



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

GLEICE VASCONCELOS PEREIRA DO LAGO

OBTENÇÃO, AVALIAÇÃO E APLICABILIDADE DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE PROTEÍNAS DE PESCADA AMARELA (*Cynoscyon acoupa*), AMIDO DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* C.) E ÁCIDOS GRAXOS EM FRUTOS PÓS-COLHEITA

BELÉM - PA

2020

GLEICE VASCONCELOS PEREIRA DO LAGO

OBTENÇÃO, AVALIAÇÃO E APLICABILIDADE DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE PROTEÍNAS DE PESCADA AMARELA (*Cynoscyon acoupa*), AMIDO DE MANDIOCA (*Manihot esculenta C.*) E ÁCIDOS GRAXOS EM FRUTOS PÓS-COLHEITA

Tese de Doutorado VIII apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele

Coorientador: Prof. Dr. Davi do Socorro Barros Brasil

Data de Avaliação: ____/____/____ Conceito: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele
(PPGCTA/UFPA – Orientadora)

Prof. Dr. Davi do Socorro Barros Brasil
(PPGEQ/UFPA – Co-orientador)

Prof^ª. Dr^ª. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço
(PPGCTA/UFPA – Membro Interno)

Prof^ª. Dr^ª. Consuelo Lúcia Sousa de Lima
(PPGCTA/UFPA – Membro Interno)

Prof. Dr. José de Arimateia Rodrigues do Rego
(Colégio Militar de Belém/CMBL – Membro Externo)

Prof^ª. Dr^ª. Eleda Maria Paixão Xavier Neves
(Curso Nutrição/EZAMAZ – Membro Externo)

Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Junior
(PPGCTA/UFPA – Suplente Interno)

Prof^ª. Dr^ª. Elen Vanessa Costa da Silva
(UEPA/CCNT– Suplente externo)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará

Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

D631o DO LAGO, GLEICE VASCONCELOS
PEREIRA. OBTENÇÃO, AVALIAÇÃO E
APLICABILIDADE DE
FILMES BIODEGRADÁVEIS DE PROTEÍNAS DE PESCADA
AMARELA (*Cinostyon acoupa*), AMIDO DE
MANDIOCA (*Manihot esculenta* C.) E ÁCIDOS
GRAXOS EM FRUTOS PÓS- COLHEITA / GLEICE
VASCONCELOS PEREIRA DO LAGO. —2020.
153 f.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Profa. Dra. Maria
Regina SarkisPeixoto Joele

Coorientador(a): Prof. Dr. Prof. Dr. Davi do
Socorro BarrosBrasil

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, 2020.

1. resíduos de peixe. 2. proteínas miofibrilares.
3. amido de mandioca. 4. ácidos graxos. 5. frutos
pós-colheita. I. Título.

CDD 664

“Deus transforma choro em sorriso, dor em força, fraqueza em fé e sonhos em realidade.”

Dedico em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta árdua caminhada. Minha orientadora Regina Joele por toda ajuda e aprendizado e Coorientador Davi Brasil pela parceria. A minha família que sempre me apoiou nessa jornada dura, meus pais e irmãos que incansavelmente me ajudaram para que eu pudesse chegar até aqui.

Agradecimentos

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força, fé e coragem durante toda esta longa caminhada. A minha família que sempre acreditou em mim, me apoiou em todos os momentos, meus Pais José da Silva e Rosângela Vasconcelos pela incansável luta junto comigo para que eu sempre pudesse conquistar os meus sonhos, abdicando dos sonhos deles para colocar o meu em primeiro lugar, por me darem apoio incondicional, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, por serem meus ídolos! Aos meus Irmãos Thyago Vasconcelos e Glauce Vasconcelos pelo apoio, que sempre estão comigo de mãos dadas, me apoiando em tudo! Ela, que sempre está comigo em todos os momentos difíceis e que nunca me deixa cair! Ao meu sobrinho Rafael Vasconcelos, por transformar a minha vida e me fazer conhecer um novo amor incondicional. Aos meus familiares que sempre estão ali de pé para me aplaudirem por cada conquista! A minha família do coração, presente de Deus, mãe Palmira, pai Neco, irmãos: Lena, Cláudia e Marcelo (Eu sempre estarei aqui contigo no meu coração), sobrinhos e agregados (risos), agradecer por sempre cuidarem de mim, por me fazerem muito feliz, por serem tão especiais na minha vida! Ao meu esposo Arthur Lago, por não hesitar em me ajudar, por cuidar tão bem de mim, por me amar e me respeitar, e sempre acreditando que eu serei uma vencedora! Aos meus professores, todos, pela educação recebida, a todas as bancas julgadoras que contribuíram de forma direta e indireta no meu trabalho. Em especial a minha orientadora Regina Joele, pela confiança, pelo suporte, pelas suas correções, por me ajudar a conquistar o meu tão esperado sonho de ser Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. A professora Lúcia Lourenço por suas orientações e por abrir as portas do Laboratório LAPOA para minhas pesquisas, aos meus amigos de curso, a família LAPOA, por sempre estarmos juntos e nos apoiando nessa caminhada. Aos Professores Davi Brasil e José Rego pela oportunidade de trabalharmos em parceria, pelas dicas, correções e incentivo. A Universidade Federal do Pará, por possibilitar, mesmo com as dificuldades de uma universidade pública, a oportunidade de fazer o curso, pela trajetória plausível acadêmica! Ao PPGCTA por todo apoio e aprendizado, a CAPES, CNPq e PROPESP pelo apoio financeiro! Meu sincero... Muito Obrigada!

RESUMO

O objetivo geral da presente Tese é “Obtenção, avaliação e aplicabilidade de filmes biodegradáveis de proteínas de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), amido de mandioca (*Manihot esculenta* c.) e ácidos graxos em frutos pós-colheita” e apresenta três artigos interligados. O primeiro intitulado “Influência da adição de glicerol e ácidos graxos nas propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos de *Cynoscion acoupa*”, e trata do estudo realizado com filmes de proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) e ácidos graxos (esteárico (PE), palmítico (PP) e caprótico (PC)). A adição dos ácidos PE e PP e do glicerol aumentaram significativamente a viscosidade das soluções filmogênicas (SF). Os filmes denominados PE (1% PML (p/v) e 0,5% ácido esteárico (p/p)) e PP (1% PML (p/v) e 0,5% ácido palmítico (p/p)) apresentaram melhores propriedades de permeabilidade ao vapor de água (PVA) e solubilidade, com estruturas mais ordenadas (cristalinas) e melhores resistência térmica quando comparados aos demais filmes. O segundo artigo “Propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos obtidos com proteínas miofibrilares de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) e amido de mandioca (*Manihot esculenta* C.)”, avaliou a influência de diferentes concentrações de proteínas e amido nas propriedades reológicas das SF e tecnológicas dos filmes. O amido apresentou influência significativa nas SF. As análises indicaram que a interação entre estes biopolímeros é positiva para a produção de embalagens para diferentes tipos de alimentos, sendo que o filme composto F4 (1% PML (p/v), 2% amido (p/v) e 30% glicerol (p/p)) apresentou melhores PVA, solubilidade, mecânica e resistência térmica. Já o terceiro “Avaliação da biodegradação de filmes compostos de proteínas de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), ácido palmítico e amido (*Manihot esculenta*) e sua aplicação como revestimento em frutos pós-colheita”, avaliou a biodegradação em solo dos filmes e o comportamento de frutos mamão revestidos com filme F1 (filme comercial – policloreto de vinila PVC), e revestimentos F2 (1% PML (p/v) e 0,5% ácido palmítico (p/p)) e F3 (1% PML (p/v), 2% amido (p/v) e 30% glicerol (p/p)), utilizando o fruto sem revestimento como controle. A biodegradação, indicou que os filmes F2 e F3 foram considerados biodegradáveis e como esperado o F1 não degradou, no entanto, o F2 foi considerado o mais indicado para ser aplicado como revestimento quando comparado aos demais, por ter aumentado em 6 dias a vida útil das frutas.

Palavras-chave: resíduos de peixe, proteínas miofibrilares, amido de mandioca, ácidos graxos, filmes compostos, revestimentos de frutos.

ABSTRACT

The general objective of this thesis is “Obtaining, evaluating and applicability of biodegradable films of yellow hake (*Cynoscion acoupa*), cassava starch (*Manihot esculenta C.*) and fatty acids in post-harvest fruits” and presents three interconnected articles. The first one entitled “Influence of the addition of glycerol and fatty acids on the rheological and technological properties of films composed of *Cynoscion acoupa*”, and deals with the study carried out with films of lyophilized myofibrillar proteins (PML) and fatty acids (stearic (PE), palmitic (PP) and caproic (PC)). The addition of PE and PP acids and glycerol significantly increased the viscosity of film-forming solutions (SF). The films named PE (1% PML (w/v) and 0.5% stearic acid (w/w)) and PP (1% PML (w/v) and 0.5% palmitic acid (w/w)) showed better water vapor permeability (PVA) and solubility properties, with more ordered structures (crystalline) and better thermal resistance when compared to the other films. The second article “Rheological and technological properties of composite films obtained with myofibrillar proteins from yellow hake (*Cynoscion acoupa*) and cassava starch (*Manihot esculenta C.*)”, evaluated the influence of different concentrations of proteins and starch on the rheological properties of SF and film technologies. Starch had a significant influence on SF. The analyzes indicated that the interaction between these biopolymers is positive for the production of packaging for different types of food, and the composite film F4 (1% PML (w/v), 2% starch (w/v) and 30% glycerol (w/w)) showed better PVA, solubility, mechanics and thermal resistance. The third “Evaluation of the biodegradation of films composed of proteins from yellow hake (*Cynoscion acoupa*), palmitic acid and starch (*Manihot esculenta C.*) and its application as a coating on post-harvest fruits”, evaluated the biodegradation of the films in soil and the behavior of papaya fruits coated with F1 film (commercial film - PVC polyvinyl chloride), and coatings F2 (1% PML (w/v) and 0.5% palmitic acid (w/w)) and F3 (1% PML (w/v), 2% starch (w/v) and 30% glycerol (w/w)), using the uncoated fruit as a control. Biodegradation indicated that the F2 and F3 films were considered biodegradable and as expected the F1 did not degrade, however, the F2 was considered the most suitable to be applied as a coating when compared to the others, as it increased its shelf life by 6 days of the fruits.

.

Keywords: fish residues, myofibrillar proteins, cassava starch, fatty acids, composite films, fruit coatings.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2: Influência da adição de glicerol e ácidos graxos nas propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos de <i>Cynoscion acoupa</i> -----	52
Figura 1. Equação da linha da reta para obtenção dos pesos moleculares (PM) da amostra de proteínas miofibrilares de peixes (PML)-----	56
Figura 2. Eletroforese SDS-PAGE da amostra de proteínas miofibrilares de peixe (a) e padrão (b)-----	61
Figura 3. Modelo reológico para curvas de fluxo (3A-B) e viscosidade (3C-D) de soluções de filme-----	65
Figura 4. Raio-X dos filmes-----	71
Figura 5. FTIR dos filmes-----	73
Figura 6. Curvas termogravimétricas TG (A) e DTG (B) dos filmes-----	74
Figura 7. Micrografias dos filmes-----	76
CAPÍTULO 3. Propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos obtidos com proteínas miofibrilares de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) e amido de mandioca (<i>Manihot esculenta c.</i>) -----	82
Figura 1. Micrografias das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) (a) e amido de mandioca (AM) (b)-----	92
Figura 2. Modelagem da curva de viscosidade das SF-----	94
Figura 3. Curvas de análise termogravimétrica – TGA (a) e termogravimétrica diferencial – DTG (b) dos filmes-----	100
Figura 4. Curvas de DSC dos filmes-----	102
Figura 5. DRX dos filmes-----	104
Figura 6. Análise de FTIR dos polímeros proteínas e amido e dos filmes-----	105
Figura 7. Micrografias dos filmes-----	107
CAPÍTULO 4: Avaliação da biodegradação de filmes compostos de proteínas de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>), ácido palmítico e amido (<i>Manihot esculenta</i>) e sua aplicação como revestimento em frutos pós-colheita -----	116
Figura 1. Gráfico de regressão linear (padrão) para obtenção dos pesos moleculares (PM) das amostras de proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)-----	120
Figura 2. Sistema de biodegradação dos filmes em solo-----	121

Figura 3. Eletroforese SDS-PAGE de proteínas miofibrilares liofilizadas (A); Padrão BIO RAD (B)-----	125
Figura 4. Percentual de perda de massa dos filmes-----	127
Figura 5. FTIR dos filmes-----	129
Figura 6. Representação esquemática das possíveis interações de hidrogênio estabelecidas nos filmes-----	131
Figura 7. ΔE dos frutos revestidos em relação ao controle (A) e ΔE dos frutos em relação aos dias de análise (B)-----	134
Figura 8. Percentual de perda de massa dos frutos-----	135
Figura 9. pH (A), AT (g ácido cítrico/100g) (B), SST (%) (C) e SST/AT (D) dos frutos-----	139
Figura 10. Valores da inibição da atividade antioxidante (A), teor fenólico total (B) e ácido ascórbico (C) dos frutos-----	141

LISTA DE EQUAÇÕES

CAPÍTULO 2: Influência da adição de glicerol e ácidos graxos nas propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos de <i>Cynoscion acoupa</i> -----	52
Equação 1. Modelo matemático de viscosidade de Bingham-----	58
Equação 2. Modelo matemático da tensão de cisalhamento de Bingham-----	58
Equação 3. Modelo matemático de viscosidade de Herschel-Bulkley-----	58
Equação 4. Modelo matemático da tensão de cisalhamento de Herschel-Bulkley-----	58
Equação 5. Modelo matemático de viscosidade de Ostwald de Waele-----	58
Equação 6. Modelo matemático da tensão de cisalhamento de Ostwald de Waele-----	58
Equação 7. Croma (C*) dos filmes-----	58
Equação 8. Ângulo de tonalidade (h°) dos filmes-----	58
Equação 9. Opacidade dos filmes-----	58
Equação 10. Valor de transparência dos filmes-----	59
Equação 11. Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes-----	59
Equação 12. Solubilidade dos filmes-----	59
CAPÍTULO 3. Propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos obtidos com proteínas miofibrilares de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) e amido de mandioca (<i>Manihot esculenta c.</i>) -----	82
Equação 1. Solubilidade dos filmes-----	88
Equação 2. Resistência à tração (RT) dos filmes-----	88
Equação 3. Elongação dos filmes -----	88
Equação 4. Valor de transparência dos filmes-----	89
Equação 5. Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes-----	89
CAPÍTULO 4: Avaliação da biodegradação de filmes compostos de proteínas de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>), ácido palmítico e amido (<i>Manihot esculenta</i>) e sua aplicação como revestimento em frutos pós-colheita -----	116
Equação 1. Perda de massa (PM) dos filmes-----	121
Equação 2. Perda de massa (PM) dos frutos-----	123
Equação 3. Inibição da atividade antioxidante dos frutos-----	124

ÍNDICE DE TABELA

CAPÍTULO 2: Influência da adição de glicerol e ácidos graxos nas propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos de <i>cynoscion acoupa</i> -----	52
Tabela 1. Resultados dos parâmetros dos modelos reológicos das curvas de fluxo das soluções filmogênicas-----	63
Tabela 2. Resultados dos parâmetros dos modelos reológicos das curvas de viscosidade das soluções filmogênicas-----	64
Tabela 3. Resultados da viscosidade aparente das soluções filmogênicas-----	66
Tabela 4. Resultados da análise de cor dos filmes compostos-----	67
Tabela 5. Resultados para espessura, PVA e solubilidade dos filmes compostos--	68
Tabela 6. Resultados para a transmissão de luz e transparência dos filmes compostos-----	70
Tabela 7. Resultados da análise termogravimétrica para os filmes compostos-----	74
CAPÍTULO 3. Propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos obtidos com proteínas miofibrilares de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) e amido de mandioca (<i>Manihot esculenta C.</i>) -----	82
Tabela 1. Composições dos filmes biodegradáveis-----	86
Tabela 2. Modelos usados para descrever a curva de fluxo e viscosidade aparente das soluções filmogênicas-----	87
Tabela 3. Resultados dos parâmetros de cor das matérias-primas-----	91
Tabela 4. Resultados dos parâmetros dos modelos reológicos (curvas de fluxo) das soluções filmogênicas-----	93
Tabela 5. Parâmetros de cor dos filmes-----	96
Tabela 6. Caracterização tecnológica dos filmes-----	97
Tabela 7. Transmissão de luz e transparência dos filmes-----	99
Tabela 8. Temperaturas de decomposição (Td, °C) e perda de peso (ΔP %) dos filmes-----	100
Tabela 9. Análise semiquantitativa dos elementos químicos presentes nos filmes utilizando a técnica EDS-----	108

CAPÍTULO 4: Avaliação da biodegradação de filmes compostos de proteínas de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>), ácido palmítico e amido (<i>Manihot esculenta</i>) e sua aplicação como revestimento em frutos pós-colheita-----	116
Tabela 1. Vida útil dos tratamentos controle e revestidos F1, F2 e F3-----	132
Tabela 2. APÊNDICE A. Cor dos frutos controle e revestidos F1, F2 e F3. -----	152
Tabela 3. Firmeza dos frutos controle e revestidos F1, F2 e F3-----	137
Tabela 4. Análise de fungos filamentosos e leveduras (<i>total plate count</i>) dos frutos	143

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	16
<u>2 OBJETIVOS</u>	<u>17</u>
2.1 GERAL.....	17
2.2 ESPECÍFICOS	17
<u>CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA</u>	<u>18</u>
<u>1. PESCADA AMARELA.....</u>	<u>18</u>
<u>2. CARACTERÍSTICAS DAS PROTEÍNAS DE PEIXES</u>	<u>19</u>
<u>3. IMPACTO AMBIENTAL</u>	<u>20</u>
<u>4. OBTENÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS.....</u>	<u>22</u>
4.1 FILMES COMPOSTOS E SUAS PROPRIEDADES	25
<u>4.1.1. Amido.....</u>	<u>28</u>
4.2 BIODEGRADAÇÃO	29
<u>5. APLICAÇÃO DE FILMES E REVESTIMENTOS BIODEGRAVÁVEIS EM FRUTOS.....</u>	<u>31</u>
5.1 MAMÃO (<i>Carica papaya L.</i>).....	33
<u>CAPÍTULO 2: Influência da adição de glicerol e ácidos graxos nas propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos de <i>Cynoscion acoupa</i></u>	<u>52</u>
<u>1. Introdução</u>	<u>53</u>
<u>2. Material e métodos</u>	<u>54</u>
2.1 Obtenção dos resíduos	54
2.2 Obtenção das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)	55
2.3 Análise eletroforética das PML	55
2.4 Preparação dos filmes biodegradáveis.....	56
2.5 Caracterização reológica das soluções filmogênicas (SF).....	57
2.6 Caracterização dos filmes biodegradáveis.....	58
2.7 Análise estatística	60
<u>3 Resultados e discussão.....</u>	<u>60</u>
3.1. Eletroforese das PML	60
3.2 Propriedades reológicas das SF	62
3.3 Caracterização dos filmes.....	66
3.3.1 Cor.....	66
3.3.2 Caracterização da espessura, PVA e solubilidade	67
3.3.3 Transmissão de luz e transparência	69

3.3.4 DRX.....	70
3.3.5 FTIR-ATR.....	72
3.3.6 TGA/DTG.....	73
3.3.7 MEV.....	75
4. Conclusão.....	76
Referências.....	77
<u>CAPÍTULO 3. Propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos obtidos com proteínas miofibrilares de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) e amido de mandioca (<i>Manihot esculenta C.</i>).....</u>	
<u>1. Introdução.....</u>	<u>83</u>
<u>2. Material e métodos.....</u>	<u>84</u>
<u>2.1 Obtenção dos resíduos de peixe.....</u>	<u>84</u>
<u>2.2 Obtenção do amido de mandioca (AM) e das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML).....</u>	<u>85</u>
<u>2.3 Obtenção das soluções e filmes biodegradáveis.....</u>	<u>86</u>
<u>2.4 Caracterização reológica das soluções filmogênicas (SF).....</u>	<u>86</u>
<u>2.5 Caracterização dos filmes biodegradáveis compostos.....</u>	<u>87</u>
2.5.1 Cor e espessura.....	87
2.5.2 Solubilidade.....	87
2.5.3 Propriedades mecânicas.....	88
2.5.4 Transmissão de luz e transparência.....	88
2.5.5 Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	89
2.5.6 Difração de raios X (XRD).....	89
2.5.7 Análise térmica.....	90
2.5.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise química por espectroscopia de energia dispersiva de raio-X (EDS).....	90
<u>2.6 Análise estatística.....</u>	<u>90</u>
<u>3. Resultados e discussão.....</u>	<u>90</u>
<u>3.1 Caracterização das matérias-primas.....</u>	<u>90</u>
3.1.1 Cor.....	90
3.1.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	91
<u>3.2 Propriedades reológicas das soluções filmogênicas (SF).....</u>	<u>92</u>
<u>3.3 Propriedades tecnológicas dos filmes.....</u>	<u>95</u>
<u>3.4 Transmissão de luz e transparência dos filmes.....</u>	<u>98</u>

3.5	Análise termogravimétrica (TGA/DTG)	99
3.6	Calorimetria de varredura diferencial (DSC)	101
3.7	Difração de raio-x (DRX)	103
3.8	Espectroscopia de infravermelho (FTIR-ATR) das matérias-primas e filmes	104
3.9	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise química por espectroscopia de energia dispersiva de raio-x (EDS) dos filmes	106
4.	Conclusão	109
	Referências	109
	CAPÍTULO 4: Avaliação da biodegradação de filmes compostos de proteínas de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>), ácido palmítico e amido (<i>Manihot esculenta</i> C.) e sua aplicação como revestimento em frutos pós-colheita	116
1.	Introdução	117
2.	Material e métodos	118
2.1	Material	118
2.2	Obtenção das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)	119
2.3	Padrão eletroforético das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)	119
2.4	Obtenção das soluções filmogênicas (SF) e filmes biodegradáveis	120
2.5	Teste de biodegradação em solo dos filmes biodegradáveis	121
2.5.1	Perda de massa (%)	121
2.5.2	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com refletância total atenuada (FTIR/ATR)	121
2.5.3	Desenho esquemático de interações intra e intermoleculares dos filmes	122
2.6	Aplicação das soluções filmogênicas biodegradáveis	122
2.6.1	Revestimento dos frutos por imersão	122
2.6.2	Avaliação dos atributos de qualidade dos frutos revestidos	122
2.6.2.1	Aspecto visual	123
2.6.2.2	Cor instrumental	123
2.6.2.3	Perda de massa (PM)	123
2.6.2.4	Firmeza	123
2.6.2.5	Análises químicas	123
2.6.2.6	Teor fenólico total	124
2.6.2.7	Inibição da atividade antioxidante (IAA)	124
2.6.2.8	Contagem de fungos filamentosos e leveduras	124
2.7	Análise estatística	125

3. Resultados e Discussão.....	125
3.1 Análise eletroforética das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML).....	125
3.2 Biodegradação em solo.....	126
3.2.1 Perda de massa (PM).....	126
3.2.2 Espectroscopia de infravermelho dos filmes biodegradáveis.....	128
3.3.3 Possíveis interações inter e intermoleculares entre proteínas (PT), ácido palmítico (PA), amido (ST) e glicerol (GLY) nas estruturas dos filmes.....	130
3.3 Avaliação da qualidade física dos frutos pós-colheita.....	132
3.3.1 Aspecto visual.....	132
3.3.2 Cor.....	133
3.3.3 Perda de massa (PM).....	135
3.3.4 Firmeza (N).....	136
3.4 Avaliação da qualidade química dos frutos pós-colheita.....	138
3.4.1 pH, acidez titulável (AT), sólidos solúveis totais (SST) (%) e índice de maturação (SST/AT).....	138
3.4.2 Inibição da atividade antioxidante (IAA), teor fenólico total e ácido ascórbico (AA).....	140
3.5 Contagem de fungos filamentosos e leveduras.....	142
4. Conclusão.....	143
Referências.....	144

1. INTRODUÇÃO GERAL

O contexto global de poluição ambiental, causada pelo descarte de embalagens sintéticas elaboradas com materiais poliméricos à base de petróleo, que demoram muito tempo para se decompor no meio ambiente, assim como, por resíduos do processamento de pescado, ricos em proteínas, representam grande preocupação. No estado do Pará, o processamento da pescada amarela, uma das espécies mais comercializada, com grande valor comercial e ampla distribuição, também gera grande quantidade de resíduos. Portanto, elaborar filmes com características biodegradáveis utilizando as proteínas extraídas dos resíduos do processamento industrial desta espécie, contribui dessa maneira com o meio ambiente.

Devido a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade, as proteínas, os polissacarídeos e os lipídeos são materiais biopoliméricos alternativas muito importantes para a elaboração de películas biodegradáveis flexíveis. E a combinação de matérias-primas, podem melhorar o desempenho dos filmes como embalagens para alimentos. Pois cada componente desempenha uma função diferente, conferindo propriedades específicas que somadas melhoram as propriedades tecnológicas dos filmes biodegradáveis.

Os filmes compostos de proteínas e amido possuem boas propriedades de barreira a gases e fornecem propriedades mecânicas importantes, no entanto, estes filmes apresentam alta permeabilidade ao vapor de água (PVA) devido as características dos aminoácidos presentes nas proteínas e as hidroxilas do amido. Por tanto, a adição de materiais hidrofóbicos, como os ácidos graxos (esteárico, palmítico e caprótico) adicionados neste trabalho, podem contribuir de forma positiva, diminuindo a PVA dos filmes formados. Característica desejável para revestimentos usados em frutos, devido a importância da água e oxigênio na manutenção da aparência e perda de massa.

O Brasil é um dos países produtores e exportadores de mamão, merecendo destaque a região Nordeste Paraense e a Metropolitana de Belém que juntas representam um alto percentual da produção estadual. É um fruto considerado boa fonte de vitaminas, muito utilizado em dietas alimentares por ser digestivo, rico em fibras e com alto valor nutritivo, que o tornam um alimento saudável. Apresenta sabor agradável, com quantidades consideráveis de polissacarídeos, e têm um amplo espectro de atividades biológicas, como os antioxidantes. No entanto, é um fruto climatérico, com intenso metabolismo durante o amadurecimento, o que dificulta o seu armazenamento por período prolongado pós-colheita, portanto, o interesse foi aplicar filmes biodegradáveis com intuito de prolongar sua vida útil.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar a influência da mistura de proteínas miofibrilares de peixe (*Cynoscyon acoupa*), ácidos graxos, amido de mandioca (*Manihot esculenta C.*) e glicerol nas propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos biodegradáveis, e estudar a aplicabilidade como recobrimento em frutos pós-colheita.

2.2 ESPECÍFICOS

- Extrair e avaliar as proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) de peixe através da eletroforese;
- Avaliar as propriedades reológicas (curvas de fluxos e viscosidade aparente) de soluções filmogênicas de PML de peixe, ácidos graxos (esteárico, palmítico e capríco), amido de mandioca, plasticizados com glicerol;
- Produzir filmes compostos biodegradáveis com propriedades tecnológicas adequadas para serem utilizados como embalagem de alimentos (cor, espessura, permeabilidade ao vapor de água – PVA, solubilidade, resistência a tração – RT, alongação (%E), transmissão de luz e transparência), termogravimétricas (TGA/DTG e DSC), difração de raio-X, espectroscopia de infravermelho (FTIR-ATR), Microscopia (MEV) e Espectroscopia (EDS);
- Avaliar o processo de biodegradação em solo dos filmes compostos elaborados.
- Avaliar o processo de maturação de frutos revestidos com filmes compostos biodegradáveis.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA

1. PESCADA AMARELA

O litoral amazônico, que inclui a costa dos Estados do Pará, Amapá e Maranhão, possui uma vocação natural para a exploração dos recursos pesqueiros (ISAAC-NAHUM, 2006). Sendo habitat de espécies de alto valor econômico, como a pescada amarela, *Cynoscion acoupa* (Lacèpede, 1801) da família Sciaenidae (ALMEIDA et al., 2016; HE et al., 2012). Porém, podem ser observadas diferenças durante o crescimento em diferentes habitats entre as etapas de vida da pescada amarela, ocasionadas pelo ambiente e diversidade do organismo (OLIVEIRA et al., 2020).

Essa espécie ocorre em águas tropicais e subtropicais da costa atlântica da América do Sul e em todo o litoral do Brasil, além do oeste do Panamá e Argentina. A pescada amarela apresenta hábito nectônico e demersal, vive em águas rasas e salobras de estuários, lagoas estuarinas e desembocaduras de rios, podendo também adentrar a água doce (HE et al., 2012). O período de desova dessa espécie é parcelado, concentrando-se nos meses de novembro e dezembro (início do período chuvoso) e no período de maior pluviosidade, compreendido nos meses de março e abril (ALMEIDA et al., 2016).

No Estado do Pará, a pescada amarela é capturada durante todo o ano, principalmente entre os meses de maio e agosto (MATOS e LUCENA, 2006). Possui grande valor comercial, devido à sua carne ser muito apreciada, além de sua bexiga natatória (grude) alcançar altos preços de mercado, sendo utilizada como emulsificante e clarificante de bebidas (HAIMOVICI; ANDRIGUETTO FILHO; SUNYE, 2014).

Um estudo em oito municípios do litoral norte do Brasil indicaram que a pescada amarela é uma espécie marinha comercialmente importante, alimenta-se em áreas com fundos rochosos até a profundidade de 30 m, se alimentando principalmente de peixes, desova em habitats rochosos e não estuarinos, e o período de desova coincide com o período de captura e o comprimento mediano desses peixes com ovos é 70 cm (JUNIOR, NUNES e SILVANO, 2020).

Cynoscion acoupa é a única espécie designada como “pescada-amarela” no Brasil (NI 29/2015, MAPA), e seus produtos são rotulados apenas com o nome “popular” (BRASIL, 2020). Uma investigação *in loco* dos produtos à venda nas principais redes de supermercados do estado do Pará, Amazônia brasileira, revelou que os produtos industrializados rotulados como “pescada-amarela” eram os mais caros. Outros

Sciaenídeos, também denominados “pescada”, tinham preços muito mais baixos, como a “pescada-branca” e “pescada-gó” (BARBOSA et al., 2020).

2. CARACTERÍSTICAS DAS PROTEÍNAS DE PEIXES

Os peixes possuem grande importância na alimentação humana, pois são altamente proteicos, ricos em aminoácidos essenciais (lisina, metionina, cistina, treonina e triptofano e apresentam características peculiares, como, por exemplo, a presença dos ácidos graxos ômega-3 (Lopes et al., 2012; Zavareze et al., 2012), com um total de 16 a 18 aminoácidos presentes (GHALY et al., 2013). As proteínas têm uma estrutura única, apresentando 20 monômeros diferentes, que fornecem ampla gama de propriedades funcionais, sendo uma delas seu potencial de ligação intermolecular em diferentes posições (KOKOSZKA et al., 2010).

As proteínas do músculo de peixes são constituídas por vários grupos, as sarcoplasmáticas que desempenham funções bioquímicas nas células, as miofibrilares que fazem parte do sistema contrátil (estruturais) e as proteínas do tecido conjuntivo (estroma), responsáveis pela integridade dos músculos (DANGARAN; TOMASULA; QI, 2009).

De acordo com Dangaran, Tomasula, Qi (2009), as proteínas miofibrilares incluem miosina, actina, tropomiosina e troponina, entre outras. Dependendo da espécie de peixe, as proteínas miofibrilares, miosina e actina, podem representar 65 a 75% do total, sendo 50% de miosina e 25% de actina, em média. A miosina é responsável por uma série de propriedades, como gelificação, retenção de água e emulsificação (RAGHAVAN; KRISTINSSON, 2008; BRASIL, 2009). Além, da capacidade de formar matrizes coesivas e contínuas durante o processo de formação de filmes (BOURTOOM et al., 2006).

O uso de proteínas para elaborar filmes biodegradáveis se deve a sua excelente capacidade de coesão e formação de películas, já que as cadeias proteicas formam ligações intra e intermoleculares, além de fornecer propriedades adequadas para o uso como embalagem por meio de alterações químicas, físicas ou enzimáticas (HAMMANN e SCHMID, 2014). As proteínas miofibrilares de peixe são extraídas do músculo do peixe e tem sido usada como material para a formação de filmes (ZAVAREZE et al., 2014; NIE et al., 2015; ARAÚJO et al., 2018; NEVES et al., 2019; PEREIRA et al., 2019a, 2019b; PEREIRA et al., 2020; PEREIRA et al., 2021a, 2021b).

A concentração das proteínas miofibrilares, essenciais na formação de filmes biodegradáveis, ocorre com o processo de lavagem do músculo, que remove as proteínas de baixo peso molecular tal como as sarcoplasmáticas (HAMAGUCHI; WUYIN; TANAKA, 2007), que são solúveis em água ou em solução de baixa força iônica (HEMUNG; CHIN, 2015). Se o processo de lavagem não for eficiente as proteínas sarcoplasmáticas podem ser inseridas entre as cadeias de proteínas miofibrilares durante a formação do filme, levando à diminuição da interação entre as miofibrilas (HAMAGUCHI; WUYIN; TANAKA, 2007).

As proteínas podem ser extraídas por processo químico ou enzimático. No método químico são usados sais (NaCl e LiCl) e solventes (isopropanol e isopropanol azeotrópico). Enquanto que a extração enzimática utiliza enzimas (alcalase, neutrase, protex, protemax e flavorzima) (GHALY et al., 2013). As proteínas miofibrilares são normalmente insolúveis em água, mas podem ser solubilizadas controlando-se o pH da solução (ZAVAREZE et al., 2012). As proteínas miofibrilares podem formar uma rede tridimensional através de desdobramento (exposição de partes hidrofóbicos), a agregação e a ligação cruzada durante o processo de indução de calor (XU et al., 2011).

O processo de gelificação térmica inclui desdobramento inicial após aquecimento e subsequente agregação das moléculas de proteínas. O aquecimento é geralmente realizado perto do ponto isoelétrico ou com alta força iônica (THAWORNCHINSOMBUT; PARK, 2006; WANG et al., 2015). Dependendo do método de processamento usado para induzir a gelificação, os géis com diferentes estruturas de rede podem ter propriedades funcionais diferentes. Estas estruturas são induzidas pela modulação da conformação e interação das proteínas pelas condições do tratamento, tais como pH, temperatura, proteínas e concentração de sal (YANG et al., 2014).

3. IMPACTO AMBIENTAL

O uso excessivo de materiais sintéticos em embalagens tem despertado uma preocupação crescente com o problema ambiental. Como resultado, um esforço considerável tem sido realizado para desenvolver embalagens biodegradáveis a partir de biopolímeros, ou seja, ecologicamente corretas. Portanto, biopolímeros naturais ganharam crescente atenção para a produção de filmes biodegradáveis, devido à sua biocompatibilidade e material não tóxico que pode substituir o sintético (KAEWPRACHU et al., 2016a). Dentre os biopolímeros naturais, destacam-se os

carboidratos, proteínas e lipídios. E as proteínas são extensivamente usadas como materiais de embalagem devido à sua capacidade de formação de filme, abundância, alto valor nutricional e biodegradabilidade (KAEWPRACHU et al., 2016b).

Outro fator preocupante, é a produção industrial de alimentos que gera uma grande quantidade de resíduos que, na maioria das vezes, são descartados no meio ambiente como resíduos orgânicos ou utilizados como ração animal. Todo material que não é aproveitado durante a produção ou consumo, devido às limitações tecnológicas ou mercadológicas, ou seja, que não apresentam valor de uso ou mercado, podem resultar em danos ao meio ambiente quando não manejado de forma adequada (REBOUCAS et al., 2012).

Uma das preocupações é a geração de resíduos das indústrias beneficiadoras de pescado que devido ao desenvolvimento econômico em vários países ocorreu o crescimento do setor de pesca e aquicultura. E as indústrias de processamento geram cerca de 50–80% de resíduos sólidos e líquidos durante vários estágios do beneficiamento. Normalmente, esses resíduos não são aproveitados, sendo depositados em aterros, queimados ou despejados em rios e riachos causando sérios problemas ambientais (XU et al., 2013). A utilização de resíduos do processamento de pescado é uma oportunidade importante para manter o meio ambiente. De acordo com o cenário atual, a estratégia de utilização desses resíduos inclui a recuperação de subprodutos de valor agregado, pois são fontes potenciais de proteínas, minerais, peptídeos bioativos, óleos, enzimas, aminoácidos e outros (BHUIMBAR, BHAGWAT e DANDGE, 2019).

É importante conduzir o correto gerenciamento desses resíduos, pois de acordo com Ismael et al. (2013), o manejo inadequado de resíduos sólidos de qualquer origem são uma ameaça à saúde pública e contribui para formações de situações de vulnerabilidade ambiental, social e econômica, comprometendo a qualidade de vida das populações. Valente et al. (2014), acrescentam que o descarte de resíduos nos recursos hídricos gera um aumento significativo na concentração de fósforo e nitrogênio, bem como decréscimo da concentração de oxigênio dissolvido, que é essencial para a manutenção da vida aquática. Portanto, os biopolímeros obtidos a partir de recursos renováveis ou da agroindústria, de origem animal, resíduos e subprodutos marinhos estão se tornando alternativas cada vez mais reconhecidas para uma sociedade mais sustentável (OLSEN, TOPPE e KARUNASAGAR, 2014).

Vários pesquisadores então engajados em aproveitar resíduos gerados das indústrias beneficiadoras de pescado (Vieira et al., 2018; Neves et al., 2019; Pereira et al.,

2019a, 2019b; Pereira et. al., 2020; Pereira et al., 2021a, 2021b) com o objetivo de desenvolver filmes com características de embalagens biodegradáveis, que não causem danos ao meio ambiente e possam melhorar a qualidade dos produtos alimentícios. Há também, o interesse de usar proteínas miofibrilares para filmes, devido à necessidade de agregar valor comercial e utilizar subprodutos/resíduos originários da indústria de peixes (ZAVAREZE et al., 2014).

Leite, Sucasas e Oetterer (2016), avaliaram e caracterizaram os resíduos gerados na comercialização e manipulação de pescado em dois centros comerciais no município de Santos-SP e concluíram que a principal espécie comercializada e geradora de resíduos era a pescada amarela, sendo descartado por mês aproximadamente 20 t, correspondendo a 3,172 Kg de proteínas.

4. OBTENÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS

Filme biodegradável é preparado a partir de materiais biológicos, que agem como barreira a elementos externos e, conseqüentemente, pode proteger o produto embalado de danos físicos e biológicos e aumentar a sua vida útil (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008).

Os filmes proteicos apresentam propriedades promissoras devido à sua capacidade de formar redes tridimensionais estabilizadas e fortalecidas por ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e ligações dissulfeto, permitindo a criação de ligações intermoleculares e matrizes coesivas (BENBETTAÏEB et al., 2016). Porém, a dissociação e a solubilização das proteínas miofibrilares são necessárias para a formação de filmes (ZAVAREZE et al., 2012).

Filmes de proteínas animais como as miofibrilares, são incolores e ligeiramente transparentes e demonstram excelentes propriedades de barreira aos raios UV em comparação com o filme comercial de cloreto de polivinil (KAEWPRACHU et al., 2016b; KAEWPRACHU et al., 2017), além disso, tem excelente propriedade de barreira a gás, especialmente o oxigênio (PRODPRAN; BENJAKUL; PHATCHARAT, 2012). No entanto, as propriedades mecânicas relativamente pobres e a alta permeabilidade ao vapor de água impuseram limitações significativas para sua aplicabilidade como embalagem de alimentos. Portanto, modificações nas redes dos filmes de proteínas são necessárias para melhorar estas propriedades (KAEWPRACHU et al., 2017).

A absorção de vapor de água de um filme envolve a solubilização e a difusão de moléculas na matriz, devido à natureza hidrofílica dos aminoácidos em moléculas de

proteínas que são plastificadas por água modificando a sua estrutura macromolecular e assim, ambos os coeficientes de difusão e solubilidade se tornam altamente dependentes das condições de umidade relativa. Esta absorção por estes materiais depende da estrutura química dos filmes e da sua morfologia (VILLALOBOS; HERNÁNDEZ-MUÑOZ; CHIRALT, 2006).

A propriedade de barreira para o vapor de água (PVA) é um requisito básico essencial para embalar muitos alimentos, seja seco ou usado para preservar a textura (crocância, suavidade, firmeza) e controlar o desenvolvimento microbiano. Assim, a adição de substâncias hidrofóbicas na estrutura polimérica pode ser uma alternativa, uma vez que estas substâncias podem reduzir a taxa de transferência de vapor de água (HALAL et al., 2016).

Os filmes à base de proteínas possuem propriedades que diferem dependendo do tipo e concentração das proteínas, bem como de outros fatores extrínsecos (KAEWPRACHU et al., 2016a). Um dos processos mais amplamente utilizados na elaboração de filmes é o método de *casting*, que compreende a aplicação da solução filmogênica em suporte adequado, seguida de secagem em condições estritamente controladas (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000). A formação dos filmes envolve uma série complexa de reações químicas, que são influenciadas pelas condições experimentais. Durante o processo de secagem, as macromoléculas ligam-se umas às outras na matriz do filme, e as interações cadeia-cadeia das proteínas são afetadas pelo grau de extensão da cadeia e pela natureza e sequência de resíduos de aminoácidos (KAEWPRACHU et al., 2016a).

Além do material filmogênico, outros parâmetros devem ser considerados no que diz respeito à formação de filmes, como a temperatura e o tipo de plastificante utilizado. A temperatura de secagem determina o grau de reorganização ou cristalinidade do filme, o que pode induzir mudanças nas propriedades óticas, mecânicas e de barreira (CHINMA; ARIAHU; ALAKALI, 2015). Os plastificantes, atuam como um lubrificante, reduzindo as forças de atrito entre as cadeias poliméricas. Eles também podem romper as interações polímero-polímero, como as envolvidas nas ligações de hidrogênio e nas forças de Van der Waals, o que pode levar a aumentos na flexibilidade, no vapor de água, taxa de transmissão e permeabilidade a gases dos filmes (RODRÍGUEZ-NÚÑEZ et al., 2014).

Hoque, Benjakul e Prodpran (2010), ao estudarem o efeito do tratamento térmico da solução filmogênica nas propriedades do filme de proteínas de peixe e glicerol,

concluíram que a temperatura de 70 °C provocou o estiramento ou desdobramento dos filamentos de proteínas, nos quais a maior interação inter-cadeias poderia ser formada via ligação de hidrogênio ou interação hidrofóbica. Pereira et al. (2020), ao adicionarem o glicerol, um componente hidrofílico, os filmes de proteínas de peixe apresentaram aumento significativo na permeabilidade ao vapor de água (PVA).

Misturar proteínas com outros polímeros biodegradáveis ou sintéticos é uma alternativa para melhorar as propriedades dos filmes (GOUNGA; XU; WANG, 2007). Neves et al. (2019), analisaram o efeito da interação de gelatina e proteínas miofibrilares de peixe na produção de filmes e relataram que a interação entre os biopolímeros foi conduzida por ligações de hidrogênio, formando película coesa e reforçada. Além de apresentarem os menores valores de PVA e solubilidade, também foram transparentes e, termicamente resistentes, ou seja, propriedades tecnológicas superiores as produzidas com os polímeros separados.

