtidos através de experimentos simples em escala de laboratório com dados experimentais coletados durante a secagem. As características dessas curvas mudam de acordo com cada produto, variando com as características da matriz do alimento e pelas condições de temperatura, velocidade e umidade relativa do ar (RATTI, 2001; ARAÚJO et al., 2020).

No processo de coleta de dados para a obtenção dessas curvas, as amostras estudadas são retiradas de tempos em tempos e pesadas. A curva é construída a partir da correlação entre a razão de umidade e o tempo de processo. Vale observar que as amostras retiradas do processo de secagem estarão quentes e deverão ser resfriadas em dessecadores até temperatura próxima a do ambiente para a determinação do peso e imediatamente depois, devolvidas para a secagem na temperatura de estudo, até peso constante. Quando a umidade de equilíbrio é atingida, cessa-se o processo de secagem. A umidade de equilíbrio é atingida quando o alimento é deixado por tempo suficientemente longo em determinada condição de temperatura e umidade relativa do ar que o envolve, nessa condição, a pressão parcial de vapor da água na superfície do produto é igual à pressão parcial de vapor de água contida no ar (CELESTINO, 2010).

A cinética de secagem é afetada por vários fatores, no que diz respeito às condições termodinâmicas do processo, os fatores mais importantes são a (1) temperatura, (2) velocidade do ar e (3) umidade relativa, que são as grandes variáveis a controlar nesse processo. Quanto maior a temperatura do ar de secagem, mais rápido ocorre o processo, diminuindo a umidade relativa do ar e aumentando o gradiente de umidade entre a superfície

do produto e o ar. Um acréscimo na velocidade de escoamento do ar ocasiona um aumento na taxa de transferência de massa, sendo a umidade da superfície do produto transportada para o ar de secagem. A umidade relativa na secagem como um todo é um fator determinante na umidade de equilíbrio, ou seja, no teor de umidade atingido pelo produto ao final do processo. Adicionalmente, quanto maior for a diferença de pressão parcial do vapor entre a atmosfera e a superfície, maior a taxa de secagem (MEDEIROS et al., 2016).

Existem vários modelos matemáticos clássicos que descrevem as cinéticas de secagem de alimentos, modelos teórico, semi teóricos e empíricos foram desenvolvidos. Cada modelo foi desenvolvido com base em certos princípios: enquanto os modelos teóricos consideram a resistência interna à transferência de umidade, fundamentando-se na teoria da difusão de um líquido ou vapor no interior do produto, ou seja, na taxa de transferência de calor e massa dentro do sólido. Os modelos semi-teórico e empírico consideram a resistência externa em transferência de umidade entre o ar e os produtos. Exemplos de modelos semi-teóricos de secagem são modelo de Lewis, Handerson e Pabis, Logarítmico, Page, Page modificado etc. E a segunda lei de Fick é um exemplo do modelo teórico comumente usado (MEDEIROS et al., 2016; ADEYEYE, 2019; ARAÚJO et al., 2020).

Tabela 1. Espécies de peixe, origem do material muscular e métodos de conservação das proteínas miofibrilares de peixe utilizadas na produção de filmes biodegradáveis de trabalhos publicados no período de 2010-2020.

Espécie	Origem do material muscular	Método de conservação das proteínas miofibrilares	Referência
<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i>	Aparas da filetagem	Liofilização	Araújo et al., 2018
<i>Selaroides leptolepis</i>	Filé	Não informado	Arfat et al., 2014a; Arfat et al., 2014b; Arfat et al., 2016
<i>Gadus chalcogrammus</i>	Surimi	Congelamento	Athallah; Park, 2016
<i>Brachyplatystoma roussauxii</i>	Aparas da filetagem	Liofilização	Batista et al., 2019
<i>Brachyplatystoma roussauxii</i>	Aparas da filetagem e CMS* (da carcaça)	Liofilização	Batista et al., 2020
<i>Pangasius SP</i>	Surimi	Congelamento	Frasisca et al., 2020
<i>Micropogonias furnieri</i>	CMS (do peixe inteiro)	Secagem convectiva	El Halal et al., 2015; El Halal et al., 2016
<i>Orcochromis niloticus</i>	Filé	Liofilização	Kaewprachu et al., 2016a; Kaewprachu et al., 2017a; Kaewprachu et al., 2017b; Kaewprachu et al., 2017c; Kaewprachu et al., 2018; Kaewprachu; Osako; Rawdkuen, 2018
<i>Orcochromis niloticus</i>	Filé	Não informado	Kaewprachu et al., 2016b
<i>Priacanthus tayenus</i>	Filé	Congelamento	Limpan et al., 2010; Limpan et al., 2012
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Surimi	Congelamento	Munir et al., 2019; Munir et al., 2020
<i>Pangasius (Basa)</i>	CMS (resíduos)	Não informado	Mishra et al., 2020
<i>Macrodon ancylodon</i>	Aparas da filetagem	Liofilização	Neves et al., 2019
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Filé	Congelamento	Nie et al., 2015; Nie et al., 2017
<i>Oreochromis niloticus</i>	Filé	Congelamento	Nuanmano; Prodpran; Benjakul, 2015
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Filé	Não informado	Oğur; Erkan, 2015
<i>Oreochromis niloticus</i>	Filé	Congelamento	Oujifard et al., 2013
<i>Cynoscion acoupa</i>	Aparas da filetagem	Liofilização	Pereira et al., 2019b;
<i>Cynoscion acoupa</i>	Massa muscular obtida de	Liofilização	Pereira et al., 2020

	resíduos diversos (aparas, peles,cabeças, ossos com carne aderidos)		
<i>Cynoscion acoupa</i>	Aparas da filetagem	Liofilização	Pereira et al., 2019a
<i>Merluccius capensis</i>	Resíduos diversos	Liofilização	Pires et al., 2011 Pires et al., 2013
<i>P. taylori</i>	Filé	Congelamento	Prodpran; Benjakul; Phatcharat, 2012
<i>Engraulis anchoita</i>	CMS (do peixe inteiro descabeçado)	Secagem convectiva	Rocha et al., 2013 Rocha et al., 2018
<i>Whitemouth croaker</i>	Filé	Liofilização	Romani et al., 2018
<i>Micropogonias furnieri</i>	Não informado	Secagem convectiva	Romani; Prentice-Hernández; Martins, 2017
<i>Micropogonias furnieri</i>	Filé	Secagem convectiva	Romani et al., 2019a; Romani et al., 2019b
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Filé	Congelamento	Rostamzad et al., 2015 Rostamzad et al., 2016
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	CMS (do peixe inteiro descabeçado)	Congelamento	Shabanpour et al., 2018
<i>Pseudoplatystoma reticulatum e Pseudoplatystoma Corruscans</i>	CMS (de resíduos diversos)	Secagem convectiva	Silva et al., 2020
<i>Oreochromis niloticus</i>	CMS (da carcaça)	Secagem convectiva	Scudeler et al., 2020
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Surimi	Congelamento	Tao et al., 2015
<i>Merluccius capensis</i>	Resíduos diversos	Liofilização	Teixeira et al., 2014
<i>Oreochromis niloticus</i>	Filé	Não informado	Tongnuanchan et al., 2011 Tongnuanchan et al., 2013
<i>Sardinella albella</i>	Filé	Congelamento	Vate; Benjakul; Prodpran, 2017 a, b
<i>Micropogonias furnieri</i>	Aparas da filetagem	Liofilização	Vieira et al., 2018
<i>Micropogonias Furnieri</i>	Filé e CMS (da carcaça)	Secagem convectiva	Zavareze et al., 2014

*Carne mecanicamente separada.

1.6. COMPOSTOS AROMÁTICOS DO PESCADO E SUA INFLUENCIA NOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

A principal função da embalagem de alimentos é proteger o produto alimentício do ambiente circundante e manter a qualidade dos alimentos embalados ao longo de sua vida útil. Para os materiais de embalagem que entram em contato direto e / ou interagem com os alimentos, requisitos adicionais precisam ser atendidos. Esses incluem propriedades sensoriais, bioquímicas e físico-químicas adequadas, estabilidade microbiana e ausência de substâncias tóxicas (WIHODO, MORARU, 2013).

Filmes biodegradáveis produzidos com proteínas miofibrilares de peixe apresentam boas propriedades para serem utilizados como embalagens de alimentos (ARAUJO et al., 2018; BATISTA et al., 2020; PEREIRA et al., 2020). No entanto, o odor característico de peixe presente nesse material pode ser um fator limitante na sua utilização.

Odor de peixe no geral causa redução na aceitabilidade e limita as aplicações de diferentes produtos, especialmente os que serão utilizados como ingredientes ou suplementos alimentares humanos, como a gelatina de peixe (SAE-LEAW et al 2016; PAN et al., 2018), hidrolisado protéico de peixe (DEKE et al., 2016; YARNPAKDEE et al., 2012), óleo de peixe (ROH et al., 2006; CHUNG; LEE, 2009) e molho de peixe (SHIMODA et al., 2000). Por isso, diversos métodos já foram estudados para remover ou reduzir o odor. Chung; Lee (2009) estudaram a desodorização de óleo de peixe pela adsorção de TMA com vários zeólitos microporosos. Chen *et al.* (2016) estudaram a desodorização de hidrolisado enzimático de *Paphia undulata* com carvão ativado e o mascaramento com extrato de levedura e polifenol do chá. Pan *et al.*, (2018) estudaram a desodorização de gelatina de pele de peixe com carvão ativado em pó. Sae-leaw; Benjakul; O'Brien (2016) estudaram a remoção de lipídios da pele no pré-tratamento de gelatina e incorporação de antioxidantes durante a extração de gelatina para retardar a oxidação lipídica e diminuir o odor de peixe.

Em geral esse odor de peixe é resultado do efeito combinado de diferentes materiais voláteis pertencentes a grupos altamente heterogêneos. Esses compostos são geralmente formados por oxidação de lipídeos, ação de bactérias e reações enzimáticas no corpo do peixe, incluindo álcoois, aldeídos, cetonas, pirazina, furano e compostos nitrogenados como a trimetilamina e dimetilamina (PAN et al., 2018).

1.6.1. Trimetilamina (TMA)

Dos compostos nitrogenados, a trimetilamina (TMA) é o principal agente associado ao odor de peixe (CHUNG; LEE 2009). A TMA é um composto básico de amina terciária alifática com fórmula $N(CH_3)_3$. É um gás a temperatura ambiente com um odor pungente de peixe. É muito solúvel em água e em solventes orgânicos (BORAPHECH; THIRAVETYAN, 2015).

A TMA provém de óxido precursor chamado óxido de trimetilamina (TMAO) que é um composto nitrogenado considerado parte do nitrogênio não protéico encontrado em espécies de peixes marinhos e de água doce (SPINELLI; KOURY, 1981; PRABHAKAR; SRIVASTAV; PATHAK, 2019).

Em peixes vivos, o TMAO atua como um osmólito contribuindo para a osmorregulação. Acredita-se que altas concentrações de TMAO em peixes das regiões polares diminuem o ponto de congelamento dos fluidos corporais e também que ele poderia fornecer fluatibilidade a algumas espécies pelágicas como o tubarão. Além disso, o TMAO demonstrou a capacidade de proteger as proteínas da uréia e enzimas do efeito da alta pressão hidrostática. Há indícios que existe uma correlação entre a profundidade do habitat e as concentrações de TMAO em peixes (SUMMERS et al., 2017).

No *post mortem*, o OTMA pode sofrer diferentes transformações dependendo das condições de armazenamento dos produtos da pesca. As substâncias finais típicas são trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA) e formaldeído (FA). Sob condições refrigeradas, o OTMA é reduzido a TMA por bactérias e enzimas endógenas do peixe. Quando o peixe é armazenado em temperaturas de congelamento, a atividade da microflora é muito menor e as reações enzimáticas desempenham um papel mais importante na geração de alguns desses compostos. Nessa condição, a reação é catalisada pela enzima TMAO-ase concentrada nas vísceras (rim, ceco pilórico) e músculo vermelho, transformando o OTMA em DMA e FA em quantidades equimolares com efeitos negativos na qualidade dos peixes. Sua produção é exacerbada por condições inadequadas de armazenamento congelado, por manuseio grosseiro e rompimento do tecido (por exemplo, desossa mecânica). A DMA não apresenta odor tão pungente em comparação com TMA (WU; BECHTEL, 2008; BALIÑO-ZUAZO; BARRANCO, 2016). A TMA é de particular atenção porque é usado como um indicador chave do nível de frescor de peixes (DONDERO et al., 2004).

1.6.2. Lipídeos

A oxidação lipídica está intimamente relacionada com a alteração de odor e sabor em peixes e produtos de peixes (MAQSOOD; BENJAKUL, 2011). Compostos como aldeídos (hexanal, nonanal e decanal) e álcool são produtos secundários da oxidação lipídica, diretamente relacionados com esse odor. Esses voláteis têm um limiar de aroma consideravelmente baixo e têm servido como indicadores de ranço lipídico em alimentos (SAE-LEAW; BENJAKUL; O'BRIEN, 2016; XU et al., 2019).

No início do processo de oxidação tem-se a formação dos compostos primários como hidroperóxidos. Os hidroperóxidos são intermediários instáveis e se decompõem produzindo os compostos designados como produtos secundários da oxidação que possuem naturezas diversas e são responsáveis pela rancidez e odor desagradável dos óleos (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Compostos como 1-penten-3-ona, hexanal, 4- (Z) -heptenal, 2,4- (E, E) -heptadienal, nonanal e 2,6- (E, Z) -nonadienal são exemplos de voláteis formados pela oxidação responsáveis por odores estranhos e bons indicadores de oxidação (AHMED et al., 2016).

A velocidade da reação de oxidação depende do grau de insaturação na molécula do ácido graxo. Quanto maior é o grau de insaturação, maior é a suscetibilidade a oxidação (SOARES; GONÇALVES, 2012).

Lipídios do músculo do peixe costumam ser mais propensos à oxidação devido ao maior teor de ácidos graxos poliinsaturados do que os mamíferos e aves. Os lipídios dos peixes incluem até 40% de ácidos graxos de cadeia longa (14–22 átomos de carbono), que são altamente insaturados enquanto as gorduras de mamíferos raramente contém mais de duas ligações duplas por molécula de ácidos graxos (SECCI; PARISI, 2016).

Segundo Souza (2016), que estudou a composição de ácidos graxos de peixes siluriformes da Amazônia, a dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*), espécie utilizada neste trabalho, possui ácidos graxos poli-insaturados como ácido docosahexaenóico (22:6n-3), linoleico (18:2n-6), alfa-linolenico (18:3n-3), estearidônico (18:4n3), eicosadienóico (20:2n-6), eicosatrienóico (20:3n-6), aracdônico (20:4n-6), eicosatrienóico (20:3n-3), eicosapentaenoico - EPA (20:5n-3), clupadônico (20:5n-6). Quando o oxigênio reage com esses ácidos graxos insaturados, uma grande variedade de produtos de oxidação são produzidos por peroxidação lipídica (AHMED et al., 2016).

1.7. DESODORIZAÇÃO USANDO FLUIDO SUPERCRÍTICO

Levando em consideração que o odor de peixe é atribuído aos compostos nitrogenados e produtos da oxidação lipídica, supõe-se que o aroma característico de peixe pode ser reduzido ou eliminado pela diminuição desses compostos.

Várias pesquisas foram publicadas utilizando fluido supercrítico para extrair lipídeos de peixe e compostos nitrogenados. Franklin et al., (2020) utilizaram fluido supercrítico para extrair lipídeos de peixe resultando em óleo de peixe de alta qualidade. Park et al., (2008) extraíram lipídeos, trimetilamina e dissulfeto de dimetilamina de anchovas cozidas diminuindo consideravelmente os níveis de odores. Shimoda et al., (2000) removeram odores indesejáveis de molho de peixe usando microbolhas de dióxido de carbono (CO₂) supercrítico atingindo uma taxa de eficiência de 59%. Roh et al., (2006) desodorizaram óleo de peixe usando CO₂ supercrítico com redução de dissulfeto de dimetila de 99,8% sem desintegrar os compostos funcionais dos ácidos graxos poliinsaturados concluindo que os odores podem ser removidos com sucesso.

A extração com fluido supercrítico (ESC) consiste em uma técnica analítica que emprega, como solvente extrator, um fluido no estado supercrítico (LANÇAS, 2002; RUBIO-RODRÍGUEZ et al., 2008). A ESC é uma alternativa de extração e tem sido empregada para a obtenção de extratos de alto valor agregado a partir de matrizes vegetal e animal, tanto industrialmente como na área acadêmica, especialmente para os setores de alimentos, fármacos e de cosméticos (ESQUÍVEL et al., 1997; QUISPE-CONDORI et al., 2005).

Um fluido supercrítico é definido como qualquer substância que esteja acima da sua temperatura e pressão crítica, usualmente definidas a partir de um diagrama de fases de uma substância pura (LANÇAS, 2002). O princípio fundamental do processo de extração supercrítica consiste no poder de solubilização de um solvente que é diretamente proporcional a sua densidade. Um pequeno aumento de pressão produz um grande aumento do poder de solubilização do solvente (CORRÊA, 2003).

Os solventes empregados nessa tecnologia são gases pressurizados e o extrato obtido por este processo é isento de solvente, diferenciando-se assim das outras técnicas de extração (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

O dióxido de carbono é o fluido supercrítico mais utilizado por apresentar as seguintes vantagens: seguro, abundante e de baixo custo, sua temperatura crítica é de 31 ° C que é suficientemente baixa para processamento de proteínas que pode sofrer danos sob altas temperaturas (JENKINS; RAINES, 2002; BEZERRA et al., 2020). É não tóxico, não corrosivo, não inflamável e considerado um "solvente verde". Devido a sua natureza apolar,

dissolve preferencialmente compostos lipofílicos, como hidrocarbonetos, éteres, ésteres, cetonas e aldeídos, ou seja, compostos de caráter não-polar ou de baixa polaridade, sendo, portanto, um bom solvente de gordura. Entretanto substâncias de alta polaridade também podem ser extraídas com CO₂ supercrítico em altas densidades (altas pressões) e/ou pelo o emprego de co-solventes, com os quais é possível aumentar o espectro de substâncias solúveis ao CO₂ (VASAPOLLO et al., 2004; COSTA et al., 2019; BEZERRA et al., 2020).

REFERENCIAS

ADEYEYE, S. A. O. An overview of fish drying kinetics. **Nutrition & Food Science**, v. 49, p. 886-902, 2019.

AHMED, M.; PICKOVA, J.; AHMAD, T.; LIAQUAT, M.; FARID, A.; JAHANGIR, M. Oxidation of Lipids in Foods. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 32, p. 230, 2016.

ARAÚJO, C. S.; MACEDO, L. L.; VIMERCATI, W. C.; PAULA, R. R.; TEIXEIRA, L. J. Q.; SARAIVA, S. H. Princípios da secagem de alimentos. Roberto, C. D.; Teixeira, L. J. Q.; Carvalho, R. V (Org.); Tópicos especiais em ciência e tecnologia de alimentos. v.1. Capítulo 14, p. 233-251, Ed. Edufes. 2020

ARAÚJO, C. S.; RODRIGUES, A. M. C.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; ARAÚJO, E. A. F.; LOURENÇO, L. F. H. Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. **Food Packag. Shelf Life**, v. 16, p. 23–30, 2018.

ARFAT, Y. A.; BENJAKU, S.; PRODPRAN, T.; SUMPAPAPOL, P.; SONGTIPYA, P. Physico-Mechanical Characterization and Antimicrobial Properties of Fish Protein Isolate/Fish Skin Gelatin-Zinc Oxide (ZnO) Nanocomposite Films. *Food Bioprocess Technology*, v. 9, p. 101–112, 2016.

ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. Development and characterisation of blen films on fish protein isolate and fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 58-67, 2014.a

ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SUMPAPAPOL, T.; 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, 2014.b

ATHAILLAH, Z. A.; PARK, J. W. Characterization of surimis lurrries and their films derived from myofibrillar proteins with different extraction methods. **Food Bioscience**, v.15, p. 118–125, 2016.

BALIÑO-ZUAZO, L.; BARRANCO, A. A novel liquid chromatography–mass spectrometric method for the simultaneous determination of trimethylamine, dimethylamine and methylamine in fishery products. **Food Chemistry**, v.196. p. 1207–1214, 2016.

BATISTA, J. T. B.; MATIAS, C. S. A.; FREITAS, M. M. S.; NASCIMENTO, G. S.; VIEIRA, L. L.; LOURENÇO, L. F. H. Technological Properties of Biodegradable Films

Produced with Myofibrillar Proteins Extracted from Gilded cat-fish (*Brachyplatystoma rousseauxii*) Carcasses and Parings. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 29, p. 238–252, 2020.

BATISTA, J. T. S.; ARAÚJO, C. S.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; SILVA, J. O. C.; LOURENÇO, L. F. H. Study of the effect of the chitosan use on the properties of biodegradable films of myofibrillar proteins of fish residues using response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, p. 100306, 2019.

BEGUM, M.; AKTER, T.; MINAR, M. H. Analysis of the Proximate Composition of Domesticated Stock of Pangas (*Pangasianodon hypophthalmus*) in Laboratory Condition. **Journal of Environmental Science and Natural Resources**, v. 5, p. 69-74, 2012.

BEZERRA, F. W. F.; SALAZAR, M. D. L. A. R.; FREITAS, L. C.; OLIVEIRA, M. S. de.; SANTOS, I. R. C dos.; DIAS, M. N. C.; GOMES-LEAL, W.; ANDRADE, E. H. de A.; FERREIRA, G. C.; CARVALHO Jr, R. N. de. Chemical composition, antioxidant activity, anti-inflammatory and neuroprotective effect of *Croton matourensis* Aubl. Leaves extracts obtained by supercritical CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 165, p.104992, 2020.

BHARGAVA, N.; SHARANAGAT, V. S.; MOR, R. S.; KUMAR, K. Active and intelligent biodegradable packaging films using food and food waste-derived bioactive compounds: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 385–401, 2020.

BORAPHECH, P.; THIRAVETYAN, P. Trimethylamine (fishy odor) adsorption by biomaterials: Effect of fatty acids, alkanes, and aromatic compounds in waxes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 284, p. 269-277, 2015.

BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. **Industrialização de tilápias**. Toledo: GFM Gráfica & Editora, p. 272, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Instrução Normativa nº 4 de 31 de março de 2000. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha**. Brasília: 2000.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina. Embrapa. Cerrados. p. 51, 2010.

CHALAMAIAH, M.; KUMAR, B. D.; HEMALATHA, R.; JYOTHIRMAYI, T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. **Food Chemistry**, v.135, p. 3020–3038, 2012.

CHEN, D.; CHEN, X.; CHEN, H.; CAI, B.; WAN, P.; ZHU, X.; SUN, H.; SUN, H.; PAN, J. Identification of Odor Volatile Compounds and Deodorization of *Paphia undulata* Enzymatic Hydrolysate. **Journal of Ocean University of China (Oceanic and Coastal Sea Research)**, v. 15, p. 1101-1110, 2016.

CHUNG, K. H.; LEE, K. Y. Removal of trimethylamine by adsorption over zeolite catalysts and deodorization of fish oil. **Journal of Hazardous Materials**. v. 172, p. 922–927, 2009.

CORRÊA, A. P. A. **Fracionamento de óleo de peixe com dióxido de carbono supercrítico**. 2003. 90 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Unicamp, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2003.

COSTA, W. A da.; BEZERRA, F. W. F.; OLIVEIRA, M. S. de.; AGUIAR ANDRADE, E. H. de.; SANTOS, A. P. M. dos., CUNHA, V. M. B.; SANTOS, D. C. S. dos.; BANNA, D. A. D. da S.; TEIXEIRA, E.; CARVALHO JUNIOR, R. N. de. Supercritical CO₂ extraction and transesterification of the residual oil from industrial palm kernel cake with supercritical methanol. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.147, p. 179-187, 2019.

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible Packaging Films Based on Fish Myofibrillar Proteins: Formulation and Functional Properties. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 39-50, 1994.

DEHNAD, D.; JAFARI, S. M.; AFRASIABI, M. Influence of drying on functional properties of food biopolymers: From traditional to novel dehydration techniques. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p. 116-131, 2016.

DEMIRAY, E.; TULEK, Y. Drying characteristics of garlic (*Allium sativum* L) slices in a convective hot air dryer. **Heat Mass Transfer**, v. 50, p. 779–786, 2014.

DONDERO, M.; CISTERNAS, F.; CARVAJAL, L.; SIMPSON, R. Changes in quality of vacuum-packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as a function of storage temperature. **Food Chemistry**, v. 87, p. 543-550, 2004.

DUAN, X.; YANG, X.; REN, G.; PANG, Y.; LIU, L.; LIU, Y. Technical aspects in freeze-drying of foods. **Drying Technology**, v. 34, p. 1271–1285, 2016.

EL HALAL, S. L. M.; ZAVAREZE, E. R.; ROCHA, M.; PINTO, V. Z.; NUNES, M. R.; LUVIELMO, M. M.; PRENTICE, C. Films based on protein isolated from croaker (*Micropogonias furnieri*) and palm oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, p. 2478–2485, 2016.

EL HALAL, S. L. M.; ZAVAREZE, E. R.; TELLES, A. C.; SILVA, R. M.; LUVIELMO, M. M.; PRENTICE, C. Effects of protein concentration, plasticiser and pH on the properties of protein films from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) residues. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 25, p. 507-517, 2016.

ESFAHANI, J.A.; MAJDI, H.; BARATI, E. Analytical two-dimensional analysis of the transport phenomena occurring during convective drying: apple slices. **Journal of Food Engineering**, v.123, p. 87-93, 2014.

ESQUÍVEL, M. M.; BANDARRA, N. M.; FONTAN, I.; BERNARDOGIL, M. G.; BATISTA, I.; NUNES, M. L.; EMPIS, J. A. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Sardine *Sardina pilchardus* Oil. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 30, p. 715-720, 1997.

FALGUERA, V.; QUINTERO, J. P.; JIMÉNEZ, A.; MUÑOZ, J. A.; IBARZ, A. Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. **Trends in Food Science & Technology**, v.22, p. 292-303, 2011.

FENG, Y.; TAN, C. P.; ZHOU, C.; YAGOUB, A. EL G. A.; XU, B.; SUN, Y.; MA, H.; XU, X.; YU, X. Effect of freeze-thaw cycles pretreatment on the vacuum freeze-drying process and physicochemical properties of the dried garlic slices. **Food Chemistry**, v. 324, p. 126883, 2020.

FRANKLIN, E. C.; HAQ, M.; ROY, V. C.; PARK, J.; CHUN, B. Supercritical CO₂ extraction and quality comparison of lipids from Yellowtail fish (*Seriola quinqueradiata*) waste in different conditions. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, 2020.

FRASISCA, S.; ROSTINI, I.; SURYANA, A. A. H.; PRATAMA, R. I. Effect of Addition Glycerol Plasticizer to the Characteristics of Catfish (*Pangasius* sp.) Surimi Protein Edible Film. **World News of Natural Sciences**, v. 30, p. 267-280, 2020.

GAUTAM, R. K.; KAKATKAR, A. S.; KARANI, M. N. Development of Protein-based Biodegradable Films from Fish Processing Waste. **Intrnational Journal Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, p. 878-888, 2016.

GONZALEZ, J. C. A.; GARCIA, K. A. C.; NÚÑEZ-AVELLANEDA, M.; CÓRDOVA, E. A.; GALARZA, E.; OLIVEROS, L. A.; NATAGANI, K. Recursos Hídricos y Ecosistemas Acuáticos. In: **Perspectivas del Medio Ambiente en la Amazonía**. Lima: PNUMA/OTCA/CIUP, p. 146-161, 2009.

GUIMARÃES, J. L. B.; CALIXTO, F. A. A.; MESQUITA, E. F. M. Produção e utilização da carne mecanicamente separada de pescado: Uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 31, 2017.

HAMMANN, F.; SCHMID, M. Determination and quantification of molecular interactions in protein films: A review. **Materials**, v.7, p. 7975–7996, 2014.

IWATA, K.; ISHIZAKI, S.; HANDA, A.; TANAKA, M. Preparation and characterization of edible films from fish water-soluble proteins. **Fisheries Science**, v.66, p.372-378, 2000.

JEEVAHAN, J. J.; CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESAN, S. P.; SRIRAM, V.; JOSEPH, G. B.; MAGESHWARAN, G.; DURAIRAJ, R. B. Scaling up difficulties and commercial aspects of edible films for food packaging: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 100, p. 210–222, 2020.

JENKINS, C. L.; RAINES, R. T. Insights on the conformational stability of collagen. **Natural Product Reports**, v.19, p. 49-59, 2002.

KAEWPRACHU, P, OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; RAWDKUEN, S. Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 2038-2091, 2016. A

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; RAWDKUEN, S. Effects of plasticizers on the properties of fish myofibrillar protein film. **Journal of Food Science and Technology**, v.55, p.3046-3055, 2018.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; SUTHILUK, P.; RAWDKUEN, S. Shelf life extension for Bluefin tuna slices (*Thunnus thynnus*) wrapped with myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. **Food Control**, v. 79, p. 333-343, 2017.c

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; TONGDEESOONTORN, W.; RAWDKUEN, S. Biodegradable Protein-based Films and Their Properties: A Comparative Study. **Packaging Technology and Science**, v. 29, p. 77–90, 2016.a

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; RUNGRAENG, N.; RAWDKUEN, S. Characterization of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1463–1473, 2018.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; TONGDEESOONTORN, W.; RAWDKUEN, S. The effects of microbial transglutaminase on the properties of fish myofibrillar protein film. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 12, p. 91–99, 2017. a

KAEWPRACHU, P.; RUNGRAENG, N.; OSAKO, K.; RAWDKUEN, S. Properties of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin- Kradon extract. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 13, p. 56–65, 2017.b

KAVEH, M.; ABBASPOUR-GILANDEH, Y. Impacts of hybrid (convective-infrared-rotary drum) drying on the quality attributes of green pea. **Journal of Food Process Engineering**, 2020.

KOWALCZYK, D.; GUSTAW, W.; ŚWIECA, M.; BARANIAK, B. A study on the mechanical properties of pea protein isolate films. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, p. 1726–1736, 2014.

KUHN, C. R.; SOARES, G. J. D. Proteases e inibidores no processamento de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, p. 5-11, 2002.

KUMAR, Y.; TIWARI, S.; BELORKAR, S. A. Drying: An Excellent Method for Food Preservation. **International Journal of Engineering Studies and Technical Approach**. v. 01, 2015.

LANÇAS, F. M. Extração com fluido supercrítico: quo vadis? **Revista Analytica**. p. 7, 2002.

LI, J; LI, Z.; WANG, N.; RAGHAVAN, G. S. V.; PEI, Y.; SONG, C.; ZHU, G. Novel Sensing Technologies During the Food Drying Process. **Food Engineering Reviews**, v. 12, p. 121–148, 2020.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly (vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 226-233, 2012.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v.100, p. 85-92, 2010.

MAQSOOD, S.; BENJAKUL, S. Comparative studies on molecular changes and pro-oxidative activity of haemoglobin from different fish species as influenced by pH. **Food Chemistry**, v. 124, p. 875–883, 2011.

MCCORMICK, R. J. Structure and Properties of Tissues, In: Kinsman, D.M.; Kotula, A.W., Breidenstein, B. C. **Muscle Food**. Chapman & Hall. New York, p. 25-62, 1994.

MEDEIROS, J. M.; CARDOSO, I. E. S.; NASCIMENTO, A. S.; LACERDA, M. F. A. F.; MARTINS, C. R. L.; SILVA, M. G. Estudo teórico e experimental da desidratação da tainha em secador alternativo e estufa comercial. **Revista Principia**, 2016.

MISHRA, P. K.; GAUTAM, R. K.; KUMAR, V.; KAKATKAR, A. S.; CHATTERJEE, S. Synthesis of Biodegradable Films Using Gamma Irradiation from Fish Waste. **Waste and Biomass Valorization**. 2020.

MORAIS, C.; MARTINS, J. F. P. Considerações sobre o aproveitamento de sobras da industrialização de pescado na elaboração de produtos alimentícios. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n.3, p.253-281, 1981.

MUNIR, S.; HU, Y.; LIU, Y.; XIONG, S. Enhanced properties of silver carp surimi-based edible films incorporated with pomegranate peel and grape seed extracts under acidic condition. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 114–120, 2019.

MUNIR, S.; JAVED, M.; HU, Y.; LIU, Y.; XIONG, S. The Effect of Acidic and Alkaline pH on the Physico-Mechanical Properties of Surimi-Based Edible Films Incorporated with Green Tea Extract. **Polymers**, v. 12, p. 2281, 2020.

NEVES, E. M. P. X.; PEREIRA, R. R.; PEREIRA, G. V. da S.; PEREIRA, G. V. da S.; VIEIRA, L. L.; LOURENÇO, L, de F. H. Effect of polymer mixture on bioplastic development from fish waste. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 45, n. 4, p. 518, 2019.

NIE, X.; GONG, Y.; WANG, N.; MENG, X. Preparation and characterization of edible myofibrillar protein-based film incorporated with grape seed procyanidins and green tea polyphenol. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 1042- 1046, 2015.

NIE, X.; ZHAO, L.; WANG, N.; MENG, X. Phenolics-protein interaction involved in silver carp myofibrillar protein films with hydrolysable and condensed tannins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p.258-264, 2017.

NUANMANO, S.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S. Potential use of gelatin hydrolysate as plasticizer in fish myofibrillar protein film. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 61-68, 2015.

OGAWA, M.; MAIA, E. L.; **Manual de pesca**. Ciência e Tecnologia do Pescado. São Paulo, SP. Livraria Varela, p. 293-299, 1999.

OGUR, S.; ERKAN, N. The physicochemical properties of edible protein films. **Italian Journal of Food Science**, v. 27, 2015.

OIKONOMOPOULOU, V. P.; KROKIDA, M. K.; KARATHANOS, V. T. The influence of freeze drying conditions on microstructural changes of food products. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 647 – 654, 2011.

OUIJIFARD, A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SEYFABADI, J. Properties of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein based film as affected by cryoprotectants. **Food Hydrocolloids**, v. 32, p. 245-251, 2013.

PAN, J.; JIA, H.; SHANG, M.; LI, Q.; XU, C.; WANG, Y.; WU, H.; DONG, X. Effects of deodorization by powdered activated carbon, β -cyclodextrin and yeast on odor and functional properties of tiger puffer (*Takifugu rubripes*) skin gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 116–123, 2018.

PARK, J.; LEE, M.; UDDIN, M, S.; CHUN, B. Removal of Off-Flavors and isolation of fatty acids from boiled Anchovies using supercritical carbon dioxide. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 13, p. 298-303, 2008.

PEREIRA, G. V. S.; PEREIRA, G. V. S.; ARAUJO, E. F.; XAVIER, E. M. P.; JOELE, M. R. S. P.; LOURENÇO, L. F. H. Optimized process to produce biodegradable films with myofibrillar proteins from fish byproducts. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 21, p. 100364, 2019.a

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

PEREIRA, G. V. S.; PEREIRA, G. V. S.; NEVES, E. M. P. X.; REGO, J. A. R.; BRASIL, D. S. B.; LOURENÇO, L. F. H.; JOELE, M. R. S. P. Glycerol and fatty acid influences on the rheological and technological properties of composite films from residues of *Cynoscion acoupa*. **Food Bioscience**, v. 38, p. 100773, 2020.

PHAM, N. D.; KHAN, M. I. H.; KARIM, M. A. A mathematical model for predicting the transport process and quality changes during intermittent microwave convective drying. **Food Chemistry**, v. 325, p.126932, 2020.

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, B.; BATISTA, I.; NUNES, M. L.; MARQUES, A. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 224-231, 2013.

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, G.; BATISTA, I.; MENDES, R.; NUNES, L.; MARQUES, A. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p.422–428, 2011.

PISANO, R.; BARRESI, A. A.; FISSORE, D. Innovation in Monitoring Food Freeze Drying. **Drying Technology**, v. 29, p. 1920–1931, 2011.

PRABHAKAR, P. K.; SRIVASTAV, P. P.; PATHAK, S. S. Kinetics of Total Volatile Basic Nitrogen and Trimethylamine Formation in Stored Rohu (*Labeo rohita*) Fish. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 28, p. 452–464, 2019.

PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PHATCHARAT, S. Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.51, p.774– 782, 2012.

QUISPE-CONDORI, S.; SÁNCHEZ, D.; FOGLIO, M. A.; ROSA, P. T. V.; ZETZL, C.; BRUNNER, G.; MEIRELES, M. A. A. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluid**, v. 36, n. 1, p. 40-48, 2005.

RATTI, C. Hot air and freeze-drying of high-values foods: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 311–319, 2001.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **Journal of supercritical Fluids**, v. 38, p. 146-166, 2006.

ROCHA, M. da.; PRIETTO, L.; SOUZA, M. M.; FURLONG, E. B.; PRENTICE, C.; Effect of organic acids on physical-mechanical and antifungicidal properties of anchovy protein films, **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 27, p.316-326, 2018.

ROCHA, M. da; LOIKO, M. R.; GAUTÉRIO, G. V.; TONDO, E. C.; PRENTICE, C. Influence of Heating, Protein and Glycerol Concentrations of Film-Forming Solution on the Film Properties of Argentine Anchovy (*Engraulis Anchoita*) Protein Isolate. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 666–673, 2013.

ROH, H.; PARK, J.; PARK, S.; CHUN, B. Isolation of Off-flavors and Odors from Tuna Fish Oil Using Supercritical Carbon Dioxide. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 11, p. 496-502, 2006.

ROH, H.; PARK, J.; PARK, S.; CHUN, B. Isolation of Off-flavors and Odors from Tuna Fish Oil Using Supercritical Carbon Dioxide. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 11, p. 496-502, 2006.

ROMANI, V. P.; MACHADO, A. V.; OLSEN, B. D.; MARTINS, V. G. Effects of pH Modification in Proteins from Fish (Whitemouth Croaker) and Their Application in Food Packaging Films. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 307–314, 2018.

ROMANI, V. P.; OLSEN, B.; COLLARES, M. P.; OLIVEIRA, J. R. M.; PRENTICE, C.; MARTINS, V. G. Plasma technology as a tool to decrease the sensitivity to water of fish protein films for food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 210–216, 2019.a

ROMANI, V. P.; OLSEN, B.; COLLARES, M. P.; OLIVEIRA, J. R. M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; MARTINS, V. G. Improvement of Fish Protein Films Properties for Food Packaging through Glow Discharge Plasma Application. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 970-976, 2019. B

ROMANI, V. P.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; MARTINS, V. G. Active and sustainable materials from rice starch, fish protein andoregano essential oil for food packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 268–274, 2017.

ROSTAMZAD, H.; PAIGHAMBARI, S.Y.; SHABANPOUR, B.; OJAGH, S. M. Characteristics of a biodegradable protein based films from Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and their application in Silver carp fillets. **International Food Research Journal**, v. 22, p. 2318-2326, 2015.

ROSTAMZAD, H.; PAIGHAMBARI, S. Y.; SHABANPOUR, B.; OJAGH, S. M.; MOUSAVI, S. M. Improvement of fish protein film with nanoclay and transglutaminase for food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v.7, 1–7, 2016.

RUBIO-RODRÍGUEZ, N.; BELTRÁN, S.; DIEGO, S. M.; JAIME, I.; SANZ, M. T.; ROVIRA, J. Supercritical fluid extraction of the Omega-3 rich oil contained in hake (*Merluccius capensis* – *Merluccius paradoxus*) by-products: study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.47, p.215-226, 2008.

SAE-LEAW, T.; BENJAKUL, S.; O'BRIEN, N. M. Effect of Pretreatments and drying methods on the properties and fishy odor/flavor of gelatin from Seabass (*Lates calcarifer*) skin. **Drying Technology**, v. 34, p. 53–65, 2016.

SAHIN, A. Z.; DINCER, I. Prediction of drying times for irregular shaped multi-dimensional moist solids. **Journal of Food Engineering**, v. 71, p.119–126, 2005.

SCUDELER, C. G. da S.; COSTA, T. de L.; CORTEZ-VEJA, W. R.; PRENTICE, C.; FONSECA, G. G. Development and characterization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein isolate-based biopolymer films incorporated with essential oils and nanoclay, **Food Packaging and Shelf Life**, v. 25, p. 100542, 2020.

SECCI, G.; PARISI, G. From farm to fork: lipid oxidation in fish products. A review. **Italian Journal of Animal Science**, v. 15, p. 124–136, 2016.

SHABANPOUR, B.; KAZEMI, M.; OJAGH, S. M.; POURASHOURI, P. Bacterial cellulose nanofibers as reinforce in edible fish myofibrillar protein nanocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 117, p. 742–751, 2018.

SHAMIM, A. H.; AHMED, K.; ABDULLAH, A. T. M. Proximate composition of different portion of hilsa, *tenualosa ilisha* from two regions of the bay of bengal In Bangladesh. **Dhaka University Journal of Biological Sciences**, v. 20, p.109-115, 2011.

SHIMODA, M.; YAMAMOTO, Y.; COCUNUBO-CASTELLANOS, J.; YOSHIMURA, T.; MIYAKE, M.; ISHIKAWA, H.; OSAJIMA, Y. Deodorization of Fish Sauce by Continuous-Flow Extraction with Microbubbles of Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 8, p. 1349-1351, 2000.

SIKORSKI, Z. E. **Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación**. Zaragoza: Acríbia. p. 430, 1994.

SIKORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A.; PAN, B. S. The Nutritive Composition of the Major Groups of Marine Food Organism. In: Sikorski, Z.E. **Seafood: Resources, Nutritional Composition, and Preservation**. CRC Press, Inc., Florida. p. 29-54, 1990.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Método para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante, **Química Nova**, v. 22, n.1, p. 94-103. 1999.

SILVA, R. S.; SANTOS, B. M. M.; FONSECA, G. G.; PRENTICE, C.; CORTEZ- VEJA, W. R. Analysis of Hybrid Sorubim Protein Films Incorporated with Glycerol and Clove Essential Oil for Packaging Applications. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, p. 421–432, 2020.

SINGH, P.; TALUKDAR, P. Determination of shrinkage characteristics of cylindrical potato during convective drying using novel image processing technique. **Heat and Mass Transfer**, v. 56, p.1223–1235, 2020.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n.1, p, 1-10, 2012.

SOUZA, A. F. L. **Rendimento, caracterização físico-química e composição de ácidos graxos de peixes siluriformes da Amazônia**. 193 p. Tese (Doutorado em Ciências Pesqueiras) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras. Universidade Federal do Amazonas- UFAM, Manaus. 2016.

SPINELLI, J.; KOURY, B. J. Some new observations on the pathways of formation of dimethylamine in fish muscle and liver. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, p. 327-331, 1981.

SUHAG, R.; KUMAR, N.; PETKOSKA, A. T.; UPADHYAY, A. Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. **Food Research International**, v. 136, p. 109582 , 2020.

SUMMERS, G.; WIBISONO, R. D.; HEDDERLEY, D. I.; FLETCHER, G. C. Trimethylamine oxide content and spoilage potential of New Zealand commercial fish species. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 51, p, 393–405, 2017.

TAO, Z.; WENG, W.; CAO, M.; LIU, G.; SU, W.; OSAKO, K.; TANAKA, M. Effect of blend ratio and pH on the physical properties of edible composite films prepared from silver carp surimi and skin gelatin, **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p, 1618–1625, 2015.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; PIRES, C.; RAMOS, C.; BATISTA, I.; SARAIVA, J. A.; NUNES, M. L. Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties, **LWT - Food Science and Technology** , v. 59, p. 533-539, 2014.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SONGTIPYA, P. Characteristics of film based on protein isolate from red tilapia muscle with negligible yellow discoloration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, p. 758–767, 2011.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SONGTIPYA, T. Properties and Stability of Protein-based Films from Red Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Protein Isolate

Incorporated with Antioxidant during Storage. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p.1113–1126, 2013.

VASAPOLLO, G.; LONGO, L.; RESTIO, L.; CIURLIA, L. Innovative supercritical CO₂ extraction of Lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 29, n. 1- 2, p. 87-96, 2004.

VATE, N. K.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effect of Melanin-Free Ink on Mechanical Properties and Yellow Discolouration of Protein Film from Washed Sardine Mince. **Food Biophysics**, v. 12, p.164-171, 2017.b

VATE, N. K.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Improvement of Properties of Sardine Myofibrillar Protein Films Using Squid Ink Tyrosinasein Combination with Tannic Acid. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 17, p. 853-861, 2017. a

VIDOTTI, R. M.; BORINI, M. S. M. Aparas da filetagem da tilápia se transformam em polpa condimentada. **Panorama da Aquicultura**. v. 96, 2006.

VIEIRA, L. L.; ARAÚJO, C. S.; NEVES, E. M. P. X.; BATISTA, J. T. S.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; LOURENÇO, L. de F. H. Emulsified films produced with proteins extracted from white mouth croaker byproducts: Development and characterization. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 3, p. 360, 2018.

VILLA-CORRALES, L.; FLORES-PRIETO, J. J.; XAMÁN-VILLASEÑOR, J. P.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, E. Numerical and experimental analysis of heat and moisture transfer during drying of Ataulfo mango. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 198-206. 2010.

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.

WU, T. H.; BECHTEL, P. J. Ammonia, Dimethylamine, Trimethylamine, and Trimethylamine Oxide from Raw and Processed Fish By- Products. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 17, 2008.

XIONG, Y. L.; BREKKE, C. J. Changes in protein solubility and gelation properties of chicken myofibrils during storage. **Journal of Food Science**, v, 54, p. 1141 – 1146, 1989.

XIONG, Y. Structure-Function Relationships of Muscle Protein. In: Damodaran, S.; Paraf, A. **Food Proteins and Their Applications**. Marcel Dekker. New York. p. 681. 1997.

XU, L.; LUO, Y.; FU, X.; LUO, F.; XU, Y.; SUN, S. Effect of *Saccharomyces uvarum* on lipid oxidation and carbonyl compounds in silver carp mince during cold storage. **Food Science & Nutrition**, v. 7, p. 2404–2411, 2019.

YARNPAKDEE, S.; BENJAKUL, S.; NALINANON, S.; KRISTINSSON, H. G. Lipid oxidation and fishy odour development in protein hydrolysate from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle as affected by freshness and antioxidants. **Food Chemistry**, v.132, p. 1781–1788, 2012.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S. L. M.; SILVA, R. M.; DIAS, A. R. G.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Mechanical, barrier and morphological properties of biodegradable films based on muscle and waste proteins from the whitemouth croaker (*Micropogonias Furnieri*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, p. 1973–198, 2014.

ZHANG, X; YE, T; MENG, X; TIAN, Z; PANG, L; HAN, Y; LI, H; LU, G; XIU, F; YU, H; LIU, J; HUANG, W. Sustainable and Transparent Fish Gelatin Films for Flexible Electroluminescent Devices. **ACS Nano**, v. 14, p. 3876–3884, 2020.

Capítulo II

Propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis produzidos com proteínas miofibrilares extraídas de carcaça e aparas de dourada

(Brachyplatystoma rousseauxii)

Versão em inglês publicada na revista Journal of Aquatic Food Product Technology em 18 de fevereiro de 2020. DOI: 10.1080/10498850.2020.1720880

RESUMO

O trabalho teve como objetivo estudar se o tipo de resíduo de peixe utilizado para extrair proteínas miofibrilares (PM) afeta as propriedades tecnológicas dos filmes biodegradáveis. As PM foram extraídas de dois tipos de resíduos da dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*): (1) carcaça com músculo aderido, obtendo-se a carne mecanicamente separada (CMS) e (2) as aparas oriundas no toalete dos filés. A composição centesimal e cor das PM da CMS (P-CMS) e das aparas (P-APARAS) apresentaram diferença significativa principalmente quanto ao teor de cinzas e lipídeos. A presença destes compostos não proteicos na P-CMS ocasionou a formação de filme com propriedades tecnológicas e térmicas inferiores, indicando que o tipo de resíduo utilizado influenciou nas propriedades dos filmes.

Palavras-chave: dourada, carne mecanicamente separada, aparas, propriedades térmicas, energia dispersiva, teste de biodegradação.

1. INTRODUÇÃO

O aumento do consumo de pescado produz uma grande variedade de resíduos sólidos gerados pela indústria de processamento, tais como cabeça, cauda, carcaça, escamas, barbatanas, bexiga natatória, cartilagens, aparas, vísceras e pele. Estes resíduos representam mais de 50% do peso do animal e apesar de serem consideradas matérias-primas de alta qualidade e baixo valor comercial, na maioria das vezes não são aproveitados, tornando-se prejuízo ambiental e econômico quando descartado inadequadamente (FELTES et al., 2010; FERRARO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017a, 2017b).

Os resíduos de peixe podem ser utilizados em alimentos para consumo humano, assim como na produção de farinha, silagem, hidrolisados, compostagem e fertilizantes. No entanto, ainda é necessário diminuir a quantidade de materiais descartados pelo processo, para agregar valor econômico e evitar impactos ecológicos, econômicos e socioculturais (ALFARO, FONSECA; PRENTICE, 2012). Uma alternativa é a recuperação desses resíduos e sua utilização na elaboração de filmes biodegradáveis (PIRES et al., 2011).

A espécie de peixe *Brachyplatystoma rousseauxii* popularmente conhecida como dourada no Brasil, é uma das espécies mais importantes comercializadas na Amazônia (GONZALEZ et al., 2009). É um peixe de grande porte muito utilizado para filetagem pelas indústrias e mercados regionais, produzindo um grande volume de resíduos.

A etapa de filetagem durante o processamento de peixes gera diferentes tipos de resíduos como a carcaça e as aparas. A carcaça apresenta parte de músculo aderida e necessita passar por um processo de separação mecânica para obter a Carne Mecanicamente Separada (CMS). As aparas são geradas durante a toailete dos filés. Ambos são ricos em proteínas miofibrilares que podem ser utilizadas na elaboração de filmes biodegradáveis (ZAVAREZE et al., 2014; ARAÚJO et al., 2018; VIEIRA et al., 2018). No entanto, a CMS e as aparas são obtidas de regiões distintas do peixe, e por isso diferem em sua composição química, principalmente no teor de lipídeos e cinzas (SARY et al., 2009; ARAÚJO et al., 2018). Essas características alteram a composição do concentrado de proteínas miofibrilares obtido e consequentemente podem ocasionar mudanças nas propriedades tecnológicas dos filmes produzidos.

Os filmes biodegradáveis são materiais finos e flexíveis obtidos a partir de biopolímeros como polissacarídeos, proteínas e lipídeos ou a combinação desses e podem ser utilizados na manutenção da qualidade e vida útil dos alimentos. Além disso, a substituição parcial de polímeros sintéticos por biopolímeros pode reduzir problemas ambientais

originados pelo uso indiscriminado de embalagens convencionais (ARTHARN et al., 2007; DUTTA et al., 2009; CARDOSO et al., 2017; SCHMID et al., 2017; WORAPRAYOTE et al., 2018).

A maioria das pesquisas realizadas com filmes biodegradáveis a partir de proteínas miofibrilares de peixe, normalmente extraem as proteínas do filé do peixe (PASCHOALICK et al., 2003; GARCIA; SOBRAL, 2005; LIMPAN et al., 2010; KAEWPRACHU et al., 2017; KAEWPRACHU et al., 2018; ROMANI et al., 2018), das aparas (ARAÚJO et al., 2018; VIEIRA et al., 2018) ou da carne mecanicamente separada (CMS) (ZAVAREZE et al., 2014). No entanto, estudos que comparem filmes elaborados com proteínas miofibrilares extraídas de diferentes resíduos são importantes, mas ainda não foram realizados.

Nesse contexto, a presente pesquisa teve como objetivo investigar se o tipo de resíduo de peixe utilizado para extração de proteínas miofibrilares afeta as propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATÉRIA PRIMA

Os resíduos do processo de filetagem da dourada foram obtidos na forma de carcaças e de aparas (Figura 1a, 1c). Foram transportados até o Laboratório de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal do Pará.

No laboratório os resíduos foram higienizados com água clorada a 5ppm (mg/l). As carcaças foram processadas em separadora mecânica (High Tech, modelo HT100C) com capacidade 100Kg/h, para obter a CMS (Figura 1b) e as aparas foram trituradas em cutter (Sire, modelo Filizzola). Em seguida, os dois resíduos foram acondicionadas separadamente em sacos de polietileno, embaladas a vácuo e congelamentos a -26°C até serem utilizados nas próximas etapas.



Figura 1. Resíduos da filetagem da dourada. (a) carcaça; (b) carne mecanicamente separada (CMS) da carcaça; (c) aparas.

2.2. EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES

As proteínas miofibrilares (PM) foram extraídas da CMS e das aparas segundo metodologia de Araújo et al. (2018) adaptada. A massa muscular foi misturada com cinco volumes de solução de cloreto de sódio 50 mM (Synth PA-ACS) a 5°C por 5 minutos, seguida de filtração em camada de tecido faillet. Este processo foi repetido por mais duas vezes. O material retido foi desodorizado com solução de ácido fosfórico a 0,05% (3:1) por 5 minutos, submetido a filtração e depois lavado com três volumes de água. O material foi centrifugado a 10.000 rpm durante 3 minutos em centrífuga refrigerada a 4 °C (Thermo Fisher, Multifuge X1R). Então, as PM obtidas foram armazenadas em bandejas de aço inoxidável, congelada a -22°C e liofilizada a -60°C por 48 horas (Liotop, L101). As amostras foram trituradas e peneiradas (Tyler 35, 0,42 mm) para obter as PM em pó. O rendimento de PM foi calculado a partir da razão entre a proteína liofilizada e a quantidade inicial de matéria-prima (CMS e aparas), expressa em g PM / 100 g de músculo.

2.2.1. Composição centesimal e cor instrumental das proteínas miofibrilares

As análises de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas foram realizadas de acordo com AOAC (1997) nas PM extraídas da CMS e das aparas, com resultados expressos em base seca. Os parâmetros de cor L^* (luminosidade), a^* (intensidade do vermelho), b^* (intensidade do amarelo) foram determinados em colorímetro (Minolta modelo CR 310).

2.3. OBTENÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Os filmes biodegradáveis foram elaborados com PM extraídas da CMS e das aparas, seguindo metodologia descrita por Araújo et al. (2018). A solução filmogênica foi preparada com PM (1,5% m/v), o glicerol (30% m/m) (Isofar, Glicerina PA com 99,5% de pureza) e água destilada. O pH foi ajustado para 11 com hidróxido de sódio 2M (Cinética, NaOH-PA). A solução foi homogeneizada a 10.000 rpm/5min (Turratec, Tecnal, TE-102) e depois mantida em banho-maria (Tecnal, TE-057) à 70°C por 30 minutos e filtrada em camada de tecido faillet. Posteriormente, 120mL de solução filmogênica foi adicionada em suporte de silicone (22cm de diâmetro x 3cm de altura) e seca em estufa incubadora (Quimis, Q315M) a 30°C por 16 horas para formar o filme. Os filmes foram armazenados em embalagens de polietileno e mantidos em temperatura ambiente (25 °C).

2.4. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

2.4.1. Espessura

As espessuras dos filmes foram medidas utilizando micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (Insize, modelo IP54) em oito locais aleatórios com afastamento da borda de 60 mm (LIMPAN et al., 2010).

2.4.2. Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e o percentual de alongamento na ruptura (%E) foram determinados de acordo com a metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) em texturômetro (Texture Analyzer, Brookfield). A separação inicial das garras e a velocidade foram de 20 mm e $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente. As amostras foram cortadas em tiras de 60 mm de comprimento e 25 mm de largura (LIMPAN et al., 2010) e as respostas calculadas pelas Equação 1 e 2.

$$RT = Fm/A \quad (1)$$

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

$$E = d_T/d_{inicial} \times 100 \quad (2)$$

Onde E: alongação (%); d_T : distância total no momento da ruptura (mm); $d_{inicial}$: distância inicial de separação das garras (20 mm).

2.4.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Foi utilizado método modificado (ASTM, 1989) descrito por Arfat et al. (2014). Os filmes foram colocados em recipiente de permeação de vidro com 4,5 cm de diâmetro e 7,0 cm de altura contendo 10g de sílica gel seca (0% UR; 0Pa de pressão de vapor de água a 30 °C) e fixados com adesivo de silicone. Em seguida, os recipientes de permeação foram colocados em dessecadores com água destilada a 30 °C (99% de UR; 4244,9 Pa de pressão de vapor a 30 °C) e pesados a cada hora durante 10 h. A PVA dos filmes foi calculada com a Equação 3.

$$PVA = W.X/A.t.\Delta P \quad (3)$$

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

2.4.4. Solubilidade

Para determinação da solubilidade foi estabelecida a matéria seca inicial em estufa a 105 °C/24h em filmes com 2 cm de diâmetro. Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em 50 mL de água. O sistema foi agitado em incubadora Shaker refrigerada (Cielanb, modelo CE-725B) com velocidade de 70 rpm por 24 horas a 25°C. Após este período, as amostras foram removidas e secas (105°C por 24 horas), para determinar a matéria seca não dissolvida em água (GONTARD et al., 1994).

2.4.5. Transmissão de luz, transparência e opacidade

A transmitância de luz dos filmes foi medida na faixa do ultravioleta e do visível (200 e 800 nm), a transparência foi determinada a 600 nm (Equação 4), de acordo com o método ASTM D1746 descrito por Arfat et al.(2014) e a opacidade pela absorbância em 600 nm (Equação 5) conforme descrito por Park; Zhao, (2004). As amostras foram cortados em retângulos de 3 x 1 cm e colocados dentro da cubeta e os parâmetros foram quantificados em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-22).

$$\text{Transparência} = -\log \%T/e \quad (4)$$

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

$$\text{Opacidade} = A/e \quad (5)$$

Onde A: absorbância a 600 nm; e: espessura do filme (mm).

2.4.6. Parâmetros de cor

Os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* do filme foram determinados usando um colorímetro (Minolta modelo CR 310) sobre uma placa branca.

2.4.7. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A propriedade térmica dos filmes foi determinada usando calorímetro diferencial de varredura (TA instruments, modelo Q10). A análise utilizou 1,300mg de filme pesadas com precisão em cápsulas de alumínio. As amostras foram analisadas de 20 a 280°C a uma taxa de aquecimento de 10°C/min usando nitrogênio como gás de arraste a 50ml/min.

2.4.8. Microscopia eletrônica de varredura e análise química por energia dispersiva

A microestrutura da superfície e a análise química por energia dispersiva (EDS) dos filmes foram determinadas utilizando microscópio eletrônico de varredura (Hitachi, modelo TM3000) acoplado a um espectrômetro de energia dispersiva (Swift ED 3000).