Pereira et al. (2021b), concluíram através da espectroscopia de infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise química por espectroscopia de energia dispersiva de raio-X (EDS) que a mistura de polímeros de proteínas de peixe e amido de mandioca é positiva para produção de embalagens biodegradáveis para diversos tipos de alimentos, visto que apresentaram melhores resultados reológicos das soluções filmogênicas como nas propriedades tecnológicas dos filmes em relação a cor, PVA, solubilidade, transmissão de luz e transparência, propriedades mecânicas, análises térmicas e difração de raio-x.

Outro parâmetro importante a ser considerado para preparar filmes de proteínas miofibrilares é o pH da solução filmogênica, que necessita ser ajustado para valores alto ou baixo (extremos), distante do ponto isoelétrico das proteínas, para completar a solubilização e não ocorrer precipitação (IWATA et al., 2000). Em valores extremos de pH ácido ou alcalino, há forte repulsão eletrostática de grupos ionizados, levando à solubilização das proteínas. Portanto, a modificação na estrutura das proteínas e as interações entre suas moléculas pelo ajuste do pH ou aquecimento da solução filmogênica melhoraram a formação do filme e suas propriedades (KOWALCZYK; BARANIAK, 2014).

Romani et al. (2018), estudaram o efeito da desnaturação térmica induzida pelo pH no comportamento de gelificação das proteínas para elaboração de filmes e concluíram que a modificação do pH nos géis de proteínas foi mais evidente nas propriedades tecnológicas dos filmes. A gelificação induzida pela redução (pH = 2,0)

formou um gel mais forte comparado ao pH = 10 e as varreduras de temperatura demonstraram a capacidade do gel de manter sua estrutura após vários ciclos de resfriamento e aquecimento.

A funcionalidade e o desempenho dos filmes e revestimentos biodegradáveis dependem de suas propriedades mecânicas e de barreiras, que variam com a composição do filme, processo de formação e o método de aplicação (AHMAD et al., 2012). Os materiais mais utilizados para a elaboração de biofilmes são misturas de lipídeos, proteínas, carboidratos, plastificantes, surfactantes, aditivos e solventes (ANDREUCETTI et al., 2011; AHMAD et al., 2012).

Kaewprachu et al. (2016a), produziram filmes de diferentes fontes proteicas (gelatina comercial de couro bovino, gelatina de pele de peixe, proteínas isoladas de soja, proteínas miofibrilares de peixe e concentrado proteico de soro de leite) para comparar as propriedades mecânicas, físicas, químicas, de barreira e térmicas dos filmes com o comercial (cloreto de polivinil/PVC). Concluíram que as fontes de proteínas apresentaram diferenças na formação dos filmes, que dependeram da condição de formação, do tratamento da solução, da estrutura proteica e interação. Portanto, filmes baseados em proteínas de diferentes fontes exigem condições distintas e produzem filmes com propriedades diferentes, que segundo Limpam et al. (2010), é devido a estrutura molecular e composição.

4.1 FILMES COMPOSTOS E SUAS PROPRIEDADES

A maioria dos trabalhos, mais recentes, tem avaliado filmes compostos ou de mistura para explorar as vantagens complementares de cada componente (KUREK; GALUS; DEBEAUFORT, 2014; PEREIRA et al., 2021b; NEVES et al., 2019). Por exemplo, a adição de componentes hidrofóbicos, como os lipídeos e ácidos graxos, são utilizados para melhorar as propriedades de barreira ao vapor de água, enquanto os componentes hidrofílicos, como as proteínas e/ou polissacarídeos, fornecerão melhores barreira aos gases (FAKHOURI et al., 2009), além de fornecer força necessária à integridade estrutural. No entanto, como cada componente desempenha uma função diferente e fornece propriedades específicas, mais pesquisas são necessárias em filmes compostos e/ou de misturas (KHANZADI et al., 2015). A adição de componentes hidrofóbicos, quer sob a forma de emulsão ou em camada, já foi avaliada por FABRA et al. (2009); HALAL et al. (2016) e PEREIRA et al. (2019b).

A maioria dos filmes ou revestimentos compostos associam uma matriz estrutural hidrofílica e um composto hidrofóbico, resultando em melhores funcionalidades do que os filmes de hidrocolóides puros, especialmente em suas propriedades de barreira à umidade. Os filmes compostos podem ser obtidos como bicamadas ou emulsões. Em um sistema composto de duas camadas, os lipídios formam a segunda camada sobre o polissacarídeo ou proteínas. Na estrutura emulsionada, o lipídio é disperso na matriz do biopolímero. A principal desvantagem dos filmes de duas camadas é que a técnica de preparação requer quatro estágios: dois estágios de fundição e dois de secagem (GALUS; KADZINSKA, 2015). Já os materiais emulsionados são obtidos durante apenas um processo de moldagem e secagem do filme. Suas propriedades dependem de técnicas de preparo, tipo e quantidade de componentes (hidrocolóides e lipídios) e sua compatibilidade, bem como a heterogeneidade microestrutural (FABRA et al., 2011).

O tamanho das gotas de lipídios influenciam diretamente na estabilidade das emulsões e conseqüentemente nas propriedades dos filmes, pois, as maiores podem levar a coalescência e floculação das micelas lipídicas formadas (TONGNUANCHAN; BENJAKUL; PRODPRAN, 2014). Ao produzir filmes de emulsão, a temperatura da solução deve estar acima da temperatura de fusão dos lipídios, mas abaixo da temperatura para a volatilização do solvente da rede estrutural (GALUS; KADZINSKA, 2015).

Entre os componentes hidrofóbicos em filmes compostos, as ceras de origem animal e vegetal, os óleos vegetais e os ácidos graxos são os mais populares (GALUS; KADZINSKA, 2015). Os ácidos graxos apresentam diferentes tamanhos de cadeia, de 3 a 24 átomos de carbono, que podem ser saturados ou insaturados. Por possuírem duplas ligações os ácidos graxos insaturados são considerados quimicamente instáveis (BELL et al., 1997), têm pontos de fusão significativamente menores e maiores taxas de transferência de umidade do que os correspondentes saturados (DEBEAUFORT; VOILLEY, 2009).

A diminuição da permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes pela incorporação de componentes hidrofóbicos é dependente da relação hidrofóbico/hidrofílico fornecida pelos seus componentes, além da polaridade, número e grau de instauração (FAKHOURI et al., 2009; VIEIRA et al., 2018). Os filmes preparados com componentes hidrofóbicos também podem reduzir o desgaste por atrito da superfície com o alimento durante o manuseio e transporte. Portanto, a incorporação do componente hidrofóbico surge como alternativa interessante e tem sido estudada por alguns

pesquisadores (DAVANÇO; TANADA-PALMU; GROSSO, 2007; ANDREUCCETTI et al., 2011; HALAL et al., 2016).

Fernández et al. (2007) verificaram que o ácido graxo saturado esteárico (C18:0) foi mais eficiente na redução da migração do vapor de água em filmes de proteínas de soro de leite que os ácidos graxos insaturados, oleico (C18:1) e linoleico (C18:2), pois os ácidos graxos insaturados apresentam maior grau de mobilidade devido às duplas ligações do que os saturados, favorecendo a difusividade molecular da água na estrutura. Pereira et al. (2019b) ao elaborarem filmes compostos de proteínas miofibrilares de peixe, ácidos graxos saturados (esteárico, palmítico e capríco) e surfactante SDS, observaram diminuição na PVA dos filmes emulsionados comparados ao filme controle. Vieira et al. (2018), ao estudarem filme de proteínas miofibrilares de peixe, ácido esteárico e surfactante (dodecil sulfato de sódio) observaram diminuição de 31% na PVA do filme otimizado (emulsionado) comparado ao filme controle.

Fakhouri et al. (2018), elaboraram filmes de gelatina de peixe, glúten e ácidos graxos (capríco, caprílico, cáprico, láurico, mirístico e palmítico) e observaram que a concentração de ácidos graxos aumentou a opacidade dos filmes, e concluíram que pode estar associado ao baixo teor de água. A adição de ácidos graxos reduz a absorção de água nos filmes devido ao seu caráter hidrofóbico, alterando a organização molecular do glúten e das proteínas, com aumento nas propriedades ópticas.

A transparência é uma propriedade importante dos revestimentos e/ou filmes, pois tem impacto direto na aparência do produto o que é bom para a aceitação pelos consumidores. A fração lipídica e a distribuição granulométrica das partículas em emulsões formadoras de filme desempenham um papel importante nas propriedades ópticas dos filmes secos (GALUS; KADZINSKA, 2015; HOPKINS et al., 2015). As gotículas lipídicas dispersas na matriz do filme afetam a transparência, impedindo a transmissão da luz (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012). Portanto, um aumento nos valores de opacidade é observado com a adição de compostos hidrofóbicos em filmes (VIEIRA et al., 2018; PEREIRA et al., 2019b).

Pereira et al. (2020), quando estudaram a influência do glicerol e ácidos graxos nas propriedades dos filmes compostos de proteínas de peixe, concluíram que a adição dos ácidos melhorou as propriedades de PVA, solubilidade, transmissão de luz (UV/visível) e transparência dos filmes quando comparados aos filmes com glicerol, com destaque para o filme com proteínas e ácido palmítico (PP), que apresentou melhor estabilidade térmica, maior interação hidrofóbica e estrutura mais ordenada (cristalina).

Uma outra alternativa para obter filmes compostos é a mistura de proteínas e polissacarídeos devido as interações entre os materiais que formam uma rede contínua favorecendo o desempenho mecânico e de barreira aos filmes (SUKHIJA; SINGH; RIAR, 2016). Além disso, essas interações influenciam as macropropriedades e as microestruturas de seus compósitos em termos de textura, estabilidade, propriedades reológicas e estrutura química (FAN et al., 2017). A mistura de dois ou mais polímeros tem se mostrado eficiente na busca de filmes com propriedades tecnológicas superiores, como baixa PVA, e filmes altamente resistentes, flexíveis e bioativos (ABDELHEDI et al., 2018). Assim, as proteínas e os amidos têm sido muito utilizados na produção de filmes biodegradáveis devido às suas propriedades funcionais, variedade de fontes disponíveis e baixo custo de produção (ROMANI et al., 2017;2018).

4.1.1. Amido

O amido para uso industrial é extraído principalmente a partir de batatas e grãos de cereais. No entanto, outros tubérculos e rizomas são frequentemente utilizados, porque contêm polissacarídeos, alto teor desta macromolécula, que pode ser utilizada como polímero biodegradável, adesivo, produto farmacêutico, têxtil e outros (LEITE et al., 2017). Geralmente, o amido é insolúvel em água fria, no entanto, pode gelatinizar em água quente, o que tem um grande efeito na preparação de biomateriais à base de amido (HAN et al., 2019).

A gelatinização é uma propriedade importante do amido, e tem sido estudada em termos de alterações de suas propriedades físico-químicas, tais como solubilidade, comportamento reológico, propriedades térmicas, transparência, cristalinidade e etc (SANDHU et al., 2008; PALABIYIK et al., 2017). Além disso, maior solubilidade e maior transmissão de luz da pasta de amido são observadas após a gelatinização (SANDHU et al., 2008).

O amido é prontamente disponível a partir de fontes renováveis e tem uma grande capacidade de formar filmes transparentes, insípidos e inodoros com propriedades muito boas de barreira ao oxigênio, o que é muito útil para a conservação de alimentos (LIN; LIANG; CHANG, 2016). Pode ser usado para plastificar, misturar com outros materiais, sofrer modificações químicas, ou uma combinação destes processos (JAVANMARD; AHANGARI; TAVAKOLIPOUR, 2011). É utilizado como base para a produção de filmes biodegradáveis, e em termos de macroestrutura é semelhante à dos polímeros

sintéticos (JAVANMARD; AHANGARI; TAVAKOLIPOUR, 2011; SABERI et al., 2016).

4.2 BIODEGRADAÇÃO

O consumo de polímeros sintéticos vem despertando a atenção mundial, devido ao acúmulo e poluição ocasionada pelo seu descarte no meio ambiente. O aumento descontrolado destes resíduos no ambiente causa a impermeabilização do solo e aumento do volume de lixo (MARIANI, 2010). E diante deste contexto vem-se buscando o desenvolvimento de polímeros ambientalmente degradáveis ou polímeros biodegradáveis (KAEWPRACHU et al. 2016a). Polímeros derivados de produtos naturais, como carboidratos e proteínas, oferecem excelentes oportunidades como matéria-prima para produção de filmes, uma vez que sua biodegradabilidade e compatibilidade ambiental são garantidas, devido ao curto período em que se degradam (ARANCIBIA et al., 2014).

A American Society for Testing of Materials (ASTM) define plásticos degradáveis como aqueles que sofrem uma mudança significativa na estrutura química sob condições ambientais específicas, ocorrendo um processo intrínseco, pelo qual os microrganismos e suas enzimas consomem o polímero como fonte de nutrientes, em condições normais de umidade, temperatura e pressão (ASTM, 2003).

Alguns elementos são indispensáveis para o processo de biodegradação dos polímeros no estado sólido: a existência de microrganismos e enzimas que conseguem dar início ao processo de despolimerização e mineralizam os monômeros e oligômeros formados neste processo; fatores como temperatura, estrutura mineral, pH, nutrientes, oxigênio, umidade e a estrutura do polímero são indispensáveis ao processo de biodegradação (FECHINE, 2010; HRENOVIĆ et al., 2011).

Como estrutura do polímero, destacam-se os tipos de ligação química, nível de ramificação, nível de polimerização, nível de hidrofobicidade, estereoquímica, distribuição de massa molar, cristalinidade, área superficial e outros aspectos morfológicos dos polímeros influem também de maneira determinante na sua taxa de biodegradação. Portanto, fatores que possam alterar as características primordiais do polímero, como a aditivação, a forma de processamento ou a mistura com outro polímero poderão afetar a sua biodegradabilidade (AZEVEDO et al., 2016).

Além da interação com microrganismos, outra característica da biodegradabilidade de filmes é a lixiviação de proteínas (material mais bio-suscetível), que produz canais que favorecem a entrada de água (FRANCO et al., 2004). Os

microrganismos do solo secretam uma variedade de enzimas na água do solo e essas enzimas iniciam a decomposição dos polímeros (MARTUCCI e RUSECKAITE, 2015). A adição periódica de água durante a análise de biodegradação de filmes provavelmente ajuda a impulsionar a perda de compostos solúveis, contribuindo para a alteração do aspecto inicial e integridade dos filmes e mostrando claramente sua biodegradabilidade, assim, a presença de lipídios também pode afetar sua interação com a água e estender o tempo de degradação (BATISTA et al., 2020).

São diversas as etapas para a biodegradação total de um polímero. A primeira, corresponde a uma deterioração resultante da atividade de microrganismos crescendo na superfície ou no interior do material. Depois vêm a biofragmentação, na qual os microrganismos secretam enzimas que catalisam a quebra das cadeias poliméricas em cadeias menores. As cadeias mais curtas conseguem então passar através das membranas celulares e ser realmente consumidas pelos microrganismos. E a última etapa chamada de assimilação ou mineralização, quando a biomassa é transformada em gases (LUCAS et al., 2008).

Alguns autores já estudaram a degradação de filmes de amido e proteínas e observaram a eficiência da degradação em solo natural, considerados biodegradáveis o que os tornam promissores para substituir os filmes plásticos sintéticos de sistemas de embalagem de alimentos (MARAN et al., 2014; BASTISTA et al., 2020).

Nogueira e Martins (2019), observaram degradação de 100% de filmes com isolado de proteínas de peixe (PP), glúten de trigo (GT) e mistura de PP e GT em 10 dias comparados aos filmes de zeína de milho (ZM) (42,4%) e mistura de GT e ZM (48,2%), e relataram que essa perda de massa pode estar relacionada à perda de compostos solúveis em água e de baixo peso molecular, como o glicerol, além da atividade microbiana e enzimática.

Martucci e Ruseckaite (2015), estudaram a degradação em solo e apresentaram a tendência de degradação em 120 dias: filme controle de gelatina bovina (Ge-30Glicerol) > multicamada (mistura Ge-30Glicerol + PLA) > poli (ácido lático) PLA. E concluíram que esses resultados estão de acordo com a capacidade de absorção de água dos materiais estudados, crescimento microbiano e potencial de assimilação do produto de degradação, pois a gelatina e o glicerol como são hidrofílicos, aumentam a atividade de água, promovendo o crescimento de microrganismos que habitam no solo, e a degradação intermediária do filme de multicamada foi provavelmente devido às cadeias hidrofóbicas

do PLA, impedindo que as enzimas hidrofílicas acessem a camada interna da gelatina contida na multicamada, já o PLA alcançou 0,8% ao final de 120 dias.

A degradação de polímeros sintéticos (polietileno) deve ser despolimerizado até um tamanho molecular mais baixo, cerca de 500 Da, que pode ser consumido por vários microrganismos passando pelas membranas bacterianas externas semi-permeáveis, e depois ser utilizado como fonte de carbono e energia. Devido a sua não biodegradabilidade e descarte inadequado acumula-se causando sérios riscos ao meio ambiente, sendo amplamente utilizado como material de embalagem de alimentos (SHAH et al., 2008).

5. APLICAÇÃO DE FILMES E REVESTIMENTOS BIODEGRAVÁVEIS EM FRUTOS

Os frutos, como todo tecido vegetal, murcham e perdem o turgor devido a transpiração, que é o processo de movimento da água através de um tecido, e a evaporação da água de frutas e hortaliças frescas resultam em perda de peso e enrugamento, levando a prejuízos financeiros (CALEB et al., 2013). As perdas pós-colheita de frutos frescos são questões importantes devido à sua rápida deterioração durante o manuseio, transporte e armazenamento. Frutas e vegetais precisam de tecnologias pós-colheita ideais para preservar sua qualidade e estabilidade (JUNG e ZHAO, 2016).

Os revestimentos têm como objetivo atuar como funcional e coadjuvante, contribuindo para prolongar a vida útil, ao promover alterações na permeação e alterar a atmosfera interna. De acordo com Turhan (2010), considera o efeito desses revestimentos similares aos conseguidos por embalagens com atmosfera modificada, reduzindo a taxa de respiração dos frutos e, conseqüentemente, os processos metabólicos (ROJAS-GRAÜ; TAPIA e MARTÍN-BELLOSO, 2008).

Revestimentos ou filmes são termos usados na área de alimentos, algumas vezes sem distinção. O filme é uma película formada pela secagem (*casting*) da solução com biopolímeros preparada separadamente do alimento e posteriormente aplicado, enquanto que o revestimento pode ser uma suspensão ou uma emulsão aplicada diretamente na superfície do alimento que após secagem leva à formação de uma película (PINHEIRO et al., 2010; GUERREIRO et al., 2017).

Filmes biodegradáveis obtidos a partir de materiais biológicos atuam como uma barreira contra elementos externos, como sujidades, gases e compostos aromáticos, bem como reduzem a interação com fatores de deterioração (como microrganismos, vapor de

água, oxigênio e sabores estranhos) (FERNANDES et al., 2015; OTONI et al., 2017). Portanto, protegendo os alimentos embalados de danos físicos e biológicos, diminuindo a volatilização e a perda de umidade e prolongando a vida útil do produto (VIEIRA et al., 2018). Os principais efeitos da aplicação desses materiais é o prolongamento da vida de prateleira de alimentos e frutas baseado na criação de uma membrana protetora, realizando a correta transferência de gás entre o ambiente e o produto (DHALL, 2013; AZEREDO e WALDRON, 2016; PEREIRA et al., 2021c).

A aplicação direta, por imersão ou aspersão, da solução filmogênica em produtos de origem vegetal é a maneira mais simples e usada para o revestimento (HASSAN et al., 2018), e podem ser aplicados diretamente na superfície de frutos inteiros ou minimamente processados (HAMZAH et al., 2013). O alimento absorve uma quantidade de solução necessária para formar uma camada de revestimento. Portanto, as propriedades da superfície do produto a ser embalado desempenham um papel fundamental na aplicação dos revestimentos (DEBEAUFORT; VOILLEY, 2009).

As coberturas hidrofílicas são mais indicadas para superfícies fatiadas, frutas com aspectos brilhantes com alta molhabilidade ou presença de cargas superficiais, pois preservam o aspecto hidratado. Por outro lado, as formulações hidrofóbicas, são indicadas para o revestimento de frutas com alta taxa de transpiração, nas quais a degradação ocorre essencialmente por perda de água, levando a desidratação e alteração do aspecto superficial. Essas indicações, contudo, são bastante genéricas e demais aspectos físico-químicos das frutas a serem revestidas devem ser avaliados para que a seleção de uma formulação tenha um resultado satisfatório (GARRIDO; BRITTO, 2014).

Vários estudos foram realizados sobre a aplicação de revestimentos biodegradáveis em mamão minimamente processado ou inteiro, dentre eles, Cortez-Vega et al. (2014), utilizaram revestimentos comestíveis de isolados de proteínas de corvina e nanocompósitos de organo-argila para melhorar as propriedades de conservação de mamão 'Formosa' minimamente processado. Cunha et al. (2018), estudaram o extrato de própolis de diferentes fontes botânicas na conservação pós-colheita do mamão. Romani, Hernández e Martins (2018) estudaram a incorporação de compostos fenólicos de pimenta rosa em filme de mistura de amido de arroz e proteínas de peixe e seu potencial para inibir o escurecimento da maçã. Ferreira, Molina e Pelissari (2020), investigaram o efeito do revestimento comestível de amido de mandioca e farinha de babaçu (*Orbignya phalerata*) na qualidade dos frutos do cerrado brasileiro.

No entanto, até o presente momento não existem publicações disponíveis com revestimentos biodegradáveis de proteínas miofibrilares de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), ácidos graxos, amido de mandioca (*Manihot esculenta*) e glicerol para estender a vida útil dos frutos de mamão “Golden” (*Carica papaya* L.).

5.1 MAMÃO (*Carica papaya* L.)

O Brasil é o maior produtor e exportador de mamão, atendendo a mercados exigentes como os Estados Unidos e a Europa. No Brasil, esta fruta é consumida preferencialmente fresca (*in natura*), mas sua industrialização, por meio do aproveitamento integral do fruto, oferece extensa gama de produtos e subprodutos (SEBRAE, 2019; SEKELI et al., 2018). O mamoeiro é uma espécie originária da América Tropical, que ao longo dos anos se disseminou por outras partes do mundo, atingindo mais de 281 mil hectares plantados. O Brasil contribui com aproximadamente 1,6 milhões de toneladas de produção. Nas mesorregiões do Estado do Pará, merecem destaque a Nordeste Paraense e a Metropolitana de Belém, que juntas respondem por 63,24% da produção estadual, visando o abastecimento da capital paraense e municípios do entorno (COSTA et al., 2017).

O mamão é um dos frutos tropicais atualmente mais cultivados no mundo e no país. Os benefícios nutricionais e para a saúde são duas características principais que contribuem para o aumento de seu consumo. Apresenta sabor agradável, com quantidades consideráveis de compostos fenólicos e polissacarídeos, que têm um amplo espectro de atividades biológicas (JOHN et al., 2018), possui minerais e compostos bioativos como os carotenoides, vitamina C e polifenóis (REIS et al., 2015; ZILLO et al., 2018), vitamina A, fósforo, cálcio, ferro, potássio e fibras (STORCK et al., 2013).

Alguns compostos fenólicos bioativos apresentam capacidade antioxidante, e têm sido associados à proteção da saúde humana, que vão desde a redução dos riscos de desenvolver doenças cardiovasculares, degeneração macular até proteção contra câncer de cólon e próstata (ALI, ONG e FORNEY, 2014). A capacidade antioxidante das frutas varia de acordo com os seus teores de vitamina C, vitamina E, carotenoides, flavonoides e outros compostos fenólicos (SAURA-CALIXTO; GOÑI, 2006). Diferentes métodos têm sido utilizados para avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* das frutas, sendo que os métodos mais utilizados são FRAP, ABTS, DPPH e ORAC e os resultados obtidos variam de acordo com o método de análise empregado (CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; REIS et al., 2015).

O mamão por ser um fruto climatérico é suscetível a perdas pós-colheita devido ao rápido amadurecimento causado pelo etileno, provocando alterações de cor, amolecimento, decomposição da polpa, desenvolvimento de aroma e sabor (JOHN et al., 2018). Embora as mudanças que ocorrem durante o amadurecimento sejam importantes, o processo de maturação descontrolado pode levar a uma rápida perda de qualidade (HAMZAH et al., 2013). Além de sua alta perecibilidade, manuseio inadequado, más condições de armazenamento (FLORES-LÓPEZ et al. 2016), e a incidência de doenças, como a antracnose, compromete a qualidade final do fruto, levando a perdas significativas devido à rejeição do consumidor (BATISTA et al., 2019).

Para superar o curto prazo de validade, os frutos são colhidos em um estágio totalmente verde, quando podem ser processados e transportados mais facilmente. O amadurecimento pós-colheita está altamente relacionado à qualidade comercial do mamão (JOHN et al., 2018). Devem ser implementadas operações pós-colheita que estendam a vida de prateleira das frutas e várias tecnologias podem ser utilizadas para atender a esse propósito, embalagem com atmosfera modificada, conservantes, irradiação e radiação de ozônio, aplicação de filmes e revestimentos (KUMARI et al. 2017).

REFERÊNCIAS

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

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

AHMAD, M.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; AGUSTINI, T. W. (2012) Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, 28(1): 189–199.

ALI, A.; ONG, M. K.; FORNEY, C. F. (2014) Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. **Food Chemistry**, 142: 19–26.

ALMEIDA, Z.S.; SANTOS, N .B.; SOUSA, H. L.; , NETA, R. N. F. C.; ANDRADE, T. S. O. M. (2016) Biologia reprodutiva da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) capturada na baía de São Marcos, Maranhão, Brasil. **Biota Amazônia**, 6: 46–54.

AMARANTE, A. M.; OLIVEIRA, G. S.; IERICH J. C. M.; CUNHA, R. A.; FREITAS, L. C. G.; FRANCA, E.F.; LEITE, F. L. (2015) Modelagem Molecular aplicada a nanobiosistemas. **Grandes areas da Nanociências e suas aplicações**, 219: 221-267.

ANDREUCCETTI, C.; CARVALHO, R. A.; GALICIA-GARCÍA, T.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F.; GROSSO, C. R. F. (2011) Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. **Journal of Food Engineering**, 103(2): 129–136.

ARANCIBIA, M. Y.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. (2014) Release of volatile compounds and biodegradability of active soy protein lignin blend films with added citronella essential oil. **Food Control**, 44: 7–15.

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

ARRIETA, M. P.; FORTUNATIB, E.; DOMINICIB, F.; LÓPEZA, J.; KENNY, J. M. (2015) Bionanocomposite films based on plasticized PLA-PHB/cellulose nanocrystal blends. **Carbohydrate Polymers**, 121: 265–275.

ARTHARN, A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. (2008) The effect of myofibrillar/sarcoplasmic protein ratios on the properties of round scad muscle protein based film. **European Food Research and Technology**, 227(1): 215–222.

ASTM, American Society for Testing of Materials (2003). Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials Under Controlled Composting Conditions. Annual Book of ASTM Standards, West Conshohocken.

AZEREDO, H. M. C.; WALDRON, K. W. (2016) Crosslinking in polysaccharide and protein films and coatings for food contact - A review. **Trends in Food Science and Technology**, 52: 109–122.

AZEVEDO, J. B.; CARVALHO, L. H.; CANEDO, E. L.; BARBOSA, J. D. V.; SILVA, M. W. S. (2016) Avaliação da Biodegradação em Compósitos com Fibras Naturais através de Perda de Massa e Produção de CO₂. **Revista Virtual de Química**. 8(4): 1115-1129.

BARBOSA, A. J.; SAMPAIO, I.; SILVA, E. M.; ALCÂNTARA, J. V. L.; SANTOS, S. (2020) Molecular authentication by DNA barcoding and multiplex PCR assay reveals mislabeling and commercial fraud of the Acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*), an economically important sciaenid marketed in Brazil. **Food Control**, 117:107351.

BATISTA, J. T. S.; MATIAS, C. S. A.; FREITAS, M. M. D. S.; NASCIMENTO, G. D. S.; VIEIRA, L. L.; LOURENÇO, L. D. F. H. (2020) 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**, 29(3): 1–15.

BATISTA, J.T.S.; ARAÚJO, C.S.; PEIXOTO JOELE, M.R.S.; SILVA JÚNIOR, 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. 100-306, 2019.

BAUTISTA-BAÑOS, S.; SIVAKUMAR, D.; BELLO-PÉREZ, A.; VILLANUEVA-ARCE, R.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M. (2013) A review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. **Crop Protection**, 49: 8–20.

BELL, S. J.; BRADLEY, D.; FORSE, R. A.; BISTRIAN, B. R. (1997) The new dietary fats in health and disease. **Journal of the American Dietetic Association**, 97(3): 280-286.

BENBETTAIEB, N.; GAY, J.; KARBOWIAK, T.; DEBEAUFORT, F. (2016) Tuning the Functional Properties of Polysaccharide–Protein Bio-Based Edible Films by Chemical, Enzymatic, and Physical Cross-Linking. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 15(4): 739–752.

BHUIMBAR, M. V.; BHAGWAT, P. K.; DANDGE, P. D. (2019) Extraction and characterization of acid soluble collagen from fish waste: Development of collagen-chitosan blend as food packaging film. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 7: 102983.

BOURTOOM, T.; CHINNAN, M. S.; JANTAWAT, P.; SANGUANDEEKUL, R. (2006) Effect of select parameters on the properties of edible film from water-soluble fish proteins in surimi wash-water. **LWT - Food Science and Technology**, 39(4): 406–419.

BRASIL, F. I. (2009) propriedades funcionais das proteínas do peixe. **Food ingredients Brasil**, 8: 22–32.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA MAPA Nº 29, DE 23 DE SETEMBRO DE 2015. Disponível em <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/aquicultura-e-pesca/legislacao/legislacao-geral-da-pesca/instrucao-normativa-mapa-no-29-de-23-09-2015.pdf/view> acesso em 10/11/2020.

CALEB, O. J.; MAHAJAN, P. V.; AL-SAID, F. A.; OPARA, U. L. (2013) Modified Atmosphere Packaging Technology of Fresh and Fresh-cut Produce and the Microbial Consequences-A Review. **Food and Bioprocess Technology**, 6(2): 303–329.

CHALAMAIAH, M.; DINESH KUMAR, B.; HEMALATHA, R.; JYOTHIRMAYI, T. (2012) Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. **Food Chemistry**, 135(4): 3020–3038.

CHINMA, C. E.; ARIAHU, C. C.; ALAKALI, J. S. (2015) Effect of temperature and relative humidity on the water vapour permeability and mechanical properties of cassava starch and soy protein concentrate based edible films. **Journal of Food Science and Technology**, 52(4): 2380–2386.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. (2011) Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, 44(7): 2047–2053.

CORTEZ-VEGA, W. R.; PIZATO, S.; SOUZA, J. T. A.; PRENTICE, C. (2014) Using edible coatings from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate and organo-clay nanocomposite for improve the conservation properties of fresh-cut “Formosa” papaya. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 22: 197–202.

COSTA, M. R. T. R.; HOMMA, A. K. O.; REBELLO, F. K.; SOUZA FILHO, A. P. S.; FERNANDES, G. L. C.; BALEIXE, W. (2017) Atividade Agropecuária no Estado do Pará. **Embrapa Amazônia Oriental**, s/v.

DANGARAN, K.; TOMASULA, P. M.; QI, P. Chapter 2. **Structure and Function of Protein-Based Edible Films and Coatings Kirsten**. Edible Films and Coatings for Food Applications. M.E. Embuscado and K.C. Huber (eds.), Edible Films and Coatings for Food Applications, Springer Science + Business Media, LLC, 2009.

DAVANÇO, T.; TANADA-PALMU, P.; GROSSO, C. (2007) Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou capríco: efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(2): 408–416.

DEBEAUFORT, F.; VOILLEY, A. (2009) Chapter 5. **Lipid-Based Edible Films and Coatings Frédéric Debeaufort and Andrée Voilley**. Edible Films and Coatings for Food Applications. M.E. Embuscado and K.C. Huber (eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications*, © Springer Science + Business Media, LLC.

DHALL, R. K. (2013) Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 53(5): 435–450.

FABRA, M. J.; JIMÉNEZ, A.; ATARÉS, L.; TALENS, P.; CHIRALT, A. (2009) Effect of fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. **Biomacromolecules**, 10(6): 1500–1507.

FABRA, M. J.; PÉREZ-MASIÁ, R.; TALENS, P.; CHIRALT, A. (2011) Influence of the homogenization conditions and lipid self-association on properties of sodium caseinate based films containing oleic and stearic acids. **Food Hydrocolloids**, 25(5): 1112–1121.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. C. B.; INNOCENTINI-MEI, L. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. (2009) Effect of fatty acid addition on the properties of biopolymer films based on lipophilic maize starch and gelatin. **Starch**, 61: 528-536.

FAKHOURI, F. M.; FONTES, L. S. B.; INNOCENTINI-MEI, L. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. (2018) Effect of fatty acid addition on the properties of biopolymer films based on lipophilic maize starch and gelatin. **Starch**, 61(9): 528–536.

FAN, M.; HU, T.; ZHAO, S.; XIONG, S.; XIE, J.; HUANG, Q. (2017) Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites. **Food Chemistry**, 218: 221–230.

FECHINE, G. J. M. (2010) A era dos polímeros biodegradáveis. **Plástico Moderno**, 423: 28-38.

FERNANDES, A. P. S.; COSTA, H. B.; SOARES, D. S. B. MOURA, C. J.; SOUZA, A. R. M. (2015) Aplicação de filmes biodegradáveis produzidos a partir de concentrado proteico de soro de leite irradiado. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, 45(2): 192–199.

FLORES-LÓPEZ, M. L.; CERQUEIRA, M. A.; RODRÍGUEZ, D. J.; VICENTE, A. A. (2016) Perspectives on utilization of edible coatings and nano-laminate coatings for extension of postharvest storage of fruits and vegetables. **Food Engineering Reviews**, 8: 292–305.

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

GALUS, S.; KADZINSKA, J. (2015) Trends in Food Science & Technology Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology journal**, 45: 273–283.

GARRIDO, B. O. A.; BRITTO, D. (2014) Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. **Brazilian Journal of Food Technology**, 17(2): 87–97.

GHALY, A. E.; RAMAKRISHNAN, V. V.; BROOKS, M. S.; BUDGE, S. M.; DAVE, D. (2013) Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, 5(4): 107–129.

GOUNGA, M. E.; XU, S. Y.; WANG, Z. (2007) Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. **Journal of Food Engineering**, 83(4): 521–530.

GUERREIRO, A. C.; GAGO C. M. L.; FALEIRO, M. L.; MIGUEL, M. G. C.; ANTUNES, M. D. C. (2017) The effect of edible coatings on the nutritional quality of ‘Bravo de Esmolfe’ fresh-cut apple through shelf-life. **LWT - Food Science and Technology**, 75: 210–219.

HAIMOVICI, M.; ANDRIGUETTO FILHO, J. M.; SUNYE, P. S. (2014) **A pesca marinha e estuarina no Brasil A pesca marinha e estuarina no Brasil: estudos de caso multidisciplinares (pp. 191)**. Rio Grande: Editora da FURG.

HALAL, S. L. M.; ZAVAREZE, E. R.; ROCHA, M.; PINTO, V. Z.; NUNES, M. R.; LUVIELMO, M. M.; PRENTICE, C. (2016) Films based on protein isolated from croaker (*Micropogonias furnieri*) and palm oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 96(7): 2478–2485.

HAMAGUCHI, P. Y.; WUYIN, W.; TANAKA, M. (2007) Effect of pH on the formation of edible films made from the muscle proteins of Blue marlin (*Makaira mazara*). **Food Chemistry**, 100(3): 914–920.

HAMMANN, F.; SCHMID, M. (2014) Determination and quantification of molecular interactions in protein films: a review. **Materials**, 7(12): 7975-7996.

HAMZAH, H. M.; OSMAN, A.; TAN, C. P.; GHAZALI, F. M. (2013) Carrageenan as an alternative coating for papaya (*Carica papaya L. cv. Eksotika*). **Postharvest Biology and Technology**, 75:142–146.

HAN, H.; HOU, J.; YANG, N.; ZHANG, Y.; CHEN, H.; ZHANG, Z.; SHEN, Y.; HUANG, S.; GUO, S. (2019) Insight on the changes of cassava and potato starch granules during gelatinization. **International Journal of Biological Macromolecules**, 126: 37–43.

HASSAN, B.; CHATHA, S. A. S.; HUSSAIN, A. I.; ZIA K. M.; AKHTAR, N. (2018) Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: a review. **International Journal of Biological Macromolecules**, 109: 1095-1107.

HE, W.; LU, W.; LI, X.; LU, N.; SUN, D.; LI, W. (2012) Taxonomic status of Chinese bahaba (*Bahaba taipingensis*) and its phylogenetic relationship with other species in the family Sciaenidae. **Mitochondrial DNA**, 23(2): 53–61.

HEMUNG, B. O.; CHIN, K. B. (2015) Evaluation of acid-treated fish sarcoplasmic proteins on physicochemical and rheological characteristics of pork myofibrillar protein gel mediated by microbial transglutaminase. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, 35(1): 50–57.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M; P.; SARMENTO, S. B. S. (2008) Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 28(1): 231-240.

HOPKINS, E. J.; CHANG, C.; LAM, R. S. H.; NICKERSON, M. T. (2015) Effects of flaxseed oil concentration on the performance of a soy protein isolate-based emulsion-type film. **Food Research International**, 67: 418–425.

HOQUE, M.S., BENJAKUL, S., & PRODPRAN, T. (2010) Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Journal of Food Engineering**, 96(1): 66-73.

HRENOVIĆ, J.; KOVAČ, V.; IVANKOVIĆ, T. (2011) Microbial colonization of high density polyethylene garbage bags. **Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition**, 6(1-2): 52-57.

ISAAC-NAHUM, V. J. (2006) Exploração e manejo dos recursos pesqueiros do litoral amazônico: um desafio para o futuro. **Ciência e Cultura**, 58(3): 33–36.

IWATA, K. I.; ISHIZAKI, S.; HANDA, A.; TANAKA, M. (2000) Preparation and characterization of edible films from fish water-soluble proteins. **Fisheries Science**, 66(2): 372–378.

JAVANMARD, M.; AHANGARI, R.; TAVAKOLIPOUR, H. (2011) Effects of wheat starch edible films on rancidity and moisture uptake of pistachio kernels as a new package. **Journal of Food Process Engineering**, 34(4): 1156–1171.

JOHN, A.; YANG, Y.; LIU, J.; JIANG, Y.; YANG, B. (2018) The structure changes of water-soluble polysaccharides in papaya during ripening. **International Journal of Biological Macromolecules**, 115: 152–156.

JUNG, J.; ZHAO, Y. (2016) Chapter 18 - Antimicrobial Packaging for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. J. Barros-Velazquez (Ed.), **Antimicrobial Food Packaging**, Academic Press, Cambridge, MA, pp. 243-256.

JUNIOR, O. G. S., NUNES, J. L. G., SILVANO, R. A. M. (2020) Biology, ecology and behavior of the acoupa weakfish *Cynoscion acoupa* (Lacepède, 1801) according to the local knowledge of fishermen in the northern coast of Brazil. **Marine Policy**, 115: 103870.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; RAWDKUEN, S. (2016b) Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. **Journal of Food Science and Technology**, 53(4): 2083–2091.

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

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

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

KHANZADI, M.; JAFARIA, S. M.; MIRZAEIA, H.; CHEGINI, F. K.; MAGHSOUDLOU, Y.; DEHNAD, D. (2015) Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate-pullulan by application of beeswax. **Carbohydrate Polymers**, 118: 24–29.

KOKOSZKA, S.; DEBEAUFORT, F.; LENART, A.; VOILLEY, A. (2010) Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. **International Dairy Journal**, 20(1): 53–60.

KOWALCZYK, D.; BARANIAK, B. (2014) Effect of candelilla wax on functional properties of biopolymer emulsion films - A comparative study. **Food Hydrocolloids**, 41: 195–209.

KUMARI, M.; MAHAJAN, H.; JOSHI, R.; GUPTA, M. (2017) Development and structural characterization of edible films for improving fruit quality. **Food Packaging and Shelf Life**, 12: 42–50.

KUREK, M.; GALUS, S.; DEBEAUFORT, F. (2014) Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. **Food Packaging and Shelf Life**, 1(1): 56–67.

LEITE, S. B. P.; SUCASAS, L. F. A.; OETTERER, M. (2016) Resíduos da comercialização de pescado marinho – volume de descarte e aspectos microbiológicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, 10(1): 2112-2125.

LEITE, T. S.; JESUS, A. L. T.; SCHMIELE, M.; TRIBST, A. A. T.; CRISTIANINI, M. (2017) High pressure processing (HPP) of pea starch: Effect on the gelatinization properties. **LWT - Food Science and Technology**, 76: 361–369.

LIN, J. H.; LIANG, C. W.; CHANG, Y. H. (2016) Effect of starch source on gel properties of kappa-carrageenan-starch dispersions. **Food Hydrocolloids**, 60: 509–515.

LOPES, I. S.; FERREIRA, E. M.; PEREIRA, D. M.; PEREIRA, L. S.; CUNHA, M. C. S.; COSTA, F. N. (2012) Pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) desembarcada: características microbiológicas e qualidade do gelo utilizado na sua conservação. **Revista Institucional Adolfo Lutz**, 71(4): 677–684.

LUCAS, N.; BIENAIME, C.; BELLOY, C.; QUENEUEDEC, M.; SILVESTRE, F.; NAVA-SAUCEDO, J. (2008) Polymer Biodegradation: Mechanisms and estimation techniques – Review. **Chemosphere**, 73: 429-442.

Malaysian Carica papaya L. var. Eksotika: Current Research Strategies Fronting Challenges. **Frontiers In Plant Science**, 9: 1380.

MARAN, J. P.; SIVAKUMAR, V.; THIRUGNANASAMBANDHAM, K.; SRIDHAR R. (2014) Degradation behavior of biocomposites based on cassava starch buried under indoor soil conditions. **Carbohydrate Polymers**, 101: 20-8.

MARIANI, P. D. S. C. Estudo da biodegradação da blenda poli (ϵ -caprolactona)/ amido modificado/proteína isolada de soja em diferentes solos: caracterização dos produtos formados e avaliação da toxicidade. 2010. 122f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) -Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas, SP, 2010.

MARTUCCI, J. F.; RUSECKAITE, R. A. (2015) Biodegradation behavior of three-layer sheets based on gelatin and poly (lactic acid) buried under indoor soil conditions. **Polymer Degradation and Stability**, 116: 36-44.

MATOS, I. P.; LUCENA, F. (2006) Descrição da pesca da pescada-amarela, *Cynoscion acoupa*, da costa do Pará. **Labomar - Arquivos de Ciências do Mar**, 39(1–2): 66–73.

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J.A. (2000) Preparo e Caracterização de Proteínas Miofibrilares. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 179–189.

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

NIE, X.; GONG, Y.; WANG, N.; MENG, X. (2015) Preparation and characterization of edible myofibrillar protein-based film incorporated with grape seed procyanidins and green tea polyphenol. **LWT - Food Science and Technology**, 64(2): 1042–1046.

NOGUEIRA, D.; MARTINS, V.G. (2019) Use of Different Proteins to Produce Biodegradable Films and Blends. **Journal of Polymers and the Environment**, 27(9): 2027–2039.

OLIVEIRA, C.D.; LESSA, R.; ALMEIDA, Z.; SANTANA, F. M. (2020) Biology and fishery of Acoupa Weakfish *Cynoscion acoupa* (Lacepède, 1801): a review. **Neotropical Biology and Conservation**, 15(3): 333–349.