2.4.9. Teste de biodegradabilidade dos filmes

O teste de degradação no solo foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Martucci; Ruseckaite (2009) com modificações. Foi utilizado solo natural orgânico (pH 6,4) como ambiente de degradação dos filmes. As amostras de filmes foram cortadas em retângulos de 2 cm × 3 cm, secas a 60 °C até peso constante (m_0), e colocadas em malha de alumínio previamente seca e pesada, e enterradas a 2 cm da superfície do solo dentro de caixas de plástico (6,5 cm × 6,5 cm × 4 cm) a 23°C ± 2°C (Figura 2). A cada dois dias, foi adicionada água ao solo para manter a umidade em 40%. O grau de biodegradação dos filmes foi determinado durante 15 dias como perda de peso (%PP), de acordo com a Equação 6.

$$PP (\%) = [(m_t - m_0) / m_0] \times 100 \quad (6)$$

Onde m_0 : é a massa seca inicial e m_t : é a massa seca restante depois de um tempo de incubação, t . Os resultados são a média de duas medições.

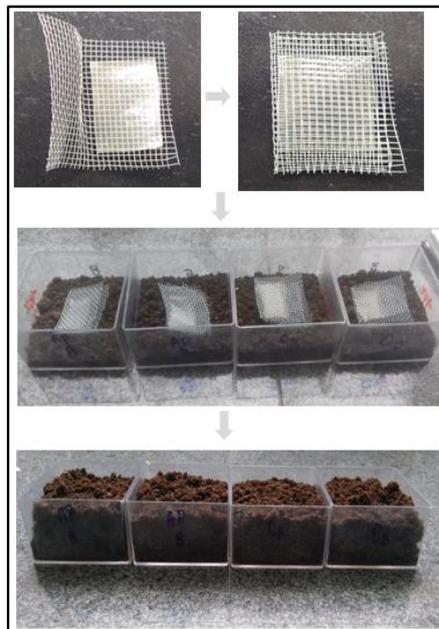


Figura 2. Teste de biodegradabilidade dos filmes em solo

2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise estatística utilizando o software Statistica® 7.0 (STATSOFT Inc., 2004) por meio da Análise de Variância e teste de Tukey com 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E COR DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES

O teor de proteínas das PM extraídas da CMS (P-CMS) e das aparas (P-APARAS) diferiu ($p \leq 0,05$). Ambas tinham alta concentração de proteínas, o que é importante para a formação do filme. Os resultados da análise de lipídeos diferiram ($p \leq 0,05$), com a P-CMS produzindo valores mais altos. Isto é diretamente relacionado ao tipo de resíduo, uma vez que a CMS foi obtida da carcaça, região com maior teor de gorduras quando comparada às aparas.

A P-CMS apresentou um maior teor de cinzas devido ao processamento da carcaça na máquina despoldadora, o que permite a passagem de restos de ossos (MURUETA et al., 2007). O rendimento do processo de extração das PM também foi influenciado pelo tipo de resíduo, com a P-APARAS apresentando maior rendimento.

Tabela 1. Composição centesimal e cor instrumental das proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada e das aparas.

Determinações	P-CMS	P-APARAS
Proteínas	87,236±0,026 ^b	96,835±0,199 ^a
Lipídeos	10,770±0,086 ^a	1,426±0,365 ^b
Cinzas	3,023±0,020 ^a	1,171±0,281 ^b
Umidade	0,088±0,0002 ^b	0,108±0,0002 ^a
Rendimento	6,227	7,0427
	Parâmetros de Cor	
<i>L</i> *	72,195±0,091 ^b	89,050±0,806 ^a
<i>a</i> *	2,270±0,325 ^a	-4,850±0,296 ^b
<i>b</i> *	20,715±0,502 ^a	14,460±0,480 ^b

P-CMS: Proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada. P-APARAS: Proteínas miofibrilares das aparas. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$).

Os parâmetros de cor diferiram ($p \leq 0,05$), com valores mais altos de *L** encontrados para o P-APARAS. O valor de *a** foi positivo para P-CMS e negativo para P-APARAS, com tendências para o vermelho e verde, respectivamente. O parâmetro *b** da P-CMS apresentou maior valor, indicando tendência ao amarelo e coloração mais escura (Figura 3). A diferença na cor das PM indicou que o método de extração utilizado não foi eficiente na remoção de

sangue, pigmentos e lipídeos da CMS, que apresentou maior concentração desses componentes.

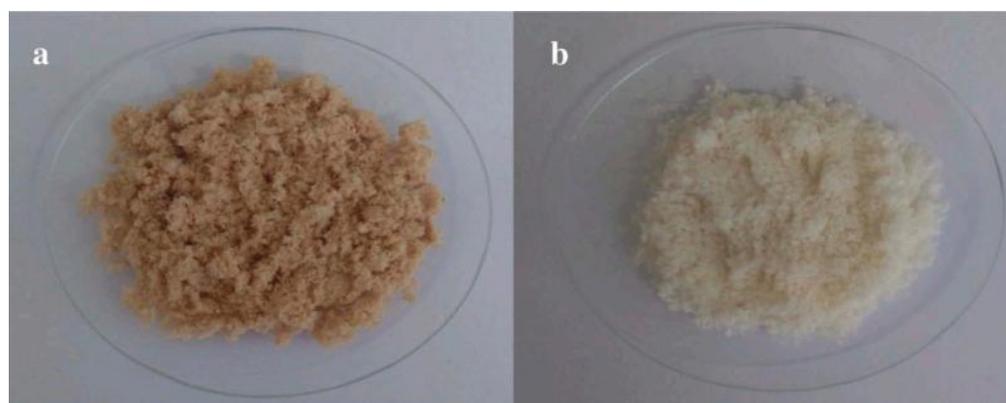


Figura 3. Proteínas miofibrilares liofilizadas; (a) carne mecanicamente separada (CMS) e (b) aparas.

3.2. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Tabela 2. Caracterização física, de barreira e cor dos filmes biodegradáveis produzidos a partir de proteínas miofibrilares extraídas da carne mecanicamente separada e das aparas.

Análises	Filmes	
	F- CMS	F- APARAS
Espessura (mm)	0.044±0.0005 ^a	0.027±0.001 ^b
Resistência a tração (MPa)	3,038±0,137 ^b	8,019±0,827 ^a
Elongação (%)	130,25±1,060 ^b	139,5±1,414 ^a
PVA x10 ⁻¹² (g.m ⁻¹ .s ⁻¹ .Pa ⁻¹)	4.475±1,77E ⁻⁹ ^a	3.282± 5,24E ⁻⁹ ^b
Solubilidade (%)	40.84±1.38 ^a	33.11±1.89 ^b
Parâmetros de Cor		
<i>L</i> *	91.597±0.362 ^b	92.637±0.353 ^a
<i>a</i> *	-6.737±0.101 ^b	-6.070±0.02 ^a
<i>b</i> *	17.877±1.262 ^a	10.767±0.142 ^b

F-CMS: Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada. F-APARAS: Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$).

Espessura

As espessuras dos filmes diferiram ($p \leq 0,05$) embora tenham sido elaborados nas mesmas concentrações de proteína e plastificante (Tabela 2). Esse comportamento está possivelmente relacionado à presença de compostos não proteicos na proteína extraída da CMS, o que resultou na formação do filme F-CMS mais espesso. Também deve ser levado em consideração que a espessura no processo de produção tipo *casting* é de difícil controle e exige rigoroso nivelamento da estufa (MALI et al., 2002). As espessuras dos filmes estão de

acordo com a literatura para filmes de proteínas miofibrilares de peixe (ARAÚJO et al., 2018; VIEIRA et al., 2018; KAEWPRACHU et al., 2018; ROMANI et al., 2018).

Resistência à tração e alongação

Foi observada diferença significativa nas propriedades mecânicas dos filmes, onde o F-APARAS apresentou maior resistência à tração e alongação. No entanto, os resultados de ambos os filmes estavam de acordo com outras pesquisas (KAEWPRACHU et al., 2017; ARAÚJO et al., 2018; ROMANI et al., 2018).

As melhores propriedades mecânicas encontradas no F-APARAS indica que sua estrutura possui ligações moleculares fortes ou numerosas. Durante a secagem, as PM solubilizadas interagem através de ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e iônicas e ligações dissulfeto (covalentes), resultando na formação do filme (SHIKU; HAMAGUCHI; TANAKA, 2003). O menor valor de RT e alongação para a F-CMS provavelmente estão relacionados à presença de compostos não proteicos (lipídeos e cálcio) nas proteínas extraídas deste resíduo (Tabela 1 e 4), que interferem na formação do filme principalmente em relação às propriedades mecânicas devido ao enfraquecimento das ligações moleculares.

Permeabilidade ao vapor de água

Os filmes diferiram ($p \leq 0,05$) nos valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA), mas permaneceram de acordo com a literatura (ARFAT et al., 2014; KAEWPRACHU et al., 2017; ARAÚJO et al., 2018).

As proteínas de peixe possuem características hidrofílicas devido aos grupos polares (aminoácidos polares) disponíveis nas cadeias (DI PIERRO et al., 2006; HAMAGUCHI; WUYIN; TANAKA, 2007). Portanto, era esperado que a presença de lipídeos na P-CMS melhorasse a propriedade de barreira a água do filme, no entanto, o filme F-CMS apresentou maior PVA que o F-APARAS. Pesquisas sobre a incorporação de lipídeos em filmes para melhorar a PVA relatam que, se o componente hidrofóbico não for capaz de se associar com a cadeia de proteína, pode causar rupturas na estrutura da matriz proteica resultando no aumento da PVA (LIMPISOPHON; TANAKA; OSAKO, 2010; ANDREUC CETTI et al., 2011; PENG; YIN; LI, 2013). Segundo Arfat et al. (2014), uma melhor PVA está relacionada com interações fortes e maior grau de organização das moléculas de proteínas na formação do filme.

Solubilidade

A solubilidade do F-CMS foi maior ($p < 0,05$), estando relacionada com a presença de lipídeos que contribuiu para o enfraquecimento das ligações. Fakhouri et al. (2009) e Pires et al. (2013) observaram o mesmo comportamento ao adicionar lipídeos em filmes biodegradáveis. Esses autores atribuíram esse resultado à ligações proteína-óleo que enfraquecem as interações proteína-proteína na matriz do filme, produzindo a liberação de proteínas com conseqüente aumento da solubilidade. A superfície menos homogênea no F-CMS (Figura 6) também pode ser responsável pelos maiores valores de solubilidade. Limpan et al. (2010) observaram que uma microestrutura mais homogênea está associada a baixos valores de solubilidade.

Cor

Todos os parâmetros de cor diferiram ($p \leq 0,05$), o que indica que a cor dos filmes foi afetada pelo tipo de resíduo utilizado para extrair as proteínas. Segundo Rocha et al. (2013), a cor é um parâmetro importante na caracterização de filmes, diretamente influenciada pela matéria-prima utilizada na sua produção.

Os altos valores de L^* do F-APARAS indicou que este filme tinha cor mais clara. O parâmetro b^* foi maior no F-CMS sugerindo maior tendência ao amarelo provavelmente devido à presença de lipídeos (Tabela 1). Tongnuanchan; Benjakul; Prodpran (2011) relacionaram o tom amarelado dos filmes à oxidação lipídica principalmente por fornecer os grupos carbonila envolvidos na reação de Maillard (Figura 4).

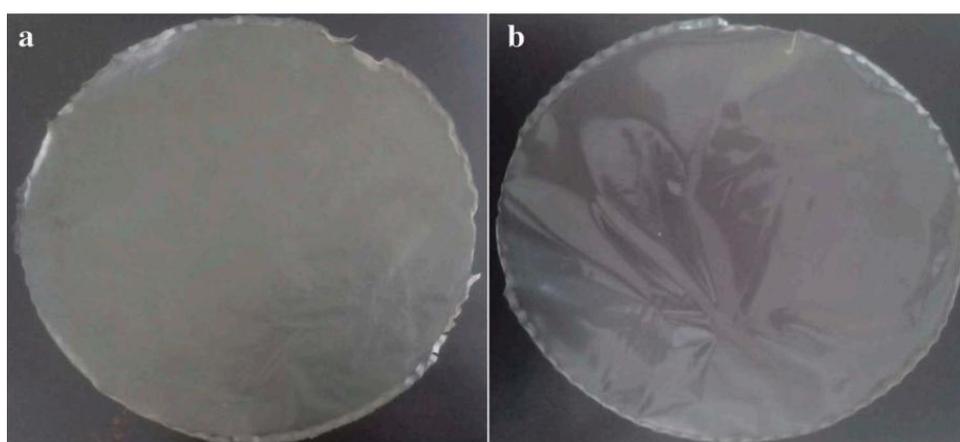


Figura 4. Filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares de peixe. (a) Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada (F-CMS). (b) Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas (F-APARAS)

Transmissão de luz, transparência e opacidade

Tabela 3. Transmissão de luz, transparência e opacidade dos filmes biodegradáveis produzidos a partir de proteínas miofibrilares extraídas da carne mecanicamente separada e das aparas.

Transmissão de Luz	Filmes	
	F- CMS	F- APARAS
Comprimento de onda (nm)		
200	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
280	0,1±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
350	27,45±0,919 ^a	20,750±0,212 ^b
400	31,30±1,272 ^a	32,050±0,070 ^a
500	35,30±1,414 ^b	48,60±0,282 ^a
600	35,350±1,484 ^b	52,80±0,282 ^a
700	40,250±1,343 ^b	61,90±0,282 ^a
800	41,05±1,484 ^b	63,90±0,424 ^a
Transparência	16,783±0,746 ^a	6,261±0,523 ^b
Opacidade	13,115±0,129 ^a	6,214 ±0,015 ^b

F-CMS: Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada. F-APARAS: Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$).

Os resultados de transmissão de luz dos filmes foram muito baixos na faixa do UV (200 nm a 280 nm) e mais alto na faixa do visível (350 a 800 nm) (Tabela 3), comportamento também relatado por Arfat et al. (2014), Araújo et al. (2018) e Vieira et al. (2018). Normalmente, filmes elaborados com proteínas de peixe apresentam boa propriedade de barreira a luz UV, uma consequência do alto teor de aminoácidos aromáticos (tirosina e fenilalanina) que absorvem luz em comprimento de onda menor que 300nm (HAMAGUCHI et al., 2007). F-CMS teve menor transmissão de luz em todos os comprimentos de onda, com exceção de 350 nm, indicando melhor propriedade de barreira à luz. Embalagens de alimentos com boa barreira à luz são importantes, uma vez que a luz causa deterioração oxidativa em alimentos podendo ocorrer perda de nutrientes, da cor e formação de sabores desagradáveis (MARTINS et al., 2012; KAEWPRACHU et al., 2016).

A menor transparência foi observada no F-CMS e pode estar relacionada à presença de compostos não proteicos como lipídeos (Tabela 1) e cálcio (Tabela 4), que estão presentes em maiores quantidade na proteína da CMS. Estes compostos afetaram a homogeneidade do filme (Figura 6) podem estar relacionado com a redução da transparência. Kowalczyk; Baraniak (2011) atribuíram a alteração da transparência do filme às alterações térmicas de compostos não proteicos como carboidratos. A transparência de um filme biodegradável

garante que o alimento possa ser observado através da embalagem e quanto menor o valor deste parâmetro, mais transparente é o filme (Araújo et al., 2018). Para a opacidade, baixos valores indicam filmes mais transparentes, estando coerente com o resultado deste trabalho, uma vez que o F-APARAS apresentou maior transparência e menores valores de opacidade.

Calorimetria Diferencial de Varredura

A temperatura de fusão (T_m) e entalpia (ΔH) do F-CMS e F-APARAS são mostrados pelos termogramas de DSC (Figura 5). O F-APARAS apresentou o primeiro pico endotérmico com T_m e ΔH mais elevados indicando maior estabilidade térmica (Figura 5b). De acordo com Barreto; Pires; Soldi (2003), a estabilidade térmica dos filmes é reforçada por interações proteicas como ligações de hidrogênio, interações iônicas, interações hidrofóbicas. Portanto, a T_m mais elevada está relacionada às interações proteína-proteína mais numerosas ou mais fortes, enquanto ΔH mais alto revela que foi necessária mais energia para romper as ligações desse filme. Além disso, o F-APARAS (Figura 5b) apresentou um segundo pico endotérmico em 230.18°C. Kaewprachu et al. (2016) observaram o mesmo comportamento e associaram este pico a degradação de frações proteica.

Em contrapartida, a menor T_m e ΔH do F-CMS (Figura 5a), sugere a formação de uma rede de proteínas mais fraca, reafirmando que a presença de compostos não proteicos nas PM da CMS contribuíram para formação de filmes mais fracos.

O filme F-APARAS apresentou as melhores propriedades mecânicas, de barreira ao vapor de água e solubilidade que estão relacionadas à sua maior estabilidade térmica. Kaewprachu et al. (2017) também observaram que filmes com maior estabilidade térmica apresentaram melhores propriedades mecânicas.

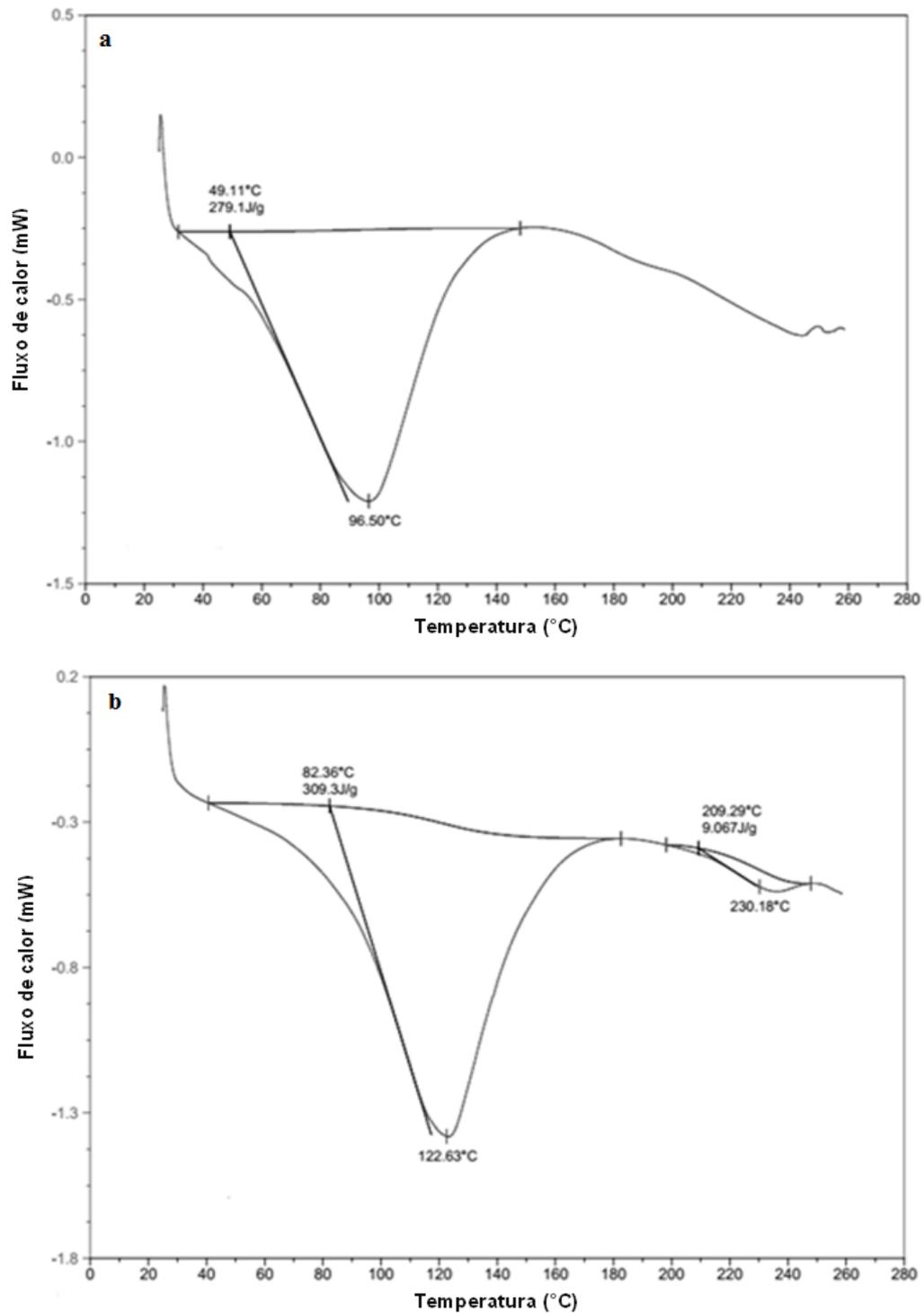


Figura 5. Curvas de DSC. (A) Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada (F-CMS). (B) Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas (F-APARAS).

Microscopia eletrônica de varredura e Análise química por energia dispersiva

Nas imagens de microscopia (Figura 6) é possível observar acentuadas diferenças na superfície dos filmes F-CMS e F-APARAS. A morfologia do F-CMS (a, b) apresentou maiores irregularidades ao comparar com o F-APARAS (c, d). Os pontos brancos apresentados em ambos os filmes, podem ser proteínas não solubilizadas. Araújo et al. (2018)

relataram a presença de pontos brancos em filmes de PM de peixe e também relacionaram com materiais insolúveis.

Os resultados da análise química por energia dispersiva (EDS) (Tabela 4) permitem também correlacionar esses pontos brancos com a presença de sódio resultante da solução de NaOH usada para ajustar o pH durante a produção dos filmes e com a presença de cálcio no F-CMS. Segundo Souza; Sobral; Menegalli (2004) a presença de rachaduras e irregularidades comprometem a integridade estrutural dos filmes e alteram suas propriedades. Portanto, a morfologia menos homogênea do F-CMS está relacionada com as propriedades tecnológicas inferiores deste filme.

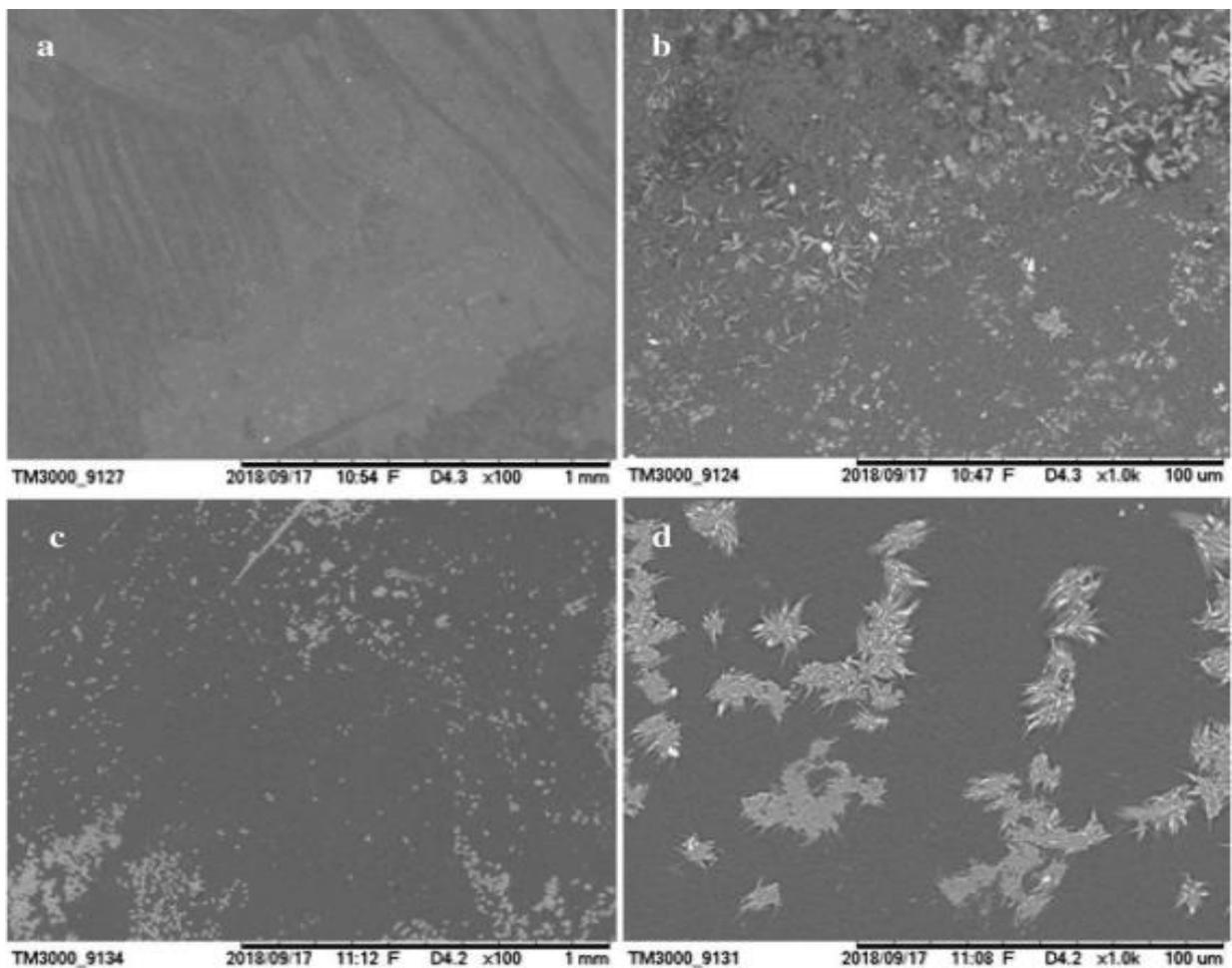


Figura 6. Microfotografias da superfície dos filmes nas ampliações 100X, 1000X. (a e b) Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada (F-CMS). (c e d) Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas (F-APARAS).

Tabela 4. Análise química por energia dispersiva dos filmes produzidos com proteínas miofibrilares extraídas da carne mecanicamente separada e das aparas.

Elementos (%)	F-CMS	F-APARAS
Carbono	60.680	57.690
Oxigênio	35.420	37.678
Sódio	3.190	3.918
Enxofre	0.502	0.714
Cálcio	0.204	-

F-CMS: Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada. F-APARAS: Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas.

Teste de biodegradação dos filmes

As alterações macroscópicas da aparência física e as curvas do teste de biodegradação dos filmes no solo são apresentadas na Figura 7. Após dois dias de armazenamento, as massas do F-CMS e F-APARAS foram reduzidas para 30,0 e 37,7% da massa inicial, respectivamente. Esse comportamento pode ser associado à perda de compostos de baixo peso molecular, como glicerol utilizado como plastificante, que é absorvido ou metabolizado por microrganismos do solo (ABRUSCI et al., 2007; COPINET; LEGIN-COPINET; ERRE, 2009). Outra explicação seria a assimilação por microrganismos como fungos ou bactérias dos aminoácidos presentes nas PM. Segundo Abrusci et al. (2007), esses microrganismos podem atuar sinergicamente durante a degradação e refletir condições de ocorrência natural, além produzir muitos tipos de enzimas capazes de reagir com as superfícies das proteínas expostas.

O índice de degradação dos filmes e o aspecto visual no final dos 15 dias, mostrou que o F-CMS, apesar da alta perda de massa (83,5%) apresentou menor biodegradabilidade comparado ao F-APARAS (89,9%), indicando que o teor lipídico das PM extraídas da CMS (Tabela 1) influenciou na interação do filme com a água e com os microrganismos do solo.

Além da interação com os microrganismos, a biodegradabilidade dos filmes também está relacionada com fatores como a lixiviação das PM (material mais biossusceptível) que produz canais que favoreceram a entrada de água (FRANCO et al., 2004). A adição periódica de água provavelmente ajudou na perda de compostos solúveis, contribuindo para a alteração do aspecto inicial e integridade dos filmes, demonstrando claramente sua biodegradabilidade. Dessa forma, a presença de lipídeos no F-CMS também pode ter interferido na interação do filme com a água, aumentando o tempo de degradação.

O Brasil não possui regulamentação para biodegradabilidade de materiais, porém a norma europeia EN13432 (2000) exige que os plásticos biodegradáveis tenham 90% de sua

massa fragmentada em água, CO₂ e biomassa em um período de seis meses. Os resultados obtidos mostram que todos os filmes foram degradados rapidamente e podem ser consideradas embalagens biodegradáveis.

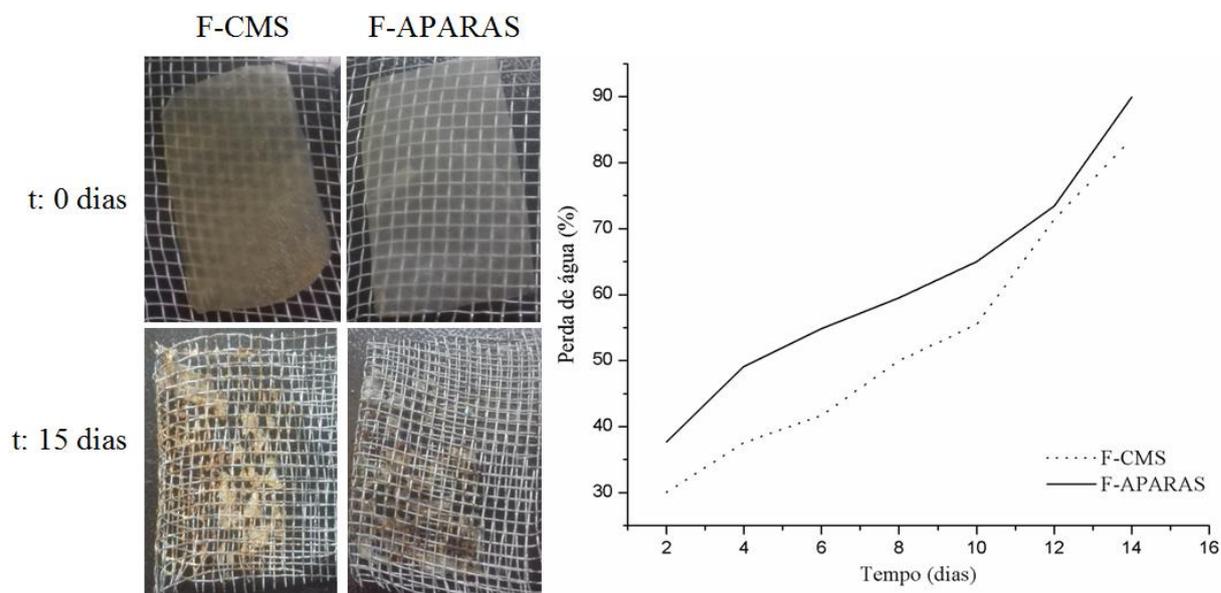


Figura 7. Aspecto macroscópico dos filmes antes e após 15 dias de incubação no solo e curvas de perda de massa em função do tempo de exposição no solo. F-CMS: Filme produzido com proteínas miofibrilares da carne mecanicamente separada. F-APARAS: Filme produzido com proteínas miofibrilares das aparas.

De acordo com os resultados, o tipo de resíduo influencia em todas as propriedades analisadas nos filmes e essas diferenças estão relacionadas com a composição das PM extraídas. Segundo Sary et al. (2009), a intensidade da remoção de componentes como sangue, pigmentos, lipídeos e proteínas hidrossolúveis depende do número de lavagens. Portanto, para extrair as PM da CMS com cor clara e baixo teor de lipídeos e cinzas, o número de lavagens e outras etapas de extração devem ser aumentadas. Vale ressaltar que o uso da CMS para produção de filmes é uma excelente alternativa para contribuir com a diminuição da quantidade de resíduos de menor valor comercial gerados pela indústria pesqueira.

4. CONCLUSÕES

As proteínas miofibrilares extraídas da carne mecanicamente separada e das aparas apresentaram alto teor de proteínas e formaram filmes com boas propriedades tecnológicas.

Os tipos de resíduo usado para extrair as proteínas influenciaram em todas as propriedades do filme e estão relacionadas com a concentração de compostos não proteicos como lipídeos e cinzas nas proteínas miofibrilares da CMS, ocasionando a formação de filmes com propriedades inferiores quando comparado ao filme produzido com as proteínas extraídas das aparas.

O teste de biodegradabilidade em solo mostrou que os filmes se decompõem rapidamente e podem ser considerados biodegradáveis.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Departamento de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPESP) da Universidade Federal do Pará (UFPA) por o apoio financeiro indispensável para esta pesquisa.

Financiamento

Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) [001]; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) [projeto número 469101/2014].

REFERÊNCIAS

ABRUSCI, C.; MARQUINA, D.; DEL AMO, A.; CATALINA, F. Biodegradation of cinematographic gelatin emulsion by bacteria and filamentous fungi using indirect impedance technique. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 60, p. 137-43, 2007.

ALFARO, A.; FONSECA, G. G.; PRENTICE, C. Enhancement of functional properties of Wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin at different pH values. **Food and Bioprocess Technology**, v.5, p. 1121-1127, 2012.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GALICIA-GARCÍA, T.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F.; GROSSO, C. R. F. Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 129-136, 2011.

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th, Washington, v.2, p.850, 1997.

ARAÚJO, C. S.; RODRIGUES, A. M. C.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; ARAÚJO, E. A. F.; LOURENÇO, L. F. H. Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, v.16, p. 23–30, 2018.

ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. Development and characterisation of blend films on fish protein isolate and fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 58-67, 2014.

ARTHARN, A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; TANAKA, M. Properties of a protein-based film from round scad (*Decapterus maruadsi*) as affected by muscle types and washing. **Food Chemistry**, v. 103, p. 867-874, 2007.

ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. *Annual Book of ASTM Standards*, ASTM D882. 1996.

BARRETO, P. L. M.; PIRES, A. T. N.; SOLDI, V. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. **Polymer Degradation and Stability**, v. 79, 147–152, 2003.

CARDOSO, L. G.; SANTOS, J. C. P.; CAMILLOTO, G. P.; MIRANDA, A. L.; DRUZIAN, J. I.; GUIMARÃES, A. G. Development of active films poly (butylene adipate co-terephthalate) – PBAT incorporated with oregano essential oil and application in fish fillet preservation. **Industrial Crops & Products**, v. 108, p. 388–397, 2017.

COPINET, A.; LEGIN-COPINET, E.; ERRE, D. Compostability of co-extruded starch/poly (lactic acid) polymeric material degradation in an activated inert solid médium. **Materials**, v. 2, p. 749-764, 2009.

DI PIERRO, P.; CHICO, B.; VILLALONGA, R.; MARINIELLO, L.; DAMAIO, A. E.; MAIS, P.; PORTA, R. Chitosan-Whey Protein Edible Films Produced in the Absence or Presence of Transglutaminase: Analysis of Their Mechanical and Barrier Properties. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 744-749, 2006.

DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, v. 114, p. 1173-1182, 2009.

EN 13432. Requirements for packaging recoverable through composting and biodegradation—test scheme and evaluation criteria for the final acceptance of packaging. 2000.

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

FELTES, M. M. C.; CORREIA, J. F. G.; BEIRÃO, L. H.; BLOCK, J. M.; NINOW, J. L.; SPILLER, V. R. Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, p. 669-677, 2010.

FERRARO, V.; ANTON, M.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V. The “sisters” α -helices of collagen, elastin and keratin recovered from animal by-products: Functionality, bioactivity and trends of Application. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 65-75, 2016.

FRANCO, C. R.; CYRAS, J. P.; BUSALMEN, R. A.; RUSECKAITE, A. Degradation of polycaprolactone/starch blends and composites with sisal fibre. **Polymer Degradation and Stability**, v. 86, p. 95-103, 2004.

GARCÍA, F. T.; SOBRAL, P. F. A. Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle proteins of two varieties of Tilapia. **LWT– Food Science and Technology**, v. 38, p. 289-296, 2005.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: Water vapor permeability and other physical properties. **International Journal Food Science Technology**, v. 29, p. 39-50, 1994.

GONZALEZ, J. C. A.; GARCIA, K. A. C.; NÚÑEZ-AVELLANEDA, M.; CÓRDOVA, E. A.; GALARZA, E.; OLIVEROS, L. A.; NATAGANI, K. Recursos Hídricos y Ecosistemas

Acuáticos. In: **Perspectivas Del Medio Ambiente em La Amazonía**. Lima: PNUMA/OTCA/CIUP, p.146-161, 2009.

HAMAGUCHI, P. Y.; WUYIN, W.; TANAKA, M. Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins of Blue marlin (Makairamazara). **Food Chemistry**, v. 100, p. 914-920, 2007.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; RAWDKUEN, S. Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. **Journal of Food Science and Technology**, 2016.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; RUNGRAENG, N.; AND RAWDKUEN, S. Characterization of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1463–1473, 2018.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; TONGDEESOONTORN, W.; RAWDKUEN, S. The effects of microbial transglutaminase on the properties of fish myofibrillar protein film. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 12, p. 91-99, 2017.

KOWALCZYK D.; BARANIAK B. Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 295-305, 2011.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BEMJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films on fish protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 85-92, 2010.

LIMPISOPHON, K.; TANAKA, M.; OSAKO, K. Characterisation of gelatin–fatty acid emulsion films based on blue shark (*Prionaceglauca*) skin gelatin. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1095–1101, 2010.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Microstructural characterization of yam starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 379 -386, 2002.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; SOUZA, B. W. S.; VICENTE, A. A. Synergistic effects between k-carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 280-289, 2012.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A. Biodegradation of three-layer laminate films based on gelatin under indoor soil conditions. **Polymer Degradation and Stability**, v. 94, p. 1307-1313, 2009.

MURUETA, J. H. C.; TORO, M. A. N.; CARREÑO, F. G. Concentrates of fish protein from bycatch species produced by various drying processes. **Food Chemistry**, v. 100, p. 705–711, 2007.

OLIVEIRA, V. M.; ASSIS, C. R. D.; HERCULANO, P. N.; CAVALCANTI, M. T. H.; BEZERRA, R. S.; PORTO, A. L. F. Collagenase from smooth weakfish: extraction, partial purification, characterization and collagen. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 43, p. 52-64, 2017a.

OLIVEIRA, V. M.; CUNHA, M. N. C.; ASSIS, C. D.; NASCIMENTO, T. P.; HERCULANO, P. N.; CAVALCANTI, M. T. H.; PORTO, A. L. Colagenases de pescado e suas aplicações industriais. **Pubvet**, v. 11, p. 243-255, 2017b.

PARK, S.; ZHAO, Y. Incorporation of a High Concentration of Mineral or Vitamin into Chitosan-Based Films. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p.1933-1939, 2004.

PASCHOALICK, T. M.; GARCIA, F. T.; SOBRAL, P. J. A.; HABITANTE, A. M. Q. B. Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile Tilapia. **Food Hydrocolloids**, v. 17, p. 419–427, 2003.

PENG, Y.; YIN, L.; LI, Y. Combined effects of lemon essential oil and surfactants on physical and structural properties of chitosan films. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 44–50, 2013.

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, B.; BATISTA, I.; NUNES, M. L.; MARQUES, A. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 224-231, 2013.

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, G.; BATISTA, I.; MENDES, R.; NUNES, L.; MARQUES, A. Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 422-428, 2011.

ROCHA, M.; LOIKO, M. R.; GAUTÉRIO, G. V.; TONDO, E. C.; PRENTICE, C. Influence of heating, protein and glycerol concentrations of film-forming solution on the film properties of Argentine anchovy (*Engraulis anchoita*) protein isolate. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 666-673, 2013.

ROMANI, V. P.; MACHADO, A. V.; OLSEN, B. D.; MARTINS, V. G. Effects of pH modification in proteins from fish (Whitemouth croaker) and their application in food packaging films. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 307-314, 2018.

SARY, C.; FRANCISCO, J. G. P.; DALLABONA, B. R.; MACEDO, R. E. F.; GANECO, L. N.; KIRSCHNIK, P. G. Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 7, p. 423-432, 2009.

SCHMID, M.; PRÖLS, S.; KAINZ, D. M.; HAMMANN, F.; GRUPA, U. Effect of thermally induced denaturation on molecular interaction-response relationships of whey protein isolate based films and coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 104, p. 161-172, 2017.

SHIKU, Y.; HAMAGUCHI, P. Y.; TANAKA, M. Effect of pH on the preparation of edible films based on fish myofibrillar proteins. **Fisheries Science**, v. 69, p. 1026-1032, 2003.

StartSoft Statistica for Windows 7.0. Data analysis software system. Tulsa, Oklahoma. 2004.

SOUZA, S. M. A.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Extração de proteínas miofibrilares de carne bovina para elaboração de filmes comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, p. 619-626, 2004.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Roles of lipid oxidation and pH on properties and yellow discolouration during storage of film from red tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle protein. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 426-433, 2011.

VIEIRA, L. L.; ARAÚJO, C. S.; NEVES, E. M. P. X.; BATISTA, J. T. S.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; LOURENÇO, L. F. H. Emulsified films produced with proteins extracted from Whitemouth Croaker byproducts: development and characterization. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, p. 360, 2018.

WORAPRAYOTE, W.; PUMPUANG, L.; TOSUKHOWONG, A.; ZENDO, T.; SONOMOTO, K.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. Antimicrobial biodegradable food packaging impregnated with Bacteriocin 7293 for control of pathogenic bacteria in pangasius fish fillets. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 427-433, 2018.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S. L. M.; SILVA, R. M.; DIAS, A. R. G.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Mechanical, barrier and morphological properties of biodegradable films based on muscle and waste proteins from the whitemouth croaker (*Micropogonias Furnieri*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, p. 1973-198, 2014.

Capítulo III

Efeito da secagem por convecção e liofilização de proteínas miofibrilares de peixe nas propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis.

Versão em inglês publicada na revista *Drying Technology* em 3 de fevereiro de 2021.

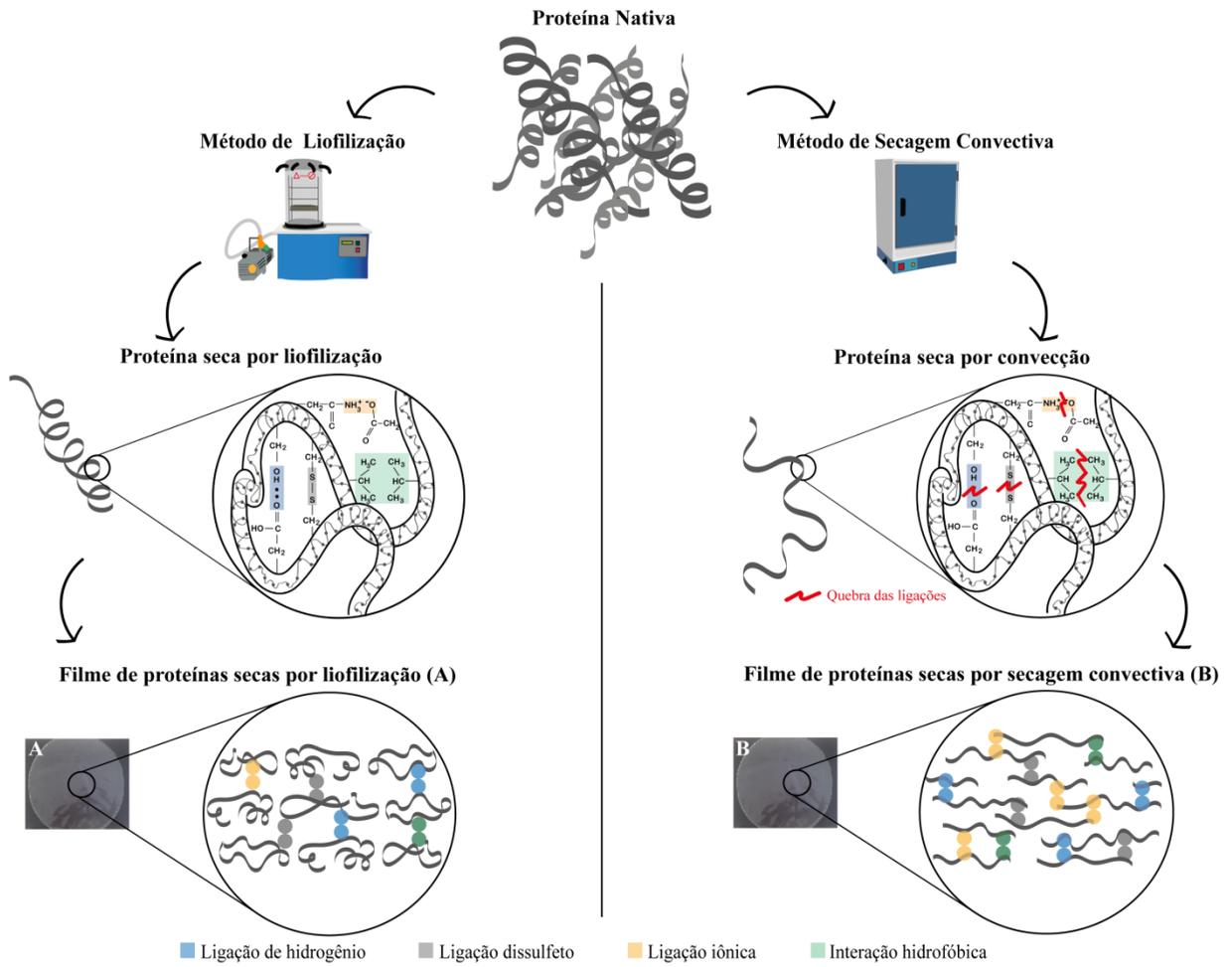
DOI: 10.1080/07373937.2021.1875230

RESUMO

Este estudo teve como objetivo verificar os efeitos de diferentes métodos e temperaturas de secagem de proteínas miofibrilares de peixe (PM), nas propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis. As PM foram secas por liofilização a -60°C por 48 horas e por secagem convectiva de ar quente a 40°C , 60°C a 80°C . Na secagem por convecção, foram construídas curvas de secagem e avaliados os ajustes de modelos matemáticos. Os filmes foram elaborados a 1,5 % de proteínas (m/v) e 30% de glicerol (m/m) e caracterizados. Os tempos de secagem encontrados foram: 540 min (40°C), 300 min (60°C) e 120 min (80°C). Os modelos "Logaritmico" seguido do "Aproximação da difusão" foram os que melhor se ajustaram para todas as temperaturas. Os resultados de eletroforese das proteínas e da caracterização do filme mostraram que a secagem convectiva casou modificações na estrutura tridimensional das proteínas, favorecendo a formação de uma rede de proteínas altamente reticulada com numerosas ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e ligações dissulfeto gerando filmes com propriedades iguais ou melhores que os de proteínas liofilizadas.

Palavras-chave: modelagem matemática; curvas de secagem; eletroforese; e resíduos do peixe

RESUMO GRÁFICO



1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de materiais renováveis de alto desempenho feitos de polímeros biodegradáveis encontrados facilmente na natureza, é importante para o crescimento sustentável da indústria de embalagens e está entre as preocupações e temas de pesquisas nos últimos anos (SILVA et al., 2020; YILMAZ et al., 2020). Os biopolímeros de origem animal, tais como proteínas miofibrilares de peixes (PM) têm sido amplamente utilizadas como material de embalagem, especificamente na elaboração de filmes biodegradáveis (ROMANI et al., 2018; YILMAZ et al., 2020). A grande vantagem de utilizar essas proteínas é o aproveitamento do resíduo da indústria de processamento de peixes que é altamente poluente, além de agregar valor econômico para peixes de baixo valor comercial. Estas proteínas são excelentes matérias-primas para a produção de filmes biodegradáveis com diversas aplicações (NIE et al., 2017).

Para serem utilizadas na produção de filmes, as PM são primeiro extraídas do músculo do peixe e posteriormente congeladas ou desidratadas. O método comumente usado para desidratação é a liofilização (NIE et al., 2017; PEREIRA et al., 2019). Na secagem por liofilização, a amostra é previamente congelada, e posteriormente a umidade é reduzida primeiro por sublimação e depois por dessorção. É considerada um dos melhores métodos de secagem para conservação de alimentos, pois produz produtos secos com boa qualidade sensorial e alto nível de retenção de nutrientes. No entanto, apesar de muitas vantagens, é um processo caro de desidratação de alimentos, devido a velocidade lenta de secagem, a necessidade de usar vácuo e a aplicação de tratamentos prévios como o congelamento (FENG et al., 2020)

Por outro lado, outros métodos de secagem como a secagem por convecção de ar quente em estufa, é um método prático e de baixo custo. A secagem por convecção de alimentos é um complexo fenômeno onde dois processos principais ocorrem simultaneamente, que são a transferência de calor e massa. É considerado o mais simples e econômico entre os vários processos de secagem, sendo o mais utilizado na conservação de alimentos (VILLA-COLARES et al., 2010; SINGH; TALUKDAR, 2020).

Na secagem de PM por convecção, o aquecimento pode modificar a estrutura tridimensional das proteínas causando perdas nutricionais e de algumas propriedades funcionais. Porém, tratando-se de proteínas que serão utilizadas na produção de filmes biodegradáveis, mudanças em sua estrutura podem ser vantajosas. Na formação do filme, as macromoléculas se unem por ligações de hidrogênio, iônicas, hidrofóbicas e covalentes, e o

aquecimento pode favorecer essas interações devido a modificações na estrutura tridimensional, pois expõe grupos tiol e hidrofóbicos internos que ficam disponíveis para formar mais ligações dissulfeto e interações hidrofóbicas entre as cadeias proteicas desdobradas (HAMMANN; SCHMID, 2014; KOWALCZYK et al., 2014).

Vários estudos avaliaram os efeitos da desnaturação causada pelo aquecimento de soluções filmogênicas nas propriedades de filmes biodegradáveis, por exemplo: MP de peixes (ROCHA et al., 2013), surimi (WENG et al., 2007), gelatina de peixe (HOQUE; BENJAKUL; PRODPRAN, 2010), proteínas de soro de leite (SCHMID et al., 2017) glúten do trigo (MARCUIZZO et al., 2011) e proteínas de ervilha (KOWALCZYK; BARANIAK, 2011). No entanto, não há relatos de pesquisas que demonstrem a influência dos métodos de secagem de PM de peixes nas propriedades tecnológicas dos filmes produzidos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes métodos e temperaturas de secagem de PM de peixe sobre as propriedades tecnológicas dos filmes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATÉRIAS PRIMAS

As carcaças do processamento da filetagem da dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*) foram adquiridas no mercado Ver-o-Peso e transportados sob refrigeração para o Laboratório de Produtos de Origem Animal- LAPOA da Universidade Federal do Pará - UFPA. O plastificante utilizado foi o glicerol (glicerina PA; Isofar, com 99,5% de pureza).

No laboratório as carcaças foram higienizadas com água clorada a 5ppm (mg/l) e processadas em separadora mecânica (High Tech, HT 250), para obter a carne mecanicamente separada (CMS). Em seguida, a CMS foi acondicionada em sacos de polietileno, embalada à vácuo e armazenada sob congelamento a -26°C até as próximas etapas.

2.2. EXTRAÇÃO DAS PM

As PM foram extraídas da CMS seguindo metodologia de Batista et al. (2020). A massa muscular foi misturada com solução de cloreto de sódio 50 Mm (5:1) (Synth PA-ACS) a 5°C por 5min seguida por filtração em camada de tecido (faillet), sendo este processo repetido por mais duas vezes. O material retido foi desodorizado com uma solução de ácido fosfórico a 0,05% (Neon PA-ACS) (3: 1) por 5 min e filtrada. O material retido foi lavado com água (3:1) e centrifugado a 11.627 G-force durante 3 minutos em centrífuga refrigerada a 4 °C (Multifuge X1R, Thermo Fisher, Waltham, MA). Posteriormente, as proteínas extraídas

foram embaladas a vácuo em sacos de polietileno, e armazenadas sob congelamento a -26°C até as próximas etapas.

2.3. SECAGEM DAS PM

As proteínas extraídas foram submetidas a secagem por liofilização e por convecção de ar quente. Na liofilização, foram colocadas 200g de proteínas em bandejas de aço inoxidável com diâmetro e altura de 13 x 3 cm, posteriormente congeladas e liofilizadas (Liotop, L101) a -60°C por 48 horas obtendo-se as PM liofilizadas (PM-L) (BATISTA et al., 2020) Para a secagem por convecção, 90g de proteínas foram colocadas em bandejas retangulares perfuradas (3 mm) com área de 204 cm^2 e altura de 1cm. O processo foi realizado em estufa com circulação de ar (Tecnal, TE- 394/3), nas temperaturas de 40°C (PM-40), 60°C (PM-60) e 80°C (PM-80) com velocidade de ar de 1,4 m/s medida em anemômetro digital (Modelo AD-250 Instrutherm, São Paulo, Brasil) até atingir massa constante (MARTINS; PENA, 2017). Posteriormente, as amostras secas no liofilizador e na estufa foram trituradas em processador (Walita, RI7625) e peneiradas (Tyler 35), obtendo-se as PM em pó.

Com os resultados obtidos na secagem por convecção foram construídas curvas baseadas na correlação entre a razão de umidade (MR) e tempo de processo (Equação 1).

$$\text{MR} = \frac{m - m_e}{m_i - m_e} \quad (1)$$

Onde: MR= razão de umidade (adimensional); m, m_i e m_e são as umidades em um tempo t, inicial e no equilíbrio (g/100 g b.s.), respectivamente.

2.3.1. Cálculo da difusividade efetiva para a secagem

A segunda lei de Fick pode ser usada para descrever a secagem de PM de peixes. A solução em série geral da segunda lei de Fick em coordenadas cartesianas é apresentada abaixo (Equação 2).

$$\text{MR} = \frac{m - m_e}{m_i - m_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(\frac{-(2n+1)^2 \cdot \pi^2 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}{L^2}\right) \quad (2)$$

Onde: D_{eff} é a difusividade efetiva e L é a espessura da amostra

Esta equação é aplicada assumindo que o movimento de umidade é unidimensional, sem alteração de volume, difusividade constante, distribuição uniforme de umidade e resistência externa desprezível (BOUDHRIOUA; BONAZZI; DAUDIN, 2003).

Para períodos longos de secagem, a Equação (2) pode ser simplificada apenas para o primeiro termo da série, sem muito efeito na precisão da previsão (Equação 3) (DOYMAZ; PALA, 2003; RAMESH et al., 2001).

$$MR = \frac{8}{\pi^2} - \exp\left(\frac{\pi^2 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}{L^2}\right) \quad (3)$$

A difusividade efetiva foi obtida quando $\ln(MR)$ foi representada graficamente versus o tempo (t).

$$\ln MR = \ln\left(\frac{8}{\pi^2}\right) - \frac{\pi^2 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}{L^2} \quad (4)$$

$$\text{inclinação} = \frac{\pi^2 \cdot D_{\text{eff}} \cdot t}{L^2} \quad (5)$$

A difusividade efetiva foi calculada pela Equação (4), usando as inclinações (Equação 5) derivadas a partir da regressão linear de $\ln(MR)$ em relação aos dados de tempo.

2.3.2. Modelagem matemática das curvas de secagem

Na predição das curvas de secagem, foram avaliados os ajustes matemáticos de modelos clássicos que descrevem a cinética dos processos de secagem em camada delgada (Tabela 1). Os modelos foram ajustados por regressão não-linear aos resultados obtidos nos experimentos de secagem usando o software Statistica versão 7.1 (StatSoft Inc., Tulsa, EUA). O algoritmo de Levenberg- Marquardt foi utilizado com um critério de convergência de 10^{-6} .

Tabela 1. Modelos utilizados para descrever as curvas de secagem das PM

Nome do modelo	Modelo	Referência
Newton	$MR = e^{-k \cdot t}$	(Mujumdar, 1987)
Lewis	$MR = \exp(-k \cdot t)$	(Bruce, 1985)
Dois termos Exponencial	$MR = a \cdot e^{-k \cdot t} + (1-a) \cdot e^{-k \cdot a \cdot t}$	(Sharaf-Eldeen; Blaisdell; Hamdy, 1980)
Logarítmica	$MR = a \cdot e^{-k \cdot t} + c$	(Yagcioglu; Degirmencioglu; Cagatay, 1999)
Aproximação da difusão	$MR = a \cdot e^{-k \cdot t} + (1-a) \cdot e^{-k \cdot b \cdot t}$	(Yaldyz; Ertekyn, 2001)

MR = razão de umidade (não dimensional), t = processo tempo (s), e a, b, c e k são constantes dos modelos.

Os valores do coeficiente de determinação (R^2), erro médio relativo quadrático (RMSE) (Equação 6) e qui-quadrado (X^2) (Equação 7) foram utilizados para determinar o modelo que melhor descreveu as curvas de secagem.

$$\text{RMS} = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (Y_{\text{exp},i} - Y_{\text{pre},i})^2 \right]^{1/2} \quad (6)$$

Onde: Y_{pred} = valor da perda de água ou do ganho de sólidos predito; Y_{exp} = valor da perda de água ou do ganho de sólidos experimental e N = número de medidas experimentais.

$$X^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{\text{exp},i} - MR_{\text{pre},i})^2}{N - n} \quad (7)$$

Onde: $MR_{\text{exp},i}$ e $MR_{\text{pre},i}$ são a MR determinada a partir dos dados experimentais e a MR predita pelos modelos ajustados, respectivamente; N = número medidas experimentais; e n = número de parâmetros do modelo.

2.4. CARACTERIZAÇÃO DAS PM

2.4.1. Composição centesimal e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Análises de proteínas (método 940,25), lipídios (método 922,06), umidade (método 932,12) e cinzas (método 938,08) (AOAC, 1997) foram realizadas nas PM secas e os resultados expressos em base seca. As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas de acordo com o método de Lemon (1975) e expressas em miligrama de malonaldeído por quilograma de amostra.

2.4.2. Eletroforese

As PM foram analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de acordo com o procedimento de Laemmli (1970). Para preparar as amostras, 0,001g de proteína foi solubilizado em 100 μl de água, 12 μl de tampão da amostra com 7,5 ml de Tris-HCl 1M pH 6,8 (Scientific Exodus), 35 ml de SDS 10% (Isofar), 0,15 g de azul de bromofenol (Isofar), 15 ml de glicerol (Glicerina PA; Isofar), 75 ml de água destilada e 700 μl de β Mercaptoethanol 14,3M (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) e aquecidas a 100 $^{\circ}\text{C}$ por 20 min. A corrida foi realizada em gel de separação a 8% e de empilhamento a 5%. Depois da separação, as bandas foram reveladas com o corante Coomassie Blue-R-250 (Sigma-Aldrich). O padrão utilizado foi da BIO-RAD na faixa de peso molecular de 200 kDa a 6,5 kDa.