OTONI, C.G.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; AZEREDO, H. M. C.; LOREVICE, M. V.; MOURA, M. R. F; MATTOSO, L. H. C.; MCHUGH, T. H. (2017) Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables - A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 16: 1151-1169.

PALABIYIK, İ.; TOKER, O.S.; KARAMAN, S.; YILDIZ, O. (2017) A modeling approach in the interpretation of starch pasting properties. **Journal of Cereal Science**, 74: 272–278.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. (2012) Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, 87(2): 1318–1325.

PEREIRA, G. V. S.; PEREIRA, G. V. S.; NEVES, E. M. P. X.; OLIVEIRA, L. C.; PENA, R. S.; CALADO, V.; LOURENÇO, L. F. H. (2021a) Biodegradable films from fishing industry waste: Technological properties and hygroscopic behavior. **Journal of Composite Materials**, 55(28): 4169–4181.

PEREIRA, G. V. S., PEREIRA, G. V. S., NEVES, E. M. P. X., ALBUQUERQUE, G. A., REGO, J. A. R., CARDOSO, D. N. P., BRASIL, D. S. B., JOELE, M. R. S. P. (2021b) Effect of the Mixture of Polymers on the Rheological and Technological Properties of Composite Films of Acoupa Weakfish (*Cynoscion acoupa*) and Cassava Starch (*Manihot esculenta* C.). **Food and Bioprocess Technolog**, 14:1199-1215.

PEREIRA, G. V. S.; PEREIRA, G. V. S.; OLIVEIRA, L. C.; CARDOSO, D. N. P.; CALADO, V.; LOURENÇO, L. F. H. (2021c) Rheological characterization and influence of different biodegradable and edible coatings on post-harvest quality of guava. **Journal of Food Processing and Preservation**, 45:e15335.

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

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

PEREIRA, G. V. S.; PEREIRA, G. V. S.; NEVES, E. M. P. X.; JOELE, M. R. S. P.; LOMA, C. L. S.; LOURENÇO, L. F. H. (2019b) 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**, 39(1): 287–294.

PINHEIRO, A C.; CERQUEIRA M.A.; SOUZA B.W.S.; MARTINS J.T.; TEIXEIRA J.A.; VICENTE A.A. (2010) Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. **Boletim da Biotecnologia**, 18–29.

PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PHATCHARAT, S. (2012) Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein. **International Journal of Biological Macromolecules**, 51(5): 774–782.

RAGHAVAN, S.; KRISTINSSON, H. G. (2008) Conformational and rheological changes in catfish myosin during alkali-induced unfolding and refolding. **Food Chemistry**, 107(1): 385–398.

REBOUCAS, M. C.; RODRIGUES, M. C. P.; CASTRO, R. J. S.; VIEIRA, M. J. M. (2012) Caracterização do concentrado protéico de peixe obtido a partir dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo. **Semina: Ciências Agrárias**, 33(2): 697–704.

REIS, R. C.; VIANA, E. S.; JESUS, J. L.; LIMA, L. F. NEVES, T. T.; CONCEIÇÃO, E. A. (2015) Compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades melhoradas de mamão. **Ciência Rural**, 45(11): 2076–2081.

RODRÍGUEZ-NÚÑEZ, J. R.; MADERA-SANTANA, T. J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; VALDEZ, H. S. (2014) Chitosan/Hydrophilic Plasticizer-Based Films: Preparation, Physicochemical and Antimicrobial Properties. **Journal of Polymers and the Environment**, 22(1): 41–51.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; TAPIA, M. S.; MARTÍN-BELLOSO, O. (2008) Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. **LWT - Food Science and Technology**, 41(1): 139–147.

ROMANI, V. P.; HERNÁNDEZ, C. P.; MARTINS, V. G. (2018) Pink pepper phenolic compounds incorporation in starch/protein blends and its potential to inhibit apple browning. **Food Packaging and Shelf Life**, 15: 151–158.

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

SABERI, B.; THAKUR, R.; VUONG, Q. V.; CHOCKCHASAWASDEE, S.; GOLDING, J. B.; SCARLETT, C. J.; STATHOPOULOS, C. E. (2016) Optimization of physical and optical properties of biodegradable edible films based on pea starch and guar gum. **Industrial Crops and Products**, 86: 342–352.

SANDHU, K. S.; SINGH, N.; LIM, S. (2008) A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: Physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **LWT - Food Science and Technology**, 41(6): 1000–1010.

SANTOS, A. P. B.; KUSHIDA, M.M.; VIEGAS, E. M. M.; LAPA-GUIMARÃES, J. (2014) Development of Quality Index Method (QIM) scheme for Acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*). **LWT - Food Science and Technology**, 57: 267-275.

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. (2006) Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. **Food Chemistry**, 94(3): 442–447.

SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. O cultivo e o mercado do mamão. Disponível em <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/o-cultivo-e-o-mercado-do-mamao,937a9e665b182410VgnVCM100000b272010aRCRD>> Acesso em 20 jul. 2019.

SEKELI, R.; HAMID, M. H.; RAZAK, R. A.; WEE, C.; ONG-ABDULLAH, J. (2018) SHAH, A. A.; HASAN, F.; HAMEED, A.; AHMED, S. (2008) Biological degradation of plastics : A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, 26(3): 246–265.

STEVENS, J. R.; NEWTON, R. W.; TLUSTY, M.; LITTLE, D. C. (2018) The rise of aquaculture by-products: Increasing food production, value, and sustainability through strategic utilisation. **Marine Policy**, 90: 115–124.

STORCK, C. R.; NUNES, G. L.; OLIVEIRA, B. B.; BASSO, C. (2013) Leaves, stalk, pell and seeds of vegetables: nutritional composition, utilization and sensory analysis in food preparations. **Ciência Rural**, 43(3): 537–543.

SUKHIJA, S.; SINGH, S.; RIAR, C. S. (2016) Analyzing the effect of whey protein concentrate and psyllium husk on various characteristics of biodegradable film from lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome starch. **Food Hydrocolloids**, 60: 128–137.

THAWORNCHINSOMBUT, S.; PARK, J. A. E. W. (2006) Protein Isolates. **Journal of Food Biochemistry**, 31(503): 427–455.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. (2014) Structural, morphological and thermal behaviour characterisations of fish gelatin film incorporated with basil and citronella essential oils as affected by surfactants. **Food Hydrocolloids**, 41: 33–43.

TURHAN, K. N. (2010) Is edible coating an alternative to MAP for fresh and minimally processed fruits. **Acta Horticulturae**, 876: 299–306.

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

VILLALOBOS, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; CHIRALT, A. (2006) Effect of surfactants on water sorption and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. **Food Hydrocolloids**, 20(4): 502–509.

WANG, Y.; WANG, R.; CHANG, Y.; GAO, Y.; LI, Z.; XUE, C. (2015) Preparation and thermo-reversible gelling properties of protein isolate from defatted Antarctic krill (*Euphausia superba*) byproducts. **Food Chemistry**, 188: 170–176.

XU, X. L.; HAN, M. Y.; FEI, Y.; ZHOU, G. H. (2011) Raman spectroscopic study of heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with textural characteristic. **Meat Science**, 87: 159–164.

XU, Y.; BAJAJ, M.; SCHNEIDER, R.; GRAGE, S. L.; ULRICH, A. S.; WINTER, J.; GALLERT, C. (2013). Transformation of the matrix structure of shrimp shells during bacterial deproteination and demineralization. **Microbial Cell Factories**, 90: 12.

YANG, C.; WANG, Y.; VASANTHAN, T.; CHEN, L. (2014) Impacts of pH and heating temperature on formation mechanisms and properties of thermally induced canola protein gels. **Food Hydrocolloids**, 40: 225–236.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S. L. M.; SILVA, R. M.; DIAS, A. R. G.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. (2014) 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**, 38(4): 1973–1981.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S. L. M.; TELLES, A. C.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. (2012) Filmes biodegradáveis à base de proteínas miofibrilares de pescado. **Brazilian Journal of Food Technology**, 15: 53–57.

ZILLO, R. R.; SILVA, R. R.; OLIVEIRA, J.; GLÓRIA, E. M.; SPOTO, M. H. F. (2018) Carboxymethylcellulose coating associated with essential oil can increase papaya shelf life, **Scientia Horticulturae**, 239: 70-77.

CAPÍTULO 2: Influência da adição de glicerol e ácidos graxos nas propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos de *Cynoscion acoupa*¹

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a influência do glicerol e dos ácidos graxos (AG) (esteárico, palmítico e capróico) nas propriedades reológicas das soluções filmogênicas (SF) e tecnológicas de filmes biodegradáveis elaborados com proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) extraídas de subprodutos da indústria de pesca. Inicialmente, as proteínas miofibrilares foram caracterizadas por análise eletroforética e nas SF foram realizadas análises reológicas e nos filmes compostos foram avaliadas as propriedades tecnológicas, termogravimétricas, difração de raios X, espectroscopia de infravermelho (FTIR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os modelos de Herschel-Bulkley e Bingham descreveram o comportamento do fluido dilatante das SF, identificando que a adição dos AG (esteárico e palmítico) e glicerol aumentaram significativamente a viscosidade das SF. Filmes produzidos com 1% de PML e 5% dos ácidos PE (esteárico), PP (palmítico) e PC (capróico) apresentaram menor espessura (0,02 mm cada) e maior brilho. Assim como menores valores de permeabilidade ao vapor de água (PE = 1,94, PP = 1,71 e PC = 2,12 g.mm/m².d.kPa) e menor solubilidade (PE = 13,9, PP = 13,3 e PC = 21,6 %), com melhores propriedades de barreira à luz visível ($p \leq 0,05$) em comparação aos filmes com glicerol. Os filmes com ácidos (PE e PP) apresentaram estrutura mais ordenada (cristalina) e melhor resistência térmica quando comparados aos demais. Os filmes com os ácidos graxos sem glicerol apresentaram maiores interações hidrofóbicas de acordo com FTIR devido ao deslocamento da banda da amida-A e maior amplitude da banda da amida II. A adição de glicerol nos filmes aumentou a rugosidade observada pelo MEV. A adição de AG contribuiu positivamente para as propriedades tecnológicas dos filmes de proteínas de peixes, indicando seu uso como embalagens para alimentos.

Palavras-chave: *Cynoscion acoupa*, proteínas miofibrilares de peixes, ácidos graxos, filmes compostos, embalagens biodegradáveis.

¹ 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. (2020). Glycerol and fatty acid influences on the rheological and technological properties of composite films from residues of *Cynoscion acoupa*. *Food Bioscience*, 38, 100773.

1. Introdução

O litoral norte do Brasil possui habitats para espécies de alto valor econômico, como a pescada amarela *Cynoscion acoupa* (Lacèpede, 1801) da família Sciaenidae. Esta espécie ocorre em águas tropicais e subtropicais da costa atlântica da América do Sul, incluindo o Brasil, além do oeste do Panamá e da Argentina. A pescada amarela tem um habitat nectônico e demersal e vive em águas rasas e salobras em estuários, lagoas estuarinas e foz de rios, e pode adentrar em água doce (He et al., 2012). No Maranhão, assim como no Pará, a pescada amarela é um dos principais recursos pesqueiros locais de importância socioeconômica (Almeida et al., 2011).

A embalagem sintética elaborada com materiais poliméricos à base de petróleo não biodegradável demora muito tempo para se decompor, produzindo grandes quantidades de resíduos poluentes no meio ambiente. Outra preocupação ambiental são os resíduos produzidos pela indústria de pesca, pois apenas 40% dessa matéria-prima é destinada ao consumo humano e as demais partes são subprodutos ricos em proteínas (Chalamaiah et al., 2012; Stevens et al., 2018).

A utilização desses subprodutos em embalagens biodegradáveis, para substituir as embalagens sintéticas, é uma alternativa para evitar seu descarte no meio ambiente, pois demoram anos para se decompor (Kaewprachu, et al., 2018; Pereira et al., 2019a; Pereira et al., 2019b; Suderman et al., 2018). Entre os materiais biopoliméricos mais importantes para o desenvolvimento de embalagens, estão polissacarídeos, proteínas e lipídios, devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de formação de filme (Zavareze et al., 2014; Kaewprachu et al., 2016; Pereira et al., 2021a, 2021b).

Filmes que utilizam proteínas de peixe têm alta permeabilidade ao vapor de água (PVA), pois as proteínas miofibrilares e plastificantes adicionados possuem grupos hidrofílicos, que interagem com moléculas de água (Rivero et al., 2016). Esses filmes, quando aplicados em produtos alimentícios com alto valor de umidade, podem se dissolver, inchar ou desintegrar. O estudo de filmes biodegradáveis para embalagens de alimentos busca melhorar as propriedades dos filmes otimizando o efeito dos plastificantes (Suderman et al., 2018). No entanto, as proteínas miofibrilares de peixes formam filmes com boas propriedades de barreira ao UV e ao oxigênio, além de serem incolores e transparentes (Kaewprachu et al., 2016; Prodpran et al., 2012), o que as torna um bom material de partida para filmes.

Portanto, os filmes compostos biodegradáveis, que combinam proteínas e componentes hidrofóbicos, melhoram as propriedades tecnológicas, como a redução da

transmissão ao vapor de água (Khanzadi et al., 2015). Essa combinação também pode reduzir significativamente a solubilidade dos filmes (Andreuccetti et al., 2011). Proteínas e/ou polissacarídeos reforçam a integridade estrutural dos filmes. Para melhorar a hidrofobicidade dos filmes de proteínas, ácidos graxos esteárico, palmítico e caprótico foram adicionados aos filmes de proteínas de peixes.

A adição de componentes hidrofóbicos em filmes de proteínas foi estudada anteriormente (Carpiné et al., 2015; Vieira et al., 2018; Pereira et al., 2019b, Pereira et al., 2020). No entanto, nenhum estudo objetivou avaliar o comportamento reológico das soluções filmogênicas (SF) de proteínas de peixes e ácidos graxos, principalmente sua aplicação como revestimento para produtos alimentícios. O uso de altas concentrações de polímeros (como proteínas, componentes hidrofóbicos e plastificantes) produz soluções de alta viscosidade que são difíceis de dissolver, manusear e transportar. Por outro lado, soluções com baixa viscosidade e/ou alta diluição não são capazes de formar revestimentos (Bof et al., 2015). Portanto, as propriedades de fluxo das soluções são importantes para a qualidade dos filmes. SF com maior viscosidade produzem filmes mais espessos que podem ser aplicados em produtos secos, como produtos em pó. Soluções com menor viscosidade produzem filmes finos que podem ser usados para produtos frescos, como frutas e vegetais.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do glicerol e AG (esteárico, palmítico e caprótico) nas propriedades reológicas de soluções filmogênicas e nas características tecnológicas de filmes biodegradáveis elaborados com proteínas miofibrilares extraídas de subprodutos da indústria pesqueira.

2. Material e métodos

2.1 Obtenção dos resíduos

Os subprodutos da filetagem, incluindo aparas de filé, peles, cabeças, ossos com carne aderida e sangue da pescada amarela, foram doados por uma empresa de pescados localizada em Belém, Pará (PA), Brasil, embalados e transportados em caixa isotérmica com gelo. Os procedimentos legais referentes ao acesso ao patrimônio genético foram devidamente realizados, sendo feito o registro no SisGen sob o número de cadastro A5ACFA3.

No laboratório, os resíduos foram lavados com água clorada (5 mgL^{-1}) a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5 min. As peles, espinhas e outros materiais foram retirados para obtenção da massa

muscular (carne aderida a ossos e peles), que foi embalada a vácuo e armazenada em freezer a -18 °C por no máximo 4 semanas até a realização das análises.

2.2 Obtenção das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)

A metodologia proposta por Limpan et al. (2012) foi utilizada para a extração das PML e foi descrito por Pereira et al. (2019b), com modificações. A massa muscular do peixe foi descongelada a 5-8 °C e triturada (Sire cutter C2920, Filizzola, Brasil). Posteriormente, o músculo foi misturado por 5 min com solução de cloreto de sódio 50 mM (LabSynth®, Brasil) a 4°C, na proporção 1:3 (músculo: solução). Este processo foi realizado três vezes, e em seguida filtrado em filtro de poliéster. O material retido foi homogeneizado com solução de ácido fosfórico 0,05% (Neon Comercial, Brasil) a 4 °C na mesma proporção e novamente filtrado. Posteriormente, a massa muscular foi misturada a 80 rpm (Shaker Incubator, Luca-223, Lucadema, Brasil), com água destilada na proporção 1:3 (músculo: solução) a 4 °C por 5 min e em seguida filtrada. Após essas etapas, as proteínas miofibrilares foram colocadas em bandejas de aço inoxidável, congeladas a -22 °C e liofilizadas (Liotop L101, Liobras, Brasil) a -60 °C por 48 h, o material obtido foi embalado (embalagem de náilon, lisa, coextrusada com polietileno, Solupack, Brasil) a vácuo (F200, Fastvac, Brasil) e armazenado à temperatura ambiente (22-25°C).

2.3 Análise eletroforética das PML

As PML foram analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de acordo com o procedimento descrito por Laemmli (1970), utilizando um instrumento de cuba vertical (DGV-20, Digel, Brasil). O preparo das amostras foi o seguinte: As PML (0,001 g) foram solubilizadas em 100 µl de água destilada e tampão de amostra (12 µl) constituído de 7,5 ml 1 M pH 6,8 Tri-HCL (Êxodo Científica, Brasil), 10% SDS (35 ml) (p/v) (Dynamics, Brasil), 0,15 g de azul de bromofenol (Isofar, Brasil), 15 ml glicerol (Isofar), 75 ml de água destilada e 700 µl de 14,3 M de β-mercaptoetanol (Sigma Aldrich, EUA) e foram aquecidas a 100°C por 10 min (TE-057, Technal, França). Para a corrida foi utilizado um gel de separação a 8% e um gel de empilhamento a 5%. A voltagem inicial durante o empilhamento foi de 80 V e durante a separação foi de 100 V.

Após a separação, as bandas foram reveladas com solução corante por 30 min: 2,5 g Coomassie Brilliant Blue R-250 (Sigma Aldrich), 500: 400 ml (metanol: água destilada) (Êxodo Científica), 100 ml de ácido acético glacial (Cinética, Brasil). O excesso de corante do gel foi removido durante 2 horas: 100 ml de ácido acético glacial, 400 ml de

metanol e 500 ml de água destilada. O padrão utilizado (Bio-Rad Laboratories, EUA) foi composto por miosina (200 kDa); β -galactose (116 kDa); fosforilase b (97,4 kDa); albumina (66,2 kDa); ovalbumina (45 kDa); anidrase carbônica (31 kDa); inibidor de tripsina (21,5 kDa); lisozima (14,4 kDa) e aprotinina (6,5 kDa) de acordo com o fabricante. Para o cálculo dos pesos moleculares (PM) das PML, foi usada a equação $Y = 2,534 - 1,661 * x$ para obter o PM aparente plotando o Log do PM dos padrões versus a migração relativa (distância da amostra/distância total do gel). Foi utilizado o pacote de software Statistica, Ultimate Academic versão 13.1, edição profissional (Statsoft South America, Brasil). Os resultados com as amostras reais foram colocados na linha de regressão (Fig. 1).

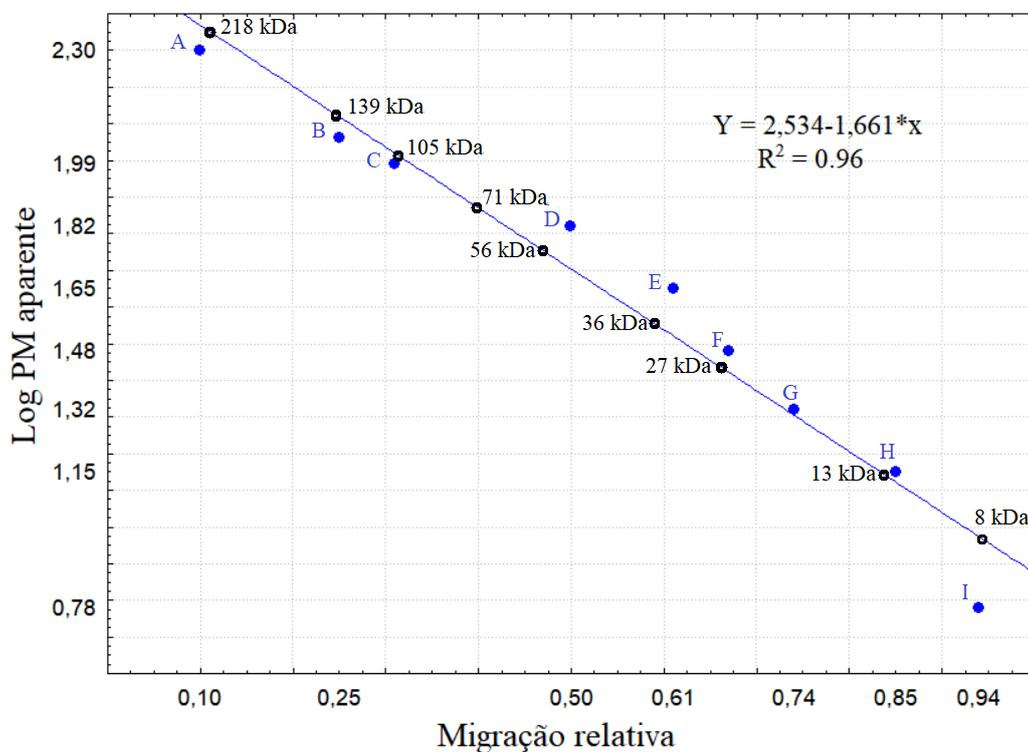


Fig. 1. Equação linha da reta para obtenção dos PM das PML. Azul (padrão) e preto (PML).

O teor de proteína bruta total foi determinado usando o método micro-Kjeldahl (método 940,25, fator de conversão 6,25), usando um destilador (TE-0363, Technal) e um bloco digestor (TE-008/50-04, Tacnal) (AOAC, 1999).

2.4 Preparação dos filmes biodegradáveis

Foi utilizado o método de Limpan et al. (2012) para a elaboração dos filmes com modificações descritas por Pereira et al. (2019b). O pH da solução de proteína (p/v) foi

ajustado para 11,0 com NaOH 2 M (Vetec Química, Brasil), em seguida, foi adicionado glicerol (Isofar) como plastificante e os AG esteárico (99%) (Isofar), palmítico (Vetec Química) e capríco (98%) (Vetec Química). As soluções foram homogeneizadas em um homogeneizador Turratec (TE-102, Technal) a 10.000 rpm por 5 min, em seguida, colocadas em banho-maria (TE-057, Technal) por 30 min a 70 °C para a obtenção das soluções filmogênicas. Posteriormente, 120 ml de cada solução foram adicionadas a um recipiente de silicone (22 cm de diâmetro x 2,5 cm de altura) e secos em incubadora DBO (Q315M, Quimis, Brasil) com circulação de ar a 26 °C por 17 h.

Após a secagem, os filmes foram embalados em seladora (Fastvac, F200) e armazenados em temperatura ambiente até sua utilização. Composição dos filmes compostos biodegradáveis: P (1% PML (p/v)); PE, PP e PC (1% PML, 5% AG esteárico, palmítico ou capríco (p/p proteínas), respectivamente); PG (1% PML e 50% glicerol (p/p proteínas)); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% AG esteárico, palmítico ou capríco (p/p proteínas), respectivamente).

2.5 Caracterização reológica das soluções filmogênicas (SF)

As características reológicas das SF foram determinadas para avaliar a influência da adição de glicerol e AG. Todos os experimentos foram realizados utilizando um viscosímetro rotacional (VT550, Thermo Fisher, EUA) acoplado ao sistema de configuração SV1 (cilindro cheio) e SV (copo). A viscosidade aparente foi determinada a 28 °C, com uma taxa de cisalhamento variando de 0 a 600 s⁻¹ (por 180 s), a análise e os resultados (curvas de fluxo e viscosidade) foram obtidos usando o software computacional HAAKE™ RheoWin™ Measuring and Evaluation (Thermo Fisher Scientific).

Os modelos matemáticos de Bingham (equação da viscosidade 1, equação da tensão de cisalhamento 2), Herschel-Bulkley (equação da viscosidade 3, equação da tensão de cisalhamento 4) e Ostwald de Waele (equação da viscosidade 5, equação da tensão de cisalhamento 6), foram ajustados aos dados experimentais usando regressão não-linear. Foi utilizado o algoritmo Quasi-Newton da Statsoft (South America, Brasil), com um critério de convergência de 10⁻⁴ (erro relativo). Para definir o melhor modelo de previsão das curvas de fluxo e viscosidade, os critérios utilizados foram a menor média quadrática do erro (MS_E) e o maior valor do coeficiente de determinação ajustado (R²_{ajustado}) (Montgomery e Runger, 2018).

$$\eta = \eta_p + \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}} \quad (1)$$

$$\tau = \tau_0 + \eta_p \cdot \dot{\gamma} \quad (2)$$

$$\eta = \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}} + K \cdot \dot{\gamma}^{n-1} \quad (3)$$

$$\tau = \tau_0 + K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (4)$$

$$\eta = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1} \quad (5)$$

$$\tau = K \cdot \dot{\gamma}^n \quad (6)$$

Onde, η = viscosidade aparente (Pa.s); η_p = viscosidade plástica (Pa.s); τ = tensão de cisalhamento (Pa); τ_0 = tensão de cisalhamento inicial (Pa); K = índice de consistência; $\dot{\gamma}$ = taxa de deformação (s^{-1}); n = índice de comportamento do fluido (adimensional).

2.6 Caracterização dos filmes biodegradáveis

A espessura de cada filme foi medida por micrômetro digital (IP54, Insize, Brasil) com resolução de 0,001 mm em 8 pontos aleatórios a 60 mm da borda (Zavareze et al., 2014). A cor instrumental e a opacidade foram avaliadas usando um colorímetro portátil (CR 400, Konica Minolta, Japão). Foram determinados os parâmetros L^* (brilho, branco - preto), a^* (vermelho-verde), b^* (amarelo - azul) e calculados C^* (croma) (equação 7) e h° (ângulo de tonalidade) (equação 8). O parâmetro a^* não apresentou diferença significativa, portanto não identificado e discutido. No mesmo equipamento foi determinada a opacidade de acordo com Fakhouri (2015), sendo calculada como a relação entre a opacidade do filme sobreposta no padrão preto (Y_{preto}) e no padrão branco (Y_{branco}) (equação 9). Os cálculos foram feitos usando o software Universal SpectraMagic NX (Konica Minolta).

$$C^* = (a^*)^2 + (b^*)^2 \quad (7)$$

$$h^\circ = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (8)$$

$$\% \text{Opacity} = \frac{Y_{\text{black}}}{Y_{\text{white}}} * 100 \quad (9)$$

A transmissão de luz e a transparência dos filmes foram medidas na faixa do visível e ultravioleta (200-800 nm) usando um espectrofotômetro (EVOLUTION 60S, ThermoFisher Scientific). As amostras foram cortadas em retângulos e colocadas dentro

da cubeta, a análise foi realizada em triplicata. O valor da transparência foi calculado de acordo com a equação 10 (Han & Floros, 1997).

$$VT = \frac{-\log T_{600}}{x} \quad (10)$$

Onde: VT = valor de transparência; T_{600} = transmitância a 600 nm; x = espessura do filme (mm). O valor de transparência mais alto representa a menor transparência do filme.

A PVA foi determinada usando o método ASTM D882-95 (1989) descrito por Arfat et al. (2014). Os filmes foram colados com adesivo de silicone (Orbi Química, Brasil) em um recipiente de vidro 4,5 x 7,0 cm (diâmetro interno x altura) contendo 10 g de sílica gel (0% UR; 0 Pa pressão de vapor de água a 30 °C). Os recipientes foram armazenados em dessecadores com água destilada a 30 °C (99% UR; 4245 Pa de pressão de vapor) por 10 h em triplicatas. A PVA dos filmes foi calculada usando a equação 11.

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

Onde: PVA = permeabilidade ao vapor de água (g.mm/m².d.KPa); P = ganho de peso (g); E = espessura média do filme (mm); A = área da superfície do filme exposto (m²); t = tempo (d); ΔP = diferença de pressão de vapor no filme (4,245 Pa a 30 °C).

O método descrito por Gontard et al. (1994) foi usado para analisar a solubilidade dos filmes. Inicialmente, as amostras (2 cm de diâmetro) foram secas em estufa (105 °C por 24 h), em seguida, imersas em 50 ml de água destilada, agitadas a 80 rpm a 25 °C por 24 h em Incubadora Shaker (Luca-223, Lucadema), em triplicatas. Todas as amostras foram filtradas (papel de filtro, código 501.015, 15 cm, Unifil, Brasil) e secas em estufa (105 °C por 24 h) para determinação da massa seca não dissolvida em água. O cálculo da solubilidade foi feito pela equação 12.

$$SOL (\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \cdot 100 \quad (12)$$

Onde: SOL (%) = porcentagem de material solubilizado; M_i = massa inicial da amostra (g); M_f = massa final da amostra (g).

As medidas de difração de raio X (DRX) foram realizadas em Difratorômetro (Bruker, D8 Advance, EUA) com geometria Bragg-Brentano e detector LynxEye Tubo de Cu, operando a 40 kV e 40 mA e os raios derivados de radical filtrados por níquel Cu K α (1,540598Å). Os difratogramas foram registrados entre os ângulos de 2 θ de 4° a 60° com taxa de varredura de 0,02° com 0,2 s/passos (XRD DIFFRAC.SUIT, versão 3.0.0.8, Bruker).

As medidas de espectroscopia de absorção no infravermelho com refletância total atenuada (FTIR-ATR) foram realizadas em um espectrômetro de transformada de Fourier (Model Vertex 70v, Bruker). Os espectros foram obtidos na faixa espectral de 400 a 4000 cm⁻¹ e coletadas 32 varreduras na velocidade de 10 kHz com resolução de 4 cm⁻¹.

A análise termogravimétrica/termogravimetria derivada (TGA/DTG) dos filmes foi determinada em um analisador termogravimétrico (STA 449 F3 Júpiter, Erich Netzsch GmbH, Alemanha) em atmosfera de nitrogênio com vazão de 20 ml.min⁻¹. As amostras foram aquecidas da temperatura ambiente a 600 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

A microestrutura eletrônica de varredura (MEV) foi determinada em microscópio (VEGA3 LMU, Tescan, Tchêquia) com tensão de aceleração de 15 kV em amostras metalizadas com Au e Pd após pulverização catódica (Modelo SC7620, Quorum, Reino Unido). As micrografias de superfície dos filmes foram tiradas com ampliação de 200 e 5000x.

2.7 Análise estatística

Todos os dados de caracterização dos filmes foram avaliados estatisticamente usando análise de variância unilateral (ANOVA) e teste de diferença significativa de Fisher (LSD) ($p \leq 0,05$) para comparação das médias. Os cálculos foram realizados no pacote de software Statistica, Ultimate Academic versão 13.1, edição profissional (Statsoft).

3 Resultados e discussão

3.1. Eletroforese das PML

O percentual de proteínas brutas em base úmida das PML foi de 90,7 % \pm 0,4, confirmando a eficiência do método de extração. A Fig. 2a mostra o perfil eletroforético das proteínas miofibrilares presentes na amostra, com os padrões de peso molecular conhecidos (Bio-Rad) (Fig. 2b). Vários pesquisadores também usaram padrões

semelhantes com pesos moleculares atribuídos com base em SDS-PAGE e outros métodos de medição para comparar com as frações proteicas presentes em proteínas miofibrilares de peixes (Araújo et al., 2018; Pereira et al., 2019b, 2021).

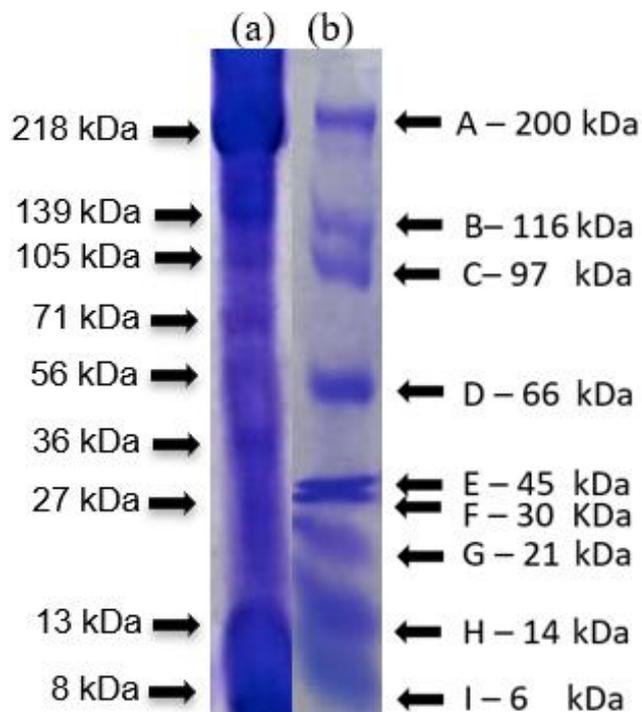


Fig. 2. Eletroforese SDS-PAGE da amostra das proteínas miofibrilares de peixe (a); O padrão Bio-Rad (b) utilizado foi composto por miosina (200 kDa); β -galactose (116 kDa); fosforilase b (97,4 kDa); albumina (66,2 kDa); ovalbumina (45 kDa); anidrase carbônica (31 kDa); inibidor de tripsina (21,5 kDa); lisozima (14,4 kDa) e aprotinina (6,5 kDa).

A estrutura molecular da amostra mostrou uma subunidade predominante da cadeia de alto peso molecular (PM), banda A (218 kDa), que é provavelmente a cadeia pesada da miosina. Kaewprachu et al. (2016) estudando proteínas de diferentes fontes para formação de filmes biodegradáveis observaram que a miosina de cadeia pesada e as bandas de actina, tropomiosina (3^o banda) e troponina (4^o banda) eram dominantes. No entanto, eles também concluíram que uma menor intensidade da banda da cadeia pesada da miosina (banda A) pode refletir a degradação das proteínas. As proteínas com PM de 200, 42, 35-33 e 30-18 kDa são provavelmente miosina, actina, tropomiosina e troponina (e possivelmente cadeias leves de miosina), respectivamente (Gennadios, 2002). Os padrões equivalentes das amostras neste estudo podem ser nominalmente atribuídos a PM de 218, 56, 36 e 27 kDa, respectivamente (Fig. 2a).

Portanto, as bandas padrão das PML é suficientemente consistente com a presença de proteínas miofibrilares extraídas de resíduos de peixes para considerar importantes para a elaboração de filmes biodegradáveis. De acordo com Pereira et al. (2019a), as frações proteicas que caracterizam as proteínas miofibrilares são evidenciadas principalmente pela presença da cadeia pesada de miosina (banda A), fragmentos de miosina e actina (bandas D, E e F) e cadeias leves de miosina que podem ser observadas entre as duas bandas F e H.

3.2 Propriedades reológicas das SF

Todas as SF apresentaram comportamento não newtoniano com variação da viscosidade em função da taxa de cisalhamento, com $n \neq 1$ (Tabelas 1 e 2). De acordo com Echeverría et al. (2014), as soluções filmogênicas podem ser avaliadas usando parâmetro n , um valor de 1 indicando fluido newtoniano, > 1 dilatante e entre 0 e 1 um fluido pseudoplástico. Para as curvas de fluxo (tensão de cisalhamento x taxa de cisalhamento), as SF de proteínas miofibrilares de peixe e AG apresentaram comportamento do fluido dilatante ($n > 1$), e o modelo Herschel-Bulkley apresentou ajuste satisfatório aos valores experimentais para as SF, com base no coeficiente de correlação ajustado ($R^2_{ajustado}$) e erro relativo quadrático (MS_E) (Tabelas 1, Fig. 3A), com curvas mais pronunciadas. O mesmo comportamento ocorreu para as amostras com adição de glicerol, exceto para a amostra PGP, que se ajustou melhor para o modelo de Bingham (com o aumento da taxa de cisalhamento, a tensão de cisalhamento tendeu para a linearidade) (Tabela 1, Fig. 3B).

Para as curvas de viscosidade, o modelo Herschel também apresentou ajuste com base no $R^2_{ajustado}$ e MS_E para as amostras com AG, exceto para a amostra PC, que foi melhor ajustado para o modelo de Bingham (Tabela 2, Fig. 3C). Entre as amostras com adição de glicerol, as amostras PG e PGE, apresentaram melhor ajuste para Herschel-Bulkley e PGP e PGC para Bingham (Tabela 2, Fig. 3D).

Os parâmetros τ° (tensão de cisalhamento inicial) e K (índice de consistência) para o modelo Herschel-Bulkley aumentaram com a adição de glicerol (PG, PGE, PGP e PGC), exceto para PGC para τ° . Também foi observado aumento da viscosidade plástica com adição de glicerol para o modelo de Bingham (Tabela 1), exceto PGC. Entretanto, para os modelos reológicos de viscosidade, o PP apresentou o menor τ° , mas o maior K . A viscosidade diminuiu em baixas taxas de cisalhamento, apresentando comportamento pseudoplástico ($n < 1$) para a esta amostra (Tabela 2, Fig. 3C).

Tabela 1

Resultados dos parâmetros dos modelos reológicos das curvas de fluxo das SF.

Parâmetros	P	PE	PP	PC	PG	PGE	PGP	PGC
Bingham								
τ_0 (Pa)	1.44	1.58	1.60	1.76	1.09	0.52	0.77	1.42
η_p (Pa.s)	0.04	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05
$R^2_{ajustado}$	0.97	0.96	0.96	0.96	0.97	0.98	0.99	0.97
MS_E	2.67	4.30	6.19	4.48	4.78	3.30	1.99	3.61
Herschel-Bulkley								
τ_0 (Pa)	0.35	0.71	1.16	0.53	1.84	1.46	1.32	0.66
K	0.001	0.001	0.001	0.001	0.002	0.01	0.04	0.001
N	1.56	1.59	1.70	1.62	1.53	1.40	1.08	1.57
$R^2_{ajustado}$	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
MS_E	0.08	0.20	0.33	0.16	0.97	1.13	2.01	0.17
Ostwald Weale								
K	0.002	0.002	0.002	0.002	0,004	0.01	0.07	0.002
N	1.51	1.50	1.50	1.55	1.41	1.24	0.98	1.48
$R^2_{ajustado}$	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.98	0.99	0.99
MS_E	0.12	0.36	0.79	0.25	1.15	1.66	2.24	0.31

η_p = viscosidade plástica; τ_0 = tensão de cisalhamento inicial (Pa); k = índice de consistência; n = índice de comportamento do fluido (adimensional). MS_E : quadrado médio do erro. P (proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) a 1%); PE, PP e PC (1% PML e 5% de ácido graxo (AG)); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

Tabela 2

Resultados dos parâmetros dos modelos reológicos das curvas de viscosidade das SF.

Parâmetros	P	PE	PP	PC	PG	PGE	PGP	PGC
Bingham								
τ_0 (Pa)	0.37	0.39	0.30	0.37	0.50	0.50	0.47	0.43
η_p (Pa.s)	0.03	0.04	0.05	0.04	0.05	0.05	0.06	0.04
$R^2_{ajustado}$	0.91	0.95	0.71	0.87	0.97	0.98	0.95	0.91
$MS_E (10^{-3})$	2	1	7	4	1	1	2	3
Herschel-Bulkley								
τ_0 (Pa)	0.43	0.45	0.08	0.36	0.48	0.55	0.45	0.43
K	0.002	0.01	0.2	0.04	0.06	0.02	0.1	0.04
N	1.46	1.21	0.75	0.98	0.97	1.13	0.97	1.00
$R^2_{ajustado}$	0.94	0.96	0.77	0.87	0.97	0.99	0.95	0.91
$MS_E (10^{-3})$	2	1	6	4	1	1	2	3
Ostwald Weale								
K	0.27	0.26	0.22	0.26	0.34	0.33	0.31	0.30
N	0.51	0.60	0.70	0.60	0.60	0.62	0.70	0.57
$R^2_{ajustado}$	0.77	0.79	0.76	0.82	0.89	0.78	0.81	0.84
$MS_E (10^{-2})$	1	1	1	1	1	1	1	1

η_p = viscosidade plástica; τ_0 = tensão de cisalhamento inicial (Pa); k = índice de consistência; n = índice de comportamento do fluido (adimensional). MS_E : quadrado médio do erro. P (proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) a 1%); PE, PP e PC (1% PML e 5% de ácido graxo (AG)); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

O comportamento reológico das SF foi influenciado pela adição de AG e glicerol (Tabelas 1 e 2), com aumento da viscosidade em função do peso molecular dos polímeros adicionados quando submetidos a um aumento de $\dot{\gamma}$ (taxa de deformação), quando comparadas ao controle (P), exceto para PC e PGC nas taxas de deformação de 30 e 200 s^{-1} , respectivamente (Tabela 3). O aumento da viscosidade pode estar relacionado à quantidade de polímeros na solução ou à interação hidrofóbica entre os ácidos, proteínas e glicerol devido à exposição de grupos hidrofóbicos de cadeias proteicas no processamento térmico. De acordo com Hoque et al. (2010), a interação hidrofóbica é mais intensa quando o FS é aquecida. Observou-se que em taxas de cisalhamento mais

baixas a curva de viscosidade apresenta comportamento pseudoplástico e dilatante em taxas mais altas (Fig. 3C-D).