2.5. OBTENÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Os filmes biodegradáveis foram elaborados de acordo com Batista et al. (2020) com as proteínas secas nas diferentes condições e foram codificados com as siglas F-L (filme produzido com proteína liofilizada), F-40, F-60 e F-80 (filmes produzidos com proteínas secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente). Inicialmente foi preparada a solução filmogênica, com as PM (1,5% m/v), o glicerol (30% m/m) (Isofar, Glicerina PA com 99,5% de pureza) e água destilada e o pH foi ajustado para 11 com hidróxido de sódio 2M (Cinética, NaOH-PA). Essas soluções foram homogeneizadas a 10.000 rpm/5min (Turratec, Tecnal, TE-102), em seguida mantidas em banho-maria (Tecnal, TE-057) à 70°C por 30 min e filtrada em camada de tecido (faillet). Posteriormente, 120mL de cada solução filmogênica foram colocadas em suporte de silicone (22cm de diâmetro e 3cm de altura), e secas em estufa incubadora (Q315M, Quimis, Diadema, Brasil) a 30°C por 16 horas. Os filmes foram acondicionados em embalagens de polietileno e mantidos em temperatura ambiente.

2.6. CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DA SOLUÇÃO FILMOGÊNICA

A viscosidade aparente e o comportamento de fluxo das soluções filmogênicas foram determinadas de acordo com Batista et al. (2019) em um viscosímetro (VT 550, Haake, Vreden, Alemanha) acoplado a um sistema com Copo SV e rotor SV1. A viscosidade aparente foi medida a 28 °C com taxa de cisalhamento entre 0 e 600 s⁻¹ e as curvas foram modeladas matematicamente no modelo de Ostwald-de Waele usando a Equação 8.

$$\tau = K \cdot \gamma^n \quad (8)$$

Onde, τ = tensão de cisalhamento (Pa); γ = taxa de cisalhamento (s⁻¹); K = índice de consistência (Pa.sⁿ); n = índice de comportamento do fluxo (adimensional).

2.7. AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

2.7.1. Espessura

As espessuras dos filmes foram medidas utilizando micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (modelo IP54; Insize, Suzhou, China) em oito locais aleatórios com afastamento da borda de 60 mm (LIMPAN et al., 2010).

2.7.2. Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e percentual de alongamento na ruptura (%E) dos filmes foram determinadas usando metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) em texturômetro (TA. XT- plus; Stable Micro Systems, Londres, Reino Unido). A separação inicial das garras e a velocidade foram de 50 mm e $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente. As amostras foram cortadas em tiras de 100 mm de comprimento e 25 mm de largura (LIMPAN et al., 2010) e as respostas calculadas pelas Equações 9 e 10.

$$RT = \frac{F_m}{A} \quad (9)$$

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

$$E = \frac{d_T}{d_i \cdot 100} \quad (10)$$

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

2.7.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Foi utilizado método modificado (ASTM, 1989) descrito por Arfat et al. (2014). Os filmes foram colocados em recipiente de permeação de vidro com 4,5 cm de diâmetro e 7,0 cm de altura contendo 10g de sílica gel seca (0% UR; 0Pa de pressão de vapor de água a 30 °C) com adesivo de silicone. Em seguida, os recipientes de permeação foram colocados em dessecadores com água destilada a 30 °C (99% de UR; 4244,9 Pa de pressão de vapor a 30 °C) e pesados a cada hora durante 10 h. A PVA dos filmes foi calculada com a Equação 11.

$$PVA = \frac{W \cdot X}{A \cdot t \cdot \Delta P} \quad (11)$$

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

2.7.4. Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com Gontard et al. (1994). A matéria seca inicial (m_i) foi determinada em estufa a 105 °C/24h em filmes com 2 cm de diâmetro.

Posteriormente, as amostras foram imersas em 50 mL de água e foram agitadas em incubadora Shaker refrigerada (Cielanb, CE-725B) com velocidade de 70 rpm por 24 h a 25°C. Após este período, as amostras foram removidas e secas (105°C por 24 horas) para determinar a matéria seca final (m_f). A solubilidade do filme foi calculada de acordo com a Equação 12.

$$S = \frac{m_i - m_f}{m_i} \quad (12)$$

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

2.7.5. Parâmetros de cor

A cor dos filmes foi determinada em colorímetro (CR 310; Minolta, Tóquio, Japão) e os parâmetros L^* (luminosidade), a^* (intensidade do vermelho) e b^* (intensidade do amarelo) foram medidos sobre uma placa branca.

2.8. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

2.8.1. Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) os espectros dos filmes foram registrados em Espectrômetro FTIR Cary 630 (Agilent, Santa Clara, CA), acoplado a um acessório de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de seleneto de zinco na faixa de 500 a 4000 cm^{-1} .

2.8.2. Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TGA) (Shimadzu, DTG-60AH) dos filmes foi determinada na faixa de temperatura entre 25 a 600 °C, taxa de aquecimento de 10 ° C/min e nitrogênio a 50 mL/min como gás carreador. A aquisição dos registros foi realizada no Software TA60 versão 2.21 (Shimadzu, Kyoto, Japão).

2.8.3. Difração de Raio- X

As amostras foram depositadas sobre suporte de vidro do equipamento e exposta à radiação Cu ($K\alpha_1=1,540598 \text{ \AA}$) submetida à 40 kV de voltagem e corrente de 40 mA de $l = 1,78897 \times 10^{-1} \text{ nm}$, no difratômetro: D8 Advance da Bruker com geometria Bragg-Brentano e detector LynxEye, com tempo de varredura de 0.4s na geometria Bragg-Brentano de $5 < \theta < 60$. Fenda divergente 0,6mm. Fenda Soller: 2,5°. Filtro $K\beta$ de Ni. A coleta dos difratogramas foi realizada com passo angular de 0,02° e o tempo por passo 0.4s.

2.8.4. Microscópica eletrônica de varredura da superfície dos filmes biodegradáveis

A microestrutura da superfície do filme foi determinada utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Microscópio de bancada, TM 300; Hitachi, Tóquio, Japão), que operou em uma voltagem de 15 kV de feixe de elétrons. As amostras foram fixadas com fita condutora nos “stubs” de alumínio e analisadas em aumentos de 100 e 1000 e 2000 x.

2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi realizada no programa Statistica® versão 7.0 (StartSoft, 2004) por meio da Análise de Variância (ANOVA) e teste de tukey.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. SECAGEM DAS PM

3.1.1. Curva de secagem

As curvas de secagem das PM em diferentes temperaturas são apresentadas na Figura 1. Os resultados experimentais ilustram a ausência de período de taxa de secagem constante e ocorreu somente no período de taxa decrescente. As maiores taxas de secagem foram observadas em temperatura mais elevadas, favorecendo a eliminação de água do produto e a diminuição do tempo de secagem, o que pode ser confirmado pelo valor da difusividade efetiva ($Deff = 149,3 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ para 40 °C, $Deff = 315,4 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ para 60 °C e $Deff = 493,0 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ para 80 °C). Toujani et al. (2012) observaram o mesmo comportamento em secagem convectiva de peixe prata, que está relacionado com a maior transferência de calor e massa em temperaturas do ar mais elevadas.

Os tempos de secagem por convecção nas diferentes temperaturas foram: 40 °C: 540 min, 60 °C: 300 min e 80 °C: 120 min.

Levando em consideração os maiores valores de coeficiente de determinação (R^2), e baixos de qui-quadrado (X^2) e erro médio relativo quadrático (RMSE) (Tabela 2) pode-se observar que dentre os modelos testados, o Logarítmico seguido do Aproximação da difusão foram os que melhor se ajustaram para todas as temperaturas. Portanto, os mesmos podem prever com precisão a cinética de secagem de PM de peixe.

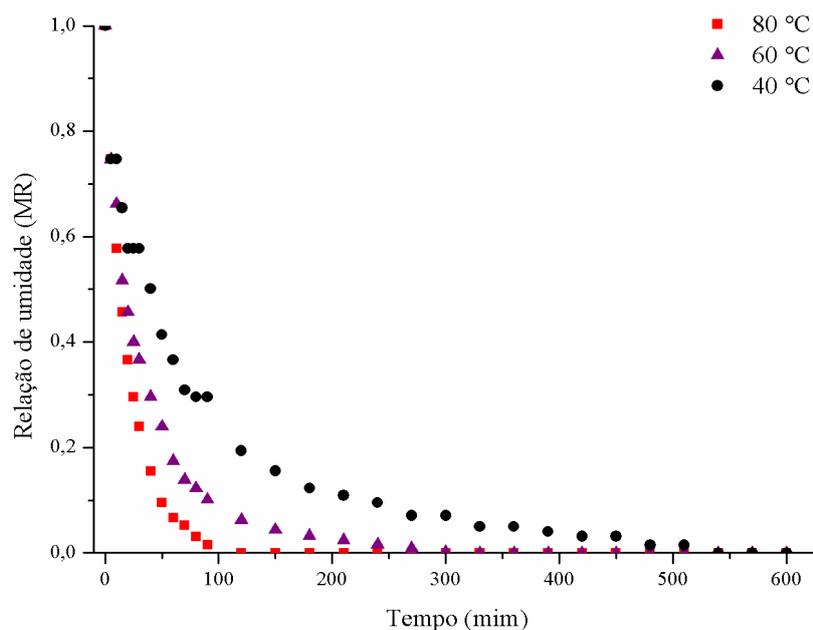


Figura 1. Curvas de secagem de proteínas miofibrilares de peixe secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C.

Tabela 2. Valores do R^2 , X^2 e RMSE para as regressões não lineares dos modelos ajustados aos dados de secagem de PM de peixe secas a 40°C, 60°C e 80°C.

Modelo	Parâmetros estatísticos								
	R ²	X ²	RMSE	R ²	X ²	RMSE	R ²	X ²	RMSE
	40°C			60°C			80°C		
Newton	0,971	0,002	0,047	0,989	0,0009	0,029	0,998	2,320x 10 ⁻⁵	0,005
Lewis	0,971	0,002	0,04	0,989	0,0009	0,029	0,998	2,320 x 10 ⁻⁵	0,004
Dois termos exponencial	0,985	0,005	0,072	0,996	0,0003	0,018	0,999	3,470 x 10 ⁻⁵	0,005
Logaritmico	0,990	2,14 x 10 ⁻¹⁷	4,66 x 10 ⁻⁹	0,994	2,8 x 10 ⁻¹⁷	4,05 x 10 ⁻⁹	0,999	1,4 x 10 ⁻¹⁷	3,6 x 10 ⁻⁹
Aproximação da difusão	0,995	0,001	0,033	0,999	7,18 x 10 ⁻⁵	0,008	0,999	9,56 x 10 ⁻⁷	0,0009

3.2. CARACTERIZAÇÃO DAS PM SECAS POR LIOFILIZAÇÃO E POR CONVECÇÃO

A Tabela 3 apresenta os resultados da composição centesimal e oxidação lipídica das PM secas por liofilização e por convecção. Na composição centesimal, alto teor proteico foi observado, característica importante para a formação dos filmes (ARAÚJO et al., 2018). O elevado teor de lipídeos está relacionado ao tipo de resíduo utilizado, pois a carcaça é uma região do peixe com alto teor de gordura. Os valores de cinzas ligeiramente mais elevados são devido à presença de resquícios de espinhas da carcaça utilizada na obtenção da CMS de onde foram extraídas as proteínas (BATISTA et al., 2020; MURUETA; TORO; CARREÑO, 2007).

Os maiores valores de TBARS foram observados nas proteínas liofilizadas quando comparadas com as secas por convecção, as quais apresentaram diminuição dos valores em função do aumento da temperatura (Tabela 3). Sae-Leaw; Benjakul; O'Brien (2016) observaram comportamento similar ao secar gelatina de peixe por diferentes métodos e temperaturas, indicando que os produtos secundários da oxidação lipídica são voláteis e foram parcialmente removidos com o aumento da temperatura na secagem por convecção.

Tabela 3. Composição centesimal e teor de oxidação lipídica das PM secas por liofilização e por convecção em diferentes temperaturas.

Determinações	MP- L	MP- 40	MP- 60	MP- 80
Proteínas	86.12±0.916 ^a	86.27±0.186 ^a	86.72±0.041 ^a	86.04±0.031 ^a
Lipídeos	10.33±0.581 ^a	11.02±0.390 ^a	10.77±0.141 ^a	11.58±0.810 ^a
Cinzas	3.17±0.046 ^b	3.18±0.071 ^{a,b}	3.25±0.009 ^{a,b}	3.39±0.007 ^a
Umidade	0.06±0.0007 ^c	0.08±0.0001 ^a	0.06±0.0012 ^c	0.07±0.0010 ^b
TBARS	2.79±0.017 ^a	1.68±0.001 ^b	1.25±0.015 ^c	1.22±0.010 ^c

MP-L: MP secas por liofilização; MP-40, MP-60, MP-80: MP secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente. TBARS (mg de malonaldeído /Kg de amostra). a, b, c: refere-se ao teste de Tukey, Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$).

3.3. ELETROFORESE (SDS-PAGE)

As PM secas por diferentes métodos e temperaturas apresentaram perfis proteicos diferentes (Figura 2). Foi possível identificar para todas as secagens as bandas bem definidas de miosina e actina como proteínas dominantes. Na proteína seca por liofilização a banda de miosina apareceu forte e intensa. Na secagem por convecção, essa banda reduziu gradualmente a intensidade e surgiram novas bandas entre a miosina e a actina a medida que a temperatura de secagem aumentava. De acordo com Kaewprachu et al. (2016), as diferenças observadas na intensidade ou no aparecimento de novas bandas está relacionado a degradação das proteínas. Portanto, esse resultado sugere que em temperaturas mais elevadas, a miosina sofreu maior degradação gerando peptídeos de menores pesos moleculares.

Para actina, a banda mais intensa foi visualizada para proteínas liofilizadas. As proteínas secas por convecção apresentaram bandas menos intensas e não ocorreram muitas alterações nas diferentes temperaturas. O que indica que a liofilização foi o método de secagem que mais preservou a estrutura dessas proteínas.

A Tabela 5 mostra que os filmes elaborados com essas proteínas apresentaram diferenças em suas propriedades, devido ao perfil das proteínas. As proteínas secas a 80 °C

apresentam banda menos intensa de miosina, o que pode ter favorecido a maior resistência a tração e alongação no filme F-80. Kaewprachu et al. (2017), trabalhou com proteínas miofibrilares da tilápia (*Orcochromis niloticus*) e observaram que a diminuição na intensidade da banda de miosina coincidiu com o aumento da resistência a tração dos filmes. Portanto, a degradação da miosina a peptídeos de menor peso molecular favoreceu essa propriedade do filme. E de modo geral, o perfil eletroforético das MP foi compatível ao observado por outros autores (ARAÚJO et al., 2018; PEREIRA et al., 2019).

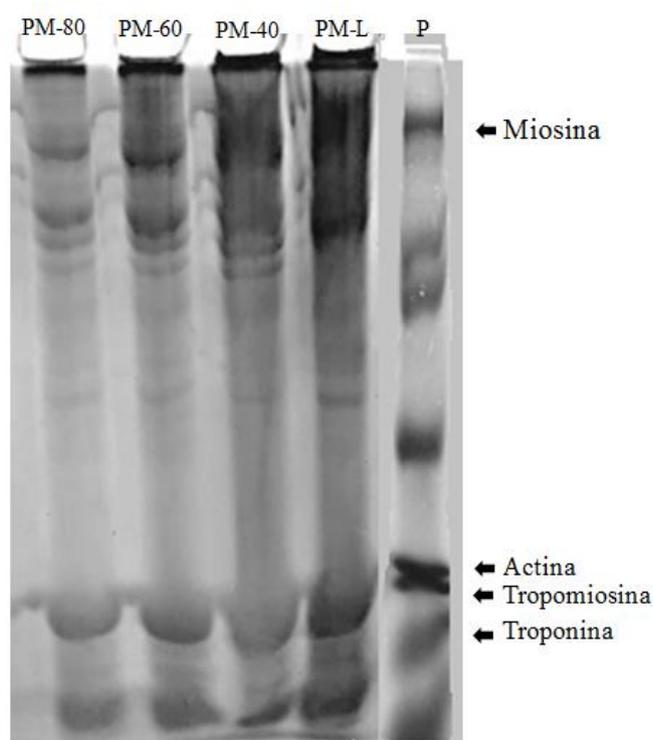


Figura 2. Perfil eletroforético SDS-PAGE das amostras de MP. MP-L: MP secas por liofilização; MP-40, MP-60 e MP-80: proteínas miofibrilares secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente. P: padrão BIO-RAD.

3.4. CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DAS SOLUÇÕES FILMOGÊNICAS

Na Figura 3A observa-se a tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento. A inclinação da curva para cima à medida que a taxa de cisalhamento aumenta, indica que as soluções se comportaram como fluido não newtoniano com características de fluido dilatante. Esse comportamento é confirmado na Figura 3B, que correlaciona viscosidade aparente com taxa de cisalhamento, pelo aumento da viscosidade à medida que a taxa de cisalhamento aumenta.

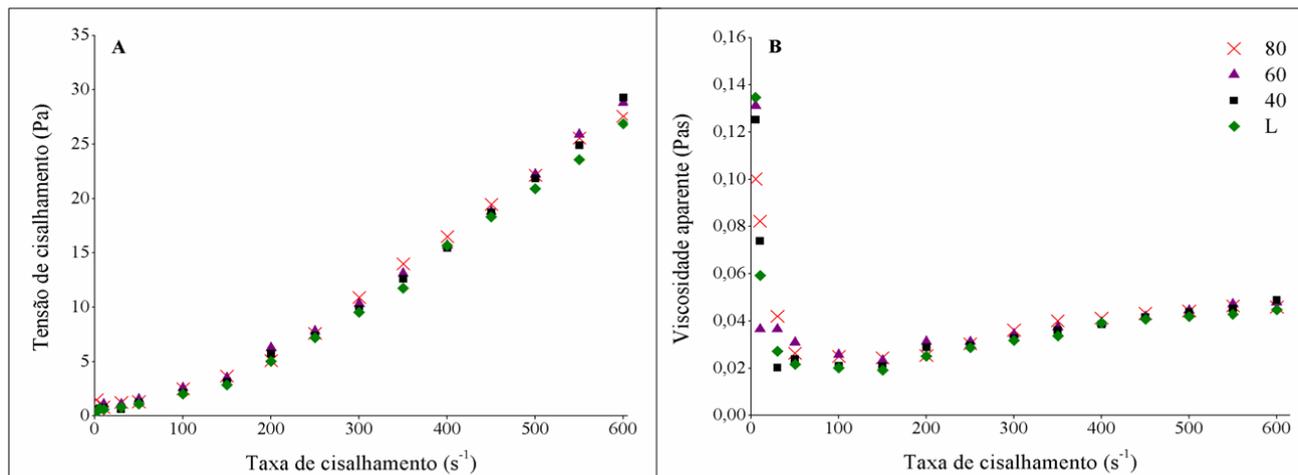


Figura 3. (A) Curvas de tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento. (B) Curvas de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento. F-L: solução filmogênica de PM secas por liofilização; F-40; F-60 e F-80: soluções filmogênicas de PM secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente.

A Tabela 4 apresenta os valores dos parâmetros reológicos e estatísticos obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais ao modelo de Ostwald de Waele e os resultados de viscosidade aparente. Pode-se observar que o modelo representou satisfatoriamente o comportamento reológico das soluções filmogênicas, produzindo excelentes coeficientes de correlação linear (R^2). Os valores de n (índice de comportamento do fluxo) maiores que 1 ($n > 1$) confirmam o comportamento dilatante das soluções filmogênicas. O aumento crescente nos valores de k (índice de consistência) sugerem aumento na viscosidade das soluções produzidas com as proteínas secas por convecção, o que é confirmado pelos maiores valores de viscosidade aparente (ECHEVERRÍA et al., 2014). No entanto, mesmo com o aumento, todas as soluções mantiveram-se com resultados de viscosidade abaixo do valor limite recomendando (0,7 Pas) para elaboração de filmes (CUQ et al., 1995).

O valor da viscosidade aparente dentro do recomendado para elaboração de filmes é importante, pois pode influenciar na formação do filme causando alterações nas propriedades tecnológicas, tais como: espessura, propriedades mecânicas, PVA e presença de poros e fissuras associados à dificuldade de eliminação de bolhas de soluções muito viscosas (HAN; GENNADIOS, 2005).

Tabela 4. Parâmetros do modelo de Ostwaldde Waele e viscosidade aparente calculados para as soluções filmogênicas.

Modelo	Parâmetros	Amostras			
		F-L	F-40	F-60	F-80
Ostwaldde Waele	K	0.002±0.0003 ^{a,b}	0.002±0.0002 ^b	0.003±0.0005 ^a	0.003±0.0005 ^a
	n	1.449±0.017 ^{a,b}	1.477±0.014 ^a	1.403±0.027 ^b	1.408±0.022 ^b
	R ²	0.985±0.005 ^a	0.990±0.0007 ^a	0.986±0.002 ^a	0.991±0.001 ^a
Viscosidade aparente (Pas)	500 s ⁻¹	0.041±0.001 ^b	0.043±0,001 ^a	0.044±0.003 ^a	0.044±0,002 ^a

F-L: solução filmogênica de PM secas por liofilização; F-40; F-60 e F-80: soluções filmogênicas de PM secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente. a, b: refere-se ao teste de Tukey. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$).

3.5. DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Na Tabela 5 encontram-se as propriedades tecnológicas dos filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares secas por liofilização e por convecção.

As espessuras dos filmes variaram entre 0.04 a 0.05 mm permanecendo dentro da faixa relatada na literatura para filmes de MP de peixe (ARAÚJO et al., 2018; ROMANI et al., 2018; VIEIRA et al., 2018).

O F-80 apresentou maior resistência a tração ($p \leq 0,05$), embora esta condição de secagem tenha causado maior desnaturação das proteínas, conforme observado no perfil eletroforético (Figura 2), esta alteração favoreceu a formação de filmes mais resistentes. Autores como García; Sobral (2005), Hoque et al. (2010) e Schmid et al. (2017) também observaram aumento na resistência a tração de filmes de MP de tilápia, gelatina de peixe e de soro do leite, respectivamente, quando essas proteínas foram expostas a temperaturas mais altas. Segundo esses autores, o desdobramento das moléculas de proteínas quando aquecidas proporcionam a formação de ligações dissulfeto, que são capazes de estabilizar a rede de proteínas e como resultado ocorre à formação de filmes mais resistentes.

Maior resistência à tração normalmente causa menor elasticidade (HOQUE et al., 2010). No entanto, observou-se que os filmes com maior RT também apresentaram maior alongação, reafirmando que houve rearranjo molecular que proporcionou a formação de filmes mais resistente e manteve a elasticidade.

Tabela 5. Caracterização mecânica, física, de barreira e cor dos filmes biodegradáveis obtidos com MP secas por liofilização e por convecção.

Determinações	Resultados			
	F-L	F-40	F- 60	F- 80
Espessura (mm)	0.04±0.0006 ^a	0.05±0.0015 ^b	0.05±0.0025 ^b	0.04±0.0010 ^a
Resistência a tração (MPa)	3.83± 0.117 ^b	2.52± 0.069 ^c	2.68± 0.069 ^c	4.40± 0.118 ^a
Elongação (%)	278.49±0.019 ^a	247.71±1.018 ^b	209.73±1.781 ^c	278.52±0.018 ^a
PVA (x10 ⁻⁸ g. m ⁻¹ . s ⁻¹ . Pa ⁻¹)	4.60±0.160 ^b	5.75±0.0969 ^a	5.77±0.062 ^a	4.59±0.080 ^b
Solubilidade (%)	24.41±1.168 ^c	28.05±0.621 ^b	16.78±0.170 ^d	44.53±0.807 ^a
Parâmetros de cor				
<i>L</i> *	90.51±0.051 ^b	91.03±0.353 ^b	91.15±0.190 ^b	92.72±0.767 ^a
<i>a</i> *	-1.38±0.113 ^a	-1.55±0.084 ^a	-1.55±0.118 ^a	-1.35±0.115 ^a
<i>b</i> *	17.73±0.860 ^a	15.99±0.605 ^{a,b}	14.85±0.600 ^b	11.63±0.609 ^c

F-L: filme de MP secas por liofilização; F-40, F-60 e F-80: filmes de MP secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente. a, b, c: refere-se ao teste de Tukey. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância ($p \leq 0,05$).

Os filmes F-80 e F-L apresentaram os menores valores de PVA e F-40 e F-60 os maiores ($p \geq 0,05$). Uma vez que se espera menores valores de PVA, esse resultado sugere que as modificações na estrutura da proteína ocasionada pelo método de secagem apresentou pouca ou nenhuma influencia positiva na PVA dos filmes. Apesar do desdobramento das proteínas termicamente desnaturadas causarem a exposição de grupos sulfidril interno e cadeias laterais hidrofóbicas, que poderiam interagir e formar filme com melhor coesão, alguns autores têm demonstrado que o desdobramento da molécula de proteínas desempenha pouca influência positiva na PVA dos filmes com proteínas de diferentes origens (KOWALCZYK; BARANIAK, 2011; ROCHA et al., 2013; SCHMID et al. 2017).

Na Tabela 5 observa-se que os filmes F-60 e F-80 apresentaram as menores e maiores solubilidades, respectivamente. Bourtoom et al. (2006) e Rocha et al.(2013) verificaram que em temperaturas inferiores a 60 °C encontraram menor solubilidade e em temperaturas superiores a 70 °C a solubilidade dos filmes aumentou. Este resultado está relacionado com os tipos e quantidade de ligações estabelecidas no filme, conforme foi identificado nos resultados da análise de FTIR (Figura 4).

A cor é um parâmetro importante na caracterização de filmes, sendo influenciada diretamente pela matéria-prima utilizada na sua elaboração (Rocha et al. 2013). O F-80 apresentou maior luminosidade e menor valor de *b** ($p \leq 0,05$) caracterizando filmes mais

claros e menor tendência a coloração amarela, respectivamente. Devido ao alto teor de lipídeos presente nas PM utilizadas na produção dos filmes (Tabela 3), a principal reação responsável pelas variações de cor foi a oxidação lipídica. No entanto, foi observado cor mais clara nos filmes elaborados com proteínas secas por convecção, apesar da temperatura ser considerada um dos catalisadores dessa reação (WÓJCIAK; DOLATOWSKI, 2012). Segundo Sae-Leaw et al. (2016), a alteração da cor pela oxidação lipídica acontece porque os compostos secundário da oxidação lipídica (aldeídos, cetonas) podem reagir com grupos amino de aminoácidos ou peptídeos livres via reação de escurecimento não enzimático, podendo resultar em produtos com cor mais amarela. No entanto, esses compostos são voláteis, e possivelmente em uma temperatura de secagem mais elevada da proteína, os mesmos volatilizaram mais, o que justifica os filmes elaborados com proteínas secas por convecção apresentarem cor mais clara comparada ao obtido com proteínas liofilizadas. Esse comportamento pode ser confirmado com a análise de oxidação lipídica (TBARS) (Tabela 3), onde a proteína seca a 80°C apresentou o menor resultado.

3.6. CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

3.6.1. FTIR

Os diferentes métodos de secagem das proteínas causaram rearranjos conformacionais durante a formação do filme (Figura 4A). Espectros muito similares foram obtidos na faixa de 1800 e 1700 cm^{-1} referentes as amidas I (estiramento C=O), amida II (dobragem N-H), amida III (alongamento C-N e vibração de flexão N-H) e para a banda relacionada a interações com plastificante situada em 1043 cm^{-1} (grupo OH de glicerol) (HOQUE et al., 2010; KAEWPRACHU et al., 2018). A principal diferença espectral observada foi nas amplitudes das bandas das amidas A (alongamento de N-H acoplado a ligação de hidrogênio) amida B (alongamento assimétrico de C-H e NH_3^+) e interações hidrofóbicas (alongamento C-H) (KAEWPRACHU et al., 2018; VALENZUELA et al., 2013). Portanto, apenas essas regiões espectrais foram selecionadas para uma discussão mais aprofundada. Para melhorar a resolução espectral e identificar as principais diferenças entre os filmes nessas bandas, o espectro foi ampliado na região 4000-2500 cm^{-1} e uma sobreposição foi aplicada (Figura 4B).

A amida A apresentou uma ampla banda de absorção em 3277 cm^{-1} , para todos os filmes. Nesta região do espectro, o filme F-60 mostrou intensidade da banda mais baixa e o F-40 mais alta do que a observada pra os demais filmes. A menor intensidade observada no filme F-60 provavelmente está relacionada com um maior grau de reticulação da rede de proteínas, com cadeias mais próximas uma das outras promovidas por ligações de hidrogênio

mais frequentes (RAMOS et al., 2013). Enquanto a maior intensidade observada no filme F-40, sugere que essas interações foram reduzidas nesse filme. Segundo Hoque; Benjakul; Prodpran (2011), maiores amplitudes em amida A sugerem diminuição das interações entre as moléculas de proteínas causando menor reticulação. Na amida B (2919 cm^{-1}), comportamento contrário foi observado.

A presença de interações hidrofóbicas foi identificada no comprimento de onda 2852cm^{-1} . O aparecimento dessa banda é comum em filmes adicionados de óleos como relatado por Tongnuanchan et al. (2014) que estudou filmes de gelatina de peixe incorporados com óleos essenciais de manjerição e citronela. Portanto, o alto teor lipídico presente nas proteínas utilizadas na produção do filme possivelmente contribuiu para surgimento dessa banda. Além disso, interações hidrofóbicas também pode surgir interações hidrofóbicas ou tornarem-se mais frequentes com a desnaturação das proteínas, pois ocorre a ruptura da estrutura terciária e assim a exposição dos grupos hidrofóbicos localizados no interior da estrutura, tornando-os disponíveis para formar interações entre diferentes moléculas de proteínas (ROCHA et al., 2013).