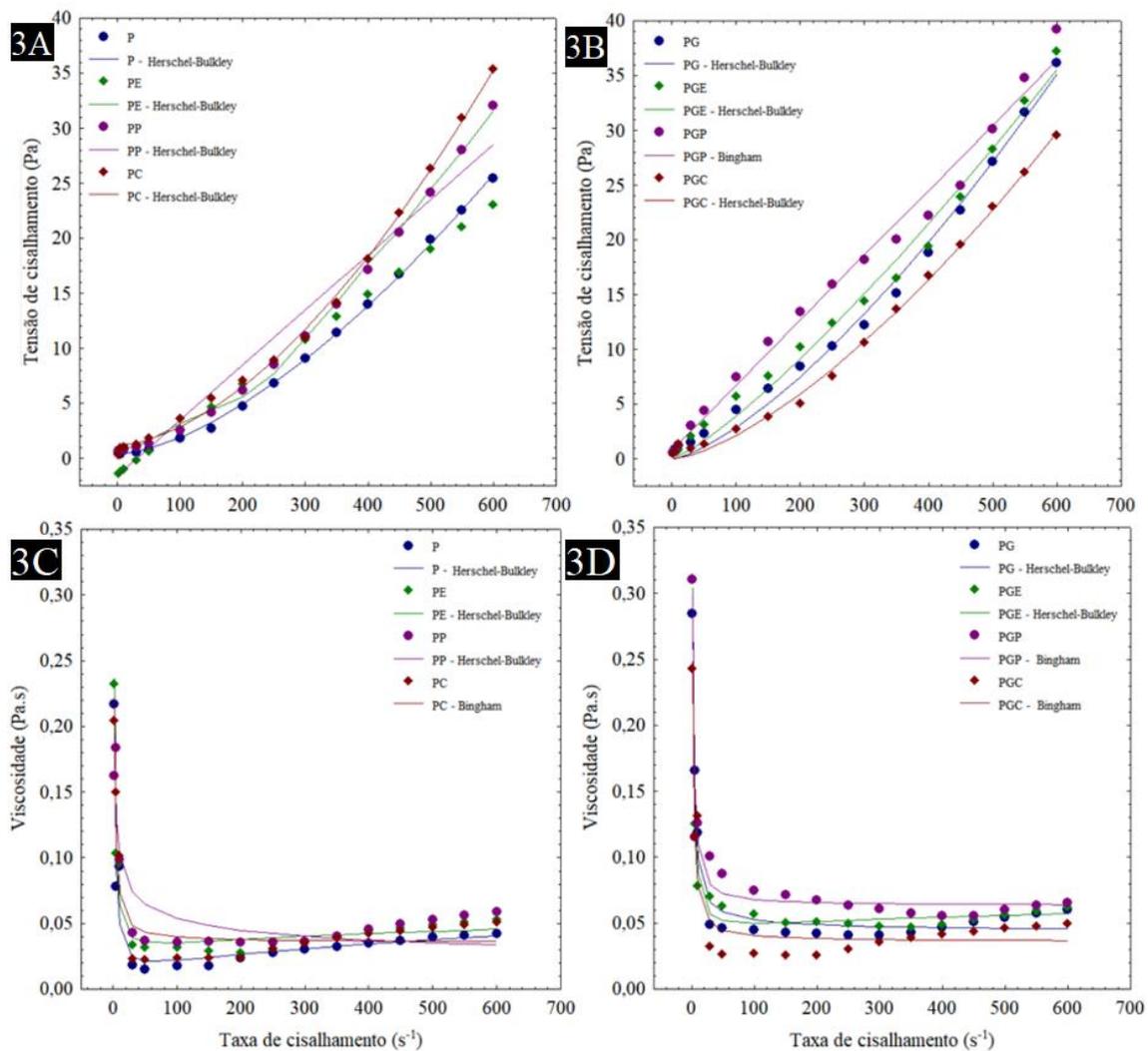


Fig. 3. Modelo reológico para curvas de fluxo (3A-B) e viscosidade (3C-D) das SF. P (1% PML); PE, PP e PC (1% PML e 5% de AG); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

Zavareze et al. (2014) observaram maior viscosidade aparente em soluções com maior concentração de proteínas miofibrilares de peixe e glicerol. As SF PGE e PGP apresentaram os maiores valores de viscosidade aparente ($p \leq 0,05$) (Tabela 3), indicando que o tamanho da cadeia dos AG e o aumento de sólidos influenciaram o comportamento reológico das soluções.

Tabela 3

Resultados da viscosidade aparente das SF.

SF	Viscosidade aparente (Pa.s)						
	30	100	200	300	400	500	600
P	0.02±0 ^e	0.02±0 ^f	0.02±0 ^f	0.03±0 ^f	0.04±0 ^f	0.04±0 ^f	0.04±0 ^h
PE	0.03±0 ^d	0.03±0 ^d	0.03±0 ^e	0.04±0 ^d	0.04±0 ^d	0.05±0 ^d	0.05±0 ^e
PP	0.04±0 ^c	0.04±0 ^d	0.04±0 ^d	0.04±0 ^d	0.05±0 ^d	0.05±0 ^c	0.06±0 ^d
PC	0.02±0 ^e	0.02±0 ^e	0.02±0 ^f	0.04±0 ^e	0.04±0 ^e	0.05±0 ^e	0.05±0 ^f
PG	0.05±0 ^c	0.05±0 ^c	0.04±0 ^c	0.04±0 ^c	0.05±0 ^c	0.05±0 ^c	0.06±0 ^c
PGE	0.07±0 ^b	0.06±0 ^b	0.05±0 ^b	0.05±0 ^b	0.05±0 ^b	0.06±0 ^b	0.06±0 ^b
PGP	0.10±0 ^a	0.08±0 ^a	0.07±0 ^a	0.06±0 ^a	0.06±0 ^a	0.06±0 ^a	0.07±0 ^a
PGC	0.03±0 ^d	0.03±0 ^e	0.03±0 ^{e,f}	0.04±0 ^{d,e}	0.04±0 ^e	0.05±0 ^e	0.06±0 ^g

As mesmas letras minúsculas na mesma coluna não mostram diferença significativa ($p > 0,05$) utilizando o teste de Fisher LSD. SF (solução filmogênica); P (1% PML (proteína miofibrilar liofilizada)); PE, PP e PC (1% PML e 5% de ácido graxo (AG)); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

3.3 Caracterização dos filmes

3.3.1 Cor

Todos os filmes apresentaram alta luminosidade (L^*) com cor tendendo para o amarelo, somente a amostra PP apresentou maior valor (L^*) e valor inferior para (b^*) ($p \leq 0,05$) (Tabela 4), demonstrando o impacto positivo da adição deste ácido. Tongnuanchan et al. (2011) sugeriram que a cor amarela dos filmes de proteínas musculares de peixes pode ser devido a reação de escurecimento não-enzimática (reação de Maillard) que ocorre durante o processo de fundição e secagem dos filmes.

A cor mais clara da amostra PP é refletida também nos resultados dos valores de croma C^* e ângulo de tonalidade h^* , diferindo ($p \leq 0,05$) das demais. Vieira et al. (2018) ao analisar filmes de proteínas de peixe, glicerol, ácido esteárico e surfactante, também detectaram tendência para cor amarela ($b^* = 19,32$) e alta luminosidade ($L^* = 87,34$), porém com tonalidade mais escura ($C^* = 20,15$; $h^* = 106,48$).

Tabela 4

Resultado da análise de cor dos filmes compostos.

Filmes	Parâmetros de cor			
	L*	b*	C*	h°
P	93±0.1 ^e	13.1±0.2 ^b	14.5±0.2 ^a	116±0.2 ^d
PE	94±0 ^{de}	13.5±0.3 ^a	14.6±0.4 ^a	116±0.4 ^d
PP	95.3±0.2 ^a	10±0 ^e	12±0 ^d	120±0.2 ^a
PC	94.7±0.1 ^b	11.7±0.3 ^d	13.7±0.2 ^b	118±0.4 ^b
PG	93.9±0.3 ^e	12.3±0.1 ^c	13.7±0.1 ^b	116±0.1 ^c
PGE	94.4±0.1 ^{bc}	11.5±0.1 ^d	12.9±0.1 ^c	118±0.2 ^b
PGP	94±0 ^{cd}	12.2±0.1 ^c	13.7±0.1 ^b	117±0.1 ^b
PGC	94.4±0.1 ^{bc}	11.6±0.2 ^d	13.2±0.1 ^c	118±0.4 ^b

As mesmas letras minúsculas na mesma coluna não mostram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias obtidas pelo teste de Fisher LSD. P (proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) a 1%); PE, PP e PC (1% PML e 5% de ácido graxo (AG)); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

3.3.2 Caracterização da espessura, PVA e solubilidade

A adição de glicerol aumentou ($p \leq 0,05$) a espessura e a PVA dos filmes (Tabela 5). O que pode estar relacionado ao aumento de sólidos na matriz ou a característica do plastificante, que contém grupos hidrofílicos. Araújo et al. (2018), avaliando filmes de proteínas de peixes e glicerol, concluíram que a PVA aumentou com a concentração de proteínas miofibrilares e plastificantes. Segundo Monterrey-Quintero e Sobral (2000), um componente hidrofílico incorporado na rede proteica entre os peptídeos aumenta a distância entre as cadeias proteicas, facilitando a mobilidade molecular, o que contribui para maior afinidade com a água.

Os filmes elaborados apenas com proteínas e AG obtiveram menores valores de PVA quando comparados aos filmes com adição de glicerol. Comportamento semelhante também foi relatado por Vieira et al. (2018) para filme de proteínas de peixe, ácido esteárico e glicerol. Halal et al. (2016) também encontraram menor PVA ao incorporar 20% de óleo de palma em filmes com 3 e 4% de isolado de proteínas de peixe levando a uma diminuição para 22,1 e 26,8%, respectivamente, quando compararam as taxas de PVA dos filmes sem a adição do componente hidrofóbico, e relataram que as baixas taxas de PVA com a adição de óleo podem ser explicadas pela adição de um componente

hidrofóbicos que reduzem sua afinidade com as moléculas de água e, portanto, diminuem seu PVA.

Tabela 5

Resultados para espessura, PVA e solubilidade dos filmes compostos.

Filmes	Espessura (mm)	PVA	
		(g.mm/m ² .d.kPa)	Solubilidade (%)
P	0.02±0 ^c	2.1±0.1 ^c	25.0±0.4 ^b
PE	0.02±0 ^c	1.9±0.0 ^{cd}	13.9±0.3 ^d
PP	0.02±0 ^c	1.7±0.2 ^d	13±1 ^d
PC	0.02±0 ^c	2.1±0.1 ^c	21.6±0.3 ^c
PG	0.04±0 ^a	4.1±0.1 ^a	33±1 ^a
PGE	0.04±0 ^a	4.0±0.2 ^a	22±0 ^c
PGP	0.03±0 ^b	3.1±0.0 ^b	14.2±0.3 ^d
PGC	0.03±0 ^b	3.2±0.1 ^b	33.2±0.5 ^a

As mesmas letras minúsculas na mesma coluna não mostram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias obtidas pelo teste de Fisher LSD. P (proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) a 1%); PE, PP e PC (1% PML e 5% de ácido graxo (AG)); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

Os filmes com AG de cadeias maiores (PE e PP), apresentaram os menores ($p \leq 0,05$) valores de solubilidade quando comparados ao filme controle P, indicando a interação hidrofóbica positiva dos AG de maior cadeia na rede polimérica. A adição de glicerol induziu aumento na solubilidade, exceto para o PGP, indicando a especificidade do rearranjo de 16 C em relação ao 18 e 6 C (Tabela 5). A adição de um componente hidrofílico aumenta a distância entre as cadeias, o que contribui para a afinidade com a água, porém o tamanho da cadeia do ácido palmítico contribuiu positivamente para uma maior interação entre elas, diminuindo a mobilidade molecular e consequentemente a solubilidade.

Vieira et al. (2018) concluíram que a redução da solubilidade de filmes com componentes hidrofóbicos está relacionada às interações intermoleculares, de acordo com sua estrutura e características químicas (hidrofilicidade e hidrofobicidade). E Kaewprachu et al. (2017) relataram que o glicerol, é uma molécula hidrofílica, que pode

ser facilmente solubilizado em água destilada, resultando em aumento da solubilidade do filme.

3.3.3 Transmissão de luz e transparência

Os filmes apresentaram menor transmissão de luz ($p \leq 0,05$) na faixa de UV (200-280 nm) comparados ao visível (350-800), o que é importante para evitar a oxidação dos alimentos (Tabela 6) (Blanco-pascual, Fernández-martín e Montero 2014). Filmes e revestimentos podem ajudar a proteger os alimentos contra a oxidação (Sahraee et al., 2019). A transmissão de luz provavelmente foi influenciada pelo arranjo ou alinhamento dos polímeros na rede dos filmes (Araújo et al., 2018).

Filmes contendo apenas AG (PE, PP e PC) apresentaram maior opacidade ($p \leq 0,05$) indicando a contribuição positiva desses ácidos na rede polimérica. O estado físico dos lipídios (sólido) à temperatura ambiente e a dispersão da luz pelas gotas de emulsão e sua distribuição contínua na rede influenciaram na transmissão de luz e transparência dos filmes (Halal et al., 2016; Wang et al., 2014). De acordo com Limpan et al. (2012), na faixa do visível, os filmes que apresentam menores propriedades de barreira contra a luz visível são aqueles com maior transmitância (%T). Assim, a escolha da formulação mais adequada dependerá do produto para o qual a embalagem se destina. Vieira et al. (2018) também obtiveram melhores propriedades de barreira na região UV/visível e maior opacidade para o filme otimizado de proteínas de peixe e ácido esteárico em comparação com o filme controle.

Tabela 6

Resultados para a transmissão de luz e transparência dos filmes compostos.

Transmitância (nm)	Filmes compostos (T%)			
	P	PE	PP	PC
200	1.1±0.1 ^{aD}	0.4±0.1 ^{dG}	0.5±0.1 ^{cdD}	0.6±0 ^{bdF}
280	0.4±0 ^{bdD}	0.8±0.1 ^{abG}	1.1±0.1 ^{abD}	0.4±0.1 ^{bF}
350	84.9±0.2 ^{abA}	32±2 ^{fF}	50±2 ^{eC}	52±1 ^{eE}
400	77.2±0.4 ^{abC}	35±1 ^{eE}	49±1 ^{dC}	53.6±0.3 ^{dD}
500	82.9±0.5 ^{bB}	46±2 ^{fD}	56±1 ^{eB}	62.8±0 ^{dC}
600	83±1 ^{bB}	52±2 ^{fC}	57±1 ^{eB}	64.4±0 ^{dB}
700	85±1 ^A	62±2 ^{eB}	64±1 ^{eA}	70.6±0 ^{dA}
800	84.7±0.5 ^{a,b,A}	66±1 ^{eA}	65±1 ^{eA}	71±1 ^{dA}
Transparência	2.7±0 ^e	9.6±0.2 ^a	8.8±0.2 ^b	6.2±0.2 ^c
Transmitância (nm)	PG	PGE	PGP	PGC
200	0.9±0.1 ^{abD}	0.8±0.1 ^{bE}	0.8±0.1 ^{bE}	0.7±0.1 ^{bcD}
280	0.6±0.1 ^{bdD}	0.3±0.1 ^{bE}	1.7±0.1 ^{aE}	1.0±0.1 ^{abD}
350	93±1 ^{aA}	79±1 ^{bcC}	73±1 ^{cdAC}	70±2 ^{dB}
400	82±1 ^{aC}	74±2 ^{bdD}	67±1 ^{cdD}	66±1 ^{cC}
500	87±1 ^{aB}	81±2 ^{bBC}	72±2 ^{cBC}	71.3±0.3 ^{cB}
600	86±1 ^{aB}	82±2 ^{bAB}	72±1 ^{cC}	71±1 ^{cB}
700	88±1 ^{aB}	85±2 ^{bA}	74.9±0.5 ^{caA}	75±1 ^{caA}
800	87±1 ^{aB}	83±2 ^{bAB}	74±0 ^{caB}	74±2 ^{caA}
Transparência	1.1±0.1 ^f	2.7±0.1 ^e	4.1±0.2 ^d	4.0±0.0 ^d

As mesmas letras minúsculas na mesma linha e letras maiúsculas na mesma coluna não apresentam diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias obtidas pelo teste de Fisher LSD. P (proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) a 1%); PE, PP e PC (1% PML e 5% de ácido graxo (AG)); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

3.3.4 DRX

A avaliação da DRX é um método importante para determinar a miscibilidade de materiais e o nível cristalino de polímeros (Zhu et al., 2014). O filme controle P apresentou uma estrutura amorfa e desordenada, com uma banda larga a $2\theta = 20^\circ$ (Fig. 4), sem os picos agudos característicos indicando cristalinidade. A presença de AG de

maior cadeia (esteárico e palmítico) modificaram essa característica, apresentando também picos centralizados (PE, PP, PGE e PGP).

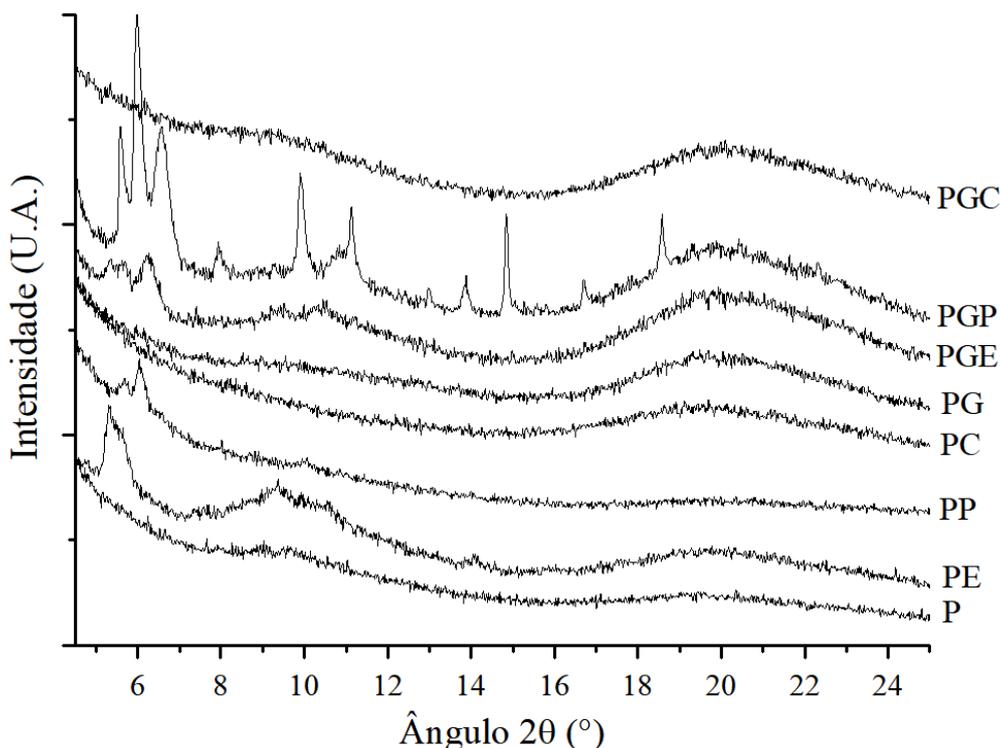


Figura 4. Raio-X dos filmes P (1% PML); PE, PP e PC (1% PML e 5% de AG); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

Shabanpour et al. (2018) também encontraram característica amorfa para filmes de proteínas miofibrilares de peixes, com um pico largo a $2\theta = 20,1^\circ$, confirmando a estrutura amorfa das proteínas. Segundo Bhandari e Roos, (2012), as proteínas amorfas em pó sempre apresentam maior solubilidade, retenção de água e compressibilidade, confirmado pelos valores de solubilidade para o filme controle (P) que apresentou valor superior ($p \leq 0,05$) quando comparado aos filmes apenas com AG (PE, PP e PC) (Tabela 5).

Esses resultados indicam que a adição de AG afetou a estrutura amorfa dos filmes de proteínas, conferindo assim uma melhora na cristalinidade com estruturas mais ordenadas devido a interação bem sucedida desses ácidos, indicando uma mudança na conformação da matriz proteica (Vieira et al., 2018). Corroborando os resultados (Tabelas 5 e 6), os filmes PE e PP comparados ao filme P apresentaram menor solubilidade e PVA, e melhores propriedades de barreira à luz na faixa do visível. Vieira et al. (2018) também encontraram picos alargados em $2\theta = 9,4$ e 20° para filmes de proteínas de peixe e glicerol,

enquanto o filme otimizado com ácido esteárico e surfactante SDS mostrou picos bem definidos em 2θ , indicando a cristalinidade deste filme.

3.3.5 FTIR-ATR

A Fig. 5 mostra que as bandas principais dos filmes estavam em: 3284, 2927, 1641 e 1546 cm^{-1} , referindo-se a amida-A (representando estiramento da ligação NH e/ou OH), amida-B (ligação CH), amida-I (ligação C = O) e amida II (deformação angular NH e estiramento da ligação CN), respectivamente (Kaewprachu et al., 2016).

Filmes com glicerol apresentaram banda em 1041 cm^{-1} , o que indica estiramento da ligação C-O (Shriner e Fuson, 1983), provavelmente devido à adição do plastificante (OH). Além disso, as maiores amplitudes das bandas amida-A (bandas mais acentuadas) foram obtidas com a adição de glicerol, indicando possível interação vibracional com a estrutura da matriz proteica. Hoque et al. (2011) sugeriram que, na presença de glicerol, as interações intramoleculares entre as moléculas de proteínas são menores devido a ligação cruzada das moléculas, especialmente pelas ligações do H entre o grupo amino das proteínas e H das moléculas que irão interagir com as proteínas, evidenciado pela maior disponibilidade do grupo amino, observado pelas maiores amplitudes da banda amida A.

O sinal da amida-A de todos os filmes com AG deslocou-se para um comprimento de onda mais elevado (3282 cm^{-1}), devido à menor formação de ligações de hidrogênio entre as moléculas do polímero (Wang et al., 2016) e maior interação hidrofóbica entre os componentes dos filmes e ácidos. Wang et al. (2016) ao avaliarem filmes de proteínas com extrato de castanha, também encontraram uma mudança para maior número de onda da amida-A, possivelmente devido à menor formação de ligações de hidrogênio, devido a presença de outras ligações, especialmente a interação hidrofóbica, envolvidas na formação. Segundo Bourtoom (2008), as interações hidrofóbicas entre cadeias proteicas desdobradas promovem a coesão em filmes desnaturados termicamente, produzindo uma rede proteica menos permeável.

De acordo com Fan et al. (2017), as bandas amidas I e II são geralmente usadas para monitorar a conformação da estrutura secundária das proteínas. Filmes com glicerol apresentaram uma amplitude menor para esses picos, confirmando a incorporação desse polímero na matriz proteica devido à menor disponibilidade dos grupos C = O, N-H e C-N presentes nas proteínas.

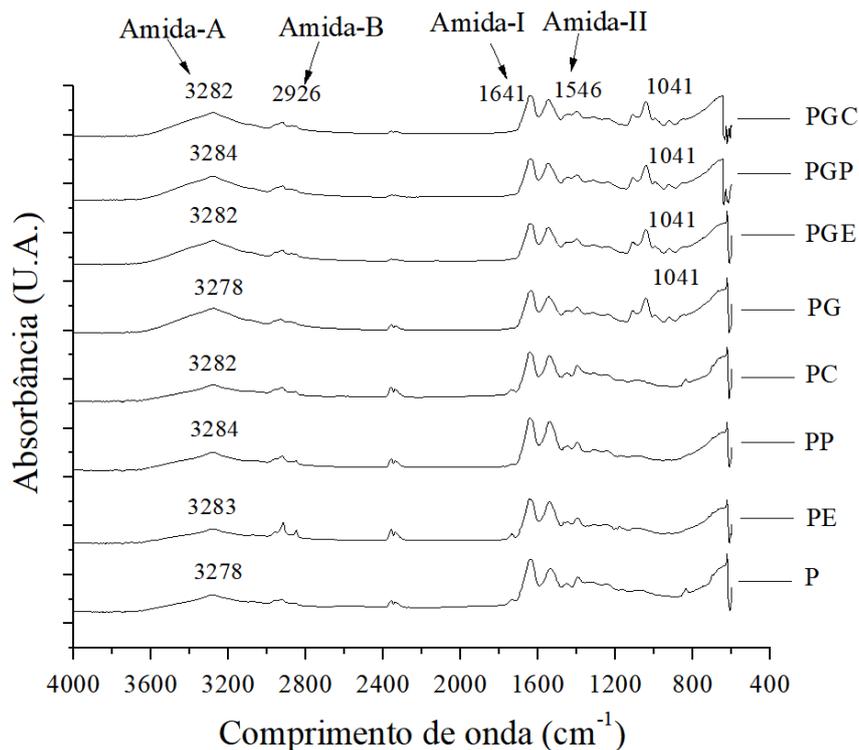


Fig. 5. FTIR dos filmes P (1% PML); PE, PP e PC (1% PML e 5% AG); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

3.3.6 TGA/DTG

A perda de água livre (Arfat et al. 2014) no TGA/DTG (Tabela 7, Fig. 6) nos filmes ocorreu primeiro, no entanto, os filmes com adição de glicerol não apresentaram essa alteração. Os filmes apenas com AG apresentaram alta resistência térmica, de acordo com o resultado da perda de massa do segundo estágio, que está relacionada à perda de água estruturalmente ligada e/ou a degradação de frações de proteínas de baixo PM e compostos de glicerol (Arfat et al., 2014; Hoque et al., 2011), devido à hidrofobicidade dos AG sem afinidade pela água.

O terceiro e o quarto estágios de perda de massa estão associados à decomposição da fração das proteínas de PM mais elevado e à decomposição térmica do componente hidrofóbico (Arfat et al., 2014; Halal et al., 2016; Vieira et al., 2018). O filme com ácido palmítico PP apresentou alta resistência térmica no quarto estágio (ΔW_4), indicando forte interação com a matriz.

Os filmes com adição de glicerol apresentaram menor resistência térmica, com a maior porcentagem de perda de massa total em relação aos filmes apenas com AG. O efeito da interferência do glicerol também foi reportado por Hoque et al. (2011) em filmes

de proteínas de peixes e glicerol, pois a menor temperatura de decomposição foi no filme com maior teor de glicerol e o maior percentual de resíduo no de menor teor.

Tabela 7

Resultados da análise termogravimétrica dos filmes compostos.

Filmes	Δ_1		Δ_2		Δ_3		Δ_4		Resíduos (%)
	T_{d1} (°C)	Δw_1 (%)	T_{d2} (°C)	Δw_2 (%)	T_{d3} (°C)	Δw_3 (%)	T_{d4} (°C)	Δw_4 (%)	
P	118	1.23	137	13.6	279	47.2	-	-	38.0
PE	123	0.40	154	9.2	276	20.9	333	25.2	44.3
PP	76.7	1.88	146	14.3	293	26.9	362	5.75	51.2
PC	121	1.83	151	16.1	279	20.9	348	23.1	38.5
PG	-	-	137	25.9	244	46.0	-	-	28.1
PGE	-	-	144	28.7	254	40.6	-	-	30.7
PGP	-	-	142	26.2	256	39.0	-	-	34.8
PGC	-	-	134	29.0	264	22.5	356	15.6	32.9

T_{d1} , T_{d2} , T_{d3} and T_{d4} : temperatura de degradação (T_d); Δw_1 , Δw_2 , Δw_3 and Δw_4 : perda de massa, todas da primeira, segunda, terceira e quarta fase, respectivamente. P (proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) a 1%); PE, PP e PC (1% PML e 5% de ácido graxo (AG)); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

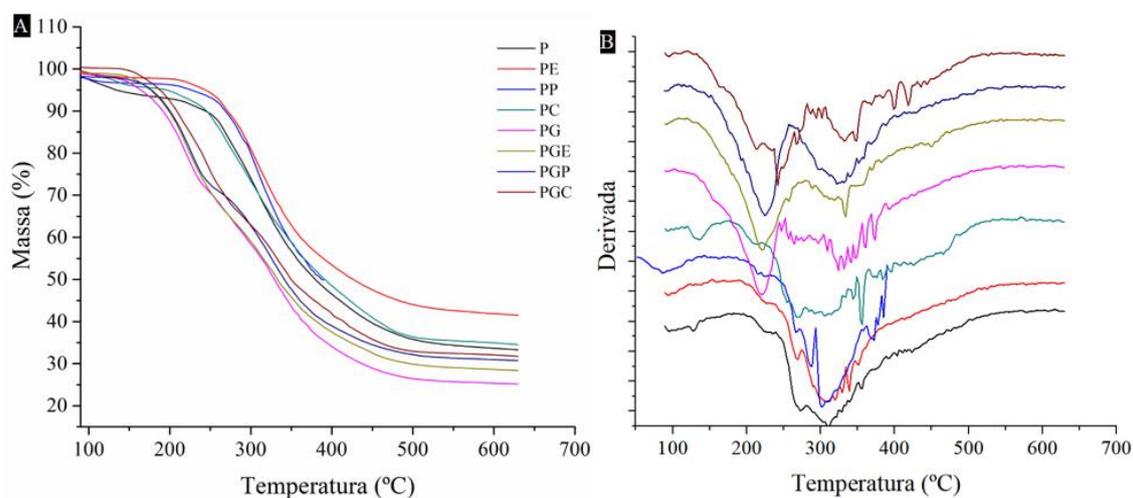


Fig. 6. Curvas termogravimétricas TG (A) e DTG (B) dos filmes. P (1% PML); PE, PP e PC (1% PML e 5% de AG); PG (1% PML e 50% glicerol); PGE, PGP e PGC (1% PML, 50% glicerol e 5% de AG).

O maior percentual de resíduo na degradação térmica foi obtido nos filmes adicionados somente com AG, provavelmente devido ao aumento das ligações covalentes formadas entre os ácidos e a rede proteica, resultando na maior estabilidade térmica dos filmes (Arfat et al., 2014). A adição do componente hidrofóbico aumentou a resistência térmica dos filmes, assim como influenciou positivamente em outras propriedades, como redução da PVA, solubilidade (Tabela 5) e transmissão de luz na faixa do visível (Tabela 6). Comportamento semelhante foi observado por Halal et al. (2016) ao avaliarem a interação entre os grupos de proteínas polares ($-OH$, $-COOH$ e $-NH_2$) e a fração hidrofóbica do óleo de palma.

3.3.7 MEV

Visualmente, os filmes eram homogêneos, transparentes e sem aglomerados de proteínas. E nas micrografias de superfície dos filmes de ampliação de 200x (Fig. 7A, C, E, G, I, K, M e O), foram observadas estruturas contínuas sem rachaduras, demonstrando que as proteínas miofibrilares se agregaram adequadamente para formar uma rede densa e contínua. De acordo com Zavareze et al. (2014), a alta homogeneidade pode estar relacionada à maior compatibilidade entre os componentes dos filmes, ou seja, melhor interação entre as proteínas e os ácidos.

No entanto, as imagens microscópicas mais ampliadas (5000x) mostram que os filmes P (Fig. 7B) e PC (Fig. 7H) apresentaram pequenas partículas sólidas. Araújo et al. (2018) relataram que a presença de pontos brancos pode ser material insolúvel da solução salina de baixa concentração (0,05 M), o que dificultou a interação com outros constituintes. Observa-se ainda espaços vazios (formação de poros) em PC (Fig. 7H). Segundo Araújo et al. (2018), esses espaços ocorrem devido à saída de água durante a secagem, indicando menor interação do ácido com a matriz polimérica, o que resulta em estruturas menos resistentes. Este comportamento foi consistente com os maiores resultados de PVA e solubilidade e estruturas amorfas (estruturas desordenadas), conforme observado na análise de DRX (Figura 4) para os filmes P e PC.

Nas micrografias com amplitude de 5000x (Fig. 7J, L, N e P) dos filmes compostos com glicerol, observa-se estruturas rugosas. Zavareze et al. (2014) estudaram filmes de proteínas de peixes e glicerol e também encontraram estruturas internas rugosas, e sugeriram que a alta viscosidade da solução, leva a maior dificuldade do plastificante em interagir com a rede proteica. Na presente pesquisa, os filmes com adição de glicerol

apresentaram as maiores viscosidades ($p \leq 0,05$) (Tabela 3), maiores valores de PVA, solubilidade (Tabela 5) e transmissão de luz na faixa do visível (Tabela 6).

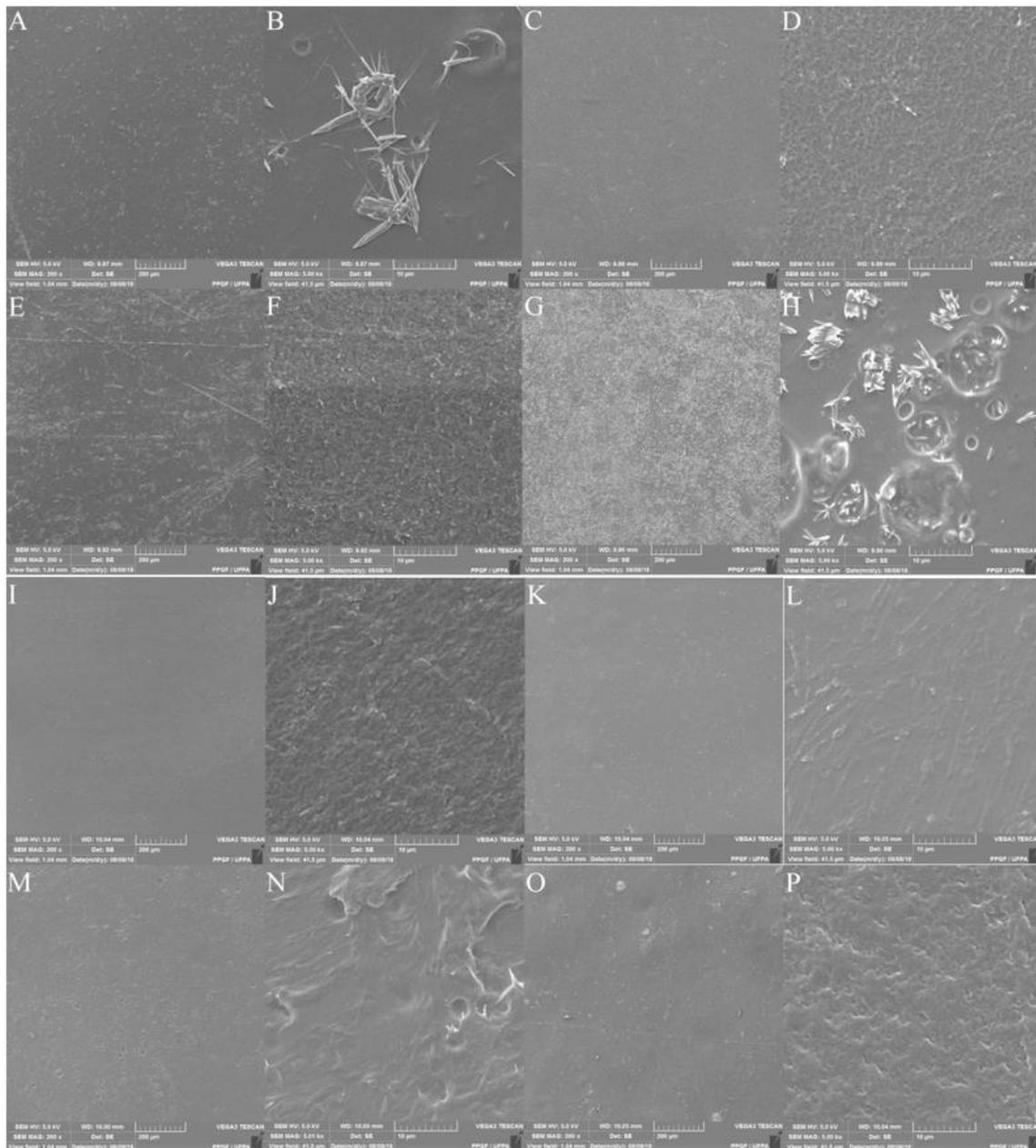


Fig. 7. Micrografias dos filmes: **A e B** (P = PML); **C e D** (PE = PML e ácido esteárico); **E e F** (PP = PML e ácido palmítico); **G e H** (PC = PML e ácido capríco); **I e J** (PG = PML e glicerol); **K e L** (PGE = PML, glicerol e ácido esteárico); **M e N** (PGP = PML, glicerol e ácido palmítico) e **O e P** (PGC =PML, glicerol e ácido capríco), com ampliação de 200 e 5000x, respectivamente.

4. Conclusão

A análise da eletroforese demonstrou que a estrutura molecular das proteínas foi preservada após o processo de extração, podendo ser utilizadas como principal matéria-prima para obtenção dos filmes.

A adição de AG de maior cadeia (esteárico e palmítico) e glicerol aumentaram a viscosidade dos sistemas, tornando-os mais adequados para a formação dos filmes e serem utilizados como revestimentos. A adição dos AG melhorou as propriedades de PVA, solubilidade, transmissão de luz (UV/visível) e transparência dos filmes, com destaque para o filme PP quando comparado aos filmes com glicerol. O filme com ácido palmítico também apresentou melhor estabilidade térmica e maior interação hidrofóbica conforme indicado na espectroscopia infravermelho-FTIR. A análise de difração de DRX demonstrou a estrutura mais ordenada (cristalina) deste filme.

Portanto, a interação entre os biopolímeros é positiva para produzir embalagens que podem ser aplicadas em diferentes tipos de alimentos. Filmes PE e PP podem ser indicados para alimentos que requerem embalagens com propriedades de barreira ao vapor de água mais baixas. Os filmes P, PG e PGC, devido à sua alta solubilidade, podem ser aplicados em alimentos consumidos diretamente com a embalagem. Os filmes PE, PP e PC apresentaram boa opacidade e barreira a luz, portanto, sendo indicados para alimentos suscetíveis a reações de oxidação. O PP apresentou as melhores propriedades para ser utilizado como revestimentos e/ou filmes, porém a escolha da formulação mais adequada dependerá do produto para o qual a embalagem se destina.

Referências

- Almeida, Z.S., Isaac, V.J., Paz, A.C., Morais, G.C., & Porto, H.L.R. (2011). Avaliação do potencial de produção pesqueira do sistema da pescada-amarela (*Cynoscion acoupa*) capturada pela frota comercial do Araçagi, Raposa, Maranhão. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, 24(2), 35-42 (in Portuguese).
- Andreuccetti, C., Carvalho, R.A., Galicia-García, T., Martínez-Bustos, F., & Grosso, C. R.F. (2011). Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 129-136.
- AOAC (1999). *Official Methods of Analysis*. (16th Ed.). Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists International.
- Araújo, C.S., Rodrigues, A.M.C., Peixoto Joele, M.R.S., Araújo, E.A.F., & Lourenço, L.F.H. (2018). Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface method. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 23-30.
- Arfat, Y.A., Benjakul, S., Prodpran, T., & Osako, K. (2014). Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin.

Food Hydrocolloids, 39, 58-67.

- Bhandari, B. & Roos, Y.H. (2012). Food material science and engineering: An overview. In B. Bhandari, & Y.H. Roos (Eds). *Food Material Science and Engineering* (pp. 1-25). Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell Co.
- Blanco-pascual, N., Fernández-martín, F., & Montero, P. (2014). Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) myofibrillar protein concentrate for edible packaging films and storage stability. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 543–550.
- Bof, M.J., Bordagaray, V.C., Locaso, D.E., & García, M.A. (2015). Chitosan molecular weight effect on starch-composite film properties. *Food Hydrocolloids*, 51, 281-294.
- Bourtoom, T. (2008). Factors affecting the properties of edible film prepared from mung bean proteins. *International Food Research Journal*, 15(2), 167-180.
- Carpiné, D., Dagostin, J.L.A., Bertan, L.C., & Mafra, M.R. (2015). Development and characterization of soy protein isolate emulsion-based edible films with added coconut oil for olive oil packaging: Barrier, mechanical, and thermal properties. *Food and Bioprocess Technology*, 8(8), 1811-1823.
- Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020-3038.
- Echeverría, I., Eisenberg, P., & Mauri, A.N. (2014). Nanocomposites films based on soy proteins and montmorillonite processed by casting. *Journal of Membrane Science*, 449, 15-26.
- Fakhouri, F.M., Martelli, S.M., Caon, T., Velasco, J.I., & Mei, L.H.I. (2015). Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 57-64.
- Fan, M., Hu, T., Zhao, S., Xiong, S., Xie, J., & Huang, Q. (2017). Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites. *Food Chemistry*, 218, 221-230.
- Gennadios A. (2002). *Protein-Based Films and Coatings*. (1st Ed.). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J.L., & Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: Water vapour permeability and other physical properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 29(1), 39-50.
- Halal, S.L.M. El, da Rosa Zavareze, E., da Rocha, M., Pinto, V.Z., Nunes, M.R., de Mello

- Luvielmo, M. de M., & Prentice, C. (2016). Films based on protein isolated from croaker (*Micropogonias furnieri*) and palm oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(7), 2478-2485.
- Han, J.H., & Floros, J.D. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4), 287-298.
- He, W., Lu, W., Li, X., Lu, N., Sun, D., & Li, W. (2012). Taxonomic status of Chinese bahaba (*Bahaba taipingensis*) and its phylogenetic relationship with other species in the family Sciaenidae. *Mitochondrial DNA*, 23(2), 53-61.
- Hoque, M.S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2010). Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Journal of Food Engineering*, 96(1), 66-73.
- Hoque, M. S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2011). Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Food Hydrocolloids*, 25(1), 82-90.
- Kaewprachu, P., Osako, K., Benjakul, S., & Rawdkuen, S. (2016). Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 2083-2091.
- Kaewprachu, P., Osako, K., Rungraeng, N., & Rawdkuen, S. (2018). Characterization of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1463-1473.
- Kaewprachu, P., Osako, K., Tongdeesoontorn, W., & Rawdkuen, S. (2017). The effects of microbial transglutaminase on the properties of fish myofibrillar protein film. *Food Packaging and Shelf Life*, 12, 91-99.
- Khanzadi, M., Jafari, S.M., Mirzaei, H., Chegini, F.K., Maghsoudlou, Y., & Dehnad, D. (2015). Physical and mechanical properties in biodegradable films of whey protein concentrate-pullulan by application of beeswax. *Carbohydrate Polymers*, 118, 24-29.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lagarrigue, S., & Alvarez, G. (2001). The rheology of starch dispersions at high temperatures and high shear rates: A review. *Journal of Food Engineering*, 50(4), 189-202.
- Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S., & Prasarnpran, S. (2012). Influences of degree of

- hydrolysis and molecular weight of poly (vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films. *Food Hydrocolloids*, 29(1), 226-233.
- Mchugh T.H., Avena-Bustillos R., & Krochta J.M. (1993). Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*. 58(4), 899.
- Monterrey-quintero, E.S., & Sobral, P.J.A. (2000). Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para elaboração de biofilmes. *Brazilian Agricultural Research*, 35(1), 179-189 (in Portuguese).
- Montgomery, D.C. & Runger, G.C. (2018). *Applied Statistics and Probability for Engineers* (pp. 564). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. Co.
- Pereira, G.V.S., Pereira, G.V.S., Araujo, E.F., Xavier, E.M.P., Joele, M.R.S.P., & Lourenço, L.F.H. (2019a). Optimized process to produce biodegradable films with myofibrillar proteins from fish byproducts. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100364.
- Pereira, G.V.S., Pereira, G.V.S., Neves, E.M P.X., Joele, M.R.S.P., Lima, C.L.S. de, & Lourenço, L.F.H. (2019b). 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*, 39(1), 287-294.
- Pereira, G. V. S., Pereira, G. V. S., Neves, E. M. P. X., Albuquerque, G. A., Rego, J. A. R., Cardoso, D. N. P., Brasil, D. S. B., Joele, M. R. S. P. (2021) Effect of the Mixture of Polymers on the Rheological and Technological Properties of Composite Films of Acoupa Weakfish (*Cynoscion acoupa*) and Cassava Starch (*Manihot esculenta* C.). *Food and Bioprocess Technology*, 14:1199–1215.
- Prodpran, T., Benjakul, S., & Phatcharat, S. (2012). Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(5), 774-782.
- Rivero, S., Damonte, L., García, M.A., & Pinotti, A. (2016). An insight into the role of glycerol in chitosan films. *Food Biophysics*, 11(2), 117-127.
- Sahraee, S., Milani, J.M., Regenstein, J.M., & Kafil, H.S. (2019). Protection of foods against oxidative deterioration using edible films and coatings: A review. *Food Bioscience*, 32, 100451.
- Shabanpour, B., Kazemi, M., Ojagh, S.M., & Pourashouri, P. (2018). Bacterial cellulose nano fibers as reinforce in edible fish myofibrillar protein nanocomposite films.

- International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 742-751.
- Shriner, R.L., & Fuson, R.C. (1983). *Identificação Sistemática de Compostos Orgânicos*. Rio de Janeiro, RJ, Brazil: Publisher Guanabara Dois S.A. (in Portuguese).
- Stevens, J.R., Newton, R.W., Tlustý, M., & Little, D.C. (2018). The rise of aquaculture by-products: Increasing food production, value, and sustainability through strategic utilisation. *Marine Policy*, 90, 115-124.
- Suderman, N., Isa, M.I.N., & Sarbon, N.M. (2018). The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review. *Food Bioscience*, 24, 111-119.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2011). Roles of lipid oxidation and pH on properties and yellow discolouration during storage of film from red tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle protein. *Food Hydrocolloids*, 25(3), 426-433.
- Vieira, L.L., Araújo, C.S., Neves, E.M. P.X., Batista, J.T.S., Joele, P.M.R.S., & Lourenço, L.F.H. (2018). Emulsified films produced with proteins extracted from whitemouth croaker byproducts: Development and characterization. *Boletim Do Instituto de Pesca*, 44(3), e360.
- Wang, H., Hu, D., Ma, Q., & Wang, L. (2016). Physical and antioxidant properties of flexible soy protein isolate films by incorporating chestnut (*Castanea mollissima*) bur extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 33-39.
- Wang, Z., Zhou, J., Wang, X., Zhang, N., Sun, X. & Ma, Z. (2014). The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the water vapor barrier properties of soybean protein isolate-based oleic acid/stearic acid blend edible films. *Food Hydrocolloids*, 35, 51-58.
- Zavareze, E.R., Halal, S.L.M., Silva, R.M., Dias, A.R.G., & Prentice-Hernández, C. (2014). 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*, 38(4), 1973-1981.
- Zhu, G., Sheng, L., & Tong, Q. (2014). Preparation and characterization of carboxymethyl-gellan and pullulan blend films. *Food Hydrocolloids*, 35, 341-347.

CAPÍTULO 3. Propriedades reológicas e tecnológicas de filmes compostos obtidos com proteínas miofibrilares de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) e amido de mandioca (*Manihot esculenta* C.)²

RESUMO

O objetivo foi avaliar a influência de diferentes concentrações de proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) de resíduos de peixe e amido de mandioca (AM) nas propriedades reológicas das soluções filmogênicas (SF) e tecnológicas dos filmes biodegradáveis. Primeiramente, foram realizadas as análises de cor e MEV das matérias-primas (PML e AM). Foram elaboradas cinco soluções filmogênicas: F1 (1% PML), F2 (4% de amido), F3 (0,5% PML + 2% de amido), F4 (1% PML + 2% de amido) e F5 (0,5% PML + 4% amido), e 30% de glicerol como plastificante. Análises reológicas de viscosidade aparente foram realizadas nas SF e nos filmes elaborados foram avaliadas as propriedades tecnológicas (cor, espessura, solubilidade, resistência à tração, alongação, transmissão de luz e transparência, permeabilidade ao vapor de água (PVA)), análises térmicas (TGA/DTG e DSC), difração de raio-X, espectroscopia de infravermelho (FTIR-ATR), Microscopia (MEV) e Espectroscopia (EDS). As SF com proteínas e amido apresentaram comportamento não newtoniano ($n \neq 1$), e o modelo de Herschel-Bulkley foi capaz de explicar aproximadamente 100 % das variabilidades dos dados experimentais. A cor das matérias-primas influenciou na cor dos filmes ($p \leq 0,05$). Os Filmes compostos (F3, F4 e F5) mostraram melhores ($p \leq 0,05$) propriedades de barreira na faixa do visível (350 - 800nm), e o filme F4 apresentou as melhores propriedades tecnológicas, como PVA, solubilidade e mecânica. Os filmes com maior porcentagem de proteínas, F1 e F4, apresentaram maior ($p \leq 0,05$) resistência térmica. Porém, o amido favoreceu a cristalinidade dos filmes compostos (F3, F4 e F5). E as análises de FTIR e EDS confirmaram a boa interação entre as proteínas e o amido. As propriedades dos filmes indicam que a interação entre os biopolímeros é positiva para a produção de embalagens para diferentes tipos de alimentos.

Palavras-chave: resíduos de peixe, proteínas de peixe, amido, solução filmogênica, reologia, filmes de mistura.

² Pereira, G.V.S., Pereira, G.V.S., Neves, E.M.P.X., Albuquerque, G.A., Rêgo, J.A.R., Cardoso, D.N.P., Brasil, D.S.B., Joele, M.R.S.P. (2021). Effect of the Mixture of Polymers on the Rheological and Technological Properties of Composite Films of Acoupa Weakfish (*Cynoscion acoupa*) and Cassava Starch (*Manihot esculenta* C.). *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02622-1>.

1. Introdução

Após o processamento industrial, até 70% do peso total de peixes e crustáceos podem constituir resíduos, que ocorre na cadeia de abastecimento antes de chegar ao consumidor, tornando maiores quantidades de resíduos disponíveis para serem reaproveitados (Olsen et al., 2014). Outro fator preocupante é a quantidade excessiva de resíduos gerados pelo descarte de embalagens plásticas sintéticas, que se decompõem lentamente com efeitos nocivos à saúde e ao meio ambiente (Kaewprachu et al. 2018). E estes resíduos da indústria pesqueira podem ser utilizados na produção de filmes biodegradáveis para substituir embalagens sintéticas contribuindo na redução do impacto ambiental (Batista et al., 2020; Neves et al., 2019; Pereira et al., 2019a; Pereira et al., 2019b).

Proteínas e carboidratos são biopolímeros que podem ser utilizados na elaboração de filmes devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de formar uma rede densa e compacta. Porém, de acordo com Romani, Hernández e Martins (2018), a substituição completa dos polímeros derivados do petróleo por biopolímeros ainda é limitada devido ao baixo desempenho de suas propriedades tecnológicas, principalmente as mecânicas e de barreira. A mistura de polímeros (proteínas e carboidratos) é uma alternativa para melhorar essas propriedades, pois pode promover o estabelecimento de interações entre esses materiais, formando uma rede contínua, com melhor desempenho mecânico e de barreira para embalagens (Sukhija, Singh e Riar 2016).

O amido para uso industrial é extraído principalmente de batatas e cereais. No entanto, essa macromolécula também pode ser obtida de tubérculos e rizomas, e pode ser utilizada como polímero biodegradável, adesivos, produtos farmacêuticos, têxteis e outros (Leite et al., 2017). O amido tem grande capacidade de formar filmes transparentes, insípidos e inodoros, com boas propriedades de barreira ao oxigênio, características importantes para a preservação de alimentos (Lin, Liang e Chang 2016).

Proteínas miofibrilares de peixes podem ser obtidas a partir de resíduos da indústria pesqueira e muitas pesquisas têm sido realizadas utilizando-as como base para a formação de filmes (Kaewprachu et al., 2017; Nie et al., 2015; Pereira et al., 2020; Pereira et al., 2021). A distribuição de aminoácidos carregados, polares e não polares ao longo da cadeia de proteínas cria um potencial químico e as forças interativas resultantes produzem uma matriz coesa de proteínas. Os filmes são formados por interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, forças de van der Waals, ligações covalentes e ligações dissulfeto (Debeaufort, Voilley 2009; Zavareze et al., 2014).

As propriedades tecnológicas dos filmes com a utilização de proteínas de peixe também foram melhoradas por alguns pesquisadores. Arfat et al. (2016) em filmes compostos por proteínas de peixe e nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) observaram um aumento na resistência à tração e menores ($p < 0,05$) transparência, valores de b^* e ΔE (diferença total de cor) quando comparados ao filme controle (3% de proteínas (p/v) e 30% de glicerol (p/p)). Pereira et al. (2020), ao elaborarem filmes com PML de resíduos de peixe e concluíram que a adição de ácidos graxos e glicerol aumentou a viscosidade das soluções filmogênicas (SF) tornando-as mais adequadas para a formação de filmes. Especificamente, a adição dos ácidos esteárico e palmítico melhoraram as propriedades reológicas e tecnológicas, bem como, contribuindo para a redução do impacto ambiental.

A concentração de polímeros na SF é muito importante, uma vez que aumentam a viscosidade, podendo tornar difícil a diluição, manusear e transportar. Em contraste, soluções de viscosidade e diluição excessivamente baixas resultam em problemas associados à incapacidade de formar filmes ou revestimentos (Bof et al. 2015). O comportamento reológico tem grande influência na obtenção, armazenamento e textura dos géis compostos (Oliveira et al., 2011b), o que influencia diretamente nos filmes resultantes. As soluções filmogênicas (SF) com menor viscosidade produzem filmes finos que podem ser usados para produtos frescos, como frutas e vegetais, e SF com maior viscosidade produzem filmes mais espessos que podem ser aplicados em produtos secos, como produtos em pó (Pereira et al., 2020).

As interações entre as proteínas e amido podem influenciar as macro e micro propriedades dos filmes, como textura, estabilidade, propriedades reológicas e estrutura química (Muriel-Galet et al. 2015). Filmes biodegradáveis de proteínas miofibrilares de peixes e amidos têm sido amplamente estudados, isoladamente ou com outros biopolímeros (Araújo et al. 2018; Moreno et al. 2018; Pereira et al. 2019b; Pereira et al. 2021; Podshivalov et al. 2017). Como não existem trabalhos publicados com proteínas de peixe e amido de mandioca, o objetivo deste foi avaliar o comportamento reológico das SF com diferentes concentrações de PML e AM e a influência sobre as propriedades tecnológicas dos filmes compostos elaborados.

2. Material e métodos

2.1 Obtenção dos resíduos de peixe

Foram utilizados resíduos do processamento de filetagem de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), obtidos na indústria pesqueira localizada em Belém-PA. Os

procedimentos legais referentes ao acesso ao patrimônio genético foram devidamente realizados, sendo feito o registro no SisGen sob o número de cadastro A5ACFA3.

Os resíduos de peixe foram transportados para o laboratório em caixa térmica com gelo, em seguida lavados com água clorada (5ppm) a 4 °C/5 minutos. Do resíduo de peixe foram retiradas as peles, ossos e demais materiais para obtenção da massa muscular, a qual foi embalada a vácuo e armazenada a -18 °C

2.2 Obtenção do amido de mandioca (AM) e das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)

O amido de mandioca (*Manihot esculenta C.*) (goma fresca, produzida por HM Ouro Branco, Santa Isabel- PA) foi adquirido em supermercado local. O método de Limpan et al. (2012) foi utilizado para obtenção e extração de proteínas e foi brevemente descrito por Pereira et al. (2020), com modificações. O músculo triturado (Sire cutter C2920, Filizzola, Brasil) foi homogeneizado por 5 minutos com solução de cloreto de sódio/50 Mm (Synth PA-ACS) a 4°C, na proporção 1: 3 (músculo: solução), este processo foi realizado por três vezes e depois filtrado em tecido de poliéster. O material retido foi homogeneizado com solução de ácido fosfórico a 0,05% (Neon, Brasil) a 4°C, na mesma proporção e filtrado novamente. Posteriormente, a massa muscular obtida foi homogeneizada com água destilada (1:3) a 4 °C e centrifugada (Multifuge X1R, Thermo Scientific, Alemanha) a 10.956 g por 2 min e depois filtrado. Após essas etapas, as proteínas miofibrilares obtidas foram distribuídas em bandejas de aço inoxidável, congeladas a -22 °C e liofilizadas (L101 Liotop, Liobras, Brasil) a -60 °C por 48 horas, o material obtido foi embalado em seladora (F200, Fastvac, Brasil) e armazenado a 22- 25 °C.

2.3 Caracterização das matérias-primas

Foram realizadas as análises de cor instrumental e a microestrutura eletrônica de varredura (MEV) nas PML e AM. A leitura da cor foi realizada em colorímetro portátil (CR 400, Konica Minolta, Japão) e determinados os parâmetros L* (luminosidade), a* (vermelho/verde), b* (intensidade do amarelo), C* (croma) e h° (ângulo de tonalidade). O parâmetro a* não apresentou diferença significativa, portanto não apresentado e discutido. As amostras foram colocadas em uma placa de Petri e 4 leituras foram feitas em pontos aleatórios. A MEV foi realizada em microscópio (VEGA3 LMU, Tescan, Tchêquia). As amostras foram metalizadas com Au/Pd (SC7620, Quorum, Reino Unido)

com voltagem de aceleração de 15 kV, as micrografias das superfícies foram capturadas com ampliação de 200x e 1.000x.

2.4 Obtenção das soluções e filmes biodegradáveis

Foi utilizado o método de Limpan et al. (2012) com modificações descritas por Pereira et al. (2020). As concentrações das proteínas miofibrilares e amido (Tabela 1) foram baseadas em testes preliminares e de acordo com Pereira et al. (2020) e Oliveira, Ascheri & Ascheri (2011a). O pH das soluções com proteínas (p/v) foi ajustado para 11 com NaOH 2 M (Vetec Química, Brasil). A solução apenas de amido foi diretamente para o banho. Em todas as soluções foi adicionado 30% de glicerol (Isofar, Brasil). As soluções foram homogêneas a 10.000 rpm por 5 min (Turrtec Tecnal, TE-102, Brasil) e colocadas em banho-maria (Tecnal, TE-057, Brasil) a 70 °C (F1) e 90°C (F2, F3, F4 e F5) por 30 min. Em seguida, 120 ml de cada solução foi adicionado em um recipiente de silicone (22 cm de diâmetro x 2,5 cm de altura) e secos em estufa DBO (Quimis, 0315M16, Brasil) com circulação de ar a 30 °C por 17 horas (F1) e 20h (F2, F3, F4 e F5). Após a secagem, os filmes foram embalados a vácuo em seladora (Fastvac, F200, Brasil) e armazenados em temperatura 22 - 25 °C.

Tabela 1 Composições dos filmes biodegradáveis.

Filmes	PML* (%)	AM* (%)	Glicerol** (%)
F1	1.0	-	30
F2	-	4.0	30
F3	0.5	2.0	30
F4	1.0	2.0	30
F5	0.5	4.0	30

*Calculado com base na solução total (120ml p/v). **Calculado com base nas concentrações de proteínas e amido (p/p). PML: proteínas miofibrilares liofilizadas. AM: amido de mandioca.

2.5 Caracterização reológica das soluções filmogênicas (SF)

As análises reológicas da viscosidade aparente das soluções filmogênicas foram realizadas em um viscosímetro rotacional (VT 550, HaakeViscotester, Alemanha) acoplado ao sistema de configuração com cilindros coaxiais copo SV e cilindro SV1, de sensibilidade de torque de $\pm 0,5\%$. A viscosidade aparente foi determinada a 28 °C, com

cisalhamento variando entre 0 e 600 s⁻¹ (tempo de 180 s), em triplicata de cada amostra. As análises e os resultados foram obtidos no software do equipamento (ThermoFisher Scientific™ HAAKE™ RheoWin™ software de medição e avaliação).

Os dados experimentais foram ajustados matematicamente de acordo com os modelos de Bingham, Herschel-Bulkley e Ostwald de Waele (Tabela 2) para determinar a influência da adição do glicerol e amido. O maior valor do coeficiente de determinação ajustado (R²_{ajustado}) e a menor média quadrática do erro (MS_E) (Tabela 2) foram utilizados para avaliar a qualidade do ajuste (Montgomery & Runger, 2018). Os dados foram analisados pelo método algoritmo Quasi-Newton da Statsoft (South America, Brasil).

Tabela 2 Modelos para descrever a curva de fluxo e viscosidade aparente das SF.

Modelos	Viscosidade	Tensão de cisalhamento
Bingham	$\eta = \eta_p + \tau_0/\gamma$	$\tau = \tau_0 + \eta_p\gamma$
Herschel-Bulkley	$\eta = \tau_0/\gamma + k\gamma^{n-1}$	$\tau = \tau_0 + K\gamma^n$
Ostwald de Waele	$\eta = k\gamma^{n-1}$	$\tau = K\gamma^n$

η = viscosidade aparente; η_p = viscosidade plástica; τ = tensão de cisalhamento (Pa); τ_0 = tensão de cisalhamento inicial (Pa); k = índice de consistência; γ = taxa de deformação (s⁻¹); n = índice de comportamento do fluido (adimensional).

2.6 Caracterização dos filmes biodegradáveis compostos

2.6.1 Cor e espessura

A cor instrumental foi avaliada em um colorímetro portátil (Konica Minolta, CR 400), sendo determinados os parâmetros L* (luminosidade), a* (vermelho/verde), b* (intensidade do amarelo), C* (croma), h° (ângulo de tonalidade) e ΔE (diferença de cor, utilizando o filme de proteínas (F1) como padrão). O parâmetro a* não apresentou diferença significativa, portanto não apresentado e discutido. A espessura foi medida com micrômetro digital (IP54, Insize, Brasil) com resolução de 0,001 mm, em oito pontos aleatórios com espaçamento de 60 mm da borda (Zavareze et al. 2014).

2.6.2 Solubilidade

Foi avaliada em triplicata seguindo o método proposto por Gontard et al. (1994). Inicialmente, as amostras (2 cm de diâmetro) foram secas em estufa (105 °C por 24 horas) e posteriormente imersas em 50 ml de água destilada, mantidas sob agitação a 80 rpm/25

°C por 24 h em Incubadora Shaker (Luca-223, Lucadema, Brasil). Após esse período, as amostras foram filtradas e secas em estufa (105 °C por 24 horas) para determinação da massa seca não dissolvida em água. O cálculo da solubilidade foi realizado de acordo com a Equação 1.

$$\text{SOL (\%)} = \frac{M_f}{M_i} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde: SOL (%) = porcentagem de material solubilizado; M_i = massa inicial da amostra (g); M_f = massa final da amostra (g).

2.6.3 Propriedades mecânicas

A resistência à tração (RT) e a alongação (%E) foram determinados usando o método ASTM D882-91 (1996) em uma máquina de ensaio universal (QTS, Brookfield, Brasil). A separação inicial da pegada e a velocidade da sonda foram de 50 mm e 30 mms^{-1} , respectivamente. As amostras foram cortadas com 70 x 25 mm (comprimento x largura) (Limpan et al. 2012). Em cada amostra foram realizadas 8 medições em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) e umidade relativa de $50\% \pm 2$. Os resultados foram calculados por meio das Equações (2) e (3), respectivamente.

$$\text{RT} = \frac{F_m}{A} \quad (2)$$

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

$$\%E = \frac{d_T}{d_{\text{inicial}}} \cdot 100 \quad (3)$$

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

2.6.4 Transmissão de luz e transparência

A transmissão de luz e a transparência foram medidas na faixa ultravioleta (200-800nm) e visível (350-800) por meio de espectrofotômetro (EVO 60, Thermo Fisher Scientific, USA), em amostras recortadas em retângulos colocadas nas cubetas. As

análises foram realizadas em triplicata. O valor da transparência foi calculado pela Equação 4 (Arfat et al., 2014).

$$VT = \frac{-\log T_{600}}{x} \quad (4)$$

Onde: VT = Valor de Transparência; T_{600} = transmitância a 600 nm; x = espessura do filme (mm). O valor de transparência mais alto representa a transparência mais baixa do filme.

2.6.5 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A PVA foi determinada pelo método ASTM (1989) descrito por Arfat et al. (2014). Os filmes foram colados com adesivo de silicone em um recipiente de vidro de 4,5 cm x 7,0 cm (diâmetro x altura) contendo 10 g de sílica gel (0% UR; 0 Pa de pressão de vapor d'água a 30 °C). Os recipientes foram colocados em dessecadores com água destilada a 30 °C (99% UR; 4244,9 Pa de pressão de vapor) por 10 h, em triplicata. A PVA foi calculada pela Equação 5.

$$PVA = \frac{G.E}{A.t.\Delta P} \quad (5)$$

Onde: PVA: permeabilidade ao vapor de água (g.mm./m².d.kPa); G: ganho de peso do recipiente de vidro (g); E: espessura do filme (mm); A: área exposta da superfície do filme (m²); t: tempo de ganho (d); ΔP : diferença de pressão de vapor através do filme (4.2449 kPa a 30 °C).

2.6.6 Difração de raios X (XRD)

A difração de raios X foi realizada em Difratorômetro (D8 Advance, Bruker, EUA) com geometria de Bragg-Brentano e detector LynxEye Tubo de Cu, operando a 40 kV e 40 mA e os raios derivados de radical filtrados por níquel Cu K α (1,540598Å). Os difratogramas foram registrados entre os ângulos 2 θ de 4° e 60° com taxa de varredura de 0,02° com 0,2 s/passos (XRD DIFFRAC.SUIT, versão 3.0.0.8, Bruker).

2.6.7 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR)

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

Análise térmica

A análise termogravimétrica/termogravimetria derivada (TGA/DTG) foi determinada em analisador termogravimétrico (DTG-60AH, Shimadzu, Japão) em atmosfera de nitrogênio com vazão de 20 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. As amostras foram aquecidas desde a temperatura ambiente até 600 °C. A aquisição dos registros e o tratamento dos dados foram realizados com o auxílio do software TA60 versão 2.21 (Shimadzu).

A calorimetria de varredura diferencial (DSC) foi determinada usando um calorímetro (DSC-60, Shimadzu, Japão). Utilizou-se 6.200 mg de filme pesado em cápsulas de alumínio. As amostras foram analisadas de 20 a 350 °C, com taxa de aquecimento a 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ usando nitrogênio como gás de arraste a 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

2.6.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise química por espectroscopia de energia dispersiva de raio-X (EDS)

A MEV foi realizada em microscópio (VEGA3 LMU, Tescan, Czechia) com tensão de aceleração de 15 kV em amostras metalizadas com Au e Pd (SC7620, Quorum Technologies, Reino Unido). As micrografias da superfície dos filmes foram capturadas com ampliação de 200x. Para a análise de EDS, um detector (X-MAX-80, Oxford Instruments) foi usado.

2.7 Análise estatística

Os dados de caracterização das matérias-primas e dos filmes foram submetidos à análise de variância unilateral (ANOVA) e ao teste de comparação de média de Fisher LSD ($p \leq 0,05$) utilizando o pacote de software Statistica, Ultimate Academic versão 13.1, edição profissional (Statsoft, South America, Brasil).

3. Resultados e discussão

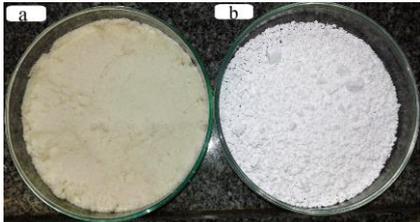
3.1 Caracterização das matérias-primas

3.1.1 Cor

O amido de mandioca (AM) apresentou maior luminosidade ($p \leq 0,05$) e menor valor C^* do que as proteínas miofibrilares liofilizadas (PML), indicando uma cor mais clara e acinzentada (Tabela 3). E o parâmetro b^* indica a cor amarelada das PML, devido

à presença de pequenas quantidades de lipídios e pigmentos característicos da matéria-prima que não foram totalmente removidos no processo de extração (Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran 2011). O h^* (PML) é menor ($p \leq 0,05$) quando comparado à amostra AM, de acordo com a cor natural das matérias-primas (Tabela 3).

Tabela 3 Resultados dos parâmetros de cor das matérias-primas.

Parâmetros	Matérias-primas		Foto: Matérias-primas Fonte: Autor
	PML	AM	
L*	86.95±0.20 ^b	95.82±0.16 ^a	
b*	17.24±0.02 ^a	7.30±0.02 ^b	
C*	17.59±0.02 ^a	8.87±0.02 ^b	
h*	101.46±0.07 ^b	124.56±0.06 ^a	

(a) PML: proteínas miofibrilares liofilizadas de peixe e (b) AM: amido de mandioca. Letras minúsculas comuns na mesma linha não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as médias obtidas pelo teste de Fisher LSD.

3.1.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O resultado da MEV das PML de pescada amarela apresenta um conjunto desordenado de partículas heterogêneas e formato não circular (Fig. 1a), possivelmente, devido à etapa de trituração (estresse mecânico), que modifica sua estrutura nativa, com lacunas e poros na superfície. A estrutura nativa das proteínas musculares dos peixes, molécula biologicamente ativa, é tridimensional, apresenta estrutura reticular com alvéolos maiores e matriz não porosa, com região densa uniforme e presença de fibras musculares (Álvarez-Parrilla e Lluch 1997; Silva et al., 2014). Pereira et al. (2019a) relataram que esse comportamento ocorre devido à quebra do equilíbrio de forças que mantém a estrutura das proteínas. Já o MEV do amido de mandioca apresentou grânulos grandes e médios, ovais e esféricos, característicos dessa matéria-prima (Figura 1b), com superfície granular lisa e sem formato côncavo-convexo, compatíveis com a morfologia encontrada por Rego et al. (2020). No geral, grânulos de amido mais arredondados estão relacionados com maior capacidade de gelatinização do amido, o que pode ter favorecido a formação de rede de gel dos filmes.

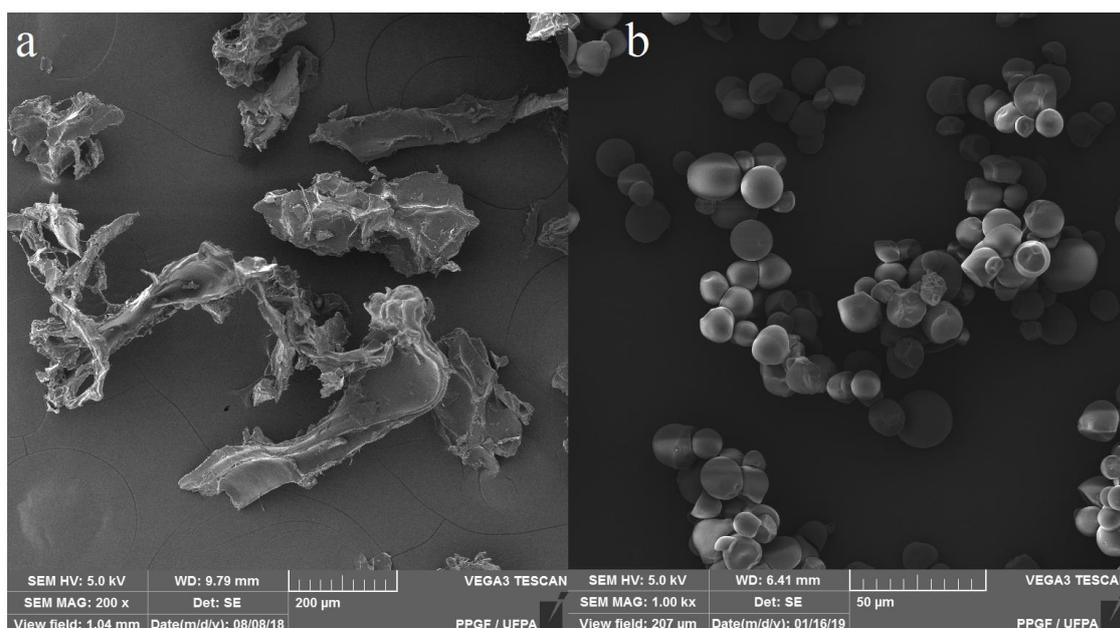


Fig. 1. Micrografias das PML (a) e AM (b) com ampliações de 200x e 1,00kx, respectivamente.

3.2 Propriedades reológicas das soluções filmogênicas (SF)

Todas as SF exibiram comportamento não newtoniano ($n \neq 1$) com variação da viscosidade em função da taxa de cisalhamento e índice de comportamento de fluxo. As SF podem ser avaliadas pelo índice de comportamento do fluido ($n =$ número adimensional), 1 indicando fluido newtoniano, >1 dilatante e entre 0 e 1 fluido pseudoplástico (Echeverría, Eisenberg & Mauri 2014). Os modelos considerados satisfatórios basearam-se no ajuste experimental do coeficiente de correlação ajustado (R^2_{ajustado}) e na menor média quadrática do erro (MS_E) para a descrição do comportamento dos fluidos através das curvas de fluxo (tensão versus taxa de cisalhamento) (Tabela 4) e viscosidade aparente (viscosidade versus taxa de cisalhamento) das soluções (Fig. 2).

O modelo de Ostwald de Waele já foi usado anteriormente para descrever o comportamento pseudoplástico não newtoniano ($n < 1$) em soluções poliméricas de amido e quitosana para revestimento de alimentos (Bof et al. 2015; Nascimento, Calado e Carvalho, 2012; Wu et al. 2016). Este comportamento pseudoplástico ($K > 0$, $n < 1$) pode ser observado no presente estudo pelas curvas de fluxo, para as soluções controle de amido (F2) e nas compostas (F3 e F4), e curvas de viscosidade para as soluções (F2, F3, F4 e F5) (Fig. 2). Sendo que as soluções com maiores concentrações de amido (F2 - controle) e (F5 - composta), apresentaram maiores ($p \leq 0,05$) tensão limite de escoamento (τ_0), resistência ao fluxo (K) e valores menores ($p \leq 0,05$) do índice de comportamento

do fluxo (n), com diminuição da viscosidade aparente (Tabela 4, Fig. 2). O modelo de Herschel-Bulkley é o mais indicado para descrever o comportamento (Tabela 4), pois, apesar da semelhança, o modelo de Ostwald não leva em consideração a tensão limite de escoamento (τ_0).

Tabela 4 Parâmetros dos modelos reológicos (curvas de fluxo) das SF.

Parâmetros	F1	F2	F3	F4	F5
Bingham					
τ_0 (Pa)	1.59±0.16 ^c	51.70±1.32 ^a	1.17±0.09 ^c	0.26±0.00 ^d	26.05±0.56 ^b
η_p (Pa.s)	0.05±0.00 ^d	0.62±0.01 ^a	0.09±0.00 ^c	0.07±0.00 ^c	0.46±0.00 ^b
R ²	0.96	0.97	0.99	0.99	0.98
MS _E	2.25±0.26 ^{cA}	271.70±13.11 ^{aA}	0.09±0.01 ^{cA}	0.19±0.05 ^{cA}	47.97±3.73 ^{bA}
Parâmetros	F1	F2	F3	F4	F5
Herschel-Bulkley					
τ_0 (Pa)	0.89±0.04 ^c	1.12±0.10 ^b	0.44±0.13 ^c	0.76±0.10 ^c	7.40±0.25 ^a
K	0.001±0.00 ^c	8.471±0.30 ^a	0.132±0.03 ^c	0.051±0.00 ^c	2.331±0.12 ^b
N	1.65±0.03 ^a	0.60±0.00 ^c	0.94±0.03 ^c	1.06±0.01 ^b	0.75±0.01 ^d
R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
MS _E	0.09±0.00 ^{cB}	9.17±0.30 ^{aB}	0.03±0.00 ^{cB}	0.13±0.04 ^{cA}	0.74±0.08 ^{bB}
Ostwald de Weale					
K	0.002±0.00 ^c	8.71±0.28 ^a	0.15±0.02 ^c	0.070±0.00 ^c	3.22±0.11 ^b
N	1.54±0.04 ^a	0.60±0.00 ^c	0.92±0.02 ^c	1.01±0.01 ^b	0.70±0.00 ^d
R ²	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99
MS _E	0.22±0.01 ^{cB}	9.22±0.29 ^{aB}	0.05±0.01 ^{cB}	0.19±0.06 ^{cA}	4.05±0.18 ^{bB}

Letras minúsculas iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa e letras maiúsculas iguais na mesma coluna não apresentam diferença ($p \leq 0,05$) pelo teste de Fisher LSD; η_p = viscosidade plástica; τ_0 = tensão de cisalhamento inicial (Pa); K = índice de consistência; n = índice de comportamento do fluido (adimensional). MS_E: média quadrática do erro. F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

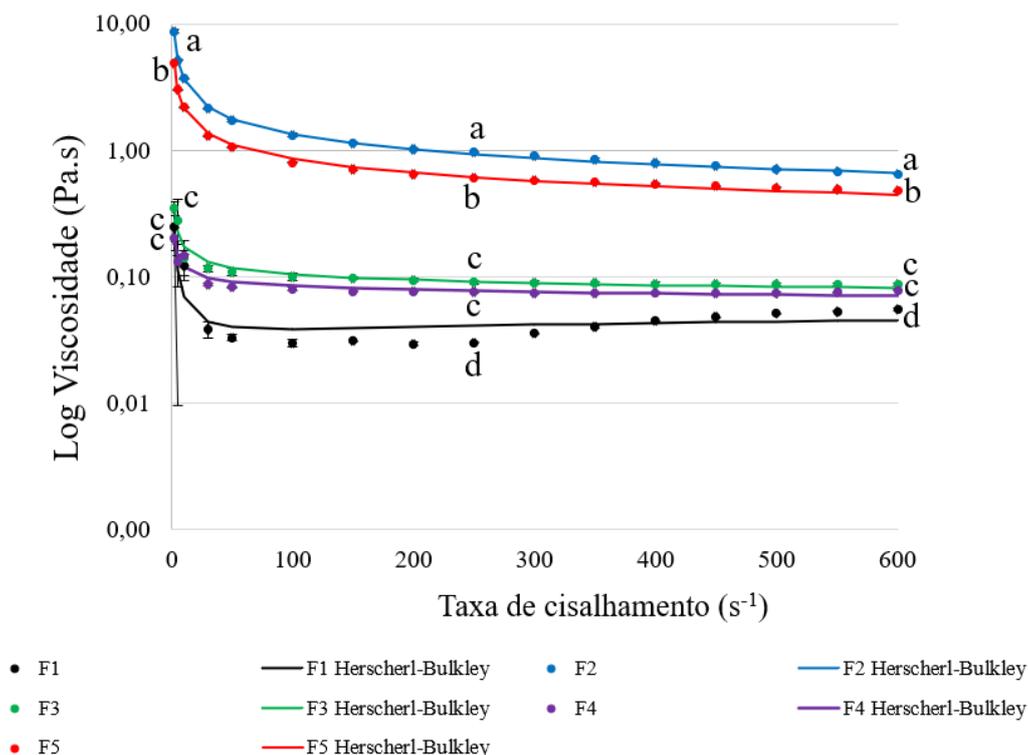


Fig. 2. Modelagem da curva de viscosidade das SF. Letras minúsculas iguais na mesma coluna não apresentam diferença ($p \leq 0,05$), pelo teste de Fisher LSD. F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

O modelo de Herschel-Bulkley também descreve o comportamento do fluido dilatante ($n > 1$) para a solução controle de proteínas miofibrilares de peixes (F1) com menores ($p \leq 0,05$) valores de limite de escoamento (τ_0) e índice de consistência (K) (menor resistência ao escoamento). Consequentemente, apresentando maior ($p \leq 0,05$) índice de comportamento do fluxo (n) (Tabela 4), com aumento da viscosidade aparente submetida a altas taxas de deformação ($\dot{\gamma}$) (Fig. 2) em comparação a SF controle de amido (F2). Observa-se que as proteínas exerceram forte influência sobre a SF composta (F4), com tendência à linearidade ($n = 1,06$) entre a tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento (Tabela 4, Fig. 2). Moraes et al. (2009) observaram comportamento newtoniano para solução polimérica de gelatina de peixe, álcool polivinílico e glicerol, devido as soluções estarem diluídas, o que está relacionado principalmente à interação macromoléculas-água e não macromoléculas-macromoléculas.

Observa-se que o comportamento pseudoplástico da SF controle de amido (F2) com alta viscosidade (Tabela 4, Fig. 2) interferiu nas soluções compostas, pois, com o aumento da tensão de cisalhamento aplicada, a ordenação das moléculas também

aumentou e, conseqüentemente, a viscosidade aparente diminuiu. Segundo Lagarrique e Alvarez (2001), a alta viscosidade das soluções de amido pode estar relacionada a alterações estruturais, como o inchaço irreversível dos grânulos de amido, que ao atingir o grau máximo começa a quebrar a estrutura, diminuindo a viscosidade, o que pode tornar a solução com características tixotrópicas. As SF contendo amido (F2, F3, F4 e F5) apresentaram os maiores valores de viscosidade ($p \leq 0,05$) quando comparadas a solução controle F1 contendo apenas proteínas (Fig. 2). O maior valor de viscosidade está relacionado não somente ao amido adicionado, mas também à quantidade de polímeros na solução.

De acordo com Liu et al. (2008), a fluidez da solução é impedida devido à presença de interações hidrodinâmicas e associações entre as moléculas, diminuindo o valor de n e aumentando o K . Echeverría, Eisenberg e Mauri (2014) relataram que o aumento da viscosidade, dificulta a fluidez e a moldagem, obtendo-se filmes heterogêneos com presença de bolhas residuais.

As soluções com alta viscosidade podem ser usadas como revestimentos por imersão, pois são mais fáceis de aderir à superfície dos alimentos. Porém, as soluções com maior concentração de amido F2 e F5, com maior viscosidade ($p \leq 0,05$) (Tabela 4, Fig. 2), apresentaram dificuldades no processo de fundição e maior tempo de secagem dos filmes comparados com altas viscosidades das soluções F3 e F4, apresentando limites adequados de viscosidades. As soluções F2 e F5 com maior resistência ao fluxo podem apresentar dificuldades no processo de recobrimento dos alimentos, causando discontinuidades. A análise de variância (ANOVA) indicou que a interação entre o tipo de polímero nas soluções compostas afeta significativamente a resposta de τ_0 , K , n e a viscosidade das soluções.

3.3 Propriedades tecnológicas dos filmes

O filme controle de amido (F2) apresentou cor significativamente mais clara quando comparado ao filme controle de proteínas (F1) (Tabela 5), confirmado pelos menores valores de b^* e C^* e tonalidade mais clara (h^*), devido à cor esbranquiçada desta matéria-prima (Tabela 3). Embora a cor não influencie nas propriedades funcionais das matérias-primas, ela tem uma influência direta na cor e utilização dos filmes biodegradáveis.

O filme composto F4, que contém maior percentual de proteínas, apresenta coloração amarela mais escura (b^* , C^* e h^*), quando comparado aos filmes compostos

F3 e F5, devido as características das proteínas miofibrilares (PML) (Tabela 3). Em relação ao ΔE , o filme composto F4 apresentou a maior variação de cor em relação ao filme controle F1, com diferença significativa quando comparado aos filmes compostos F3 e F5 (Tabela 5). Romani et al. (2017) ao avaliarem filmes com proteínas de peixe, amido de arroz e óleo essencial de orégano também observaram diferença no ΔE ($p \leq 0,05$) em filmes com maior quantidade de proteínas. Sun, Sun e Xiong (2013) indicam que esse resultado pode ser devido à reação de Maillard entre o amido e o grupo amino das proteínas. Reação favorecida pelo aquecimento durante a preparação da solução filmogênica (item 2.4), quando a mesma é colocada ao banho-maria.

Tabela 5 Parâmetros de cor dos filmes.

Parâmetros	Filmes				
	F1	F2	F3	F4	F5
L*	93.64±0.34 ^c	94.69±0.12 ^a	94.20±0.11 ^b	93.57±0.05 ^c	93.89±0.16 ^{bc}
b*	11.58±0.04 ^b	8.33±0.01 ^c	10.78±0.25 ^d	12.81±0.12 ^a	11.15±0.03 ^c
ΔE	ND	ND	8.38±0.14 ^c	10.01±0.07 ^a	8.31±0.03 ^c
C*	13.01±0.03 ^b	10.00±0.01 ^c	12.25±0.23 ^d	14.22±0.10 ^a	12.59±0.03 ^c
h*	117.15±0.13 ^d	123.66±0.02 ^a	118.39±0.44 ^b	115.75±0.23 ^e	117.75±0.05 ^c

ND: Não determinado. Letras minúsculas iguais na mesma linha não mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$), pelo teste de Fisher LSD. F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

Os filmes F2 e F5, com maior percentual de amido (4%), apresentaram aumento significativo de espessura e PVA (Tabela 6) quando comparados aos demais, devido à quantidade de amido. Pois, conforme Lagarrigue e Alvarez (2001), o aumento na taxa de difusão pode ser atribuído às hidroxilas presentes na estrutura do amido. Estes mesmos filmes também apresentaram maiores viscosidade (Fig. 2), devido ao rompimento dos grânulos de amido durante tratamento térmico, o que induz o inchaço das soluções devido a gelatinização do amido e da matriz polimérica após a secagem, aumentando a espessura dos filmes. O filme composto F4 apresentou menor PVA ($p \leq 0,05$), devido à maior interação intermolecular dos polímeros na matriz, pois, segundo Zavareze et al. (2012), as propriedades de barreira melhoram quando a mistura de hidrocolóides formam uma rede contínua e consistente.

Valencia-Sullca et al. (2018) estudaram filmes de amido de mandioca (AM), quitosana (QT) e dois plastificantes (glicerol-Gly e polietilenoglicol-PEG) e concluíram que o aumento na concentração de plastificante modifica a organização molecular, tornando a estrutura menos compacta e, portanto, mais permeável.

Tabela 6 Caracterização tecnológica dos filmes.

Filmes	Espessura mm	PVA g.mm/m ² d.KPa	Solubilidade %	RT MPa	%E
F1	0.067±0.005 ^b	4.89±0.04 ^b	18.73±0.45 ^b	3.54±0.14 ^a	34.88±2.54 ^b
F2	0.096±0.001 ^a	7.40±0.11 ^a	20.44±1.19 ^b	2.45±0.10 ^c	33.31±2.40 ^b
F3	0.070±0.003 ^b	4.64±0.10 ^b	13.86±0.09 ^c	2.68±0.06 ^b	38.50±3.25 ^a
F4	0.076±0.001 ^b	4.03±0.05 ^c	11.98±0.60 ^c	3.55±0.16 ^a	42.00±3.30 ^a
F5	0.105±0.003 ^a	7.71±0.17 ^a	27.84±0.98 ^a	2.26±0.11 ^d	34.18±1.95 ^b

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não apresentam diferença ($p \leq 0,05$) pelo teste de Fisher LSD. F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

Os filmes compostos F3 e F4 (Tabela 6) apresentaram os menores valores ($p \leq 0,05$) de solubilidade, devido à forte interação intermolecular entre os componentes que formam a matriz polimérica. Romani, Prentice-Hernández e Martins (2017) também encontraram um valor de solubilidade inferior ($p \leq 0,05$) ao adicionar 50% de cada polímero (proteínas de peixe e amido). Sukhija, Singh e Riar (2016) afirmam que as ligações cruzadas entre o amido e as proteínas, proporcionam menor espaço livre para a difusão da umidade, proporcionando menor PVA e solubilidade aos filmes, coerentes com os resultados desta pesquisa. De acordo com Zavareze et al. (2012), conforme a aplicação, os filmes biodegradáveis podem exigir baixa solubilidade ou insolubilidade para melhorar as propriedades de barreira.

O filme controle de proteínas (F1) apresentou maior resistência à tração (RT) em relação ao filme controle de amido de mandioca (F2), influenciando nos resultados dos filmes compostos ($p \leq 0,05$) (Tabela 6), corroborando pelos resultados obtidos para os filmes F3 e F4 ($p \leq 0,05$) com menores percentuais de amido. Devido ao aumento das interações entre os grupos hidroxilas do glicerol e carboxílicos das proteínas e amido, pois a menor concentração de amido pode aumentar as interações com as proteínas na

matriz biocomposta (Podshivalov et al. 2017). Os filmes compostos F3 e F4 apresentaram comportamento semelhante para o percentual de alongação (% E).

Segundo Sun e Xiong (2014), as proteínas podem formar uma matriz mais densa e contínua. No entanto, Muñoz et al. (2012), relataram que os filmes compostos apresentam melhores propriedades mecânicas e de barreira, devido à interação das cadeias de proteínas e amido. Romani, Hernández e Martins (2018) ao produzirem filmes com maior concentração de proteínas de peixe (15/85 amido/proteínas), obtiveram maior resistência e flexibilidade comparando com os filmes com 50/50 (amido/proteínas) e 85/15 (amido/proteínas). Portanto, relataram que a proporção de 15/85 (amido/proteínas) foi a mais adequada para o desenvolvimento de materiais de embalagem, principalmente devido ao seu desempenho mecânico.