Esse resultado é consistente com os dados referentes a estabilidade térmica que mostraram que o filme F-60 apresentou maior estabilidade térmica (Figura 5) provavelmente devido a uma rede de proteínas altamente reticulada causado por numerosas ligações de hidrogênio identificada na amida A e por interações hidrofóbicas. Esse comportamento também pode está relacionado com o baixo resultado de solubilidade para este filme, uma vez que a rede de polímeros proteicos era altamente estável (RAMOS et al., 2013). A baixa solubilidade também confirma a formação de ligações covalentes como ligações dissulfeto intermoleculares no filme (SCHMID et al., 2017).

Apesar dos espectros sugerirem que o filme F-60 apresentou uma rede altamente reticulada, essa condição não foi favorável para as propriedades mecânicas. Isso pode ser justificado, uma vez que ligações proteína-proteína muito fortes ou numerosas podem tornar o filme duro ou quebradiço (CUQ et al., 1995; HAN; GERNNADIOS, 2005). Para essas propriedades, o filme F-80 apresentou maiores valores de RT e alongação.

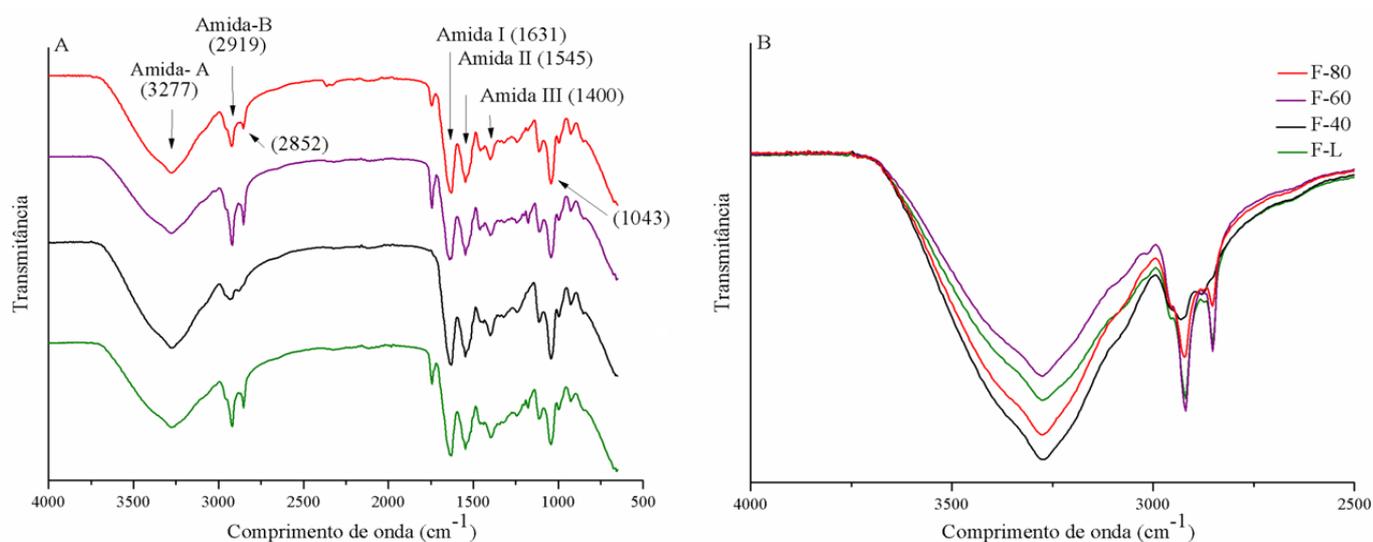


Figura 4. Espectros de FTIR dos filmes. (A) Espectros de 4000 -500 cm^{-1} . (B) Espectros ampliado na região 4000-2500 cm^{-1} . F-L: filme de PM secas por liofilização; F-40, F-60 e F-80: filmes de PM secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente.

3.6.2. TGA e difração de raio-x

Os filmes mostraram comportamentos semelhantes com três etapas principais de perda de peso (Figura 5A). A primeira fase da perda de peso foi observada a uma temperatura de decomposição inicial variando de 51.02 – 53.68 °C (Tabela 6), possivelmente associada com a perda de água livre e ligada presente nos filmes (BATISTA et al., 2019).

A segunda fase relacionada com a degradação de frações de proteínas de baixo peso molecular e evaporação do glicerol, a temperatura de degradação variou de 138.29 – 153.23 °C. Na terceira fase (272.68 – 300.05 °C) ocorreu a degradação de frações proteicas de maior peso molecular ou aquelas fortemente associadas (ARFAT et al., 2014; EL HALAL et al., 2016).

Os resultados da segunda e da terceira fase sugerem que o filme F-40 apresentou menor e o F-60 maior estabilidade térmica em comparação com outros filmes. A maior estabilidade observada para o F-60 corrobora com os resultados de FTIR. De acordo com Barreto; Pires; Soldi (2003), a estabilidade térmica dos filmes é reforçada por interações proteicas como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas.

Na difração de raio-x, os filmes apresentaram uma estrutura não cristalina típica, com picos alargados em torno de $2\theta=20$ (F-L: 20.768°; F-40: 19.542°; F-60: 20.094°; F-80: 19,461° e 23.791°) característica de estruturas amorfas, isto é, desordenada e pouco detectável por DRX com muito pouco grau de cristalinidade (Figura 5B). Filmes de proteínas normalmente possuem a característica de apresentar um pico amplo centrado em torno de 2θ

= 20° , representando um tipo especial de estrutura amorfa (BENBETTAÏEB et al., 2016; SOO; SARBON, 2018).

Apesar de todos os filmes apresentarem o mesmo pico em torno de $2\theta = 20^\circ$, houve diferença nas amplitudes. A maior amplitude foi observada para o pico do F-60. Segundo Le Tien et al. (2000), esse comportamento sugere que o filme apresenta aumento do grau de reticulação gerando uma estrutura mais ordenada e mais estável, reafirmando os resultados de FTIR e TGA. No F-80, observou-se o aparecimento de um segundo pico (23.791), sugerindo um possível aumento de sua cristalinidade geral. Esse aumento pode estar relacionado com os maiores valores de resistência a tração e alongação observadas para este filme Li et al.(2011) também observaram que o aumento na cristalinidade dos filmes resultou em melhores propriedades mecânicas.

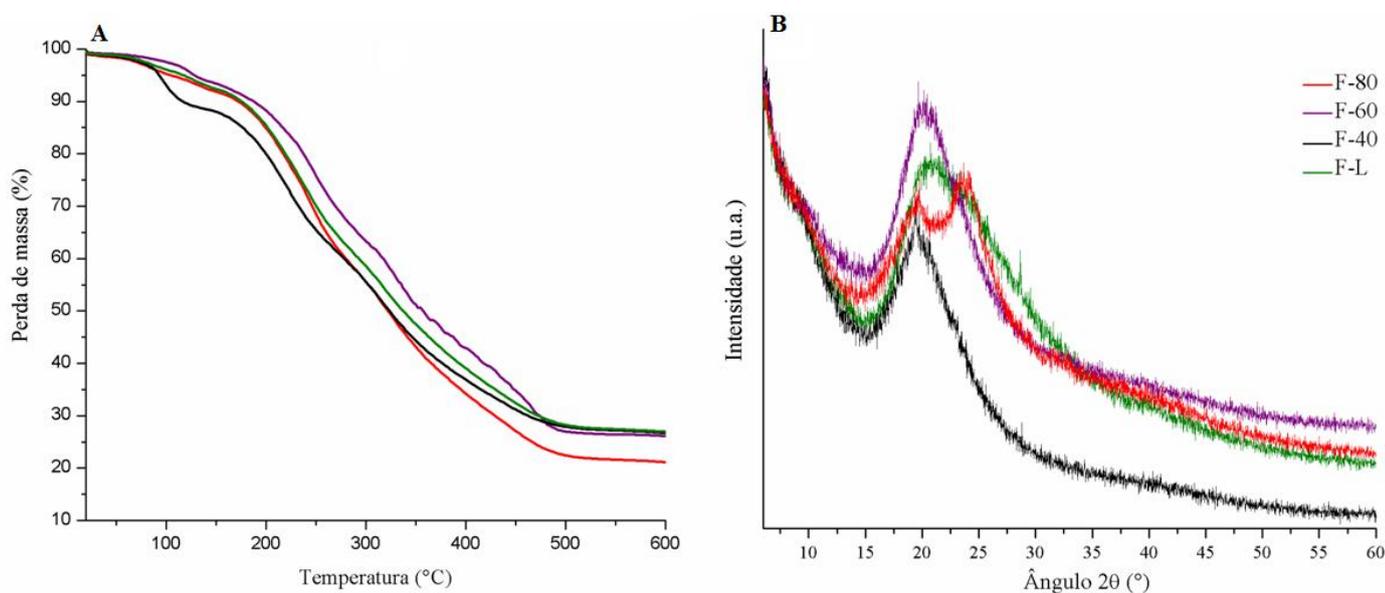


Figura 5. (A) Curvas de TGA dos filmes. (B) Difratoograma dos filmes F-L: filme de PM secas por liofilização; F-40, F-60 e F-80: filmes de PM secas por convecção a 40°C , 60°C e 80°C respectivamente.

Tabela 6. Temperatura de degradação térmica (T , °C) e perda de peso (ΔP , %) dos filmes biodegradáveis obtidos com PM de peixe secas por liofilização e por convecção.

Filmes	Evento 1		Evento 2		Evento 3		Resíduo (%)
	T_1 (°C)	ΔP_1 (%)	T_2 (°C)	ΔP_2 (%)	T_3 (°C)	ΔP_3 (%)	
F-L	51.20	5.48	150.74	28.17	290.01	40.97	25.38
F-40	53.68	9.86	138.29	27.61	272.68	37.69	24.84
F-60	53.68	5.75	153.23	29.89	300.05	39.61	24.75
F-80	51.02	6.06	153.23	32,98	287.61	41.49	19.47

F-L: filme de PM secas por liofilização; F-40, F-60 e F-80: filmes de PM secas por convecção a 40°C, 60°C e 80°C respectivamente.

3.6.3. MEV da superfície dos filmes

Nas imagens de microscopia (Figura 6) é possível observar que não houve acentuadas diferenças na superfície dos filmes obtidos com proteínas secas por liofilização e convecção em diferentes temperaturas, indicando que os diferentes tratamentos não causaram grandes alterações na morfologia dos filmes. Todos os filmes apresentaram superfícies densa, compacta, com leves irregularidades, manchas ocasionadas pela presença de lipídeos e pontos brancos, que podem ser proteínas não solubilizadas. Araújo et al.(2018) também observaram a presença de pontos brancos em filmes de proteínas miofibrilares de peixe e relacionaram com materiais insolúveis. Além disso, Batista et al.(2020) relacionaram esses pontos brancos com a presença de cálcio que pode estar presente em filmes produzidos com proteínas extraídas de carne mecanicamente separada (CMS).

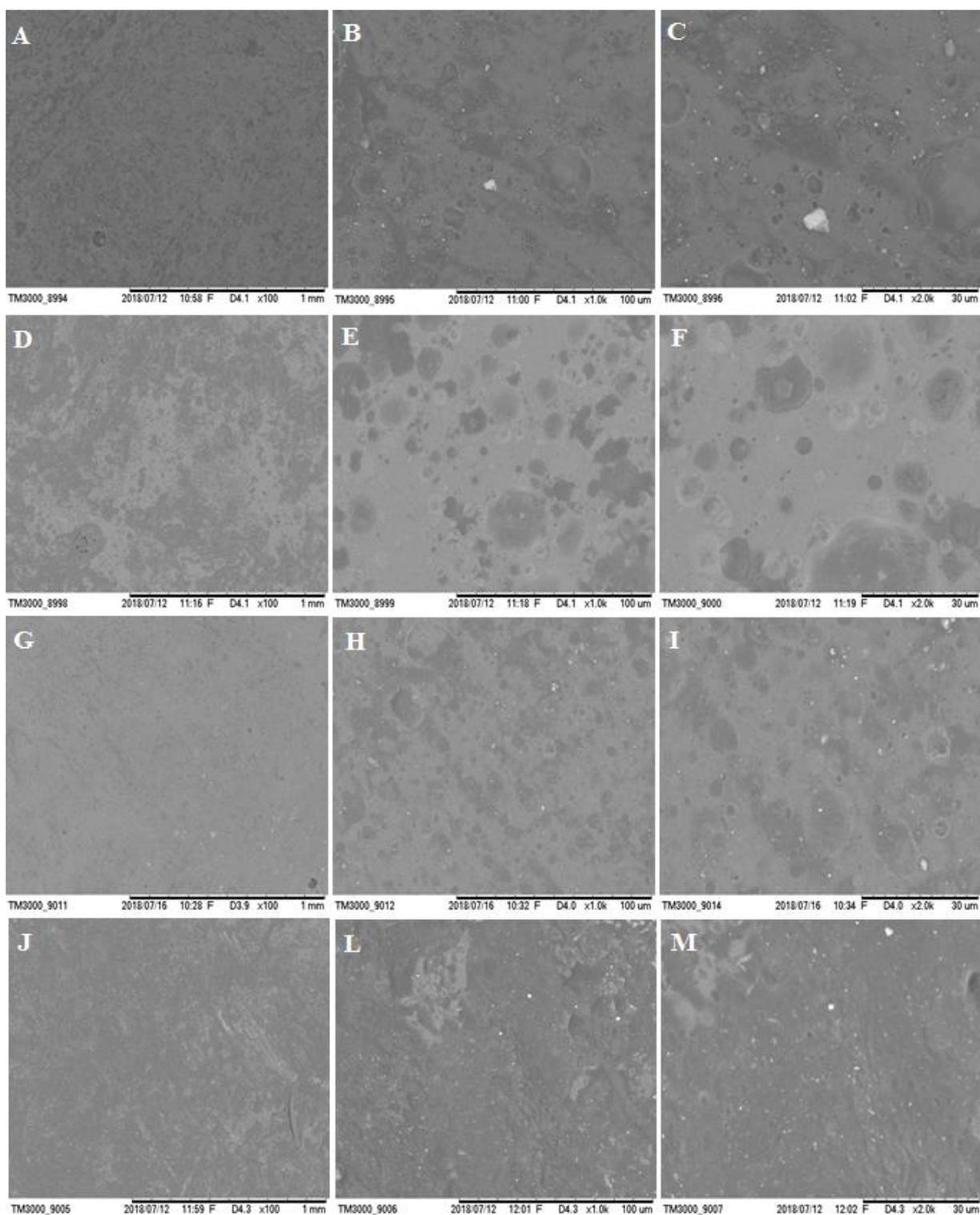


Figura 6. Microfotografias da superfície dos filmes nas ampliações 100X, 1000X e 2000X. A - C: filme de PM secas por liofilização (F-L). D - F: filme de PM secas por convecção a 40°C (F-40). G - I: filme de PM secas por convecção a 60°C (F-60). J - M: filme de PM secas por convecção a 80°C (F-80).

De acordo com os resultados, foi possível verificar que a secagem por convecção de ar quente pode ser usada com eficiência em PM utilizadas na produção de filmes

biodegradáveis. O processo de secagem é uma etapa de alto consumo de energia, que consome de 10 a 25% da demanda total de energia de uma indústria (KAVEH; ABBASPOUR-GILANDEH, 2020). Uma economia de energia de 1% em processos de secagem pode economizar mais de 10% dos custos totais de produção (PHAM; KHAN; KARIM, 2020). Levando isso em consideração, pode-se considerar que o uso de secagem convectiva possibilita diminuir o tempo e o custo de elaboração do filme. Além disso, os resultados também mostraram que as proteínas secas a 80°C formaram filmes com propriedades tecnológicas iguais ou melhores aos filmes produzidos com proteínas liofilizadas, reafirmando a melhor viabilidade da secagem convectiva.

4. CONCLUSÃO

Os resultados da eletroforese das PM demonstraram que as condições de secagem ocasionaram modificações na estrutura tridimensional, indicando que em temperaturas mais elevadas a miosina sofre maior degradação, modificando as propriedades tecnológicas dos filmes produzidos.

Os filmes produzidos com proteínas secas por convecção, especialmente o F-80 apresentou propriedades iguais ou melhores que os filmes de proteína liofilizada (F-L) para resistência a tração, alongação e PVA. Isso ocorreu porque a secagem convectiva favoreceu a formação de uma rede de proteínas altamente reticulada causado por numerosas ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas no filme.

O processo de secagem por liofilização de PM para elaboração de filmes biodegradáveis pode ser substituído pela convecção a 80 °C, possibilitando diminuir o custo de produção, além de melhorar suas propriedades tecnológicas.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior - Brasil (CAPES) [Código de financiamento 001]; o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq [projeto de número 469101/2014]; e a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPEP) da Universidade Federal do Pará.

REFERÊNCIAS

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th, Washington, v.2, p.850, 1997.

ARAÚJO, C. S.; RODRIGUES, A. M. C.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; ARAÚJO, E. A. F.; LOURENÇO, L. F. H. Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 23–30, 2018.

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, 2014.

ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. *Annual Book of ASTM Standards*, ASTM D882. 1996.

BARRETO, P. L. M.; PIRES, A. T. N.; SOLDI, V. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. **Polymer Degradation and Stability**, v. 79, p. 147–152, 2003.

BATISTA, J. T. B.; MATIAS, C. S. A.; FREITAS, M. M. S.; NASCIMENTO, G. S.; VIEIRA, L. L.; LOURENÇO, L. F. H. Technological Properties of Biodegradable Films Produced with Myofibrillar Proteins Extracted from Gilded cat-fish (*Brachyplatystoma rousseauxii*) Carcasses and Parings. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 29, p. 238–252, 2020.

BATISTA, J. T. S.; ARAÚJO, C. S.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; SILVA, J. O. C.; LOURENÇO, L. F. H. Study of the Effect of the Chitosan Use on the Properties of Biodegradable Films of Myofibrillar Proteins of Fish Residues Using Response Surface Methodology. **Food Packag. Shelf Life**, v. 20, p. 100306, 2019.

BENBETTAÏEB, N.; KARBOWIAK, T.; BRACHAIS, C. H.; DEBEAUFORT, F. Impact of Electron Beam Irradiation on Fish Gelatin Film Properties. **Food Chemistry**, v. 195, p. 11–18, 2016.

BOUDHRIOUA, N.; BONAZZI, C.; DAUDIN, J. D. Estimation of Moisture Diffusivity in Gelatin-Starch Gels Using Time-Dependent Concentration-Distance Curves at Constant Temperature. **Food Chemistry**, v. 82, p. 139–149, 2003.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S.; JANTAWAT, P.; SANGUANDEEKUL, R. Effect of Select Parameters on the Properties of Edible Film from Water-Soluble Fish Proteins in Surimi Wash-Water. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, p. 406–419, 2006.

BRUCE, D. Exposed-Layer Barley Drying, Three Models Fitted to New Data up to 150C. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 32, p. 337–347, 1985.

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible Packaging Films Based on Fish Myofibrillar Proteins: Formulation and Functional Properties. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 1369–1374, 1995.

DOYMAZ, I.; PALA, M. The Thin-Layer Drying Characteristics of Corn. **Journal of Food Engineering**, v. 60, p. 125–130, 2003.

ECHEVERRÍA, I.; EISENBERG, P.; MAURI, A. N. Nanocomposites Films Based on Soy Proteins and Montmorillonite Processed by Casting. **Journal of Membrane Science**, v. 449, p. 15–26, 2014.

EL HALAL, S. L. M.; ZAVAREZE, E. R.; ROCHA, M.; PINTO, V. Z.; NUNES, M. R.; LUVIELMO, M. M.; PRENTICE, C. Films Based on Protein Isolated from Croaker (*Micropogonias Furnieri*) and Palm Oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, 2478–2485, 2016.

FENG, Y.; FENG, Y.; ZHOU, C.; YAGOUB, A. E. A.; XU, B.; SUN, Y.; MA, H.; XU, X.; YU, X. Effect of Freeze- Thaw Cycles Pretreatment on the Vacuum Freeze- Drying Process and Physicochemical Properties of the Dried Garlic Slices. **Food Chemistry**, v. 324, p. 126883, 2020.

GARCÍA, F. T.; SOBRAL, P. J. D. A. Effect of the Thermal Treatment of the Filmogenic Solution on the Mechanical Properties, Color and Opacity of Films Based on Muscle Proteins of Two Varieties of Tilapia. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, p. 289–296, 2005.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: Water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p. 39–50, 1994.

GOUNGA, M. E.; XU, S. Y.; WANG, Z. Whey Protein Isolate-Based Edible Films as Affected by Protein Concentration, Glycerol Ratio and Pullulan Addition in Film Formation. **Journal of Food Engineering**, v. 83, p. 521–530, 2007.

GAUTAM, R. K.; KAKATKAR, A. S.; KARANI, M. N. Development of Protein- Based Biodegradable Films from Fish Processing Waste. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, p. 878–888, 2016.

HAMMANN, F.; SCHMID, M. Determination and Quantification of Molecular Interactions in Protein Films: A Review. **Materials**, v. 7, p. 7975–7996, 2014.

HAN, J. H.; GENNADIOS, A. Edible Films and Coatings: A Review. **Innovations in Food Packaging**, p. 239–262, 2005.

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.

HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effects of Partial Hydrolysis and Plasticizer Content on the Properties of Film from Cuttlefish (*Sepia Pharaonis*) Skin Gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 82–90, 2011.

KAVEH, M.; ABBASPOUR-GILANDEH, Y. Impacts of Hybrid (Convective-Infrared-Rotary Drum) Drying on the Quality Attributes of Green Pea. **Journal of Food Process Engineering**, v. 43, p. 1–15, 2020.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; RAWDKUEN, S. Effect of Protein Concentrations on the Properties of Fish Myofibrillar Protein Based Film Compared with PVC Film. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 2083–2091, 2016.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; TONGDEESOONTORN, W.; RAWDKUEN, S. The Effects of Microbial Transglutaminase on the Properties of Fish Myofibrillar Protein Film. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 12, p. 91–99, 2017.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; RUNGRAENG, N.; RAWDKUEN, S. Characterization of Fish Myofibrillar Protein Film Incorporated with catechin-Kradon Extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1463–1473, 2018.

KOWALCZYK, D.; GUSTAW, W.; _SWIECA, M.; BARANIAK, B. A. Study on the Mechanical Properties of Pea Protein Isolate Films. **Journal of Food Engineering**, v. 38, p. 1726–1736, 2014.

KOWALCZYK, D.; BARANIAK, B. Effects of Plasticizers, pH and Heating of Film-Forming Solution on the Properties of Pea Protein Isolate Films. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 295–305, 2011.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680–685, 1970.

LE TIEN, C.; LETENDRE, M.; ISPAS-SZABO, P.; MATEESCU, M. A.; Delmas- Patterson, G.; Yu, H. L.; Lacroix, M. Development of Biodegradable Films from Whey Proteins by Cross- Linking and Entrapment in Cellulose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5566–5575, 2000.

LEMON, D. W. An Improved TBA Test for Rancidity. Fisheries and Marine Service, New Series Circular. Halifax, Nova Scotia: E. G. Bligh. p. 0-3, 1975.

LI, B.; LI, J.; XIA, J.; KENNEDY, J. F.; YIE, X.; LIU, T. G. Effect of Gamma Irradiation on the Condensed State Structure and Mechanical Properties of Konjacglucomannan/Chitosan Blend Films. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 44–51. 2011.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 85–92. 2010.

MUJUMDAR, A. S. Handbook of Industrial Drying; Marcel Dekker: Nova York, England, 1987.

MURUETA, J. H. C.; TORO, M. de los Á. N. del.; CARREÑO, F. G. Concentrates of Fish Protein from Bycatch Species Produced by Various Drying Processes. **Food Chemistry**, v. 100, p. 705–711, 2007.

MARCUZZO, E.; PERESSINI, D.; DEBEAUFORT, F.; SENSIDONI, A. Effect of Process Temperature on Gl_uten Film Properties. **Italian Journal of Food Science**, v. 23, p. 202–207, 2011,

MARTINS, M. G.; PENA, R. S. Combined Osmotic Dehydration and Drying Process of Pirarucu (Arapaima Gigas) Fillets. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 3170–3179, 2017.

NIE, X.; ZHAO, L.; WANG, N.; MENG, X. Phenolics- Protein Interaction Involved in Silver Carp Myofibrillar Protein Films with Hydrolysable and Condensed Tannins. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, p. 258–264, 2017.

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

PHAM, N. D.; KHAN, M. I. H.; KARIM, M. A. A. Mathematical Model for Predicting the Transport Process and Quality Changes during Intermittent Microwave Convective Drying. **Food Chemistry**, v. 325, p. 126932, 2020.

RAMESH, M. N.; WOLF, W.; TEVINI, D.; JUNG, G. Influence of Processing Parameters on the Drying of Spice Paprika. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 63–72, 2001.

RAMOS, Ó. L.; REINAS, I.; SILVA, S. I.; FERNANDES, J. C.; CERQUEIRA, M. A.; PEREIRA, R. N.; VICENTE, A. A.; POÇAS, M. F.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Effect of Whey Protein Purity and Glycerol Content upon Physical Properties of Edible Films Manufactured Therefrom. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 110–122, 2013.

ROCHA, M. da; LOIKO, M. R.; GAUTÉRIO, G. V.; TONDO, E. C.; PRENTICE, C. Influence of Heating, Protein and Glycerol Concentrations of Film-Forming Solution on the Film Properties of Argentine Anchovy (*Engraulis Anchoita*) Protein Isolate. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 666–673, 2013.

ROMANI, V. P.; MACHADO, A. V.; OLSEN, B. D.; MARTINS, V. G. Effects of pH Modification in Proteins from Fish (Whitemouth Croaker) and Their Application in Food Packaging Films. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 307–314, 2018.

SAE-LEAW, T.; BENJAKUL, S.; O'BRIEN, N. M. Effect of Pretreatments and drying methods on the properties and fishy odor/flavor of gelatin from Seabass (*Lates calcarifer*) skin. **Drying Technology**, v. 34, p. 53–65, 2016.

SCHMID, M.; PRÖLS, S.; KAINZ, D. M.; HAMMANN, F.; GRUPA, U. Effect of Thermally Induced Denaturation on Molecular Interaction-Response Relationships of Whey Protein Isolate Based Films and Coatings. **Progress in Organic Coatings**, v. 104, p. 161–172, 2017.

SINGH, P.; TALUKDAR, P. Determination of Shrinkage Characteristics of Cylindrical Potato during Convective Drying Using Novel Image Processing Technique. **Heat and Mass Transfer**, v. 56, p. 1223–1235, 2020.

SHABANPOUR, B.; KAZEMI, M.; OJAGH, S. M.; POURASHOURI, P. Bacterial Cellulose Nanofibers as Reinforce in Edible Fish Myofibrillar Protein Nanocomposite Films. **International Journal of Biological Macromolecule**, v. 117, p. 742–751, 2018.

SHARAF-ELDEEN, Y. I.; BLAISDELL, J. L.; HAMDY, M. Y. A Model for Ear Corn Drying. **Transaction of the ASAE**, v. 23, p. 1261–1271, 1980.

SOO, P. Y.; SARBON, N. M. Preparation and Characterization of Edible Chicken Skin Gelatin Film Incorporated with Rice Flour. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 15, p. 1–8. 2018.

StartSoft Statistica for Windows 7.0. Data analysis software system. Tulsa, Oklahoma. 2004.

SILVA, R. S.; SANTOS, B. M. M.; FONSECA, G. G.; PRENTICE, C.; CORTEZ- VEJA, W. R. Analysis of Hybrid Sorubim Protein Films Incorporated with Glycerol and Clove Essential Oil for Packaging Applications. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, p. 421–432, 2020,

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Structural, Morphological and Thermal Behavior Characterisations of Fish Gelatin Film Incorporated with Basil and Citronella Essential Oils as Affected by Surfactants. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 33–43, 2014.

TOUJANI, M.; HASSINI, L.; AZZOUZ, S.; BELGHITH, A. Experimental Study and Mathematical Modeling of Silverside Fish Convective Drying. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 37, p. 930–938, 2013.

VALENZUELA, C.; ABUGOCH, L.; TAPIA, C. Quinoa Protein-Chitosan-Sunflower Oil Edible Film: Mechanical, Barrier and Structural Properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 531–537, 2013.

VIEIRA, L. L.; ARAÚJO, C. S.; NEVES, E. M. P. X.; BATISTA, J. T. S.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; LOURENÇO, L. de F. H. Emulsified films produced with proteins extracted from white mouth croaker byproducts: Development and characterization. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 3, p. 360, 2018.

VILLA-CORRALES, L.; FLORES-PRIETO, J. J.; XAMÁN- VILLASEÑOR, J. P.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, E. Numerical and Experimental Analysis of Heat and Moisture Transfer during Drying of Ataulfo Mango. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 198–206, 2010.

WENG, W. Y.; HAMAGUCHI, P. Y.; OSAKO, K.; TANAKA, M. Properties of Edible Surimi Film as Affected by Heat Treatment of Film-Forming Solution. **Food Science and Technology Research**, v. 13, p. 391–398, 2007.

WÓJCIAK, K. M.; DOLATOWSKI, Z. J. Oxidative Stability of Fermented Meat Products. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 11, p. 99–109, 2012.

YAGCIOGLU, A.; DEGIRMENCIOGLU, A.; CAGATAY, F. Drying Characteristic of Laurel Leaves under Different Conditions. A. Bascetincelik (Org.); Proceedings of the 7th International Congress on Agricultural Mechanization and Energy. Faculty of Agriculture, Cukurova University, p. 565–569, 1999.

YALDÝZ, O.; ERTEKÝN, C. Thin Layer Solar Drying of Some Vegetables. **Drying Technology**, v. 19, p. 583–597, 2001.

YILMAZ, K.; TURHAN, S.; SARICA OGLU, F. T.; TURAL, S. Improvement of Physicochemical, Mechanical, Thermal and Surface Properties of Anchovy by- Product Protein Films by Addition of Transglutaminase, and the Correlation between Secondary Structure and Mechanical Properties. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 24, p. 100483, 2020.

Capítulo VI

Desodorização de proteínas miofibrilares de peixe com fluido supercrítico para produção de filmes biodegradáveis com melhores características sensoriais.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo desodorizar proteínas miofibrilares de peixe por meio de extração com CO₂ supercrítico, comparar com a extração por solvente pelo método Soxhlet e produzir filmes biodegradáveis com propriedades sensoriais adequadas para uso como embalagem de alimentos. Na desodorização por CO₂ supercrítico foi construído isoterma de rendimento global determinadas nas condições de 40 e 60 °C a 200, 300 e 400 bar. A extração em Soxhlet foi realizada usando éter de petróleo como solvente a 52°C por 2h 30 min. Os filmes foram produzidos com a PM controle sem desodorização e com a PM desodorizadas com solvente em Soxhlet com 1,5% de proteínas (p / v) e 30% de glicerol (p / p) (devido as limitações originadas em decorrência da pandemia causada pelo novo corona vírus SARS-CoV-2, até o momento não foi possível definir a melhor condição de desodorização com CO₂ supercrítico e elaborar o filme com a PM desodorizada por esse método). A melhor condição operacional com CO₂ supercrítico foi 40 °C/200 bar com rendimento de 5,06 b.s. O rendimento de extração de óleo foi maior com solvente em Soxhlet (8,04 b.s), possivelmente devido a baixa seletividade do solvente orgânico que também pode extrair outros compostos, ao contrário do CO₂ supercrítico que é altamente seletivo. O filme produzido com proteínas miofibrilares que foram desodorizadas com solvente em Soxhlet apresentou todas as propriedades estudadas melhoradas sugerindo que retirada dos lipídeos pode solucionar não somente o problema com o odor de peixe nos filmes, como proporcionar uma proteína mais isolada e sem interferentes que favorece a formação de filmes com melhores propriedades.

Palavras-chave: odor de peixe, CO₂ supercrítico, soxhlet, lipídeos, trimetilamina.

1. INTRODUÇÃO

Filmes biodegradáveis podem ser produzidos com matérias primas não tóxicas e de fontes renováveis como carboidratos, proteínas e lipídeos. A elaboração desses filmes é fortemente incentivada devido às questões ambientais, principalmente as relacionadas ao uso indiscriminado de embalagens sintéticas produzidas com derivados de petróleo (MISHRA et al., 2020). Os filmes biodegradáveis também podem ser uma alternativa para o reaproveitamento de resíduos gerados nas indústrias alimentícias, visto que o processamento de peixes produz grande quantidade de resíduos sólidos que podem ser utilizados para elaborar esses filmes. As carcaças de peixe podem ser submetidas a um processo de separação mecânica para retirar o músculo aderido de onde serão extraídas as proteínas miofibrilares (BATISTA et al., 2020).

Filmes de proteínas miofibrilares de peixe apresentam boas propriedades de barreira ao oxigênio e dióxido de carbono, pobre barreira ao vapor de água devido a natureza hidrofílica dessas proteínas e dos plastificantes adicionados, boas propriedades mecânicas quando comparadas a filmes produzidos com outros biopolímeros, além de cor clara e transparência (MISHRA et al., 2020; FRASISCA et al., 2020). No entanto, apesar do filme possuir muitas propriedades físicas adequadas para uma embalagem, a aceitabilidade do consumidor também depende das propriedades sensoriais, como o odor (JEEVAHAN et al., 2020).

Na literatura não foram encontrados estudos relacionados com o odor em filmes biodegradáveis produzidos com proteínas de peixe. Assim como os demais produtos de peixe, esses filmes possuem um odor característico e esta peculiaridade causa limitações para o uso como embalagem de alimentos, pois entram em contato direto e interagem com os alimentos. A maioria das pesquisas sobre a desodorização de produtos de peixe concentram-se no óleo, no hidrolisado de proteína, no molho e na gelatina de peixe (SHIMODA et al., 2000; PAN et al., 2018).

Odor de peixe é atribuído a compostos, como álcoois, aldeídos, cetonas, pirazina, furano, trimetilamina, etc. acumulados do ambiente aquático ou formados por oxidação lipídica e reações enzimáticas no corpo do peixe (PAN et al., 2018). Além disso, trissulfeto de dimetila e 2-etilpiridina foram relatados como os principais contribuintes ao odor característico (CHEN et al., 2016).

Desta forma, infere-se que o odor característico de peixe pode ser minimizado ou eliminado com a extração dos lipídeos e dos compostos nitrogenados. Franklin et al. (2020)

utilizaram fluido supercrítico para extrair lipídeos de peixe resultando em óleo de peixe de alta qualidade. Park et al. (2008) extraíram lipídeos, trimetilamina e dissulfeto de dimetilamina de anchovas cozidas diminuindo consideravelmente os níveis de odores. Shimoda et al., (2000) removeram odores indesejáveis de molho de peixe usando microbolhas de dióxido de carbono (CO₂) supercrítico atingindo uma taxa de eficiência de 59%. Roh et al. (2006) desodorizaram óleo de peixe usando CO₂ supercrítico com redução de dissulfeto de dimetila de 99,8% sem desintegrar os compostos funcionais dos ácidos graxos poliinsaturados.

A tecnologia de extração com fluido supercrítico é um método que apresenta vantagens como o uso de solventes atóxicos como o CO₂ que é um dos principais solventes utilizados, pois é não corrosivo, não inflamável e considerado um "solvente verde". Sua temperatura crítica é de 31 ° C que é suficientemente baixa para processar proteínas que podem sofrer danos sob altas temperaturas (IVANOV; BLUMBERGA, 2017; KUVENDZIEV et al., 2018) podendo extrair seletivamente lipídeos e compostos nitrogenados sem afetar as propriedades funcionais das proteínas (VAQUERO; BELTRÁN; SANZ, 2006).

Diante disso, esse trabalho tem como objetivo desodorizar proteínas miofibrilares de peixe por extração com CO₂ supercrítico e comparar com a extração com solvente em Soxhlet e elaborar filmes biodegradáveis com propriedades sensoriais adequadas para uso como embalagem de alimentos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATÉRIA PRIMA

As carcaças do processamento da filetagem da dourada (*Brachyplatystoma roussauxii*) foram adquiridas no mercado Ver-o-Peso e transportados sob refrigeração para o Laboratório de Produtos de Origem Animal- LAPOA da Universidade Federal do Pará - UFPA. O plastificante utilizado foi o glicerol (Isofar, glicerina PA com 99,5% de pureza). O CO₂ utilizado foi da White Martins, Belém, Brasil com 99,9% de pureza.

No laboratório as carcaças foram higienizadas com água clorada a 5ppm (mg/l) e processadas em separadora mecânica (High Tech, HT 250) com capacidade 100Kg/h, para obter a carne mecanicamente separada (CMS). Em seguida, a CMS foi acondicionada em sacos de polietileno, embalada à vácuo e armazenada sob congelamento a -26°C até as próximas etapas.

2.2. EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES (PM)

As proteínas miofibrilares (PM) foram extraídas da CMS seguindo metodologia de Batista et al. (2020). A massa muscular foi misturada com solução de cloreto de sódio 50 Mm (5:1) (Synth PA-ACS) a 5°C por 5 minutos seguida de filtração em camada de tecido (faillet), sendo este processo repetido por mais duas vezes. O material retido foi lavado com água (3:1) e centrifugado a 11,627 G-force por 3 minutos em centrífuga refrigerada a 4 ° C (Thermo Fisher, Multifuge X1R). Em seguida 90g das proteínas miofibrilares extraídas foram colocadas em bandejas retangulares perfuradas (3 mm) com área de 204 cm² e altura de 1 cm e secas em estufa de circulação de ar (Tecnal, TE-394/3) com velocidade do ar de 1,4 m / s (medida em anemômetro digital Modelo AD-250 Instrutherm) a 80°C por 2 horas. Posteriormente, as amostras secas foram trituradas em processador doméstico (Walita, RI7625) e acondicionadas em sacos de polietileno, embaladas a vácuo e armazenadas sob refrigeração.

2.3. PREPARO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES PARA DESODORIZAÇÃO

2.3.1. Determinação granulométrica

A análise granulométrica foi realizada para determinação do diâmetro médio das partículas. A separação foi realizada em peneiras da série padrão Tyler de - 20 + 48 mesh e colocadas em agitador de peneiras (BERTEL, Brasil), com o reostato na posição 10 durante 10 minutos, até a completa separação das partículas. A quantidade de massa em cada peneira foi pesada em balança semi-analítica (modelo AG 200, GEHAKA, Brasil). A massa retida foi acondicionada em sacos plásticos, embalados a vácuo e armazenados sob refrigeração. O diâmetro médio das partículas foi determinado de acordo com o método recomendado pela ASAE S424.1 (1998) utilizando a Equação 1.

$$d_{mg} = \log^{-1} \left[\frac{\sum_{i=1}^n (w_i \log \bar{d}_i)}{\sum_{i=1}^n w} \right] \quad (1)$$

Onde:

$$\bar{d}_i = (d_i \cdot d_{i+1})^{0,5};$$

d_i : abertura nominal da i-ésima peneira (mm);

d_{i+1} : abertura nominal da peneira maior que a i-ésima (mm);

w_i : massa do material retida na i-ésima peneira.

2.4. DESODORIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES

As proteínas miofibrilares passaram pelo processo de extração com CO₂ supercrítico para retirada de compostos nitrogenados e lipídeos. Como método comparativo foi realizado a extração com solvente em Soxhlet.

2.4.1. Extração com solvente em Soxhlet

A extração com solvente foi realizada pelo método Soxhlet (modelo TE-044-8/50, TECNAL). O solvente utilizado foi o Éter de petróleo (Êxodo Científica, PA) de acordo com a metodologia 922.06 da AOAC (1997). 5 g de amostra foi colocada em cartucho de papel filtro e em seguida colocada em um extrator Soxhlet. 120 mL de éter de petróleo foi colocado em um frasco de extração de fundo redondo e a extração ocorreu a 52°C por 2h 30 min. Depois que a extração do óleo foi concluída, o solvente foi evaporado em estufa a 50°C, resfriado em dessecador de vidro e pesado. A amostra do cartucho (proteína) foram armazenadas em sacos de polietileno, embaladas a vácuo e armazenadas sob refrigeração.

2.4.2. Extração com fluido supercrítico (ESC)

As extrações foram realizadas com CO₂ (99,9% pureza, White Martins, Brasil) em um sistema Spe-edTMSFE da Applied Separations (modelo 7071, Allentown, EUA), com vaso extrator de 10⁻⁴ m³ (diâmetro interno de 0,0317 m e altura de 0,1262 m). O fluxograma esquemático do sistema de extração é mostrado na Figura 1. As isotermas de rendimento global foram determinadas utilizando 15 g de amostra, nas condições operacionais de 40 e 60 °C, 200, 300 e 400 bar, taxa de vazão de CO₂ de 1,10 x10⁻⁴ kg/s, período estático de 1800 s e dinâmico de 5400 s. As densidades do CO₂ supercrítico foram calculadas utilizando o software TermoDi que utiliza a equação cúbica de estado de Peng e Robinson (Peng & Robinson, 1976). O rendimento global foi calculado em base seca usando a Equação 2.)

$$X_{0,b,s} (\%) = \left(\frac{m_o}{m_{amostra} \times \left(1 - \frac{U_a}{100}\right)} \right) \times \quad (2)$$

Onde:

$X_{0,b,s}$: é o rendimento global percentual de óleo em base seca (%);

m_o : é a massa de óleo extraída em g;

$m_{amostra}$: é a massa da amostra usada g;

U_a : é a umidade da amostra (%).

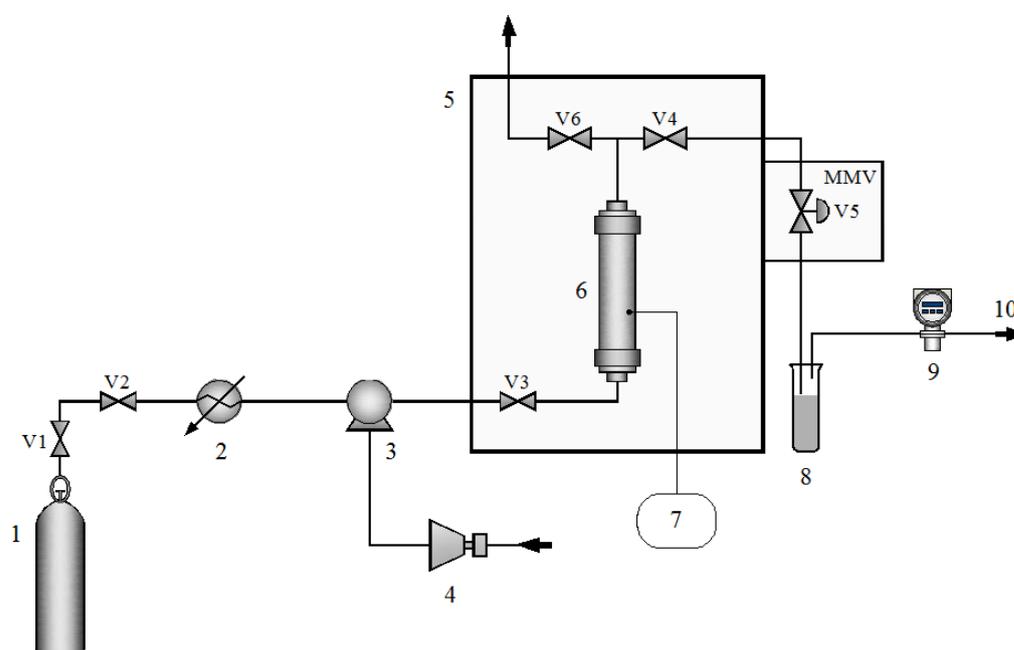


Figura 1. Fluxograma de extração com CO₂ supercrítico da unidade experimental SpeedTMSFE. 1. Tanque de CO₂; 2. Banho de refrigeração; 3. Bomba; 4. Compressor; 5. Forno; 6. Vaso extrator; 7. Monitor; 8. Frasco coletor; 9. Medidor de vazão; 10. Saída de CO₂; Válvulas de controle de fluxo V1 - V6 (Fonte: BEZERRA et al., 2018).

2.5. CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES DESODORIZADAS

2.5.1. Análise dos compostos voláteis (aromas)

Os compostos voláteis das proteínas miofibrilares serão determinados usando técnica de micro-extração em fase sólida, cromatografia gasosa e espectrometria de massa (SPME-GC-MS) baseado na metodologia descrita por Sae-leaw; Benjakul; O'Brien (2016).

2.5.2. Eletroforese (SDS-PAGE)

As proteínas miofibrilares serão analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de acordo com o procedimento de Laemmli (1970). Para preparar as amostras, 0.001g de proteína será solubilizado em 100 µl de água, 12 µl de tampão da amostra (7.5 ml de Tris- HCl 1M pH 6.8, 35 ml de SDS 10%, 0.15 g de azul de bromofenol, 15 ml de glicerol, 75 ml de água destilada e 700 µl de βMercaptoethanol 14.3M) e aquecidas a 100 °C por 20 min. A corrida será realizada em gel de separação a 8% e de empilhamento a 5%. Depois da

separação, as bandas serão reveladas com o corante Coomassie Blue-R-250. O padrão utilizado será da BIO-RAD na faixa de peso molecular de 200 kDa a 6,5 kDa.

2.6. OBTENÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Os filmes biodegradáveis foram obtidos de acordo com Batista et al. (2020) com as proteínas que não passaram por processo de desodorização, e as proteínas que passaram pelo processo de desodorização sendo codificadas como F-CON (filme controle produzido com proteína sem desodorização), F-SOX (filme produzido com proteína desodorizada por extração com solvente em Soxhlet), F-ESC (filme produzido com proteína da melhor condição de desodorização da extração com fluido supercrítico). Inicialmente foi preparada a solução filmogênica, com as proteínas miofibrilares (1,5% m/v), o glicerol (30% m/m) (Isofar, Glicerina PA com 99,5% de pureza) e água destilada. O pH foi ajustado para 11 com hidróxido de sódio 2M (Cinética, NaOH-PA). A solução foi homogeneizada a 10.000 rpm/5min (Turratec, Tecnal, TE-102), em seguida foi mantida em banho-maria (Tecnal, TE-057) à 70°C por 30 minutos e filtrada em camada de tecido (faillat). Posteriormente, 120mL de solução filmogênica foi colocada em suporte de silicone (22cm de diâmetro x 3cm de altura) e secas em estufa incubadora (Quimis, Q315M) a 30°C por 16 horas. Os filmes foram acondicionados em embalagens de polietileno e mantidos em temperatura ambiente.

2.7. AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

2.7.1. Espessura

As espessuras dos filmes foram medidas utilizando micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (Insize, modelo IP54) em oito locais aleatórios com afastamento da borda de 60 mm (LIMPAN et al., 2010).

2.7.2. Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e percentual de alongamento na ruptura (%E) dos filmes serão determinadas empregando-se metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) em texturômetro (Stable Micro Systems, TA. XT- plus). A separação inicial das garras e a velocidade serão de 50 mm e 1mm.s⁻¹, respectivamente. As amostras serão cortadas em tiras de 100 mm de comprimento e 25 mm de largura (LIMPAN et al., 2010) e as respostas calculadas pelas Equações 5 e 6.

$$RT = \frac{Fm}{A} \quad (5)$$

Onde: RT: resistência à tração (MPa); Fm: força máxima no momento da ruptura do filme (N); A: área da seção transversal do filme (m²).

$$E = \frac{d_T}{d_i \cdot 100} \quad (6)$$

Onde: E: alongação (%); d_T: distância total no momento da ruptura (mm); d_i: distância inicial de separação das garras (50 mm).

2.7.3. Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Foi utilizado método modificado (ASTM, 1989) descrito por Arfat *et al.*(2014). Os filmes foram colocados em recipiente de permeação de vidro com 4,5 cm de diâmetro e 7,0 cm de altura contendo 10g de sílica gel seca (0% UR; 0 Pa de pressão de vapor de água a 30 °C) com adesivo de silicone. Em seguida, os recipientes de permeação foram colocados em dessecadores com água destilada a 30 °C (99% de UR; 4244,9 Pa de pressão de vapor a 30 °C) e pesados a cada hora durante 10 h. A PVA dos filmes foi calculada com a Equação 7.

$$WVP = \frac{W \cdot X}{A \cdot t \cdot \Delta P} \quad (7)$$

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

2.7.4. Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com Gontard et al. (1994). A matéria seca inicial (m_i) foi determinada em estufa a 105 ° C / 24h em filmes com 2 cm de diâmetro. Posteriormente, as amostras foram imersas em 50 mL de água e agitadas em incubadora Shaker refrigerada (Cielanb, CE-725B) com velocidade de 70 rpm por 24 horas a 25 ° C. Após esse período, as amostras foram retiradas e secas (105 ° C por 24 horas) para determinação da matéria seca final (m_f). A solubilidade do filme foi calculada de acordo com a equação.

$$S = \frac{m_i - m_f}{m_i} \quad (8)$$

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

2.7.5. Transparência e opacidade

A transparência foi determinada a 600 nm (Equação 8), de acordo com o método ASTM D1746 descrito por Arfat et al. (2014) e a opacidade pela absorbância em 600 nm (Equação 9) descrito por Park; Zhao, (2004). Os corpos de prova foram cortados em retângulos (3 x 1 cm) e colocados no lado interno da cubeta e os parâmetros foram quantificados usando espectrofotômetro (Biospectro, SP-22).

$$\text{Transparência} = \frac{-\log \% T}{e} \quad (9)$$

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

$$\text{Opacidade} = \frac{A}{e} \quad (10)$$

Onde: A = absorbância a 600 nm; e = espessura do filme (mm).

2.7.6. Parâmetros de cor

A cor dos filmes foi determinada em colorímetro (Minolta, CR 310) e os parâmetros L^* (luminosidade), a^* (intensidade do vermelho) e b^* (intensidade do amarelo) foram medidos sobre uma placa branca.

2.7.7. Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

Os espectros de FTIR dos filmes serão registrados em Espectrômetro FTIR Cary 630 (Agilent), acoplado a um acessório de refletância total atenuada (ATR) com cristal de seleneto de zinco na faixa de 500 a 4000 cm^{-1} .

2.7.8. Análise termogravimétrica (TG)

A análise termogravimétrica (Shimadzu, DTG-60AH) dos filmes foi determinada na faixa de temperatura entre 25 a 700 °C, taxa de aquecimento de 10 °C / min e nitrogênio a 50 mL / min como gás carreador. A aquisição dos registros foi realizada no Software TA60 versão 2.21 (Shimadzu).

2.7.9. Análise dos compostos voláteis (aromas)

De acordo com o tópico 2.5.1

2.7.10. Caracterização microscópica da superfície dos filmes biodegradáveis

A microestrutura da superfície do filme será determinada utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Tabletop Microscope, TM 300, Hitachi) operando com uma voltagem de feixe de elétrons de 15 kV. As amostras serão fixadas com fita condutora em stubs de alumínio e analisadas nas ampliações de 100 e 1000 e 2000x.

2.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados será realizada no software Statistica® versão 7.0 por meio da Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey com 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. DESODORIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES (PM)

A Tabela 1 apresenta os valores de rendimento global do óleo extraído das proteínas miofibrilares em base seca (b.s.) nas diferentes condições de extração com CO₂ supercrítico e com éter de petróleo por Soxhlet (SOX).

Tabela 1. Rendimento global do óleo das proteínas miofibrilares de peixe.

Condição	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Densidade (kg/m ³)	Rendimento global b.s.(%)*
1		200	839,81	5,06 ± 0,03 ^b
2	40	300	909,89	4,80 ± 0,03 ^a
3		400	956,07	4,90 ± 0,09 ^{ab}
4		200	723,68	4,96 ± 0,10 ^{ab}
5	60	300	829,71	4,77 ± 0,04 ^a
6		400	890,14	5,11 ± 0,01 ^b
SOX	-	-	-	8,04 ± 0,00 ^c

*Média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os valores ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O maior rendimento foi obtido na extração com solvente em Soxhlet sendo significativamente mais elevado ($p < 0,05$) que os obtidos com CO₂ supercrítico (Tabela 1). O rendimento obtido pelo método soxhlet pode estar relacionado ao tempo (mais longo) e temperatura empregados, o que pode ter facilitado o maior rompimento das células lipídicas, assim como, devido a baixa seletividade do solvente orgânico que também pode extrair

compostos polares e anfífilos como fosfolipídios, contrário ao método com CO₂ supercrítico que possui alta seletividade, extraíndo essencialmente compostos apolares (FRANKLIN et al. 2020; HAQ et al., 2017; FERDOSH et al., 2014; RUBIO-RODRÍGUEZ et al., 2012).

Franklin et al. (2020) realizaram a extração de lipídeos do resíduo de *Seriola quinqueradiata* com CO₂ supercrítico e Soxhlet (n-hexano e etanol) e obtiveram comportamento similar ao deste trabalho, com maior rendimento de óleo pela técnica de Soxhlet. No trabalho Ferdosh et al. (2014) foi estudada a extração de lipídeos de diferentes partes de três espécies de atum (*Thunnustonggol*, *Euthynnusaffinis*, *Auxistazard*) por soxhlet (hexano) e CO₂ supercrítico e etanol como cossolvente à 65 °C e 400 bar, em todas as condições de extração o rendimento com hexano foi levemente superior à extração supercrítica, entretanto, não houve diferença estatística ($p > 0,05$). Em ambas pesquisas, os autores atribuíram os resultados à temperatura e ao tempo usados na extração com solvente e à alta seletividade do dióxido de carbono supercrítico. Ademais, Franklin et al. (2020) ressaltaram que apesar da extração supercrítica apresentar menor rendimento, o óleo obtido por este método obteve qualidade superior aos obtidos com n-hexano e etanol, pois apresentou menor teor de ácidos graxos livres, *p*-Anisidina, peróxidos e maior quantidade de ácidos graxos ômega 3.

Os rendimentos obtidos com a técnica supercrítica variaram de $4,77 \pm 0,04\%$ a $5,11 \pm 0,01\%$. O menor rendimento foi obtido na condição de 60 °C/300 bar ($\rho_{CO_2} = 829,71\text{kg/m}^3$) e o maior na de 60 °C/400 bar ($\rho_{CO_2} = 890,14\text{ kg/m}^3$). Desta forma, foi possível inferir que em termos de rendimento global do óleo a melhor condição operacional foi a que operou à 40 °C/200 bar, pois não houve diferença estatística ($p > 0,05$) de rendimento em relação à condição que operou à 60 °C/400 bar, havendo menor custo energético para a realização do processo devido ao uso de temperatura e pressão mais brandas. É relatado por Chemat et al., (2012); Bezerra et al., (2018) e Costa et al., (2019) que o processo de extração supercrítica deve levar em consideração fatores ambientais e econômicos, com baixo desperdício e consumo proveniente de custos de refrigeração e de pressurização.

A melhor condição de extração levando em consideração a maior eficiência na retirada do odor de peixe ainda não foi possível ser determinada devido a ausência da análise de compostos aromáticos, sem essa análise não é possível afirmar se o maior rendimento de extração do óleo está diretamente relacionado com maior extração de outros compostos aromáticos como a trimetilamina e dissulfeto de dimetilamina. Park et al., (2008), conseguiram determinar a melhor condição de extração de lipídeos e de compostos aromáticos de anchovas com CO₂ supercrítico usando análise de compostos aromáticos e de

perfil de ácidos graxos. Concluíram que na condição de 50 °C e 350 bar foi possível remover completamente as principais fontes de odor de peixe (trimetilamina e dissulfeto de dimetil) e diminuiu notavelmente os níveis de outros odores fortes. Essa condição também proporcionou o melhor rendimento de extração dos lipídeos além dos resultados indicarem que o óleo extraído com CO₂ supercrítico era mais enriquecido com PUFA's, como EPA e DHA, do que o extraído com solvente orgânico. Sugerindo que a extração com o CO₂ supercrítico é uma técnica capaz de remover compostos aromáticos e lipídeos e ao mesmo tempo obter um óleo com alta qualidade. Supõe-se portanto, que é possível em uma planta de extração com CO₂ supercrítico, de um lado obter um produto de peixe desodorizado (torta) e do outro um óleo de peixe de alta qualidade.

As isotermas de rendimento global (b.s.) em função da pressão e da densidade do CO₂ são mostradas nas Figuras 2.a e 2.b. Observa-se nessas figuras que há um ponto de inflexão entre as isotermas (ponto onde as curvas se cruzam), podendo-se inferir que essa proximidade ocorre devido a pressão de vapor do soluto exercer forte influência no rendimento começando a existir o ponto de inflexão ou condensação retrógrada, na qual a pressão de vapor do soluto prevalece, desta forma, em um sistema isobárico, após o ponto de inflexão o aumento da temperatura poderia levar a um aumento da eficiência da extração mesmo com a redução da densidade do fluido, visto que a pressão de vapor do soluto é aumentada (BEZERRA et al. 2020; MOTTA et al., 2011).