3.4 Transmissão de luz e transparência dos filmes

Os filmes contendo proteínas (F1, F3, F4 e F5) apresentaram a menor transmissão de luz ($p \leq 0,05$) na região do UV (200-280 nm) do que o filme controle de amido (F2) (Tabela 7), propriedade importante para evitar a oxidação dos alimentos (Blanco-pascual, Fernández-martín e Montero 2014). Sukhija, Singh e Riar (2016) encontraram valores superiores ($p \leq 0,05$) para transmissão de luz em filmes de amido na região do UV, demonstrando baixa eficiência na barreira à luz ultravioleta quando comparado ao filme de proteínas.

Os filmes compostos (F3, F4 e F5) apresentaram as melhores propriedades de barreira na faixa do visível (350 - 800nm) quando comparados aos controles F1 e F2 ($p \leq 0,05$). O filme de proteínas (F1) apresentou maior valor ($p \leq 0,05$) de transparência (menos transparente) quando comparado ao amido (F2) (Tabela 7). A transmissão de luz dos filmes compostos foi provavelmente governada pelo arranjo ou alinhamento dos polímeros, apresentando diminuição pronunciada no nível de absorbância da luz visível.

De acordo com Ahmad et al. (2015), tanto a amilose quanto a amilopectina são polarizáveis, portanto, os aglomerados de cadeias laterais de amilopectina paralelas podem absorver energia da luz recebida e os aminoácidos aromáticos presentes nas proteínas desempenham papel vital na absorção de energia luminosa. Segundo Romani, Prentice-Hernández e Martins (2017), a transparência ou opacidade da embalagem é importante para a proteção de alimentos suscetíveis à degradação oxidativa catalisada pela luz, estendendo seu prazo de validade.

Tabela 7 Transmissão de luz e transparência dos filmes.

Transmitância (nm) T%	Filmes				
	F1	F2	F3	F4	F5
200	0.10±0.00 ^b	13.90±1.13 ^a	0.10±0.00 ^b	0.10±0.00 ^b	0.05±0.00 ^b
280	0.10±0.00 ^c	48.35±0.92 ^a	4.40±0.99 ^b	0.55±0.01 ^c	1.20±0.00 ^c
350	55.75±1.91 ^b	62.20±0.14 ^a	38.20±0.14 ^{c,d}	40.00±0.00 ^c	35.95±1.77 ^d
400	62.70±0.85 ^b	65.55±0.21 ^a	42.60±0.28 ^d	46.10±0.28 ^c	38.30±1.98 ^e
500	69.50±0.28 ^a	70.25±0.49 ^a	47.55±0.21 ^c	52.70±0.85 ^b	46.60±0.85 ^c
600	70.65±0.35 ^a	70.70±0.99 ^a	46.95±0.21 ^c	52.60±1.13 ^b	46.50±0.28 ^c
700	75.35±0.49 ^a	75.55±0.64 ^a	52.60±0.28 ^c	58.95±1.20 ^b	51.00±0.71 ^c
800	76.35±0.49 ^a	75.65±0.78 ^a	53.45±0.07 ^c	59.20±1.56 ^b	52.05±0.21 ^c
Valor de Transparência	3.90±0.18 ^b	1.43±0.00 ^d	5.17±0.10 ^a	3.53±0.18 ^c	3.47±0.02 ^c

Letras minúsculas iguais na mesma linha não apresentam diferença ($p \leq 0,05$) pelo teste de Fisher LSD. F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

3.5 Análise termogravimétrica (TGA/DTG)

As temperaturas de degradação (T_d) e perda de peso (Δw) são mostradas na Tabela 8, e o comportamento da degradação térmica dos filmes é mostrado na Fig. 3. Quatro estágios principais de perda de peso foram observados. Comportamento semelhante foi descrito por Ahmad et al. (2015), quando elaboraram filmes compostos de gelatina de peixe e farinha de arroz. Podshivalov et al. (2017) encontraram três estágios de degradação para filmes de amido de batata, gelatina e glicerol. Essas diferenças podem estar relacionadas ao tipo e proporção dos polímeros usados e as interações intermoleculares na matriz dos filmes.

A maior resistência térmica do filme controle de proteínas (F1) em relação ao controle de amido (F2), interferiu positivamente no filme composto F4 (com maior percentual de proteínas) em relação aos filmes compostos F3 e F5, que apresentou maior estabilidade térmica na primeira etapa de degradação (T_{d1}), que está relacionada à perda de água livre e ligada nos filmes (Arfat et al. 2014; Ahmad et al. 2015). Não houve degradação térmica em T_{d2} para esta amostra (F4), devido à maior estabilidade, com perda

de peso dos componentes do filme, proteínas, amido e glicerol apenas a partir de T_{d3} , indicando maior interação intermolecular entre os polímeros na matriz, com maior percentual de resíduo final (%).

Tabela 8 Temperaturas de decomposição (T_d , °C) e perda de peso (ΔP %) dos filmes.

Filmes	$\Delta 1$		$\Delta 2$		$\Delta 3$		$\Delta 4$		Resíduos (%)
	T_{d1} (°C)	ΔP_1 (%)	T_{d2} (°C)	ΔP_2 (%)	T_{d3} (°C)	ΔP_3 (%)	T_{d4} (°C)	ΔP_4 (%)	
F1	39.87	14.70	171.80	26.47	282.52	13.81	357.27	13.24	31.78
F2	43.14	7.27	120.12	13.30	261.51	63.86	ND	ND	15.57
F3	40.13	7.31	119.09	7.71	200.76	57.57	ND	ND	27.41
F4	47.63	10.37	ND	ND	202.84	56.33	ND	ND	33.30
F5	40.71	6.64	128.87	5.88	196.10	64.55	480.82	4.82	18.11

ND: Não determinado. T_{d1} , T_{d2} , T_{d3} e T_{d4} : temperaturas de degradação (T_d); ΔP_1 , ΔP_2 , ΔP_3 e ΔP_4 : perdas de peso, primeira, segunda, terceira e quarta fases, respectivamente. F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

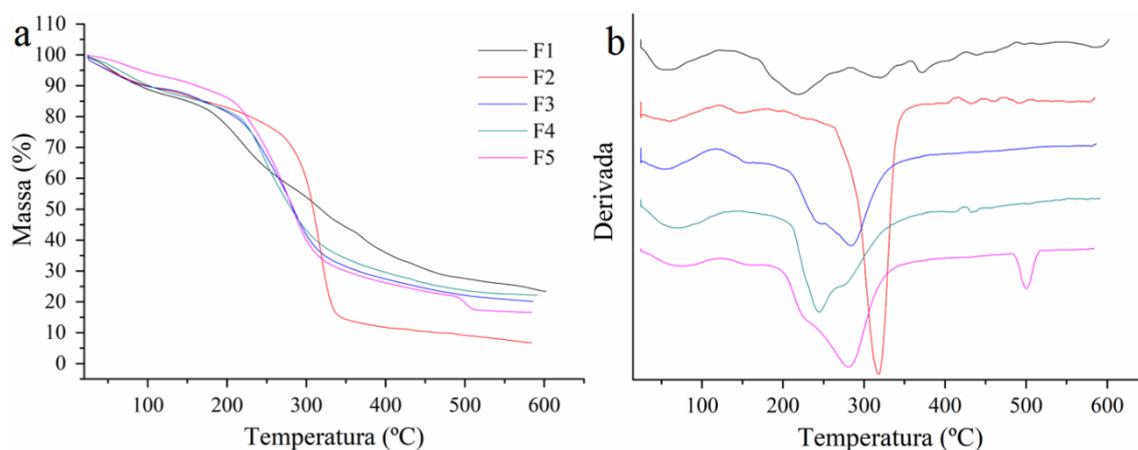


Fig. 3. Curvas de análise termogravimétrica - TGA (a) e termogravimétrica diferencial - DTG (b): F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

A maior estabilidade do filme compostos F4, devido a interação da matriz, pode ser atribuída à região cristalina formada pelo entrelaçamento das cadeias laterais de amilose/amilopectina (Ahmad et al. 2015), bem como a ligação covalente na rede de

proteínas e as diferentes interações cruzadas com os outros componentes (Arfat et al. 2014). Portanto, as perdas observadas no estágio T_{d3} estão associadas à degradação de polímeros e frações proteicas de maior peso molecular (Arfat et al. 2014; Ahmad et al. 2015). Corroborando com os resultados encontrados na presente pesquisa, que apresentou menores valor de PVA e solubilidade e melhores propriedades mecânicas (Tabela 6). De acordo com Arfat et al. (2016), em pH alcalino (o mesmo utilizado na presente pesquisa), as interações entre os componentes adicionados e as proteínas produzem a uma rede mais forte, levando a uma maior resistência ao calor.

Perdas de peso na quarta etapa podem estar associadas aos componentes termicamente estáveis constituídos na matriz do filme, à despolimerização de cadeias macromoleculares e à ruptura de ligações químicas (Ahmad et al., 2015). Apenas os filmes F1 e F5 apresentaram esse estágio de decomposição.

Kim, Kang e Song (2020) observaram uma diminuição na estabilidade térmica de filmes compostos por amido de milho com o aumento da concentração do extrato de goji, indicando que a adição de extratos naturais de plantas pode enfraquecer a rede interna dos filmes. Ou seja, a adição de componentes não compatíveis interfere na interação intermolecular e podem enfraquecer a matriz do filme. Os extratos dificultam a reassociação das cadeias poliméricas durante a retrogradação do amido que ocorre na secagem dos filmes.

3.6 Calorimetria de varredura diferencial (DSC)

Os termogramas DSC (Fig. 4) mostraram dois picos endotérmicos, temperatura de fusão (T_m) e entalpia (ΔH) para todas as amostras. No filme controle de proteínas (F1) (Fig. 4a) a temperatura de desnaturação foi máxima (T_m 111,77 °C e ΔH 443,67 J/g) no primeiro pico. Este mesmo comportamento foi observado para o filme composto F4 (T_m 90,19 °C e ΔH 432,15 J/g), Fig. 4d, sugerindo que a interação entre as proteínas e o amido melhorou a resistência térmica deste filme.

De acordo com Kaewprachu et al. (2017), a T_m do filme indica a temperatura de ruptura da interação polimérica formada durante a preparação dos filmes. Além disso, os filmes F1 e F4 apresentaram o segundo pico endotérmico em torno de T_m (271,60 e 262,96 °C) e ΔH (184,04 e 74,52 J/g), respectivamente. A maior estabilidade térmica para estes filmes pode ser devido a interação entre as cadeias de proteínas, provavelmente através da interação intermolecular de proteínas, como ligações de hidrogênio, interações iônicas, interações hidrofóbicas-hidrofóbicas que estabilizaram a rede dos filmes, e uma

entalpia mais alta é necessária para interromper a rede dos filmes (Barreto, Pires e Soldi 2003; Hoque, Benjakul e Prodpran, 2010).

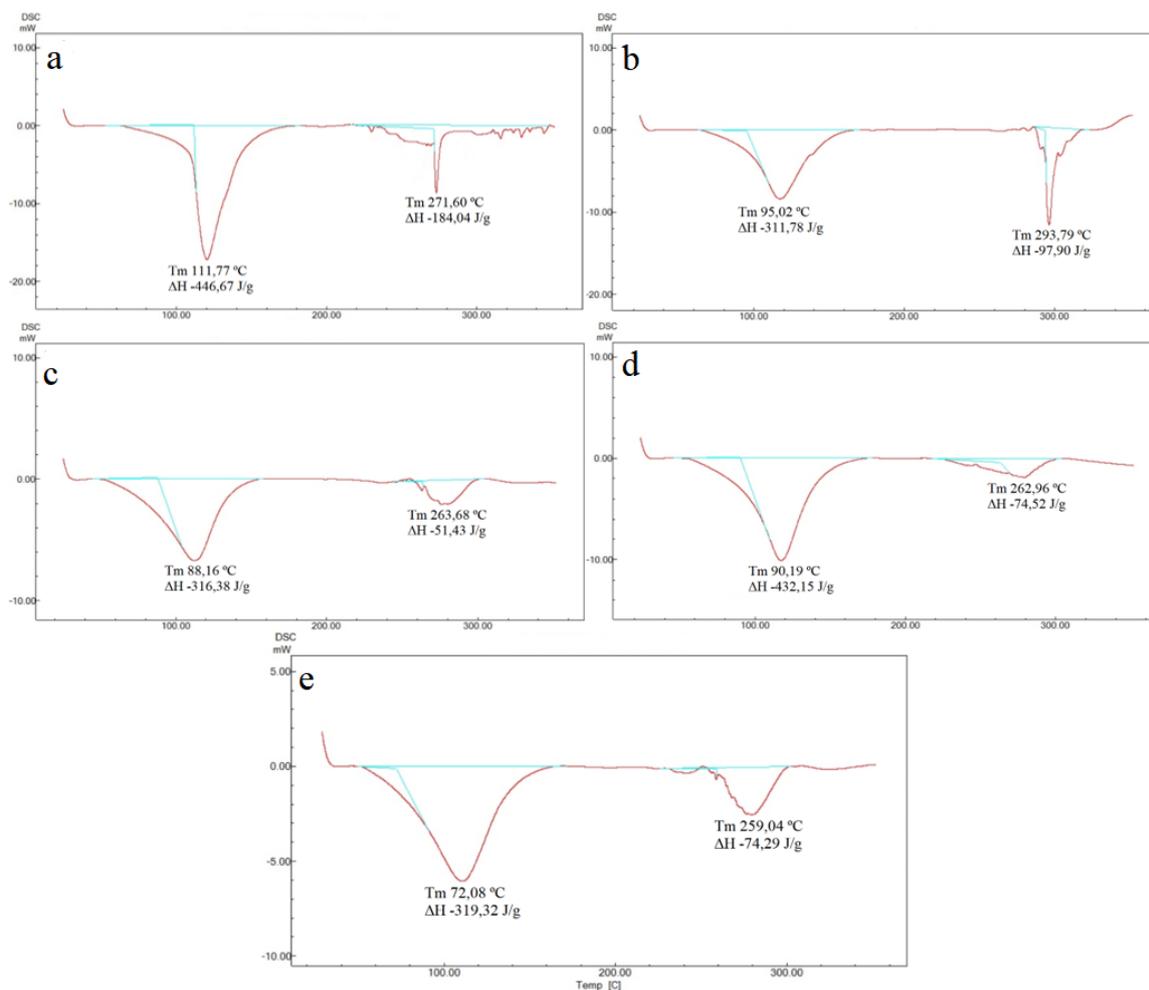


Fig. 4 Curvas de DSC dos filmes: **(a)** F1 (1% PML); **(b)** F2 (4% de amido); **(c)** F3 (0,5% PML e 2% amido); **(d)** F4 (1% PML e 2% amido) e **(e)** F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

Kaewprachu et al. (2016), observaram o mesmo comportamento com a presença de dois picos endotérmicos ao estudarem filmes de proteínas de peixe e associaram esse segundo pico à degradação de proteínas de maior peso molecular ou fração proteica. Daniel et al. (2018), encontraram picos endotérmicos correspondentes para a temperatura de fusão (T_m) dos filmes de amido e glicerol, e relataram que a diferença nos valores de T_m dos filmes pode ser atribuída ao volume livre entre as cadeias poliméricas geradas pelas diferentes proporções de polímeros adicionados.

Valencia-sullca et al. (2018) ao avaliarem filmes de amido de mandioca, quitosana e uma mistura de dois plastificantes (glicerol-Gly e polietilenoglicol-PEG) também

encontraram dois picos endotérmicos em filmes puros e compostos, porém com valores menores (T_m 56,4 - 60,2 °C e ΔH 62,0-104 J/g, T_m 49,4-50,8 °C e ΔH 14,6-57,0 J/g) em comparação com o presente estudo, e relataram que a baixa estabilidade se deve à falta de miscibilidade dos componentes com o PEG, concluindo que a adição de PEG deve ser avaliada.

Os menores valores de T_m e ΔH foram para os filmes controle de amido (F2) e compostos (F3 e F5) (Fig. 4b, 4c e 4e, respectivamente), pode estar associado à degradação das moléculas de proteínas e amido, que não formaram uma forte rede de filmes, pois uma rede mais fraca exige a menor entalpia para destruir as interações entre as cadeias (Hoque et. al., 2010), o que está associado à menor resistência à tração desses filmes (Tabela 6). Kaewprachu et al. (2017) também observaram que filmes com maior estabilidade térmica apresentam melhores propriedades mecânicas (resistência à tração).

Os filmes F1 e F4 também apresentaram maior estabilidade térmica na análise termogravimétrica (TGA/DTG) (Fig. 3, Tabela 8), com as melhores propriedades tecnológicas (Tabela 6), melhor barreira na faixa de UV para a amostra F1 e melhor barreira na faixa visível para a amostra F4 (Tabela 7).

3.7 Difração de raio-X (DRX)

Os difratogramas dos filmes analisados (Fig. 5) mostraram picos na região 2θ entre 10 a 30°. O filme controle de proteínas (F1) apresentou picos com característica de estrutura amorfa quando comparado ao filme controle de amido (F2) com estrutura cristalina (picos mais definidos). Segundo Nogueira e Martins (2019), um polímero pode ser considerado amorfo pela presença de picos mais largos, devido às moléculas estarem de forma desordenada, produzindo bandas dispersas, enquanto os materiais cristalinos, em estado altamente ordenado, produzem picos agudos e definidos. Romani et al. (2019), demonstraram que o aumento no pico de ângulo $2\theta = 20^\circ$ para filmes de proteínas sugere que as distâncias de configuração helicoidal da estrutura diminuiram.

Os filmes compostos (F3, F4 e F5) apresentam estruturas predominantemente amorfas, com halos de grande amplitude em torno de $2\theta = 15-25^\circ$, no entanto estes filmes apresentaram tendência à cristalinidade maior que o controle (F1), devido à presença de amido nos filmes compostos, com picos mais definidos. Liu et al. (2013) relataram que as fortes interações entre as cadeias de amido polimérico favorecem a cristalização, aumentando assim a rigidez. Os picos amorfos com maior amplitude observados no difratograma de raio-X dos filmes compostos (F3, F4 e F5) comparados ao controle F1,

segundo Romani et al. (2017), demonstram a miscibilidade molecular e a interação entre os constituintes dos filmes. Romani, Hernández e Martins (2018) em filmes compostos de proteínas de peixe e amido, observaram picos na região $2\Theta = 10-30^\circ$ e relataram que a estrutura das misturas também era predominantemente amorfa devido ao tratamento térmico das soluções filmogênicas.

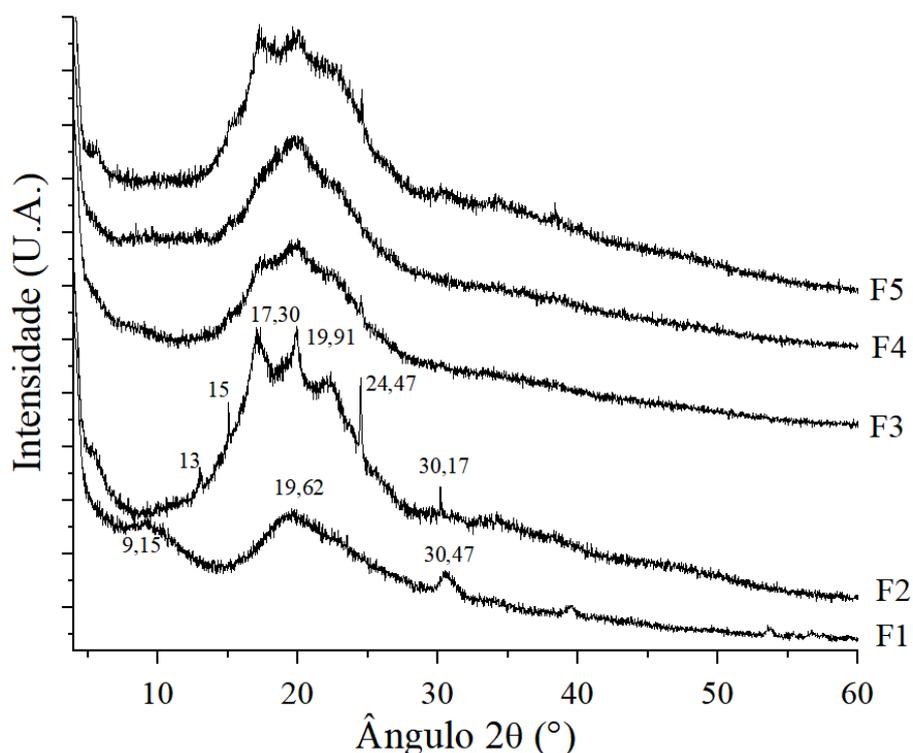


Fig. 5. DRX dos filmes: F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol.

3.8 Espectroscopia de infravermelho (FTIR-ATR) das matérias-primas e filmes

Os sinais nos espectros de FTIR dos filmes mostram mudanças tanto na amplitude quanto no número de ondas (Fig. 6), indicando que houve interações entre as PML, AM e glicerol. De acordo com Kaewprachu et al. (2018), quando os espectros de FTIR de filmes compostos são semelhantes aos do controle, eles indicam que não houve interação entre os componentes. As características espectrais típicas para filmes usando os biocompósitos PML e AM são encontradas na região das amidas, 3280, 2927, 1652, 1527-1545, 1240 cm^{-1} , correspondendo à amida-A (estiramento da ligação N-H) e/ou estiramento O-H (do AM ou de aminoácidos hidroxilados da PML - serina e/ou treonina)), amida-B (estiramento da ligação C-H e $-\text{NH}_3^+$), amida-I (estiramento da

ligação C=O), amida II (surge da deformação angular de N-H e estiramento da ligação C-N) e amida III (alongamento C-N e flexão vibração N-H) (Kaewprachu et al. 2018).

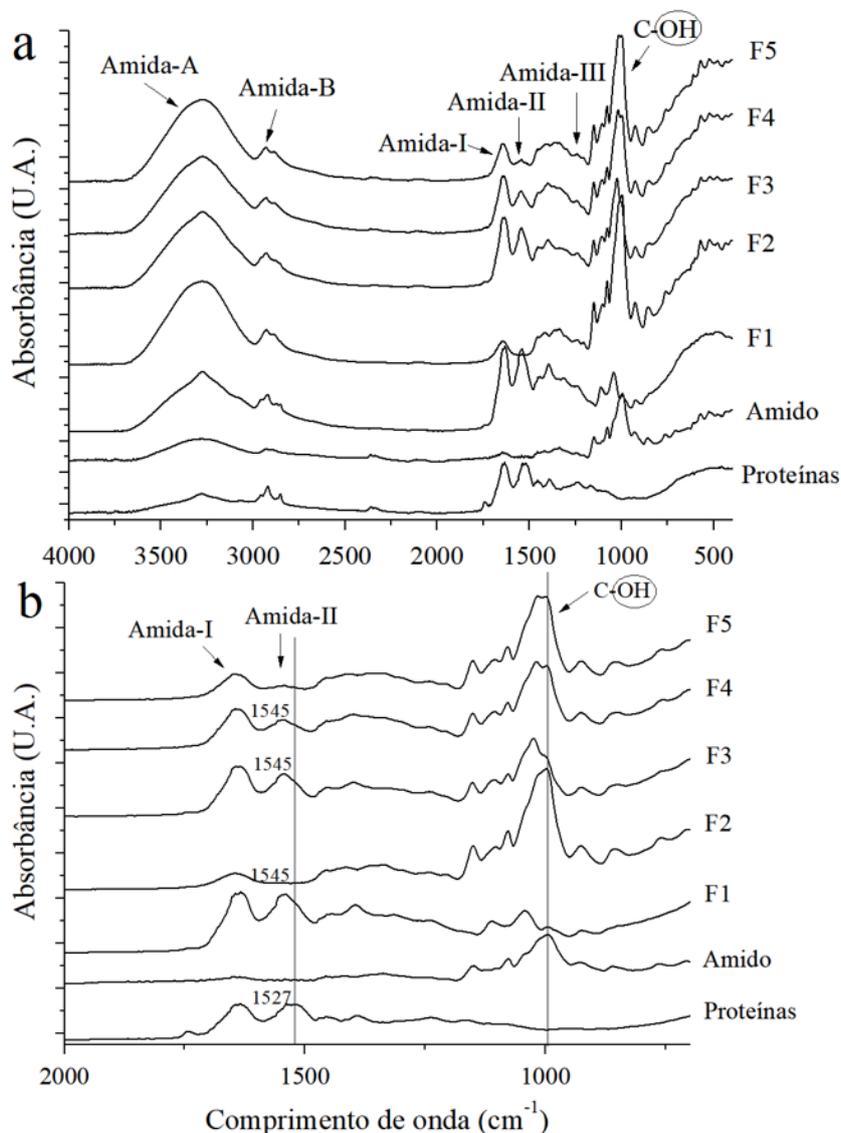


Fig. 6. Análise de FTIR dos polímeros proteínas e amido e dos filmes: F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol. Figura (a) escala 4000-500 e (b) 2000-500 cm^{-1} .

Os filmes apresentaram uma ampla faixa de 3655-3000 cm^{-1} da banda amida-A e picos mais pronunciados na banda amida-B quando comparados aos polímeros (proteínas e amido) Fig. 6a, representando o alongamento de NH, $-\text{NH}_3^+$ e $-\text{CH}$, acoplados à ligação de hidrogênio, indicando a incorporação e interação vibracional intermolecular dos grupos por pontes de hidrogênio destes polímeros e glicerol na formação dos filmes (Hoque et al. 2011; Kaewprachu et al. 2016; Kanwate, Ballari e Kudre 2019). De acordo

com Hoque et al. (2011) na presença do glicerol reduziu-se a reticulação de moléculas, principalmente via ligação H entre o grupo amino das proteínas e H dos grupos que interagiram com as proteínas, evidenciado pela maior disponibilidade do grupo amino, observado pelas maiores amplitudes das bandas amidas A e B.

Em relação às amidas I e II, observa-se a presença e interação de polímeros proteicos nos filmes controle (F1) e composto (F3, F4 e F5) (Fig. 6b), com picos mais pronunciados da Amida I e deslocamento para maiores números de onda da Amida II. De acordo com Fan et al. (2017), as bandas amídicas I e II são geralmente utilizadas para monitorar a conformação da estrutura secundária das proteínas, esses picos não são observados no polímero de amido. O filme composto F5 apresentou amplitudes baixas, devido ao maior percentual de amido, com menor disponibilidade dos grupos C = O, N-H e C-N presentes nas proteínas.

O pico característico do amido foi encontrado em $995,14\text{ cm}^{-1}$ (estiramento da ligação C-O, Shriner e Fuson, 1983), indicando também a adição e interação do plastificante (C-OH) com os polímeros na matriz, o que influenciou na maior amplitude e deslocamento dos picos para filmes contendo amido (controle-F2) e compostos (F3, F4 e F5). O filme F5 com maior percentual de amido, apresentou maior amplitude devido à maior disponibilidade do trecho C-O. Fan et al. (2017) ao estudarem as características de gel composto por proteínas miofibrilares de peixe e amido de mandioca atribuíram bandas na região de $800\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ características do amido.

As modificações dos espectros de FTIR (Fig. 6a e b) indicam que a hidroxila (-OH) presente nos grupos carboxílicos e o hidrogênio (-H) do grupo amino das proteínas formaram ligações cruzadas com a -OH e C-O do amido e -OH do glicerol construindo a rede polimérica dos filmes, evidenciado também pela melhoria das propriedades reológicas e tecnológicas dos filmes compostos.

3.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise química por espectroscopia de energia dispersiva de raio-x (EDS) dos filmes

Nas micrografias da superfície do filme controle F1 (Fig. 7a), uma estrutura contínua é observada, demonstrando que as proteínas miofibrilares se agregam para formar uma rede densa e contínua (Sun e Xiong 2014). No entanto, a presença de rugosidade mais acentuada foi observada nos filmes controle de amido F2 e composto F3 (Fig. 7b e c). Ahmad et al. (2015) em filmes com proteínas de peixe e amido de arroz, encontraram uma superfície rugosa e levemente irregular devido ao entrelaçamento de

cadeias por ligações covalentes e não covalentes. Al-Hassan e Norziah (2012), relataram a presença de rugosidade nas superfícies dos filmes de glicerol, amido (de palma) e proteínas de peixe com presença de poros ou cavidades que podem estar relacionadas à formação de canais, enquanto os filmes de sorbitol mostrou uma superfície homogênea.

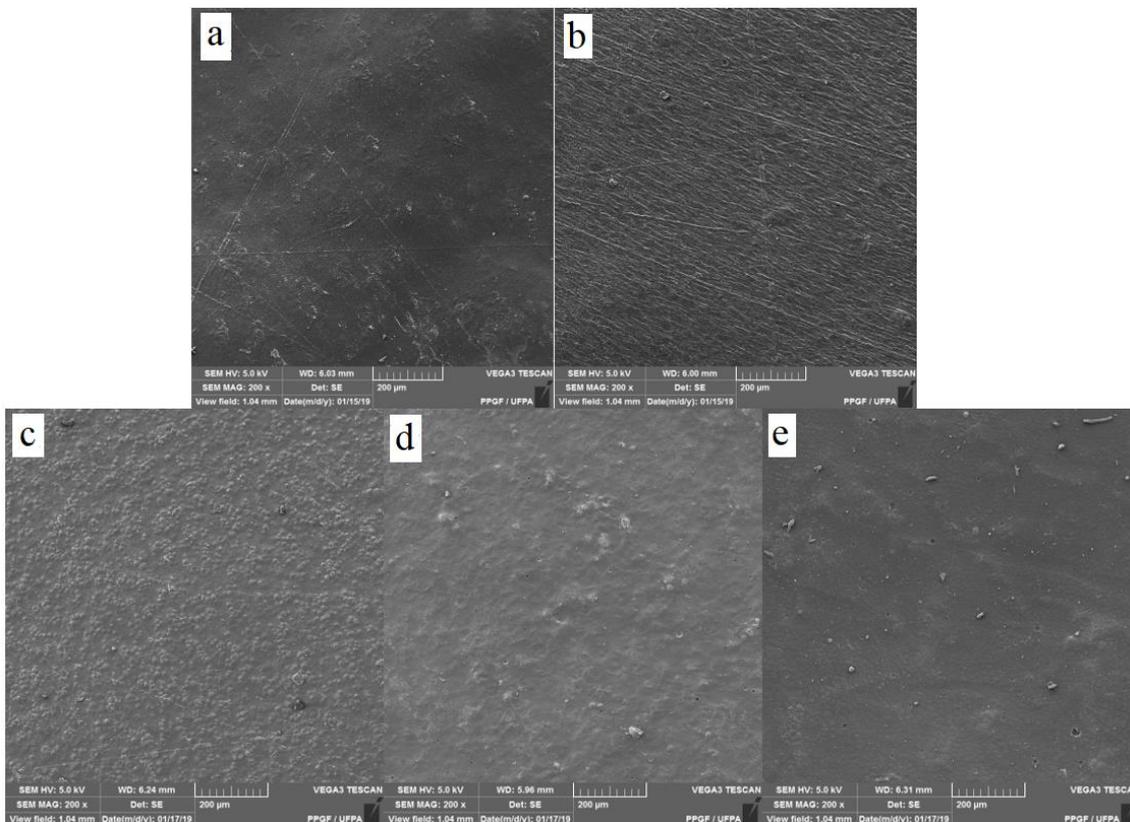


Fig. 7. Micrografias dos filmes. **(a)** F1 (1% PML); **(b)** F2 (4% de amido); **(c)** F3 (0,5% PML e 2% amido); **(d)** F4 (1% PML e 2% amido) e **(e)** F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol e com ampliação de 200X.

No entanto, os filmes compostos F4 e F5 (Fig. 7d e e) apresentaram microestruturas com pequenas partículas na superfície, que podem ser aglomerados de proteínas insolúveis ou formação de pequenos cristais de sais, devido às etapas de extração ou solubilização das proteínas, utilizando solução salina e hidróxido de sódio (NaOH), respectivamente. Podendo ser observado pela presença de (Na) em amostras com proteínas de peixe (F1, F3, F4 e F5) detectadas pela análise de EDS (Tabela 9). Vieira et al. (2018) e Araújo et al. (2018), também encontraram agregados de proteínas, além de partículas dispersas insolúveis, com pontos brancos na estrutura polimérica dos filmes de proteínas de peixe. Batista et al. (2020) também observaram pontos brancos na

superfície de filmes de proteínas de peixe e os resultados da EDS permitiram correlacionar esses pontos brancos com a presença de sódio da solução de NaOH usada para ajustar o pH durante a produção dos filmes.

Os resultados observados na MEV para os filmes compostos (Fig. 7c, d e e) corroboram com os difratogramas de raio-X (Fig. 5), que demonstram a miscibilidade molecular e a interação entre os constituintes dos filmes compostos. Estas características proporcionaram melhores propriedades de transmissão de luz na faixa do visível para filmes compostos (Tabela 7). Ressaltando que o filme F4 apresentou os menores valores de solubilidade, PVA, maior resistência à tração (RT) e alongação (%E) (Tabela 6).

Na análise semiquantitativa dos elementos químicos (Tabela 9) é possível observar pelo EDS no MEV, porcentagens em massa dos elementos químicos presentes, sendo possível fazer uma comparação entre as composições químicas obtidas a partir de cada filme. A composição mássica (%) de carbono (C) diminui e o oxigênio (O) aumentaram nos filmes compostos (F3, F4 e F5) quando comparados ao controle F1, ocorre o inverso em relação ao filme controle de amido (F2). A presença de sódio (Na) no filme F1, proveniente do processo de obtenção das proteínas miofibrilares, distingue este filme do elaborado com amido (F2). Filmes produzidos com a mistura de proteínas miofibrilares e amido tendem a diminuir a concentração de sódio, nos pontos estudados, devido a interação dos componentes químicos na presença do amido, sugerindo boa compatibilidade com as proteínas de peixe (Fig. 6 e 7) .

Tabela 9 Análise semiquantitativa dos elementos químicos presentes nos filmes utilizando a técnica EDS

Filmes	Composição mássica (%)		
	C	O	Na
F1	60.91	35.8	3.29
F2	53.17	46.83	-
F3	57.08	41.77	1.15
F4	54.69	44.27	1.03
F5	56.64	42.46	0.9

F1 (1% PML); F2 (4% amido); F3 (0,5% PML e 2% amido); F4 (1% PML e 2% amido) e F5 (0,5% PML e 4% amido), todos com 30% de glicerol. C - carbono; O - oxigênio; Na - sódio. A

4. Conclusão

As soluções filmogênicas (SF) apresentaram comportamento não newtoniano, com influência significativa na viscosidade dos filmes compostos. As soluções F3 e F4, com menor percentual de amido, apresentaram viscosidade mais adequada para serem utilizadas como revestimento em alimentos.

As matérias-primas influenciaram a cor dos filmes, bem como a transmissão de luz e transparência dos filmes compostos (F3, F4 e F5) com melhores propriedades de barreira à luz UV-Visível. A estabilidade térmica das proteínas proporcionou maior resistência térmica ao filme composto F4. Os filmes compostos (F3, F4 e F5) apresentaram tendência à cristalinidade, devido às propriedades das proteínas e amido, respectivamente. Análises de FTIR e espectroscopia elementar (EDS) confirmaram a interação bem sucedida dos polímeros na matriz filmogênica.

As propriedades dos filmes compostos indicam que a interação entre os biopolímeros é positiva para a produção de embalagens que podem ser utilizadas em diferentes tipos de alimentos. O filme com a propriedade mais adequada para alimentos que precisam de menor barreira ao vapor de água é o F4. Alimentos consumidos diretamente na embalagem, devem ter um revestimento com alta solubilidade (F1, F2 e F5). Aqueles suscetíveis à oxidação, como os alimentos gordurosos, são indicados filmes com as maiores propriedades de barreira UV-Visível (F3, F4 e F5). E o filme controle de amido F2, é considerado adequado para aplicação de filmes de embalagens transparentes. Portanto, a escolha da formulação mais adequada dependerá do produto para o qual a embalagem se destina.

Referências

- Ahmad, M., Hani, N. M., Nirmal, N. P., Fazial, F. F., Mohtar, N. F., & Romli, S. R. (2015). Optical and thermo-mechanical properties of composite films based on fish gelatin/rice flour fabricated by casting technique. *Progress in Organic Coatings*, 84, 115–127.
- Al-Hassan, A. A., & Norziah, M. H. (2012). Starch-gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 108–117.
- Álvarez-Parrilla, E., Lluch, A. P. M. A. (1997). Preparación y caracterización química y microestructural de surimi de merluza (*Merluccius merluccius*) y de jurel (*Trachurus trachurus*). *Food Science and Technology Internacional*. 3(1), 49-60.

- Araújo, C. S., Rodrigues, A. M. C., Peixoto Joele, M. R. S., Araújo, E. A. F., & Lourenço, L. F. H. (2018). Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface method. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 23–30.
- Arfat, Y. A., Benjakul, S., Prodpran, T., & Osako, K. (2014). Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. *Food Hydrocolloids*, 39, 58–67.
- Arfat, Y. A., Benjakul, S., Prodpran, T., Sumpavapol, P., & Songtipya, P. (2016). Physico-Mechanical Characterization and Antimicrobial Properties of Fish Protein Isolate/Fish Skin Gelatin-Zinc Oxide (ZnO) Nanocomposite Films. *Food and Bioprocess Technology*, 9(1), 101–112.
- Barreto, P. L. M., Pires, A. T. N., & Soldi, V. (2003). *Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere*. 79, 147–152.
- Batista, J. T. S., Araújo, C. S., Peixoto Joele, M. R. S., Silva, J. O. C., & Lourenço, L. F. H. (2019). Study of the effect of the chitosan use on the properties of biodegradable films of myofibrillar proteins of fish residues using response surface methodology. *Food Packaging and Shelf Life*, 20, 100306.
- Blanco-pascual, N., Fernández-martín, F., & Montero, P. (2014). Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) myofibrillar protein concentrate for edible packaging films and storage stability. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 543–550.
- Bof, M. J., Bordagaray, V. C., Locaso, D. E., & García, M. A. (2015). Chitosan molecular weight effect on starch-composite film properties. *Food Hydrocolloids*, 51, 281–294.
- Chinma, C. E., Ariahu, C. C., & Abu, J. O. (2012). Development and characterization of cassava starch and soy protein concentrate based edible films. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(2), 383–389.
- Daniel, L., Homez-jara, A., Fernando, J., & Alexander, H. (2018). International Journal of Biological Macromolecules Effects of temperature, starch concentration, and plasticizer concentration on the physical properties of ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas) -based edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 1834–1845.
- Debeaufort, F., & Voilley, A. (2009). Lipid-Based Edible Films and Coatings. Huber, K. C., & Embuscado, M. E. (Eds.). *Edible Films and Coatings for Food Applications*.
- Echeverría, I., Eisenberg, P., & Mauri, A. N. (2014). Nanocomposites films based on soy

- proteins and montmorillonite processed by casting. *Journal of Membrane Science*, 449, 15–26.
- Han, J. H., & Floros, J. D. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheeting*, 13(4), 287–298.
- Hoque, M. S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2010). Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Journal of Food Engineering*, 96(1), 66–73.
- Kaewprachu, P., Osako, K., Benjakul, S., & Rawdkuen, S. (2016). Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 2083–2091.
- Kaewprachu, P., Osako, K., Rungraeng, N., & Rawdkuen, S. (2018). Characterization of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1463–1473.
- Kaewprachu, P., Osako, K., Tongdeesootorn, W., & Rawdkuen, S. (2017). The effects of microbial transglutaminase on the properties of fish myofibrillar protein film. *Food Packaging and Shelf Life*, 12, 91–99.
- Kanwate, B. W., Ballari, R. V., & Kudre, T. G. (2019). Influence of spray-drying, freeze-drying and vacuum-drying on physicochemical and functional properties of gelatin from *Labeo rohita* swim bladder. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 135–141.
- Kim, S., Kang, J., & Song, K. Bin. (2020). Development of a Sword Bean (*Canavalia gladiata*) Starch Film Containing Goji Berry Extract. *Food and Bioprocess Technology*, 13(1), 911–921.
- Leite, T. S., Jesus, A. L. T., Schmiele, M., Tribst, A. A. L., & Cristianini, M. (2017). High pressure processing (HPP) of pea starch: Effect on the gelatinization properties. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 361–369.
- Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S., & Prasarpran, S. (2010). Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 85–92.
- Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S., & Prasarpran, S. (2012). Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly (vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films. *Food Hydrocolloids*, 29(1), 226–233.

- Lin, J. H., Liang, C. W., & Chang, Y. H. (2016). Effect of starch source on gel properties of kappa-carrageenan-starch dispersions. *Food Hydrocolloids*, 60, 509–515.
- Liu, H., Adhikari, R., Guo, Q., & Adhikari, B. (2013). Preparation and characterization of glycerol plasticized (*high-amylose*) starch-chitosan films. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 588–597.
- Liu, R., Zhao, S. ming, Xiong, S. bai, Qiu, C. guang, & Xie, B. jun. (2008). Rheological properties of fish actomyosin and pork actomyosin solutions. *Journal of Food Engineering*, 85(2), 173–179.
- Montgomery, D. C., & Runger, G. C. (2018). *Applied Statistics and Probability for Engineers*. 7th Edition. Ed. Wiley, New York, NY, pp. 564
- Moreno, O., Atarés, L., Chiralt, A., Cruz-Romero, M. C., & Kerry, J. (2018). Starch-gelatin antimicrobial packaging materials to extend the shelf life of chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology*, 97, 483–490.
- Moraes, I. C. F., Carvalho, R. A., Bittante, A. B. Q. B., Solorza-Feria, J., J. A., Sobral, P. J. A. (2009). Film forming solutions based on gelatin and poly(vinyl alcohol) blends: Thermal and rheological characterizations. *Journal of Food Engineering*, 95(4), 588–596.
- Muñoz, L. A., Aguilera, J. M., Rodríguez-Turiénzo, L., Cobos, A., & Diaz, O. (2012). Characterization and microstructure of films made from mucilage of *Salvia hispanica* and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 111(3), 511–518.
- Muriel-Galet, V., López-Carballo, G., Gavara, R., & Hernández-Muñoz, P. (2015). Antimicrobial Effectiveness of Lauroyl Arginate Incorporated into Ethylene Vinyl Alcohol Copolymers to Extend the Shelf-Life of Chicken Stock and Surimi Sticks. *Food and Bioprocess Technology*, 8(1), 208–217.
- Nascimento, T. A., Calado, V., & Carvalho, C. W. P. (2012). Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. *Food Research International*, 49(1), 588–595.
- Nie, X., Gong, Y., Wang, N., & Meng, X. (2015). Preparation and characterization of edible myofibrillar protein-based film incorporated with grape seed procyanidins and green tea polyphenol. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1042–1046.
- Nogueira, D., & Martins, V. G. (2019). Use of Different Proteins to Produce Biodegradable Films and Blends. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(9), 2027–2039.