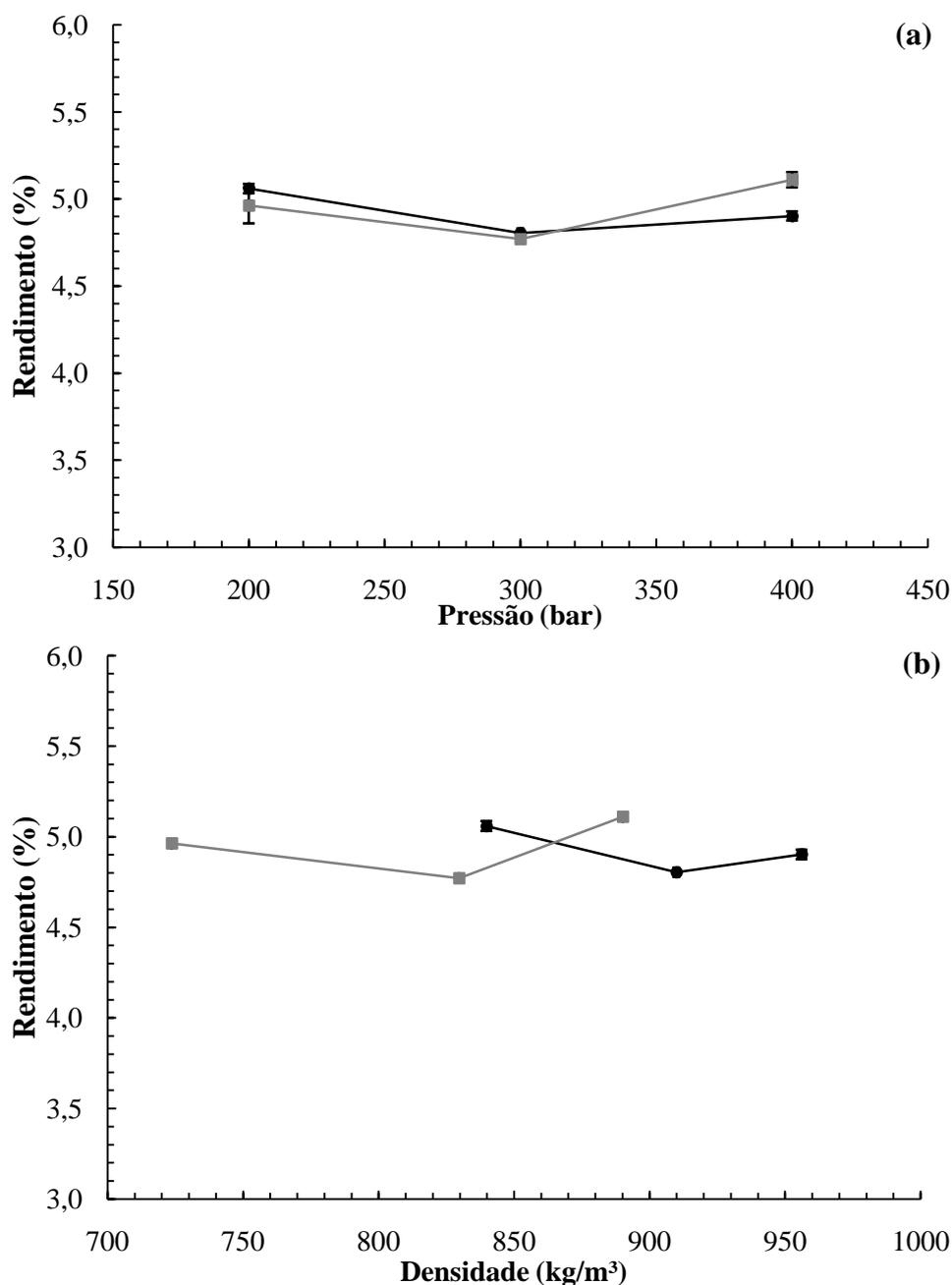


Figura 2. Isotermas de rendimento global do óleo das proteínas miofibrilares de peixe **(a)** Rendimento em função da pressão, **(b)** Rendimento em função da densidade, (●) 40°C e (■) 60°C.

3.2. DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

A Tabela 2 mostra as propriedades tecnológicas dos filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares (PM) sem desodorização, desodorizadas por extração com solvente em Soxhlet e por extração com CO₂ supercrítico.

Tabela 2. Propriedades tecnológicas de filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares (PM) sem desodorização e desodorizadas com solvente em Soxhlet e com CO₂ supercrítico.

Determinações	Resultados		
	F - CON	F - SOX	F-ESC
Espessura (mm)	0,044±0,001 ^a	0,034±0,007 ^b	-
Solubilidade (%)	44,53±0,81 ^a	40,62±0,88 ^b	-
PVA (x10 ⁻⁸ g. m ⁻¹ . s ⁻¹ . Pa ⁻¹)	4,60±0,80 ^a	3,04±0,019 ^b	-
Parâmetros de cor			
<i>L</i> *	90,89±0,12 ^a	92,20±0,18 ^a	-
<i>a</i> *	-6,29±0,02 ^b	-5,37±0,04 ^a	-
<i>b</i> *	18,11±0,44 ^a	8,00±0,19 ^b	-
Transparência	6,47±0,01 ^a	5,57±0,14 ^b	-
Opacidade	6,50±0,02 ^a	5,49±0,02 ^b	-

F-CON: filme controle de PM sem desodorização; F-SOX e F-ESC: filmes de PM desodorizadas com solvente em Soxhlet e com CO₂ supercrítico respectivamente. Letras iguais na mesma linha não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

As espessuras dos filmes difeririam ($p \leq 0,05$) embora tenham sido produzidos nas mesmas concentrações de proteína e plastificante (Tabela 2). Este comportamento está possivelmente relacionado com a retirada dos lipídeos pelo método Soxhlet, resultando em filme com menor espessura (F-SOX). Segundo Araújo et al. (2018), a espessura dependerá da composição do filme e dos parâmetros de processamento, já que maior quantidade de compostos presentes na produção do filme, induz ao aumento de sólidos na matriz polimérica formada após a secagem da solução filmogênica gerando filmes mais espessos. Batista et al., (2020) observaram comportamento similar ao produzir filme com dois tipos de resíduos de peixe que continham teores lipídicos diferentes, observaram que o filme produzido com a PM extraída de resíduo que apresentava menor teor lipídico apresentou menor espessura. Além disso, os autores também ressaltaram a importância de considerar que a espessura é de difícil controle no processo de secagem tipo casting do filme que requer um rigoroso nivelamento do suporte de secagem do filme e da estufa. No geral, a espessura dos filmes apresentaram valores dentro da faixa relatada na literatura para filmes de proteínas miofibrilares de peixe (PEREIRA et al., 2020; NEVES et al., 2019; VIEIRA et al., 2018).

A solubilidade dos filmes diferiram ($p < 0,05$), sendo a menor solubilidade apresentada pelo filme produzido com as proteínas que passaram pela extração em Soxhlet (F-

SOX). A solubilidade mais elevada do filme F-CON provavelmente está relacionada ao enfraquecimento das ligações proteína-proteína devido a presença de lipídeos. Segundo Pereira et al. (2019), os componentes lipídicos reduzem as interações moleculares entre as cadeias de proteínas na matriz do filme, desestabilizando a estrutura e aumentando a solubilização dos componentes em água. Diversos trabalhos que adicionaram óleo em filme constataram aumento da solubilidade (FAKHOURI et al., 2009; PIRES et al., 2013; VIEIRA, et al., 2010; PEREIRA et al., 2019). Portanto, a menor solubilidade apresentada pelo filme F-SOX está relacionada com a retirada dos lipídeos que proporcionou uma proteína mais isolada favorecendo a formação de ligações moleculares proteína-proteína mais fortes no filme, atribuindo uma melhor resistência a água.

A PVA do filme F-CON foi mais elevada ($p < 0,05$) que a F-SOX, levando em consideração que para PVA espera-se menores resultados, F-SOX apresentou a melhor PVA. A presença de lipídeos no filme F-CON poderiam contribuir para melhorar a PVA, visto que possuem caráter hidrofóbico, levando em consideração que existem pesquisas que incorporam intencionalmente substâncias apolares para esta propriedade (PEREIRA et al., 2019; VIEIRA et al., 2019), no entanto, nesta pesquisa isso não foi observado. Vários fatores podem influenciar nessa propriedade, se o componente hidrofóbico não for capaz de se associar com a cadeia protéica, pode provocar quebra nessa estrutura resultando em PVA mais alto (BATISTA et al., 2020). De modo geral, uma melhor PVA está diretamente relacionada com a qualidade das ligações formadas no filme, as interações fortes e o grau de organização molecular são de significativa importância para melhor barreira ao vapor de água (ARFAT et al., 2014). Portanto, a ausência de lipídeos no filme F-SOX favoreceu a formação de interações mais fortes que proporcionou melhor PVA.

Todos os parâmetros de cor difeririam ($p < 0,05$) indicando que a coloração do filme foi diretamente afetada pela retirada dos lipídeos. O filme F-SOX apresentou maior luminosidade e menor valor b^* ($p \leq 0,05$), caracterizando filmes mais claros e menor tendência à coloração amarela, respectivamente. A cor mais escura e mais amarelada no filme F-CON provavelmente foi devido a presença de lipídeos e/ou da oxidação lipídica. Tongnuanchan et al. (2011) também relacionaram a tonalidade amarelada dos filmes à oxidação lipídica. Batista et al. (2020) também obtiveram resultados de cor mais amarelados em filmes obtidos com proteínas que continham maior teor lipídico. Segundo Sae-Leaw et al. (2016) e Neves et al. (2019) além da oxidação lipídica, a coloração amarelada dos filmes também pode estar associada a reação de Maillard, que acontece entre o grupo amino e carbonilo. Embora o músculo de peixe seja pobre em carboidratos, especialmente açúcares

redutores para fornecer os grupos carbonila para ocorrer a reação, os aldeídos e cetonas resultante da oxidação lipídica podem atuar como fonte de carbonila, principalmente em condições sob aquecimento a 70°C, temperatura utilizada na produção do filme. A extração com solvente por Soxhlet também pode retirar outros compostos como hemoglobina e mioglobina que contribuem para a cor e também são agentes oxidantes (NEVES et al., 2019).

A transparência e a opacidade diferiram ($p < 0,05$) com os menores valores apresentada pelo filme F-SOX. Segundo Araújo et al. (2018) quanto menor o valor da transparência, mais transparente o filme. Os valores de opacidade baixos indicando que o filme F-SOX foi mais transparente e menos opaco, resultado provavelmente relacionado com o menor teor lipídico da proteína. Batista et al. (2020) também observaram maior transparência e menor opacidade no filme de proteínas com menor concentração de lipídios, pois afetaram a homogeneidade do filme e podem estar relacionados à menor transparência. Além disso, a cor mais clara do filme F-SOX pode ter ocasionado uma menor barreira a transmissão de luz. Segundo Neves et al. (2019) e Araújo et al. (2018) a transparência e cor são características essenciais das embalagens de alimentos, pois garante que o alimento possa ser observado através da embalagem, uma vez que, a aparência do alimento pode ser determinante para a decisão de compra do consumidor.

Estes resultados demonstraram que a retirada dos lipídeos pode solucionar não somente o problema com o odor de peixe nos filmes, como proporcionar uma proteína mais isolada e sem interferentes o que favorece a formação de filmes com melhores propriedades. Além disso, apesar das proteínas que passaram pela extração com solvente em Soxhlet possivelmente terem sofrido algum nível de desnaturação devido o contato com o solvente e pela temperatura, os resultados demonstraram que isso não afetou negativamente as propriedades tecnológicas dos filmes, pelo contrário, a retirada dos lipídeos melhorou as propriedades analisadas dos filmes. Batista et al., (2021), constataram que a desnaturação de proteínas miofibrilares utilizadas na elaboração de filmes não acarreta propriedades pobres podendo produzir filmes até melhores. Isso ocorre porque a desnaturação é uma mudança na estrutura tridimensional das proteínas que favorece a exposição de grupos tios interno e grupos hidrofóbicos que ficam disponíveis para formar ligações fortes, como a dissulfeto e interações hidrofóbicas entre as cadeias, formando uma rede de proteínas mais reticulada e filmes com melhores propriedades.

3.2.1. Análise termogravimétrica (TG)

A termogravimetria (TG) dos filmes são mostradas na Figura 2. A estabilidade térmica dos filmes foi determinada pelas temperaturas de degradação (T_1 , T_2 e T_3) e pela medição de perda de massa (ΔP_1 , ΔP_2 , ΔP_3) (Tabela 3).

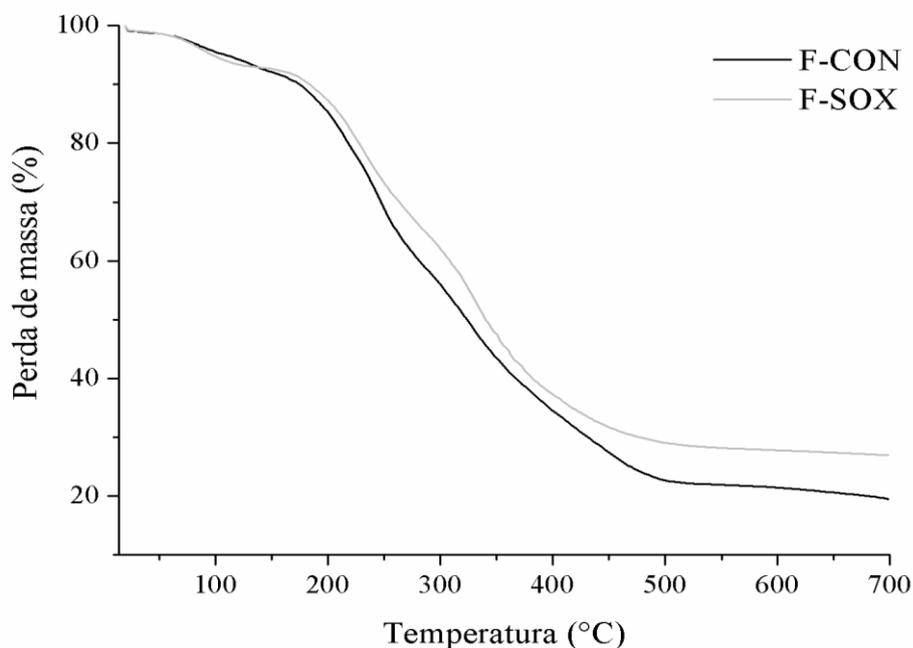


Figura 3. Curvas termogravimétricas (TG). F-CON: filme controle de PM sem desodorização; F-SOX e F-ESC: filmes de PM desodorizadas com solvente em Soxhlet e com CO_2 supercrítico respectivamente.

Os filmes mostraram comportamentos semelhantes com três estágios principais de perda de peso. A primeira fase de perda de peso (Evento 1) (Tabela 3) corresponde a volatilização da água livre e ligada presente nos filmes (NEVES et al., 2019; PEREIRA et al., 2020). A segunda fase (Evento 2) está relacionada à degradação das frações proteicas de baixo peso molecular e evaporação do glicerol. Na terceira fase (Evento 3) ocorreu a degradação das frações proteicas de maior peso molecular ou fortemente associadas (PEREIRA et al., 2020; VIEIRA et al., 2018; ARFAT et al., 2014).

A temperatura de degradação mais alta e menor perda de peso foi observada na terceira fase pelo filme F-SOX, sugerindo maior estabilidade térmica comparado ao filme F-CON. Uma maior temperatura de degradação está relacionada com proteínas altamente integradas a matriz do filme, possivelmente atribuída a ligações mais fortes e uma estrutura mais reticulada resultando em maior estabilidade térmica (ARFAT et al., 2014; PEREIRA et al., 2020). Segundo Barreto et al. (2003), a estabilidade térmica dos filmes é reforçada por

interações de proteínas, como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. A maior porcentagem de resíduo foi para o filme F-SOX. Segundo Pereira et al. (2020), Neves et al., (2019) e Arfat et al. (2014) esse resultado também é indicativo de maior estabilidade térmica.

A melhor estabilidade térmica do filme F-SOX possivelmente esteja relacionada com as melhores propriedades tecnológicas desse filme, tais como menor PVA e solubilidade.

Tabela 3. Temperatura de degradação térmica (T , ° C) e perda de peso (ΔP ,%) dos filmes biodegradáveis produzidos com proteínas miofibrilares sem desodorização e desodorizadas por extração com solvente em Soxhlet e por extração com fluido supercrítico.

Filmes	Evento 1		Evento 2		Evento 3		Resíduo (%)
	T_1 (°C)	ΔP_1 (%)	T_2 (°C)	ΔP_2 (%)	T_3 (°C)	ΔP_3 (%)	
F-CON	51,50	5,34	163,49	19,33	292,90	25,49	49,84
F-SOX	56,48	2,91	148,56	22,06	320,27	24,32	50,71
F-ESC	-	-	-	-	-	-	-

F-CON: filme controle de PM sem desodorização; F-SOX e F-ESC filmes de PM desodorizadas com solvente em Soxhlet e com CO₂ supercrítico respectivamente.

4. CONCLUSÃO

Os resultados da desodorização das proteínas miofibrilares mostraram que o rendimento em relação a extração de óleo foi maior na extração com solvente em Soxhlet em relação a extração com CO₂ supercrítico, possivelmente devido a baixa seletividade do solvente orgânico que também pode extrair outros compostos comparado ao CO₂ supercrítico que é altamente seletivo. A melhor condição operacional na extração com CO₂ supercrítico foi 40 °C/200 bar.

O filme produzido com proteínas miofibrilares que passaram pela desodorização com solvente em Soxhlet apresentou todas as propriedades estudadas melhores, com menor solubilidade e PVA, cor mais clara, maior transparência e menor opacidade comparado ao filme controle produzido com proteína que não passou por desodorização. Esses resultados sugerem que retirada dos lipídeos pode solucionar não somente o problema com o odor de peixe nos filmes, como proporcionar uma proteína mais isolada e sem interferentes que favorece a formação de filmes com melhores propriedades.

FALTANDO PARA CONCLUIR:

Em decorrência da pandemia causada pelo novo corona vírus (*SARS-CoV-2*) que causou a impossibilidade de uso de alguns laboratórios, ainda não foi possível realizar análise de compostos aromáticos nas proteínas que passaram por diferentes condições de extrações com CO₂ supercrítico. O resultado dessa análise é importante para corroborar com a seleção da melhor condição de extração e produzir o filme somente com essa melhor condição, portanto, o trabalho ainda não possui os dados de caracterização do filme produzido com proteína da melhor condição de desodorização por extração com fluido supercrítico (F-ESC), bem como, de algumas análises que ainda não foram possíveis de obter os resultados listados a seguir:

Caracterização das proteínas miofibrilares desodorizadas

- Análise dos compostos voláteis (aromas) (será realizada na proteína controle, na que passou por desodorização com solvente em Soxhlet e nas proteínas de todas as condições de desodorização com CO₂ supercrítico).
- Eletroforese (SDS-PAGE) (será realizada na proteína controle, na que passou por desodorização com solvente em Soxhlet e na proteína da melhor condição de desodorização com CO₂ supercrítico).

Produção dos filmes biodegradáveis

- Obtenção do filme F-ESC (filme produzido com proteína da melhor condição de desodorização com CO₂ supercrítico) e todas as análises de caracterização.

Avaliação das propriedades dos filmes biodegradáveis (Para os filmes F-CON e F-SOX)

- Propriedades mecânicas
- Espectroscopia de Infravermelho Transformada de Fourier (FTIR-ATR)
- Análise dos compostos voláteis (aromas)
- Caracterização microscópica da superfície dos filmes biodegradáveis

REFERENCIAS

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16th, Washington, v.2, p.850, 1997.

ARAÚJO, C. S.; RODRIGUES, A. M. C.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; ARAÚJO, E. A. F.; LOURENÇO, L. F. H. Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 23–30, 2018.

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, 2014.

ASAE. AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS. **Method of determining and expressing particle size of chopped forage materials by screening (ASAE Standards S424.1)**, St. Josephp. p. 562-564, 1998.

ASTM. Standard Test Methods for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. *Annual Book of ASTM Standards*, ASTM D882. 1996.

BARRETO, P. L. M.; PIRES, A. T. N.; SOLDI, V. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. **Polymer Degradation and Stability**, v. 79, p. 147–152, 2003.

BATISTA, J. T. B.; MATIAS, C. S. A.; FREITAS, M. M. S.; NASCIMENTO, G. S.; VIEIRA, L. L.; LOURENÇO, L. F. H. Technological Properties of Biodegradable Films Produced with Myofibrillar Proteins Extracted from Gilded cat-fish (*Brachyplatystoma rousseauxii*) Carcasses and Parings. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 29, p. 238–252, 2020.

BATISTA, J. T. S.; MATIAS, C. da S. A.; CARDOSO, D. N. P.; MARTINS, L. H. da S.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; LOURENÇO, L. de F. H. Effect of convection drying and lyophilization of fish myofibrillar proteins on the technological properties of biodegradable films. **Drying Technology**. 2021.

BEZERRA, F. W. F.; COSTA, W. A. da.; OLIVEIRA, M. S. de.; AGUIAR ANDRADE, E. H. de.; CARVALHO, R. N. de. Transesterification of palm pressed-fibers (*Elaeis guineensis* Jacq.) oil by supercritical fluid carbon dioxide with entrainer ethanol. **Journal of Supercritical Fluids**, v.136, p.136–143, 2018.

BEZERRA, F. W. F.; SALAZAR, M. D. L. A. R.; FREITAS, L. C.; OLIVEIRA, M. S. de.; SANTOS, I. R. C. dos.; DIAS, M. N. C.; GOMES-LEAL, W.; ANDRADE, E. H. de A.; FERREIRA, G. C.; CARVALHO Jr, R. N. de. Chemical composition, antioxidant activity, anti-inflammatory and neuroprotective effect of *Croton matourensis* Aubl. Leaves extracts obtained by supercritical CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 165, p. 104992, 2020.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products: concept and principles. **International journal of molecular sciences**, v. 13, n. 7, p. 8615-8627, 2012.

CHEN, D.; CHEN, X.; CHEN, H.; CAI, B.; WAN, P.; ZHU, X.; SUN, H.; SUN, H.; PAN, J. Identification of Odor Volatile Compounds and Deodorization of *Paphia undulata* Enzymatic Hydrolysate. **Journal of Ocean University of China (Oceanic and Coastal Sea Research)**, v. 15, p. 1101-1110, 2016.

COSTA, W. A. da.; BEZERRA, F. W. F.; OLIVEIRA, M. S. de.; AGUIAR ANDRADE, E. H. de.; SANTOS, A. P. M. dos., CUNHA, V. M. B.; SANTOS, D. C. S. dos.; BANNA, D. A. D. da S.; TEIXEIRA, E.; CARVALHO JUNIOR, R. N. de. Supercritical CO₂ extraction and transesterification of the residual oil from industrial palm kernel cake with supercritical methanol. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.147, p. 179-187, 2019.

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

Fatty Acids from Boiled Anchovies Using Supercritical Carbon Dioxide. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 13, p. 298-303, 2008.

FERDOSH, S.; SARKER, Z. I.; NORULAINI, N.; OLIVEIRA, A.; YUNUS, K.; CHOWDURY, A. J.; AKANDA, J.; OMAR, M. Quality of tuna fish oil extracted from processing the by-products of three species of neritic tuna using supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n.4, p. 432-441, 2014.

FRANKLIN, E. C.; HAQ, M.; ROY, V. C.; PARK, J.; CHUN, B. Supercritical CO₂ extraction and quality comparison of lipids from Yellowtail fish (*Seriola quinqueradiata*) waste in different conditions. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, 2020.

FRANKLIN, E. C.; HAQ, M.; ROY, V. C.; PARK, J. S.; CHUN, B. S. Supercritical CO₂ extraction and quality comparison of lipids from Yellow tail fish (*Seriola quinqueradiata*)

waste in different conditions. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 11, p. 14892, 2020.

FRASISCA, S.; ROSTINI, L.; SURYANA, A. A. H.; PRATAMA, R. I. Effect of Addition Glycerol Plasticizer to the Characteristics of Catfish (*Pangasius* sp.) Surimi Protein Edible Film. **World News of Natural Sciences**, v. 30, n. 3, 2020.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: Water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p. 39–50, 1994.

HAQ, M.; AHMED, R.; CHO, Y. J.; CHUN, B. S. Quality properties and bio-potentiality of edible oils from atlantic salmon by-products extracted by supercritical carbon dioxide and conventional methods. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 6, p.1953-1967, 2017.

IVANOV, K.; BLUMBERGA, D. Extraction of fish oil using green extraction methods: a short review. **Energy Procedia**, v. 128, p. 477–483, 2017.

JEEVAHAN, J. J.; CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESAN, S. P.; SRIRAM, V.; JOSEPH, G. B.; MAGESHWARAN, G.; DURAIRAJ, R. B. Scaling up difficulties and commercial aspects of edible films for food packaging: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 100, p. 210–222. 2020.

KUVENDZIEV, S.; LISICHKOV, K.; ZEKOVIĆ, Z.; MARINKOVSKI, M.; MUSLIU, Z. H. Supercritical fluid extraction of fish oil from common carp (*Cyprinus carpio* L.) tissues. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.133, p. 528–534, 2018.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680–685, 1970.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 85–92. 2010.

MISHRA, P. K.; GAUTAM, R. K.; KUMAR, V.; KAKATKAR, A. S.; CHATTERJEE, S. Synthesis of Biodegradable Films Using Gamma Irradiation from Fish Waste. **Waste and Biomass Valorization**, 2020.

MOTTA, L. B.; FURLAN, C. M.; SANTOS, D. Y.; SALATINO, M. L.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; NEGRI, G.; CARVALHO, J. E. de.; RUIZ, A. L. T. G.; CORDEIRO, I.;

SALATINO, A. Constituents and antiproliferative activity of extracts from leaves of *Croton macrobothrys*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 6, p. 972-977, 2011.

NEVES, E. M. P. X.; PEREIRA, R. R.; PEREIRA, G. V. da S.; PEREIRA, G. V. da S.; VIEIRA, L. L.; LOURENÇO, L. de F. H. Effect of polymer mixture on bioplastic development from fish waste. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 45, n. 4, p. 518, 2019.

PAN, J.; JIA, H.; SHANG, M.; LI, Q.; XU, C.; WANG, Y.; WU, H.; DONG, X. Effects of deodorization by powdered activated carbon, β -cyclodextrin and yeast on odor and functional properties of tiger puffer (*Takifugu rubripes*) skin gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 116–123, 2018.

PARK S.; ZHAO Y. Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p.1933–39, 2004.

PARK, J.; LEE, M.; UDDIN, M. S.; CHUN, B. Removal of Off-Flavors and Isolation of PENG, D.; ROBINSON, D. B. A new two-constantequationofstate. **Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals**, v. 15, n. 1, p. 59–64, 1976.

PEREIRA, G. V. da S; PEREIRA, G. V. da S; NEVES, E. M. P. X; do REGO, J. de A. R; BRASIL, D. do S. B; LOURENÇO, L. de F. H; JOELE, M. R. S. P. Glycerol and fatty acid influences on the rheological and technological properties of composite films from residues of *Cynoscion acoupa*. **Food Bioscience**, v. 38, p. 100773, 2020.

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

PIRES, C.; RAMOS, C.; TEIXEIRA, B.; BATISTA, I.; NUNES, M. L.; MARQUES, A. Hake proteins edible films incorporated with essential oils: Physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. **Food Hydrocolloids**, v. 30, p. 224-231, 2013.

ROH, H.; PARK, J.; PARK, S.; CHUN, B. Isolation of Off-flavors and Odors from Tuna Fish Oil Using Supercritical Carbon Dioxide. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 11, p. 496-502, 2006.

RUBIO-RODRÍGUEZ, N.; DIEGO, S. M.; BELTRÁN, S.; JAIME, I.; SANZ, M. T.; ROVIRA, J. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 238–248, 2012.

RUBIO-RODRÍGUEZ, N.; SARA, M.; BELTRÁN, S.; JAIME, I.; SANZ, M. T.; ROVIRA, J. Supercritical fluid extraction of fish oil from fish by-products: A comparison with other extraction methods. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 2, p. 238-248, 2012.

SAE-LEAW, T.; BENJAKUL, S.; O'BRIEN, N. M. Effect of Pretreatments and drying methods on the properties and fishy odor/flavor of gelatin from Seabass (*Lates calcarifer*) skin. **Drying Technology**, v. 34, p. 53-65, 2016.

SHIMODA, M.; YAMAMOTO, Y.; COCUNUBO-CASTELLANOS, J.; YOSHIMURA, T.; MIYAKE, M.; ISHIKAWA, H.; OSAJIMA, Y. Deodorization of Fish Sauce by Continuous-Flow Extraction with Microbubbles of Supercritical Carbon Dioxide. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 8, p. 1349-1351, 2000.

StartSoft Statistica for Windows 7.0. Data analysis software system. Tulsa, Oklahoma. 2004.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SONGTIPYA, P. Characteristics of film based on protein isolate from red tilapia muscle with negligible yellow discoloration. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, p. 758-767, 2011.

VAQUERO, E. M.; BELTRÁN, S.; SANZ, M. T. Extraction of fat from pigskin with supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**. v.37, p. 142-150, 2006.

VIEIRA, L. L.; ARAÚJO, C. S.; NEVES, E. M. P. X.; BATISTA, J. T. S.; PEIXOTO JOELE, M. R. S.; LOURENÇO, L. de F. H. Emulsified films produced with proteins extracted from white mouth croaker byproducts: Development and characterization. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 3, p. 360, 2018.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Os tipos de resíduo usados para extrair as proteínas miofibrilares (PM) influenciaram em todas as propriedades do filme e estão relacionadas com a concentração de compostos não proteicos como lipídeos e cinzas nas PM extraídas da CMS, ocasionando a formação de filmes com propriedades inferiores quando comparado ao filme produzido com as proteínas extraídas das aparas. A intensidade da remoção de componentes como sangue, pigmentos, lipídeos e proteínas hidrossolúveis depende do número de lavagens. Portanto, infere-se que para extrair as PM de material muscular mais gorduroso e com maior concentração de compostos como hemoglobina e mioglobina como a CMS, o número de lavagens e outras etapas de extração devem ser aumentadas. É válido ressaltar que o uso da CMS para produção de filmes é uma excelente alternativa para contribuir com a diminuição da quantidade de resíduos de menor valor comercial gerados pela indústria pesqueira.

2. As modificações estruturais da proteína causada pela secagem convectiva favoreceu a formação dos filmes, gerando propriedades iguais ou melhores aos filmes produzidos com proteínas liofilizada. Portanto, o processo de secagem por liofilização de PM para elaboração de filmes biodegradáveis pode ser substituído pela convecção a 80 °C, possibilitando diminuir o custo de produção, além de melhorar suas propriedades tecnológicas.

3. O filme produzido com proteínas miofibrilares que passaram pela desodorização com solvente em Soxhlet apresentou todas as propriedades estudadas melhores comparado ao filme controle produzido com proteína que não passou por desodorização. Estes resultados demonstraram que a retirada dos lipídeos pode solucionar não somente o problema com o odor de peixe nos filmes, como proporcionar uma proteína mais isolada e sem interferentes o que favorece a formação de filmes com melhores propriedades.