- Oliveira, L. F., Ascheri, D. P. R., & Ascheri, J. L. R. (2011a). Desenvolvimento, caracterização de filmes comestíveis de fécula de mangarito (*Xanthosoma mafaffa Schott*) e sua aplicação em frutos de jaboticaba. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 29(2), 265–280.
- Oliveira, N. M., Dourado, F. Q., Peres, A. M., Silva, M. V., Maia, J. M., & Teixeira, J. A. (2011b). Effect of Guar Gum on the Physicochemical, Thermal, Rheological and Textural Properties of Green Edam Cheese. *Food and Bioprocess Technology*, 4(8), 1414–1421.
- Pereira, G. V. S., Pereira, G. V. S., Araujo, E. F. de, Xavier, E. M. P., Joele, M. R. S. P., & Lourenço, L. de F. H. (2019a). Optimized process to produce biodegradable films with myofibrillar proteins from fish byproducts. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100364.
- Pereira, G. V. S., Pereira, G. V. S., Neves, E. M. P. X., Joele, M. R. S. P., Lima, C. L. S., & Lourenço, L. de F. H. (2019b). 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*, 39(1), 287–294.
- Pereira, G. V. S., Pereira, G. V. S., Neves, E. M. P. X., Rego, J. A. R., Brasil, D. S. B., Lourenço, L. de F. H., & Joele, M. R. S. P. (2020). Glycerol and fatty acid influences on the rheological and technological properties of composite films from residues of *Cynoscion acoupa*. *Food Bioscience*, 38, 100773.
- Pereira, G. V. S., Pereira, G. V. S., Neves, E. M. P. X., Albuquerque, G. A., Rego, J. A. R., Cardoso, D. N. P., Brasil, D. S. B., Joele, M. R. S. P. (2021). Effect of the Mixture of Polymers on the Rheological and Technological Properties of Composite Films of Acoupa Weakfish (*Cynoscion acoupa*) and Cassava Starch (*Manihot esculenta C.*). *Food and Bioprocess Technology*, 14:1199–1215.
- Pires, C., Ramos, C., Teixeira, G., Batista, I., Mendes, R., Nunes, L., & Marques, A. (2011). Characterization of biodegradable films prepared with hake proteins and thyme oil. *Journal of Food Engineering*, 105(3), 422–428.
- Podshivalov, A., Zakharova, M., Glazacheva, E., & Uspenskaya, M. (2017). Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1162–1172.
- Rego, J. A. R., Costa, M. L. C., Brasil, D. S. B., Cruz, J. N., Costa, C. M. L., Santana, E. B., Furtado, S. V., & Lope, A. S. (2020). Characterization and Evaluation of

- Filmogenic, Polymeric, and Biofilm Suspension Properties of Cassava Starch Base (*Manihot esculenta* Crantz) Plasticized with Polyols. *Brazilian Journal of Development*, 6(7), 50417–50442.
- Romani, V. P., Hernández, C. P., & Martins, V. G. (2018). Pink pepper phenolic compounds incorporation in starch/protein blends and its potential to inhibit apple browning. *Food Packaging and Shelf Life*, 15, 151–158.
- Romani, V. P., Olsen, B., Pinto Collares, M., Meireles Oliveira, J. R., Prentice-Hernández, C., & Guimarães Martins, V. (2019). Improvement of fish protein films properties for food packaging through glow discharge plasma application. *Food Hydrocolloids*, 87, 970–976.
- Romani, V. P., Prentice-Hernández, C., & Martins, V. G. (2017). Active and sustainable materials from rice starch, fish protein and oregano essential oil for food packaging. *Industrial Crops and Products*, 97, 268–274.
- Silva, J. L., Oliveira, A. C., Vieira, T C. R. G., Oliveira, G. A. P., Suarez, M. C., Foguel, D. (2014). High-Pressure Chemical Biology and Biotechnology. *Chemical Reviews*, 114(14), 7239–7267.
- Stevens, J. R., Newton, R. W., Tlusty, M., & Little, D. C. (2018). The rise of aquaculture by-products: Increasing food production, value, and sustainability through strategic utilization. *Marine Policy*, 90, 115–124.
- Sukhija, S., Singh, S., & Riar, C. S. (2016). Analyzing the effect of whey protein concentrate and psyllium husk on various characteristics of biodegradable film from lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome starch. *Food Hydrocolloids*, 60, 128–137.
- Sun, Q., Sun, C., & Xiong, L. (2013). Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 630–637.
- Sun, Q., & Xiong, C. S. L. (2014). Functional and pasting properties of pea starch and peanut protein isolate blends. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 1134–1139.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2011). Roles of lipid oxidation and pH on properties and yellow discolouration during storage of film from red tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle protein. *Food Hydrocolloids*, 25(3), 426–433.
- Valencia-sullca, C., Atarés, L., Vargas, M., & Chiralt, A. (2018). Physical and Antimicrobial Properties of Compression-Molded Cassava Starch-Chitosan Films for Meat Preservation. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 1339-1349.
- Wu, C., Tian, J., Li, S., Wu, T., Hu, Y., Chen, S., Ye, X. (2016). Structural properties of

films and rheology of film-forming solutions of chitosan gallate for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 146, 10–19.

Zavareze, E. R., Halal, S. L. M., Telles, A. C., Prentice-Hernández, C. (2012). Filmes biodegradáveis à base de proteínas miofibrilares de pescado. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15, 53–57.

Zavareze, E. R., Halal, S. L. M., Silva, R. M., Dias, A. R. G., & Prentice-Hernández, C. (2014). 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*, 38(4), 1973–1981.

CAPÍTULO 4: Avaliação da biodegradação de filmes compostos de proteínas de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), ácido palmítico e amido (*Manihot esculenta*) e sua aplicação como revestimento em frutos pós-colheita.

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a biodegradação no solo e o comportamento de frutos pós-colheita revestidos proteínas miofibrilares liofilizadas (PML) extraídas de resíduos de peixe, ácido palmítico, amido de mandioca e glicerol. Foi realizada a eletroforese (SDS-PAGE) das PML para avaliar o tipo e a preservação das moléculas de proteínas após a extração. Foram utilizados três tipos de filmes: F1 (filme comercial - policloreto de vinila PVC), F2 (1% PML e 0,5% ácido palmítico) e F3 (1% PML, 2% amido e 30% glicerol). A biodegradabilidade dos filmes foi avaliada em solo durante 21 dias, acompanhada pela perda de massa percentual e por espectroscopia de infravermelho (FTIR/ATR). Para avaliar o efeito dos revestimentos no mamão foram realizados 4 tratamentos: controle (sem revestimento) e com os filmes F1, F2 e F3. Os frutos foram imersos nas soluções filmogênicas (SF), armazenados à temperatura 25 ± 2 °C e analisados até o estágio de maturação completa. Foram avaliados os atributos físicos, químicos e microbiológicos. O perfil eletroforético das PML identificou a presença de miosina e actina que são importantes para elaboração dos filmes. O estudo da biodegradabilidade indicou que os filmes F2 e F3 são biodegradáveis devido o percentual de perda de massa (%) e as alterações e deslocamento das bandas de amida no FTIR. Como esperado, o filme PVC (F1) não degradou. O tratamento controle e F1 tiveram a maturação mais acelerada e o revestimento F3 prejudicou a maturação natural dos frutos, ficando impróprio para o consumo ao final do experimento. O filme F2 apresentou o melhor desempenho, aumentando em 6 dias a vida útil dos frutos, prolongando a mudança para a cor amarela (*b), apresentou menor perda de massa e variação na firmeza, menor taxa de respiração e transpiração pelas análises químicas comparado aos demais tratamentos, sendo o filme mais indicado para ser aplicado como revestimento em frutos pós-colheita.

Palavras chaves: resíduos, proteínas de peixe, revestimentos biodegradáveis, biodegradação, revestimento de frutos, vida útil.

1. Introdução

O processamento de pescado gera a cada ano de 18 a 30 milhões de toneladas de resíduos com alta qualidade nutricional e baixo valor comercial, o que representa 50% da massa total processada nas indústrias (Muhammad et al., 2016). Estes resíduos e as embalagens sintéticas derivadas do petróleo descartados de forma inadequada, causam grandes prejuízos ambientais (Pereira et al., 2021b). Por tanto, o uso de materiais biodegradáveis, os resíduos da indústria de pesca, para produzir embalagens alimentícias é muito importante para evitar a degradação ambiental (Kaewprachu et al., 2018; Pereira et al., 2019a, 2019b; Pereira et al., 2020, 2021a; Neves et al., 2019).

A biodegradabilidade dos materiais ocorre quando estes são usados como nutrientes por um conjunto específico de microrganismos (bactérias e fungos) existentes no ambiente. Os microrganismos usam o polímero como substrato para o seu desenvolvimento, promovendo a quebra das ligações químicas primárias. Porém, necessitam de condições adequadas de temperatura, umidade, pH e disponibilidade de oxigênio, importantes para o desenvolvimento microbiano que determina a taxa de biodegradação do material (Colussi et al., 2017). A American Society for Testing and Materials (ASTM) tem proposto vários métodos de análise e acompanhamento da biodegradação dos polímeros em exposição a microrganismos em ambientes aeróbicos e anaeróbicos. Dentre os métodos propostos pela ASTM se destaca a norma ASTM G 160-03 (2004), que avalia a susceptibilidade microbiológica de um material não metálico em contato com o ambiente natural do solo (Araújo et al., 2015).

Além de serem considerados polímeros biodegradáveis, as proteínas e os carboidratos, bem como os lipídios, atendem aos requisitos para a formação de filmes. Geralmente, as proteínas fornecem estabilidade mecânica, os polissacarídeos importantes para controlar a transmissão de oxigênio e outros gases e os compostos hidrofóbicos para reduzir a transmissão de água em filmes (Sukhija et al., 2016). Além destes, diferentes compostos e aditivos podem ser incorporados aos filmes biodegradáveis, visando conferir propriedades de barreiras específicas. A permeabilidade ao vapor de água (PVA), por exemplo, é uma propriedade importante para a aplicação de filmes em frutos, e pode ser melhorada com a incorporação de substâncias hidrofóbicas como os ácidos graxos. E dependendo da composição os revestimentos podem atuar de forma específica na proteção dos frutos proporcionando uma atmosfera modificada, com redução da respiração e transpiração (Oliveira et al., 2014).

Os revestimentos podem ser aplicados ou formados diretamente nos alimentos por pulverização ou imersão (Hassan et al., 2018). A utilização de filmes/revestimentos biodegradáveis em frutos pós-colheita vem demonstrando grande potencial, devido ao baixo custo, além de proporcionar melhor conservação e prolongar a vida útil, pois geram uma atmosfera modificada, criando barreira semipermeável contra a água, oxigênio, umidade e movimento de solutos (Podshivalov et al., 2017).

O mamão apresenta elevado valor nutricional, rico em açúcares, minerais e compostos bioativos como os carotenoides, vitamina C e polifenóis (Reis et al., 2015), seus benefícios nutricionais a saúde são importantes e contribuem para o aumento de seu consumo. Porém, é um fruto climatérico, com altas taxas de transpiração e perda de massa. Apresenta metabolismo acelerado durante o amadurecimento devido ao etileno, portanto, os frutos senescem rapidamente e são suscetíveis a perdas pós-colheita, o que dificulta o armazenamento e comercialização por períodos prolongados (John et al., 2018). As perdas na fase pós-colheita podem ser devido a danos mecânicos, amadurecimento excessivo, desordens fisiológicas, além de doenças causada por fungos, podendo ser melhoradas com utilização de filmes ou revestimentos.

Alguns pesquisadores já utilizaram filmes com proteínas de peixe, gelatina, amido, goma arábica, quitosana e compostos hidrofóbicos como cera de abelha, óleo essencial, isolados ou combinados como revestimentos em frutos (Cortez-Vega et al., 2014; Matta et al., 2015; Oliveira et al., 2018; Ortiz-Duarte et al., 2019; Ferreira, Molina e Pelissari, 2020; Pellá et al., 2020; Pereira et al., 2021c). No entanto, não há estudos sobre a utilização de revestimentos biodegradáveis elaborados com proteínas de resíduos de peixes, amido de mandioca, ácido palmítico e glicerol em frutos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a biodegradação em solo de filmes compostos e sua utilização como revestimento de mamão “Golden” (*Carica papaya L.*) por imersão visando prolongar a vida útil desses frutos.

2. Material e métodos

2.1 Material

As matérias-primas utilizadas na elaboração dos filmes foram resíduos do processamento da filetagem de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), doados por uma indústria de peixe localizada em Belém-PA, e amido de mandioca (goma fresca, produzida por HM Ouro Branco, Santa Isabel- PA) adquirido em mercado local. Os

procedimentos legais referentes ao acesso ao patrimônio genético foram devidamente realizados, sendo feito o registro no SisGen sob o número de cadastro A5ACFA3.

No laboratório os resíduos de peixe foram higienizados com água clorada (5ppm) a 4°C/5 min, retiradas as peles, espinhas e outros materiais para obter a massa muscular, que foi embalada à vácuo e armazenada em freezer a -18 °C até sua utilização.

Para as análises de antioxidante, polifenóis e vitamina C foram utilizados os reagentes: Folin & Ciocalteu's Phenol e 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (Sigma Aldrich, USA), ácido gálico desidratado (Neon comercial, Brasil), carbonato de sódio (Isofar Indústria, Brasil) e o ácido oxálico cristal, ácido ascórbico-L, dicloroindofenol 2,6 sódico, álcool metílico, acetona (Êxodo científica, Brazil).

2.2 Obtenção das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)

A extração das PML foi realizada segundo metodologia de Limpan et al. (2012), adaptada por Pereira et al. (2021b). O músculo após ser triturado (Sire Cutter, Filizzola, Brasil) foi misturado manualmente (5 min) com solução de cloreto de sódio (Isofar Indústria, Brasil) a 50 Mm (proporção 1:3) e filtrado em tecido poliéster, realizado por três vezes. O material retido foi misturado na proporção 1:3 (músculo:solução ácido fosfórico a 0,05%) (Neon comercial, Brasil) a 4-5 °C e filtrado. Posteriormente, a massa muscular foi misturada com água destilada (1:3) a 4-5°C e centrifugada a 10.956 g/2 min (Multifuge X1R, Thermo Scientific, Alemanha) e novamente filtrada. Após estas etapas, o material obtido foi distribuído em bandejas de aço inoxidável, congelados a -22°C e liofilizados (L101 Liotop, Liobras, Brasil) a -60°C por 48 horas.

2.3 Padrão eletroforético das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)

As PML foram analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de acordo com o procedimento descrito por Laemmli (1970), utilizando gel de corrida a 8% e de empilhamento a 5%. Após a separação, as bandas foram reveladas com o corante de Coomassie Blue-R-250.

Para o cálculo dos pesos moleculares (PM) das PML, foi utilizada a equação $Y = 2,534 - 1,661 * x$ (Pereira et al., 2020), traçando o Log dos PM dos padrões versus a migração relativa (migração de cada banda da amostra/migração total do gel), com ajuda do pacote de software Statistica, Ultimate Academic versão 13.1, edição profissional (Statsoft South America Comércio de Software Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil) (Figura 1).

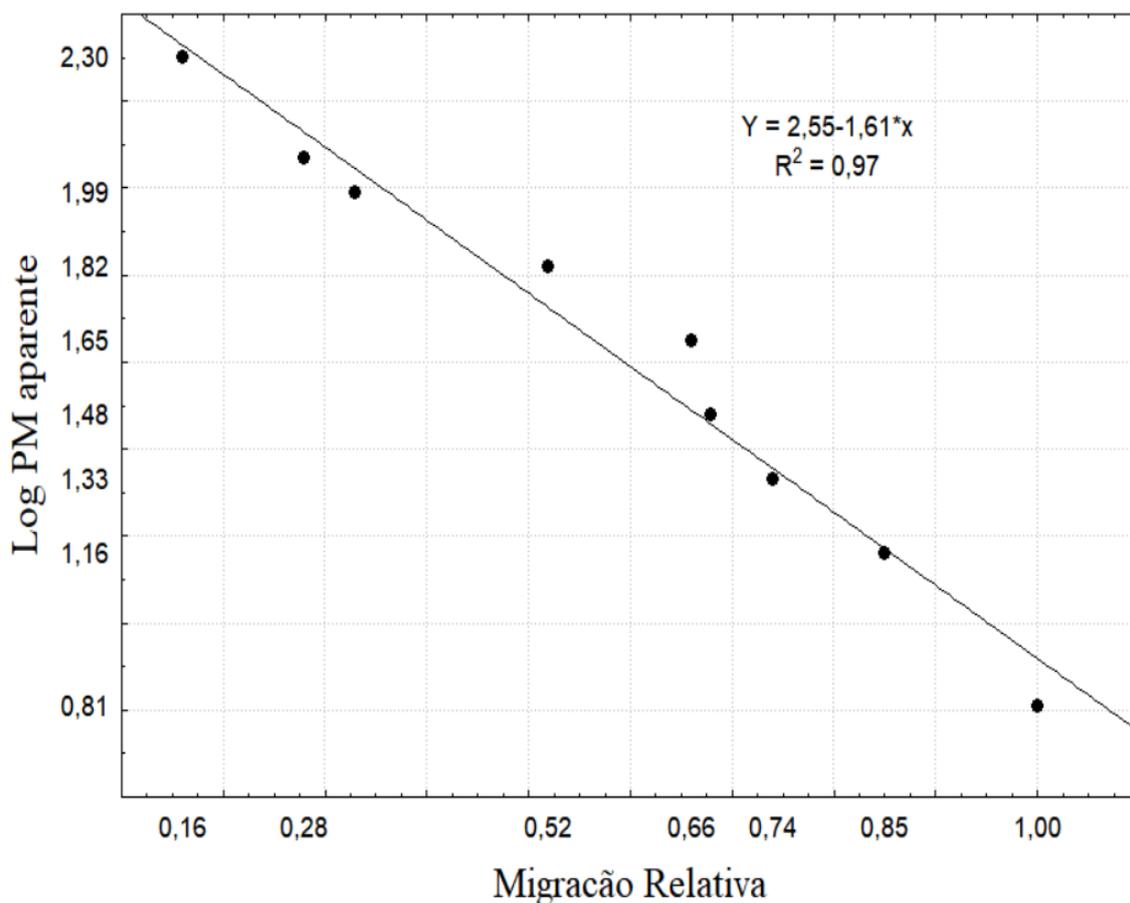


Figura 1. Gráfico de regressão linear (padrão) para obtenção dos PM das PML

2.4 Obtenção das soluções filmogênicas (SF) e filmes biodegradáveis

As etapas de obtenção das soluções e filmes seguiu o método proposto por Limpan et al. (2012). As concentrações das proteínas e amido utilizados foram baseadas em Pereira et al. (2020) e Pereira et al. (2021b). O pH das soluções filmogênicas com 1% proteínas e 0,5% ácido palmítico (F2) e 1% proteínas, 2% amido de mandioca e 30% de glicerol (F3) (Isifar Indústria, Brasil) foram ajustadas para 11,0 com NaOH 2M (Vetec Química, Brasil) antes da adição do ácido, amido e glicerol. As soluções foram homogeneizadas a 10.000 rpm/5 min com Turratec (TE-102, Tecnal, France) e em seguida, colocadas em banho-maria (TE-057, Tecnal, France) a 70 °C (F2) e 90 °C (F3) por 30 min. Para obtenção dos filmes, foram adicionados 120 ml de cada solução em recipientes de silicone (22 cm de diâmetro/2,5 cm de altura), secas em estufa incubadora D.B.O (0315M16, Quimis, Brasil) a 30°C por 17h (F2) e 20h (F3). Após a secagem, os filmes foram embalados (F200, Fastvac, Brasil) e armazenados a 25 °C. Para efeito de comparação nos testes de biodegradação e avaliação da vida útil dos frutos foi utilizado o filme comercial PVC Policloreto de vinila (F1) (Kiko Pack, Brasil).

2.5 Teste de biodegradação em solo dos filmes biodegradáveis

2.5.1 Perda de massa (%)

O experimento foi baseado em metodologia proposta por Martucci et al. (2015), com modificações. Foram utilizados potes plásticos (8 cm de diâmetro) com 180 g de solo (Plantas ornamentais, rancho fundo, Brasil). O solo apresentou pH 5,65, teor de matéria orgânica (CO) 8,9%, valores de nitrogênio total (N) 0,10%, carbono (C) 5,16% e relação C/N 4,91% (caracterização realizada na Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, Brasil). As amostras de filmes foram cortadas (2x3 cm) e secas a 60 °C, até peso constante (m_0). Posteriormente, foram colocadas em envelope de malha de alumínio (2,5x3,5 cm), enterradas nos potes a 4 cm da superfície e mantidas a 25 ± 2 °C e umidade relativa de $50\% \pm 2$ (Figura 2). Durante o experimento a umidade do solo foi mantida em 40%, adicionando água periodicamente. A cada três dias amostras eram removidas do solo, lavadas com água destilada e secas em estufa (TE-394/3, Tecnal, France) a 60 °C, até peso constante, durante 21 dias. O grau de degradação dos filmes em função da perda de massa (%PM), foi calculado de acordo com Equação 1.

$$PM = \left(\frac{m_0 - m_t}{m_0} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

Onde: PM é a perda de massa média, m_0 é a massa inicial, m_t é a massa restante (após a degradação).



Figura 2. Sistema de biodegradação dos filmes em solo. F1: filme PVC, F2: 1% PML e 0,5% ácido palmítico e F3: 1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol.

2.5.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com refletância total atenuada (FTIR/ATR)

Para verificar o grau de degradação dos filmes, nos dias 0, 3 e 12 dias, foi realizada a análise de espectroscopia na região do infravermelho em espectrômetro (630, Agilent

Cary, USA). Os espectros foram obtidos em amostras puras na faixa espectral de 650 a 4000 cm^{-1} , sendo coletadas 32 varreduras com resolução de 8 cm^{-1} .

Desenho esquemático de interações intra e intermoleculares dos filmes

O desenho esquemático das interações intra e intermoleculares entre os componentes, proteínas, ácido palmítico, amido e glicerol nas estruturas dos filmes, foi feito utilizando o Software ACD/LABS™ 2019.2.2.

2.6 Aplicação das soluções filmogênicas biodegradáveis

Foram adquiridos 100 frutos (*Carica papaya L.*) no estágio 1 de maturação com 0% de coloração amarela (Galo et al., 2014) na Ceasa Belém-Pa e transportados ao laboratório em caixas com furos de ventilação. Os procedimentos legais referentes ao acesso ao patrimônio genético foram devidamente realizados, sendo feito o registro no SisGen sob o número de cadastro A5ACFA3. Inicialmente, foi realizada uma seleção para garantir a uniformidade das matérias-primas. Posteriormente, foram lavados com água corrente e imersos em solução de hipoclorito de sódio (200 mg L^{-1} /10 min) e secos à temperatura ambiente. Os frutos foram separados em 4 lotes com 16 frutos para cada tratamentos: controle (sem revestimento), filme PVC (F1), proteínas de peixe e ácido palmítico (F2) e proteínas, amido de mandioca e glicerol (F3).

2.6.1 Revestimento dos frutos por imersão

Os frutos dos lotes (F2 e F3) foram imersos em 1.000 ml da solução filmogênica e colocados deitados para secar naturalmente por 1 min e novamente imersos. A secagem final dos revestimentos (polimerização) ocorreu durante três horas em temperatura ambiente. Os frutos do lote F1 foram envolvidos em apenas uma camada de filme PVC. Posteriormente, os frutos foram colocados em bandejas de polipropileno e mantidos à 23 $^{\circ}\text{C} \pm 0,45$ e umidade 46% $\pm 1,89$ para acompanhamento do processo de maturação.

2.6.2 Avaliação dos atributos de qualidade dos frutos revestidos

As análises foram realizadas nos dias, 0, 3, 6, 9, 13, 16 dias, visando acompanhar a maturação completa dos frutos e possível aparecimento de fungos visível e degradação das cascas.

2.6.2.1 Aspecto visual

Foi realizado uma avaliação visual das amostras dos tratamentos controle, F1, F2 e F3 até o surgimento de alteração e deterioração visível nas cascas.

2.6.2.2 Cor instrumental

A avaliação da cor instrumental foi realizada com a leitura dos parâmetros L^* , a^* , b^* , C^* , h° em colorímetro (Konica Minolta, CR 400) utilizando iluminante D65 (luz do dia), em 8 pontos superficiais, desde a região próxima ao pedúnculo até a base de cada fruto. O ΔE foi calculado para os frutos revestidos comparados ao controle (sem revestimento) e entre os tratamentos ao longo do armazenamento (ponto zero como padrão).

2.6.2.3 Perda de massa (PM)

A perda de massa dos frutos foi avaliada comparando o peso individual por dia de análise com o peso inicial. Os frutos foram pesados em balança digital e os resultados expressos em porcentagem de perda de massa, calculada conforme Equação 2 (Cortez-Vega et al., 2014).

$$PM = \frac{100 - (P_F \times 100)}{P_I} \quad (2)$$

Onde, PM = perda de massa (%); P_F = peso da massa fresca no dia da análise (g); P_I = peso da massa fresca no 1º dia de experimento (g).

2.6.2.4 Firmeza

A firmeza foi determinada utilizando-se um Penetrômetro digital portátil (PTR-300, INSTRUTHERM, Brasil), com ponteira cilíndrica de 8 mm de diâmetro. Em cada fruto foi realizado 12 medições, distribuídas nas regiões próxima ao pedúnculo, mediana e na base do fruto. Os resultados foram expressos em Newton (N) (Lucas et al., 2014).

2.6.2.5 Análises químicas

As análises de pH, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável em ácido cítrico (AT), ácido ascórbico (AA) e o cálculo da relação SST/AT foram realizadas conforme (AOAC, 1999).

2.6.2.6 Teor fenólico total

O conteúdo fenólico foi determinado usando o método de Singleton e Rossi (1965). Na elaboração do extrato foram utilizados 6 g de polpa macerada com 10 ml de álcool metílico com auxílio de pistilo, posteriormente foi filtrado a vácuo. Para a reação foram usados 0,5 ml da solução de extrato com 3,5 ml de água, que reagiu com 0,5 ml de Folin-Ciocalteu por 5 min sob agitação em vórtex, em seguida foi adicionado 0,75 ml de carbonato para reação por 30 min. A absorção de fenólicos totais foi determinada a 765 nm em espectrofotômetro (UV-M51, Bel Photonics, Brasil). Uma curva padrão foi estabelecida usando ácido gálico em metanol a 300mg/L. O resultado expresso em mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de peso fresco (mgGAE/100g).

2.6.2.7 Inibição da atividade antioxidante (IAA)

A IAA foi determinada conforme Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações propostas por Rufino et al. (2010). A absorbância foi medida a 515 nm após 5 minutos de reação. E a atividade antioxidante expressa em atividade de sequestro do radical livre DPPH (Inibição da atividade antioxidante (%)), calculado de acordo com Equação 3 (Reis et al., 2015).

$$\text{Inibição da atividade antioxidante (\%)} = \frac{(C-A)}{C} \cdot 100 \quad (3)$$

Onde: C é a absorbância do controle; A é a absorbância da amostra em solução.

2.6.2.8 Contagem de fungos filamentosos e leveduras

Foi realizada a contagem de fungos totais, em duplicata, conforme metodologia descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (Downes & Ito, 2001). A coleta nas superfícies dos frutos foi pela técnica de esfregaço. Os *swabs* (K41-0301A Olen, KASVI, Brasil) foram friccionados em toda a superfície dos frutos e transferidos para tubo de ensaio contendo 5 mL de peptona bacteriológica 0,1% (K25-611701, KASVI, Brasil). Posteriormente, utilizando a técnica de semeadura em superfície, foram inoculados (0,2 ml) de cada diluição (10^{-1} e 10^{-2}) em meio Agar Batata (K25-610102, KASVI, Brasil) acidificado com solução de ácido tartárico (10%) (Merck, Alemanha). As placas foram incubadas a 25°C por 7 dias, e o resultado das contagens expressos em UFC/fruto.

2.7 Análise estatística

Os resultados da biodegradação dos filmes e dos atributos de qualidade dos frutos foram avaliados estatisticamente usando a análise de variância unidirecional (ANOVA) e teste de comparação das médias de Fisher (LSD) ao nível de 5% ($p \leq 0,05$). Os cálculos foram feitos com o pacote Statistica, Ultimate Academic versão 13.1 (Statsoft).

3. Resultados e Discussão

3.1 Análise eletroforética das proteínas miofibrilares liofilizadas (PML)

Na Figura 3, observa-se as frações proteicas presentes na amostra PML (A) e os padrões proteicos de pesos moleculares conhecidos (B). Foram identificadas frações que caracterizam as proteínas miofibrilares, cadeia pesada de miosina-238 kDa (banda C) e actina-35 kDa (banda G) e subunidades predominantes de cadeias de alto peso molecular, como cadeia pesada de tropomiosina-27 kDa e troponina-24 kDa. De acordo com Zhang et al. (2018), cadeias pesadas de miosina (220kDa), actina (43kDa) e tropomiosina (38kDa), juntamente com outras bandas, que incluíam a troponina T (35kDa), cadeia leve 1 (21 kDa) e cadeia leve 2 de miosina (14 kDa), são as proteínas dominantes em músculos de peixes.

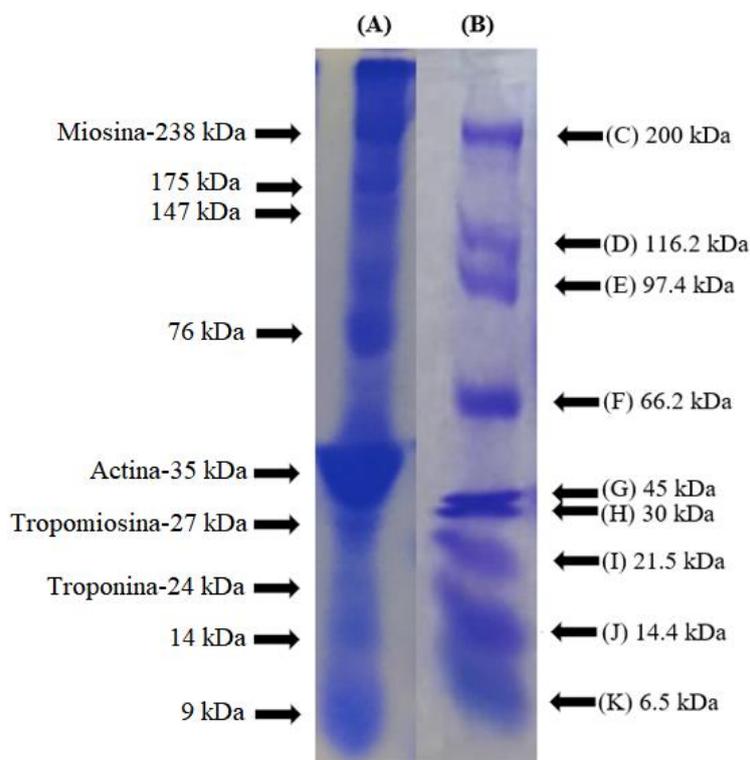


Figura 3. Eletroforese SDS-PAGE das PML (A); Padrão BIO RAD (B) - (miosina – 200 kDa); β -galactosidase (116.25 kDa); Fosforilase B (97.4 kDa); Albumina sérica (66.2 kDa); Ovalbumina (45 kDa); anidrase carbônica (31 kDa); inibidor de tripsina (21.5 kDa); lisozima (14.4 kDa) e aprotinina (6.5 kDa).

O padrão eletroforético obtido assemelhasse aos encontrados por Monterrey-Quintero e Amaral (2000) ao caracterizar proteínas miofibrilares extraídas de tilápia-do nilo, a Cuq et al. (1995) em proteínas miofibrilares de sardinha (*Sardinha pilchardus*) e An et al. (1994) trabalhando com amostras de surimi de merluza (*Merluccius productus*).

Zavareze et al. (2014) citam que do total das proteínas do músculo de peixes, 66-77% são proteínas miofibrilares, sendo que a actina e miosina, são responsáveis pelas propriedades gelificantes, retenção de água e emulsificação. Segundo Kaewprachu et al. (2016), quando não há padrão característico dessas proteínas, indica que a agregação ocorria por ligações fracas, como a interação de hidrogênio, que é interrompida quando a amostra é diluída em solução de SDS e uma baixa intensidade da banda de miosina é devido a degradação das proteínas. Portanto, nesta pesquisa pode-se concluir que houve preservação das moléculas de proteínas durante o processo de extração, favorecendo sua utilização como matéria-prima para a elaboração de filmes e revestimentos.

3.2 Biodegradação em solo

3.2.1 Perda de massa (PM)

As alterações macroscópicas na aparência física e no percentual de perda de massa estão apresentadas na Figura 4. A partir do 3º dia, as amostras dos filmes F2 e F3, respectivamente, apresentaram ($p \leq 0,05$) 40,43% e 63,85% de degradação. No 12º dia de experimento o filme F3 já apresentou o maior percentual (77,65%) de degradação, comparado aos filmes F1(0%) e F2 (58,99%) ($p \leq 0,05$). A degradação quase completa dos filmes F2 e F3 ocorreu com 21 dias, enquanto o F1 (PVC) continuou com a mesma massa ($p \leq 0,05$). Segundo Arancibia et al. (2014), esses filmes podem ser considerados rapidamente biodegradáveis devido ao curto período de perda de peso que pode estar relacionada ao grau de reticulação. De um modo geral, a perda de massa inicial é devido aos componentes de baixo peso molecular, como o glicerol e a assimilação por microrganismos como fungos ou bactérias dos aminoácidos presentes nas proteínas miofibrilares (material mais bio-suscetível) (Batista et al., 2020), bem como, grupamentos hidrofílicos presentes no amido.

A maior biodegradação do filme F3 comparado ao F2 até o 12º dia é devido ao consumo e quebra das cadeias do amido, proteínas e glicerol, devido sua alta hidrofiliabilidade. O componente hidrofóbico do filme F2, o ácido graxo palmítico, pode ter dificultado o ataque microbiano inicial. Segundo Martucci e Ruseckaite (2015), filmes hidrofílicos tendem a biodegradar mais rapidamente, devido a capacidade de captar água

dos materiais, necessária para a sua hidrólise química, crescimento microbiano e assimilação dos produtos de degradação. A maior taxa de degradação de material hidrofílicos, aumenta a atividade de água e promove o crescimento de comunidades microbianas que habitam o solo na faixa de 20 a 25 °C.

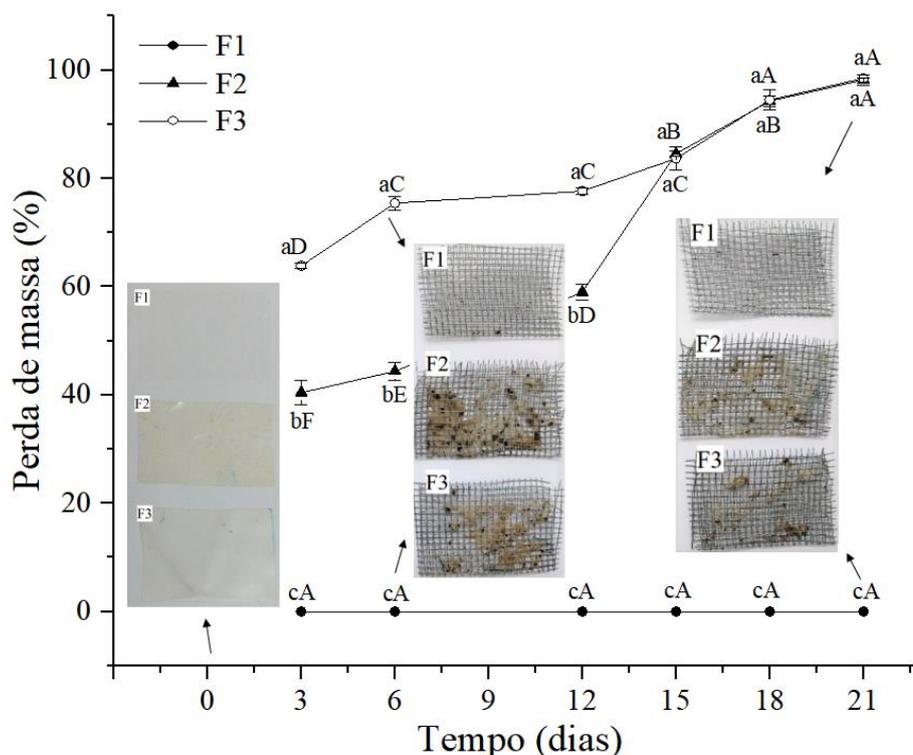


Figura 4. Percentual de perda de massa dos filmes. F1: filme PVC, F2: 1% PML e 0,5% ácido palmítico e F3: 1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol. Letras minúsculas iguais não diferem entre os tratamentos no mesmo dia e letras maiúsculas iguais não diferem na amostra durante os dias de análise pelo teste de Fisher LSD ($p \leq 0,05$).

Batista et al. (2020) ao estudarem a degradação de filmes de proteínas miofibrilares de aparas de filé (F-PAR) e de carne mecanicamente separada (F-MSM) de peixe, observaram redução de 30,0 e 37,7% da massa inicial no 2º dia, respectivamente, considerando 15 dias o tempo total de degradação com 83,5% para o filme F-MSM e 89,9% para F-PAR. Este resultado pode estar relacionado ao maior conteúdo lipídico ($p \leq 0,05$) das carcaças (MSM) em comparação às aparas (PAR), influenciando a menor interação do filme com a água e os microrganismos do solo.

Nguyen et al. (2016) avaliaram a biodegradabilidade de filmes de polietileno de baixa densidade com 40% de amido de mandioca (p/p) em solo natural e composto, e observaram que após 5 meses a perda de massa foi de apenas 9,45%, relacionada à porção

de amido. Sendo, a cadeia de carbono do polietileno apenas cortada em cadeias menores, confirmando que o polietileno é um polímero não biodegradável, devido à alta cristalinidade e peso molecular. Portanto, o descarte inadequado do polietileno, muito utilizado em embalagens de alimentos, causa sérios riscos ao meio ambiente.

Os estudos sobre a biodegradabilidade de embalagens em solo são fundamentais, pois o Brasil ainda não possui regulamentação. No entanto, a norma Europeia EN13432 (2000) exige que os plásticos biodegradáveis tenham 90% de suas massas fragmentadas em água, CO₂ e biomassa em seis meses (Batista et al., 2020). Assim, os dois filmes avaliados (F2 e F3) são considerados altamente biodegradáveis no solo.

3.2.2 Espectroscopia de infravermelho dos filmes biodegradáveis

Os resultados da análise de FTIR dos filmes F1, F2 e F3 durante o processo de biodegradação em solo (Figura 5) são equivalentes ao percentual de perda de massa, pois apenas os filmes F2 e F3 apresentaram modificações expressivas nos picos de FTIR, como deslocamentos e variações nas amplitudes quando comparados ao filme PVC (F1). Na Figura 5A encontram-se as principais bandas de absorção observadas no Filme F1, com picos próximos de 1735,7 cm⁻¹ (estiramento C=O) e de 1425 cm⁻¹, 959 cm⁻¹ e 610 cm⁻¹ originários da medição de PVC, de acordo com Application nº A421 (Shimadzu, 2020). E como já era esperado, os resultados da FTIR do filme F1 não indicaram degradação em solo durante os 21 dias, por ser um polímero sintético não biodegradável, que se decompõe lentamente, com efeitos prejudiciais à saúde e ao meio ambiente (Kaewprachu et al., 2018).

Os filmes F2 e F3 (Figura 5B e 5C, respectivamente) apresentaram ampla faixa da banda amida-A (estiramento da ligação N-H) e picos acentuados da banda amida-B (estiramento da ligação C-H e -NH₃⁺), representando a vibração no alongamento do NH e -NH₃⁺, acoplado à ligação de hidrogênio. Esta característica espectral indica a incorporação e a interação vibracional intermolecular dos grupos por pontes de hidrogênio das proteínas, ácido palmítico, amido e glicerol na formação dos filmes (Hoque, Benjakul, e Prodpran, 2011; Kaewprachu et al., 2016; Kanwate, Ballari e Kudre, 2019). No entanto, estes picos diminuíram com a biodegradação, demonstrando a metabolização ou quebra destes grupamentos pelos microrganismos do solo, diminuindo a intensidade de vibração destes estiramentos.

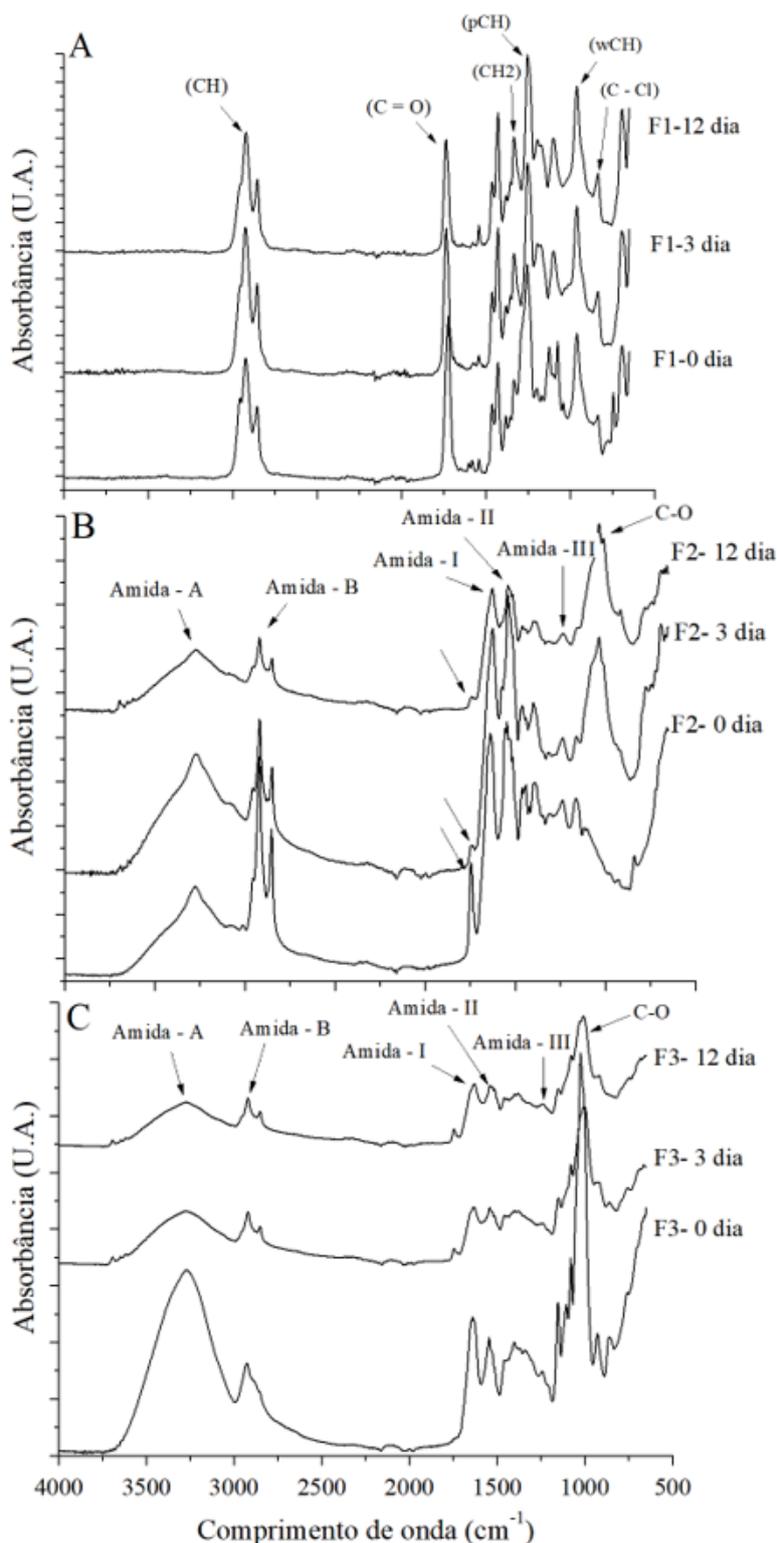


Figura 5. FTIR dos filmes compostos. (A) F1: filme PVC, (B) F2: 1% PML e 0,5% ácido palmítico e (C) F3: 1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol.

As amidas I (estiramento da ligação C=O), II (deformação angular de N-H e estiramento da ligação C-N) e III (alongamento C-N e flexão vibracional N-H) (Kaewprachu et al., 2018) nos filmes F2 e F3 (Figura 5B e 5C), também apresentaram

diminuição e deslocamento no número de onda do tempo 0 até o 12^o dia. De acordo com Fan et al. (2017), as bandas amídicas I e II são utilizadas para monitorar a conformação da estrutura secundária das proteínas. E essas baixas amplitudes podem estar relacionadas ao percentual de amido e ácido palmítico ainda presentes nos filmes, apresentando menor disponibilidade e vibração dos grupos C=O, N-H e C-N presentes nas proteínas.

No filme F3, o pico em torno de 1024 é devido a presença do plastificante (glicerol) e amido (Kaewprachu et al., 2018), o que explica sua alta intensidade no espectro inicial (Figura 5C), com diminuição ao longo da degradação, indicando consumo e quebra dos polímeros, principalmente o amido. No entanto, no filme F2 (Figura 5B), o pico em torno de 1035 surgiu após o período de degradação em solo, em função da oxidação da matéria orgânica, com aumento de intensidade da banda do estiramento C-O (estiramento da ligação C-O, Shriner e Fuson, 1983), provavelmente do oxigênio presente no processo aeróbico de metabolização dos microrganismos.

As modificações e deslocamento das bandas, como as amidas I, II e III nos espectros de FTIR (Figura 5B e 5C) indicam que os grupos funcionais (-NH) e o (C=O) das proteínas formavam ligações e/ou interações intermoleculares cruzadas, como pontes de hidrogênio ou interações dipolo-dipolo aleatórias com os grupos funcionais do ácido palmítico, amido e glicerol (Figura 6).

3.2.3 Possíveis interações inter e intermoleculares entre proteínas (PT), ácido palmítico (PA), amido (ST) e glicerol (GLY) nas estruturas dos filmes.

O desenho esquemático abaixo mostra as possibilidades de interações intermoleculares entre os componentes do filme F2 e F3, interações de hidrogênio intra e intermolecular são observadas (Figura 6). Os grupos funcionais presentes nas estruturas dos filmes e os componentes utilizados são capazes de atuar como doadores e receptores de hidrogênio para o estabelecimento de interações, que podem impactar nas propriedades dos filmes. Como visto na Figura 5, mudanças nas interações de hidrogênio estabelecidas entre PT e PA, ST e GLY e o metabolismo por microrganismos alteraram os espectros de FTIR dos filmes F2 e F3.

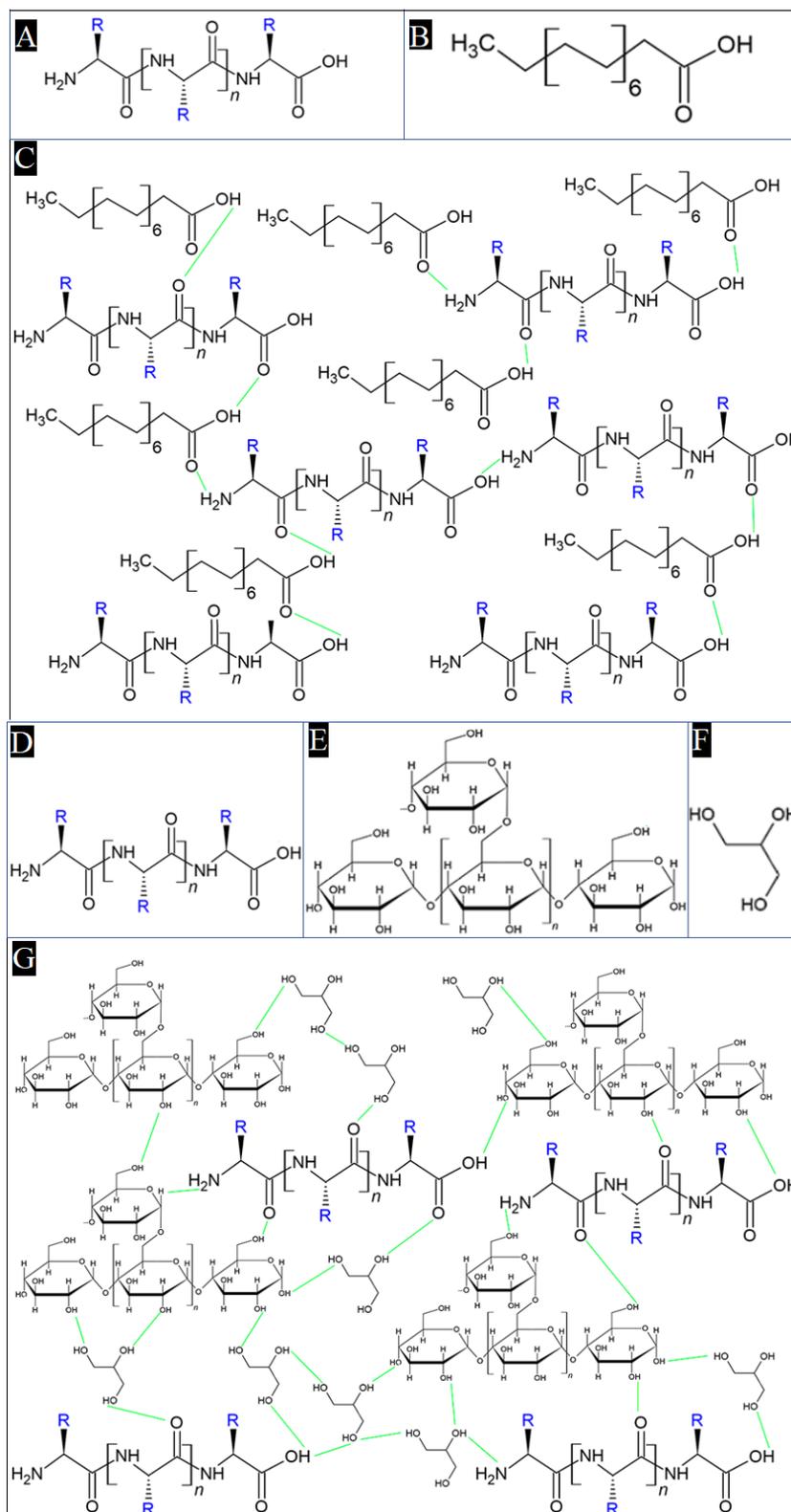


Figura 6. Representação esquemática das possíveis interações de hidrogênio estabelecidas no filme F2: estruturas das proteínas (A), ácido palmítico (B) e interação de hidrogênio (C). Filme F3: estruturas das proteínas (D), estruturas do amido de mandioca (E), glicerol (F) e interação de hidrogênio (G).

No filme F3, provavelmente o número de interações de hidrogênio é superior que no filme F2, devido o amido e glicerol, que possuem maior número de grupos receptores e doadores de interações de hidrogênio, o que facilitou sua metabolização em 12 dias (Figura 4). Portanto, estas interações relacionadas a biodegradabilidade são observadas apenas nos filmes F2 e F3, devido a natureza molecular mais propensa a interagir com moléculas hidrofílicas, permitindo que sejam degradadas mais rapidamente (Figura 4), quando comparados a polímeros sintéticos-PVC (Figura 5).

3.3 Avaliação da qualidade física dos frutos pós-colheita

3.3.1 Aspecto visual

A avaliação das amostras dos tratamentos controle e F1 foram realizadas até o 9º dia de armazenamento e dos tratamentos F2 e F3 até o 16º dia (Tabela 1), pois após esses períodos observou-se deterioração nas cascas. O filme F3 prejudicou o amadurecimento do mamão, com a casca verde até o final do armazenamento, impróprio para o consumo.

Tabela 1. Vita útil dos tratamentos controle e revestidos F1, F2 e F3.

DIAS	Controle	F1	F2	F3
0º	A 	A 	A 	A 
3º	B 	B 	B 	B 
9º	C 	C 	C 	C 
13º	D 	D 	D 	D 



F1: filme PVC, F2: 1% PML e 0,5% ácido palmítico e F3: 1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol.

3.3.2 Cor

A cor é um dos principais atributos para avaliar o processo de maturação do mamão, pois a cor da casca varia do verde ao amarelo (fruta madura) (Silva et al., 2018). De acordo com Murmu e Mishra (2017), os altos valores de L^* , negativos de a^* e positivos de b^* , indicam o brilho acentuado e cor verde com tendência ao amarelo na casca das frutas. Os revestimentos tiveram impacto direto na cor das frutas (Tabela 2-APÊNDICE A), apresentando influência significativa entre os tratamentos e nos dias de armazenamento.

Os frutos dos tratamentos controle (sem revestimento) e F1 apresentaram mudanças mais acentuadas ($p \leq 0,05$) até o 9º dia de armazenamento, com maior brilho, menos esverdeados (a^*) e mais amarelados (b^*), indicando maturação mais acelerada (Tabela 2-APÊNDICE A). As amostras do tratamento F3 mantiveram a cor até o último dia de armazenamento, devido o revestimento ter retardado o amadurecimento natural dos frutos (Tabela 1). O revestimento de proteínas e ácido palmítico (F2) foi considerado o mais eficiente no amadurecimento dos frutos (Tabelas 1 e 2-APÊNDICE A). Segundo Narsaiah et al. (2015), uma mudança mais lenta da cor em amostras revestidas pode ser atribuída à baixa taxa de respiração que, por sua vez, atrasa o amadurecimento e a senescência.

Cortez-Vega et al. (2014), observaram maior escurecimento oxidativo (L^*) com perda dos valores de croma, a^* e b^* em amostras controle comparadas às revestidas com isolado de proteínas de peixe com e sem argila organofílica (Montmorillonite K10). Murmu e Mishra (2017) encontraram valores mais baixos de a^* e maiores de L^* e b^* para

frutos embalados com PVC ($p \leq 0.05$) e sugeriram que a maturidade pode ser atribuída a retenção da concentração de O_2 e CO_2 no interior das embalagens.

As amostras dos tratamentos, controle e F1, apresentaram mudanças significativas durante o armazenamento nos parâmetros C^* e h° , estas alterações na intensidade de cor foi mais rápida quando comparada as amostras dos tratamentos F2 e F3 (Tabela 2-APÊNDICE A), portanto, a aplicação destes revestimentos nas superfícies dos frutos retardou o amadurecimento e preservou a cor inicial por mais tempo (Tabela 1), o que pode ser confirmado pela variação (ΔE) da cor dos frutos revestidos (F1, F2 e F3) em relação ao controle (Figura 7A). Os tratamentos F1, F2 e F3, apresentaram índice médio do ponto zero ao 9º dia de 14,11, 9,45 e 5,56, respectivamente, no qual os valores mais baixos dos revestimentos F2 e F3, indicam não proximidade com o fruto controle.

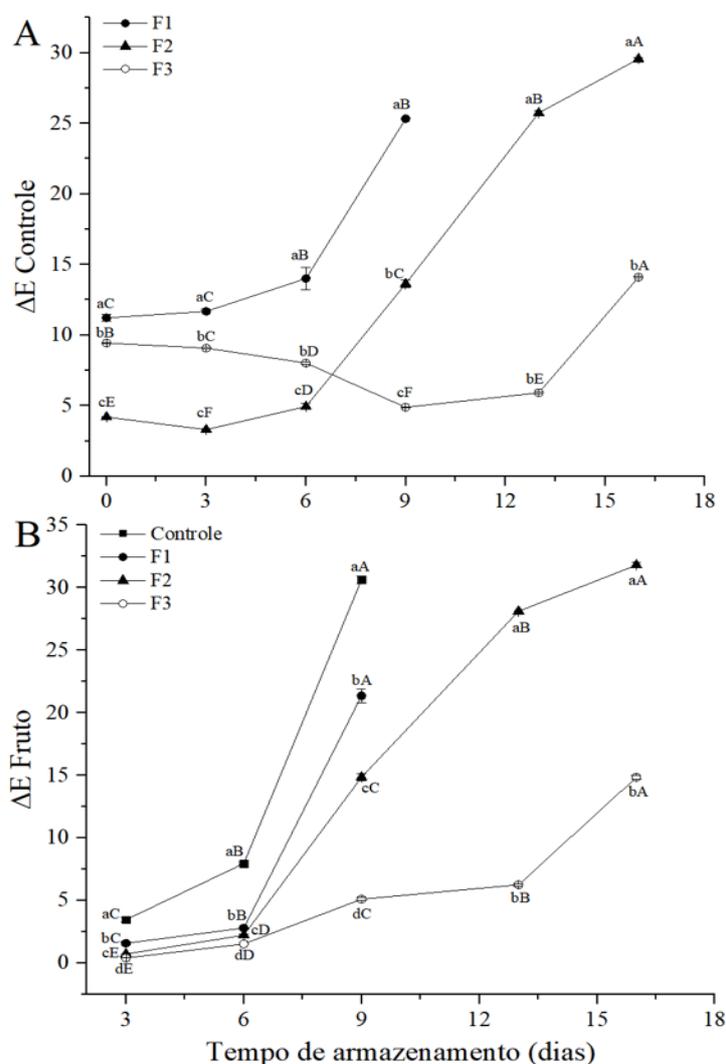


Figura 7. ΔE dos frutos revestidos em relação ao controle (A) e ΔE dos frutos em relação aos dias de análise (B). F1: filme PVC, F2: 1% PML e 0,5% ácido palmítico e F3: 1% PML, 2%

amido mandioca e 30% glicerol. Letras minúsculas iguais não diferem entre os tratamentos e letras maiúsculas iguais não diferem para o mesmo tratamento durante os dias de análise pelo teste de Fisher LSD ($p \leq 0,05$).

Já em relação ao ΔE dos tratamentos ao longo do armazenamento o índice médio do ponto zero ao 9º dia foi de 27,19 (Controle), 19,78 (F1), 14,14 (F2) e 4,70 (F3). Observa-se menores valores para F2 e F3, indicando menor variação e a efetividade destes revestimentos em retardar o amadurecimento (Figura 7B). E o ΔE no 16º para F2 foi de 31,10 comparado ao F3 (14,44), no entanto, este fruto não amadureceu por completo. Ferreira, Molina e Pelissari (2020) ao avaliar a maturação de Cagaita e mangaba do cerrado brasileiro com revestimento de amido de mandioca e farinha de babaçu também encontraram maior ΔE para frutos controle ($p \leq 0,05$), indicando o mais rápido amadurecimento.

3.3.3 Perda de massa (PM)

A PM é um atributo importante para avaliar a maturação de frutos e neste estudo variou ao longo do armazenamento ($p \leq 0,05$) de acordo com o tipo de revestimento (Figura 8), devido a diminuição da umidade. Segundo Murmu e Mishra (2017), esta variação é atribuída em grande parte à perda de água por transpiração, devido a diferença na pressão do vapor de água entre a atmosfera e a superfície dos frutos.

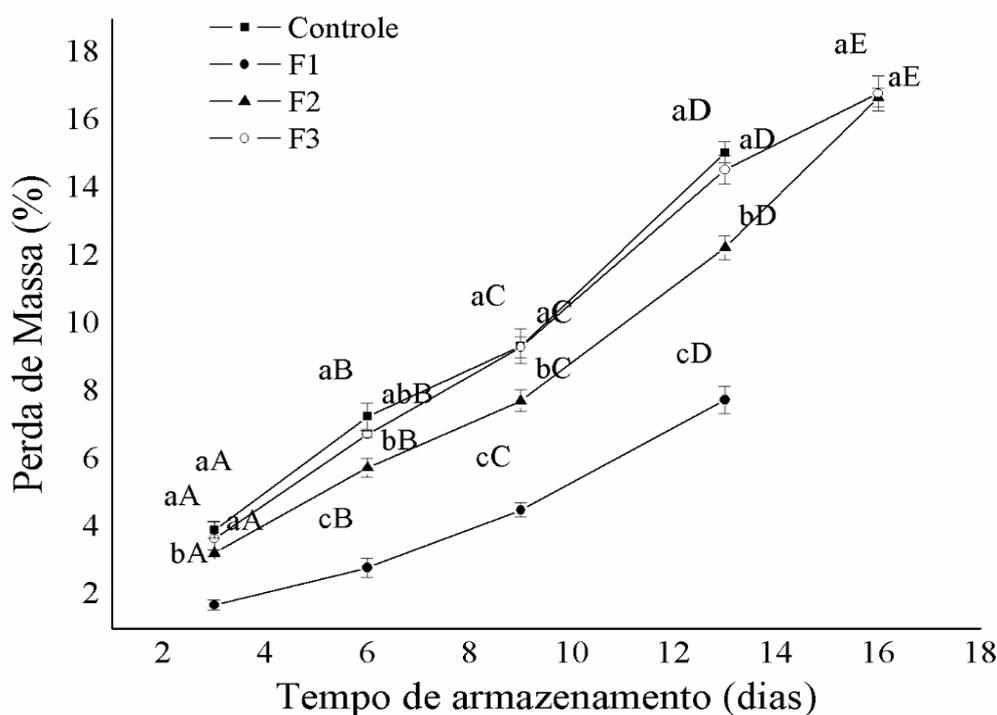


Figura 8. Percentual de perda de massa dos frutos. F1: filme PVC, F2: 1% PML e 0,5% ácido

palmítico e F3: 1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol. Letras minúsculas iguais não diferem entre os tratamentos e letras maiúsculas iguais não diferem para o mesmo tratamento durante os dias de análise pelo teste de Fisher LSD ($p \leq 0,05$).

A PM dos frutos revestidos com filme comercial PVC (F1) e controle foi avaliada somente até o 9º dia de armazenamento, devido amadurecimento mais rápido. Até o 9º dia o índice médio dos frutos dos tratamentos controle, F1, F2 e F3 foi de 139, 165, 138 e 154%, respectivamente. Para os tratamentos, F2 e F3 até o último dia (16º) o índice médio foi de 416 e 361%, respectivamente, sem diferença significativa entre si, no entanto o tratamento F3 não amadureceu de forma completa.

Os tratamentos controle e F2, apresentaram as menores PM, no entanto, o tratamento F2 foi considerado mais eficaz no processo de amadurecimento dos frutos (Tabela 1), o que está relacionado a menor taxa de transmissão de vapor de água (PVA) do filme devido a incorporação do ácido graxo palmítico. Este componente do filme ajudou a prolongar a transferência das moléculas de água, uma vez que a umidade migra mais rapidamente em matriz hidrofílica do que na fase lipídica (Oliveira et al., 2018). Cortez-Vega et al. (2014) ao avaliarem amostras de mamão minimamente processado com revestimento também observaram PM ao logo do armazenamento, no entanto, os frutos revestidos com solução de isolado de proteínas de peixe com e sem nanocompósito montmorillonite K10 apresentaram menor valor ($p \leq 0,05$) quando comparados ao controle.

O maior índice médio de PM ($p \leq 0,05$) do filme F1 até o 9º dia nos leva a concluir que o revestimento prejudicou de forma mais acentuada a transpiração devido a característica do PVC, e a atmosfera interna acelerou o amadurecimento (Tabela 1). Segundo Linke e Geyer (2013) as embalagens de PVC usadas em produtos frescos possuem menor permeabilidade ao vapor de água em relação à perda de umidade do que produtos embalados com materiais biodegradáveis. Pois, a maioria das moléculas de água evaporadas do produto não migram para o ambiente, aumentando a pressão parcial do vapor de água no interior da embalagem, o que causa a condensação no interior na superfície da fruta, resultando em deterioração e aumento do crescimento microbiano.

3.3.4 Firmeza (N)

A firmeza do fruto é um dos principais atributos de qualidade avaliado pelos consumidores no momento da compra, portanto, importante ser acompanhada no pós-colheita (Silva et al., 2018). Após o 3º dia de armazenamento, os frutos começaram a

apresentar uma perda ($p \leq 0,05$) gradual de firmeza tanto na casca como na polpa, independentemente do tratamento, porém, com maior intensidade nos frutos dos tratamentos controle e F1 (Tabela 3), devido amadurecimento mais acelerado. Os frutos de todos os tratamentos apresentaram perda de firmeza com índice médio da casca de 95,08% para o controle, 91,64% (F1), 88,64% (F2) e 27,60% F3 até o 9º dia. Neste mesmo período o índice de firmeza da polpa variou entre 99,74% (controle), 99,36% (F1), 97,06% (F2) e 54,26% (F3). Até o final do armazenamento (16º dia) os frutos do tratamento F2 apresentaram 90,13 e 98,94% e o F3 58,06 e 89,71% para casca e polpa, respectivamente.

Tabela 3. Firmeza dos tratamentos controle e revestidos F1, F2 e F3.

Firmeza da casca (N)				
Dias	Controle	F1	F2	F3
0	179,80±1,13 ^{bA}	181,75±1,06 ^{abA}	180,00±1,41 ^{abA}	183,00±0,71 ^{aA}
3	176,25±1,06 ^{bB}	178,00±1,41 ^{bB}	177,75±1,06 ^{bB}	182,50±0,71 ^{aA}
6	165,60±0,85 ^{dC}	169,00±0,71 ^{cC}	173,36±0,91 ^{bC}	180,00±1,27 ^{aB}
9	13,69±0,14 ^{dD}	22,70±0,14 ^{cD}	78,65±0,49 ^{bD}	169,25±1,06 ^{aC}
13	-	-	20,45±0,07 ^{bE}	132,50±0,71 ^{aD}
16	-	-	17,75±0,35 ^{bF}	76,75±0,35 ^{aE}
Firmeza da polpa (N)				
Dias	Controle	F1	F2	F3
0	110,61±1,12 ^{bA}	112,80±0,85 ^{aA}	111,60±0,85 ^{bA}	115,00±0,99 ^{aA}
3	107,60±0,85 ^{bB}	108,20±0,99 ^{bB}	109,85±0,92 ^{bB}	112,40±0,85 ^{aB}
6	60,50±0,71 ^{dC}	63,25±1,06 ^{cC}	74,35±0,92 ^{bC}	83,75±0,35 ^{aC}
9	1,58±0,04 ^{cD}	2,45±0,07 ^{cD}	9,85±0,2 ^{bD}	79,50±0,71 ^{aD}
13	-	-	3,25±0,07 ^{bE}	52,60±0,14 ^{aE}
16	-	-	1,18±0,04 ^{bF}	11,83±0,11 ^{aF}

F1: filme PVC, F2: 1% PML e 0,5% ácido palmítico e F3: 1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol. Letras minúsculas iguais não diferem entre os tratamentos e letras maiúsculas iguais não diferem para o mesmo tratamento durante os dias de análise pelo teste de Fisher LSD ($p \leq 0,05$).

O tratamento F3 garantiu maior resistência a danos mecânicos aos frutos, possivelmente devido a menor taxa de respiração que reduziu o processo de senescência. No entanto, este tratamento retardou de forma muito acentuada o processo natural de

amadurecimento dos frutos, tornando-os impróprio para o consumo até o final da avaliação (Tabela 1). Neste sentido, o filme F2 foi considerado o mais eficaz no processo gradual de amadurecimento e firmeza dos frutos (Tabelas 1 e 3), pois além de retardar o amadurecimento o tratamento desenvolveu as características sensoriais adequadas como cor e textura. A maior firmeza dos frutos pode ser devido à menor quebra da protopectina insolúvel em pectina solúvel durante o armazenamento, processo natural de amadurecimento (Antala et al., 2015). Segundo Narsaiah et al. (2015), a respiração é o principal indutor das alterações do amolecimento das frutas. E os revestimentos podem atuar como uma barreira para as trocas gasosas, reduzindo a taxa de respiração, e, portanto, o processo de amadurecimento. Cunha et al. (2018) encontraram menor ($p \leq 0,05$) firmeza em mamões controle comparados aos revestidos com própolis de plantas silvestres e alecrim verde e armazenados sob refrigeração.

3.4 Avaliação da qualidade química dos frutos pós-colheita

3.4.1 pH, acidez titulável (AT), sólidos solúveis totais (SST) (%) e índice de maturação (SST/AT).

Os valores dos resultados de pH, AT, SST e SST/AT apresentaram diferença significativa em relação aos dias de armazenamento e entre os tratamentos (Figura 9). O pH das amostras inicialmente aumentou e posteriormente reduziu durante o armazenamento (Figura 9A). Azene, Workneh e Woldetsadik (2014) indicaram que o aumento do pH é devido a diminuição dos ácidos orgânicos no processo de maturação de frutos e conversão destes em açúcares. E de acordo com Cunha et al. (2018), a queda dos valores de pH no final do período de armazenamento é devido as alterações na estrutura das pectinas, que resultam no amolecimento das frutas. Neste caso, os tratamentos, controle e F1, apresentaram quedas de pH no 9º dia de armazenamento, ao contrário dos tratamentos F2 e F3, que tiveram redução somente a partir do 13º dia, indicando que estes revestimentos retardaram o amadurecimento dos frutos. No entanto, no tratamento F3, os frutos não amadureceram, com maiores valores de pH até o final da maturação (Figura 9A).

Os tratamentos, controle e F1, apresentaram os picos máximos de acidez no 3º dia (0,072 e 0,077 g ácido cítrico/100 g fruto, respectivamente) e no 6º dia diminuiu para 0,047 e 0,043, respectivamente. Porém, as amostras do tratamento F2 somente obtiveram acidez máxima no 13º dia (0,068 g ácido cítrico/100 g fruto) (Figura 9B). Os frutos do tratamento F3, tiveram seu processo natural prejudicado pelo revestimento,

provavelmente devido ao maior percentual de polímeros na formação do filme, aumentando a espessura (Pereira et al., 2019a), o que dificultou o metabolismo natural dos frutos. Segundo Gol, Patel e Rao (2013) e Deng et al. (2017), o período de produção máxima de etileno está relacionado as tendências de aumento da acidez seguido de diminuição, que é um processo esperado devido à oxidação da matéria orgânica dos ácidos na respiração dos frutos climatéricos, indicando a mudança do estágio de maturação para a senescência.

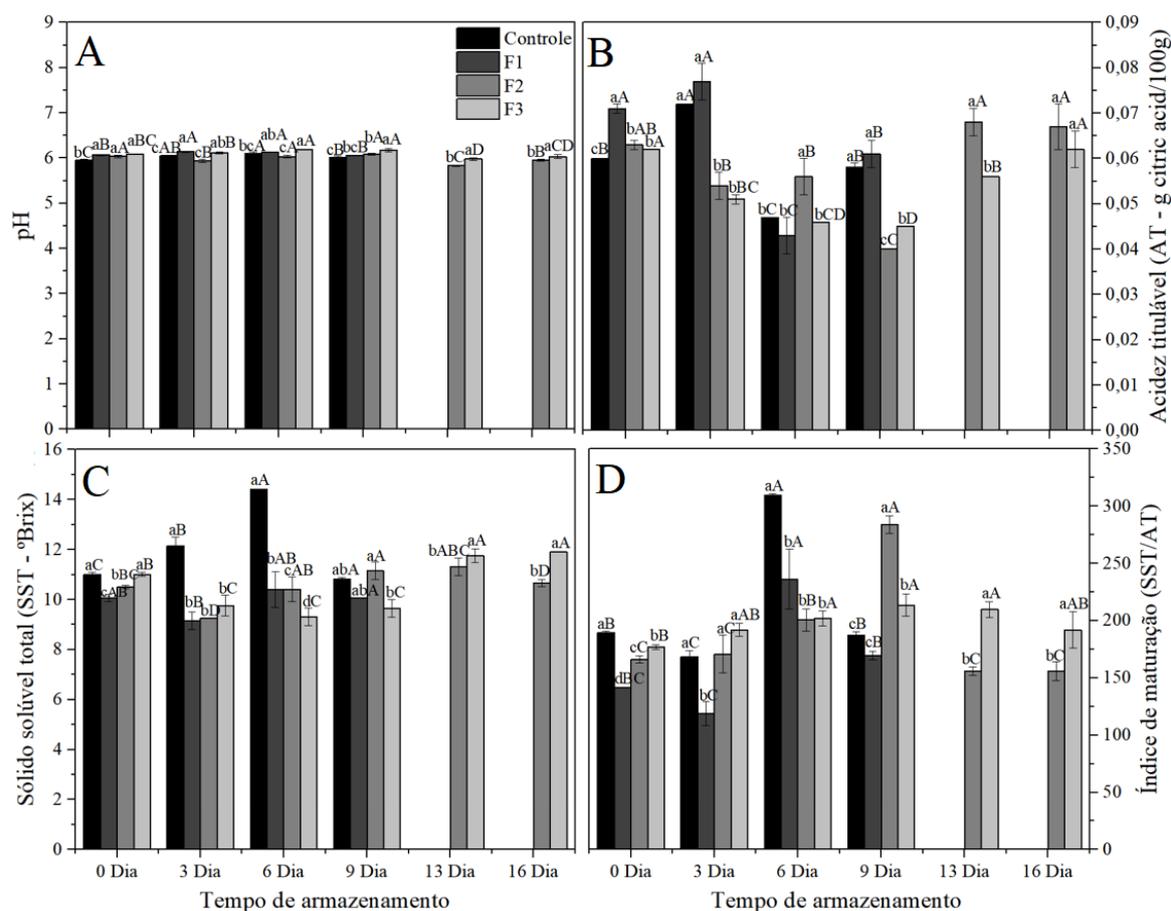


Figura 9. pH (A), AT (g ácido cítrico/100g) (B), SST (%) (C) e SST/AT (D) dos frutos. Tratamentos controle (sem revestimento), F1(filme PVC), F2 (1% PML e 0,5% ácido palmítico) e F3 (1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol). Letras minúsculas iguais não diferem entre os tratamentos e letras maiúsculas iguais não diferem para o mesmo tratamento durante os dias de análise pelo teste de Fisher LSD ($p \leq 0,05$).

O resultado da análise de SST demonstra aumento no valor seguido de diminuição em todos os tratamentos (Figura 9C), exceto para o tratamento F3. Porém, observa-se que os maiores valores de SST ocorreram em momentos diferentes. Nos frutos dos

tratamentos controle e F1 foi no 6º dia, já para F2 e F3 no 13º, permanecendo o F3 alto até o final do armazenamento (Tabela 1). O que pode estar relacionado à perda de água por transpiração ou degradação da parede celular, transformando os polissacarídeos em açúcares no período climatérico, que aumenta devido processos biossintéticos (Ferreira, Molina, e Pelissari 2020; Oliveira et al., 2018).

O declínio dos SST dos tratamentos controle e F1 no 9º dia, foi devido possivelmente ao consumo de açúcares como substrato para a respiração, uma vez que esses frutos estavam em estágio de maturação avançado, atingindo o início da senescência mais rápido. Pellá et al. (2020) ao avaliar goiabas revestidas com filmes de amido de mandioca, gelatina e caseína observaram aumento no teor de SST à medida que os frutos perdiam água, tornando sua polpa mais doce, e correlacionaram ao amadurecimento mais acelerado e a maior taxa de respiração.

Em relação ao índice de maturação (Figura 9D), observa-se que os revestimentos apresentaram influência significativa sobre os frutos ao longo do armazenamento. O tratamento controle e F1, apresentaram os picos máximos no 6º dia, e os frutos revestidos F2 e F3 no 9º dia. No entanto, o filme F3 (20%) foi o que apresentou menor ($p \leq 0,05$) valor no pico e percentual de variação de índice de maturação em relação ao F2 (71%) (Figuras 9D e Tabela 1). A relação SST/AT representa o balanço entre os açúcares e os ácidos dos frutos e contribui diretamente para a formação de sabor e aroma. Geralmente, frutos com maiores valores de SST/AT apresentam maior doçura e menor acidez, sendo preferidos pelos consumidores (Cunha et al., 2018; Viana et al., 2015). Isso implica que o pico climatérico dos mamões controle e F1 foi no 6º dia seguido de senescência precoce. Pellá et al. (2020) detectaram menor variação do índice de maturação em frutos revestidos com amido, gelatina e caseína em comparação aos frutos controle, e relataram que se o processo de amadurecimento for retardado, a relação SST/AT leva mais tempo para aumentar.

3.4.2 Inibição da atividade antioxidante (IAA), teor fenólico total e ácido ascórbico (AA)

A IAA, o teor fenólico e o AA apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos e ao longo dos dias de armazenamento (Figura 10). Sendo, os tratamentos controle e F1 com maiores valores no 6º dia para IAA e teor fenólico, enquanto o F2 apresentou pico no 13º dia e F3 no último. De acordo com Ali, Ong, e Forney (2014), o aumento de conteúdo fenólico nos frutos está relacionado a modificação da parede celular, liberando alguns compostos fenólicos conjugados, e o acúmulo destes no mamão

armazenado é consistente com sua capacidade de eliminar radicais de oxigênio e evitar o estresse oxidativo.

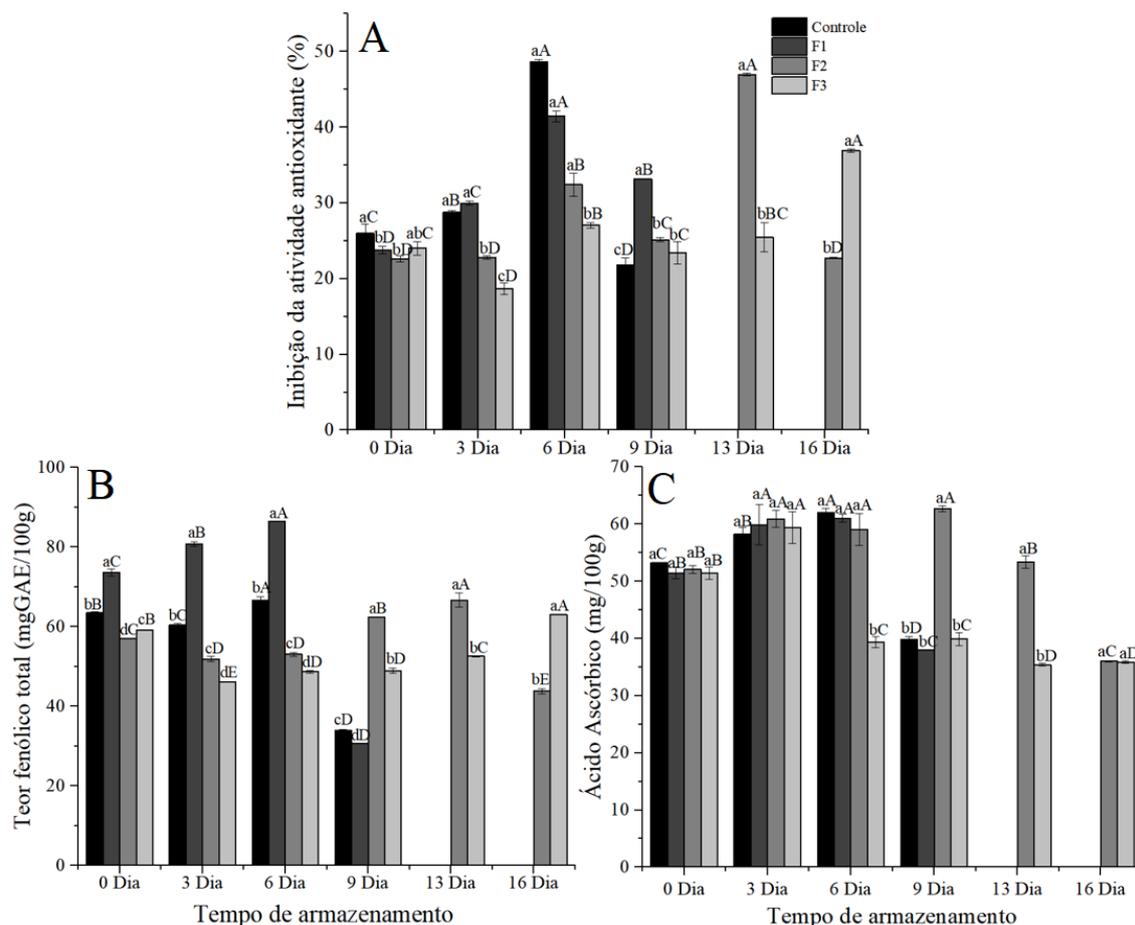


Figura 10. Valores da inibição da atividade antioxidante (A), teor fenólico total (B) e ácido ascórbico (C) dos frutos. Tratamentos controle (sem revestimento), F1(filme PVC), F2 (1% PML e 0,5% ácido palmítico) e F3 (1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol). Letras minúsculas iguais não diferem entre os tratamentos e letras maiúsculas iguais não diferem para o mesmo tratamento durante os dias de análise pelo teste de Fisher LSD ($p \leq 0,05$).

Os teores de AA em frutos aumentam até a maturação completa dos frutos com diminuição no início da senescência (Pellá et al., 2020). Neste caso, também os valores dos frutos dos tratamentos controle e F1 foram máximo no 6º dia de armazenamento e o F2 no 9º dia. Segundo Azene, Workneh e Woldetsadik (2014), é devido a redução da taxa de respiração causada pelas estruturas dos revestimentos que retardam o envelhecimento e depleção de ácidos. Já nos frutos do tratamento F3 os valores entre o 6º e 9º dia não apresentaram diferença significativa, porém, com valores inferiores aos demais

tratamentos. De acordo com Oliveira et al. (2018), o revestimento pode atrasar a biossíntese do ácido ascórbico que induz uma diminuição no teor de vitamina C.

Ong et al. (2013) ao avaliarem o perfil pós-colheita de mamões “Frangi”, relataram que o amadurecimento induziu aumento significativo do AA, de 90% em relação ao valor inicial, correlacionando com as alterações de amarelecimento e diminuição da firmeza. No presente estudo, os frutos dos tratamentos controle e F1 apresentaram primeiro os picos de AA, bem como a mudança de verde para o amarelo (Tabela 1) e diminuição da firmeza (Tabela 3). Os frutos avaliados até a maturação completa são considerados como frutas de alto teor de ácido ascórbico. Segundo Ramful et al. (2011), dividiu em três categorias: baixo (<30mg 100g⁻¹), médio (30 - 50mg 100g⁻¹) e elevado (>50mg 100g⁻¹).

Sancho, Yahia e González-Aguilar (2011) concluíram que as concentrações de compostos fenólicos, carotenóides e vitamina C estão correlacionadas com a capacidade antioxidante, portanto, o consumo de mamão amadurecido é melhor devido às suas maiores concentrações de compostos bioativos, que podem contribuir para melhorar a saúde humana. Segundo Ali, Ong, e Forney (2014), a atividade antioxidante em mamões aumenta à medida que o fruto amadurece, diminuindo ao final da maturação, e concluíram ainda que a capacidade antioxidante tem correlação mais forte com conteúdo fenólico total do que com o teor de ácido ascórbico dos frutos. Vale ressaltar que todos os valores das determinações físico-químicos em mamões dependem da espécie e cultivo, como adubação, solo e clima.

3.5 Contagem de fungos filamentosos e leveduras

Os resultados das contagens de fungos totais dos frutos durante os 16 dias de armazenamento a temperatura ambiente apresentam diferença ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos e no período de armazenamento (Tabela 4). A antracnose, doença causada pelo fungo (*Colletotrichum gloeosporioides*), é considerada uma importante doença pós-colheita no mamão, com relatos de perdas pós-colheita, trazendo danos severos aos produtores e consumidores. Estudos já estão sendo realizados para o controle deste fungo (Ayón-Reyna et al., 2017; Hernandez-Montiel et al., 2018), sendo sua incidência favorecida por temperaturas entre 25 e 28 C° (Rockenbach et al., 2015). Ainda não há na legislação um limite de aceitação para fungos filamentosos e leveduras para frutos inteiros (Brasil, 2019), porém, são utilizados para avaliar aspectos de qualidade e sanificação e afetam a qualidade sensorial dos alimentos.

Para avaliar o crescimento de fungos e a eficiência dos revestimentos do ponto zero até o final do armazenamento foi calculado o índice médio, que mostrou menores valores para os tratamentos F2 e F3 (7,18 e 2,11%, respectivamente) no 16º dia comparados ao controle e F1 (8,04 e 9,97%, respectivamente) no 9º dia. Observou-se a contribuição positiva dos revestimentos biodegradáveis adicionados de proteínas de peixe, ácido graxo palmítico e amido de mandioca sob imersão. A contagem de fungos e leveduras ficou em torno de 10^3 UFC/g até 19º dia de armazenamento, demonstrando uma barreira eficaz contra os fungos causadores da antracnose, aumentando a vida útil dos frutos. Posteriormente, não foram mais executadas as análises física e química, visto que no 13º e 19º dia foi possível notar a deterioração nas cascas dos frutos (Tabela 1).

Tabela 4. Resultado da contagem de fungos filamentosos e leveduras (*total plate count*) nos frutos

Tempo armazenamento (dias)	Log ₁₀ (UFC/fruto)			
	Controle	F1	F2	F3
0	3,36±0,08 ^{aC}	3,11±0,15 ^{bC}	3,34±0,09 ^{abC}	3,31±0,06 ^{abB}
6	3,43±0,07 ^{aC}	3,25±0,11 ^{abBC}	3,42±0,10 ^{aBC}	3,17±0,05 ^{bC}
9	3,63±0,06 ^{aB}	3,42±0,03 ^{bB}	3,46±0,05 ^{bBC}	3,34±0,02 ^{bB}
13	5,24±0,06 ^{aA}	5,18±0,01 ^{aA}	3,49±0,00 ^{bBC}	3,24±0,09 ^{cBC}
16	-	-	3,58±0,08 ^{aB}	3,38±0,03 ^{bB}
19	-	-	3,66±0,08 ^{aA}	3,63±0,04 ^{aA}

F1: filme PVC, F2: 1% PML e 0,5% ácido palmítico e F3: 1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol. Letras minúsculas iguais não diferem entre os tratamentos e letras maiúsculas iguais não diferem nos dias de armazenamento pelo teste de Fisher LSD ($p \leq 0,05$).

4. Conclusão

O padrão eletroforético das proteínas miofibrilares indica que o processo de extração das proteínas dos resíduos de peixe foi eficiente e a matéria-prima é promissora para a elaboração de filmes e/ou revestimentos.

O filme de proteínas de peixe (1%) e ácido palmítico (0,5%) (F2) foi o que apresentou melhor desempenho como revestimento nos frutos, retardando o amadurecimento de forma controlada e eficaz. Apresentou retardo no pico climatérico

para acidez, índice de amadurecimento, vitamina C, polifenóis e atividade antioxidante. Além de ser eficiente no controle da perda de massa (%), variação de firmeza da casca e polpa, no desenvolvimento fungos, com aumento de 6 dias na vida de prateleira comparado aos tratamentos controle e F1. O revestimento F3 (proteínas, amido de mandioca e glicerol) foi prejudicial ao amadurecimento natural dos frutos ficando impróprio para o consumo até o final da maturação. Por tanto, o revestimento F2 pode ser utilizado como embalagem para frutos climatéricos retardando sua vida útil de forma promissora para o produtor e consumidor.

Os filmes F2 e F3 elaborados são considerados biodegradáveis conforme a norma Européia EN13432 (2000), podendo contribuir para a diminuir o impacto ambiental que as embalagens plásticas sintéticas vêm causando.

Referências

- Ali, A., Ong, M. K., & Forney, C. F. (2014). Effect of ozone pre-conditioning on quality and antioxidant capacity of papaya fruit during ambient storage. *Food Chemistry*, *142*, 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.039>
- An, H., Weeransinghe, V., Seymour, T.A., Morrissey, M.T. (1994). Cathepsin degradation of pacific whiting surimi proteins. *Journal of Food Science*, *59*(5), 1013-1017. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb08179.x>
- Antala, D. K., Varshney, A. K., Davara, P. R., & Sangani, V. P. (2015). Modified Atmosphere Packaging of Guava Fruit. *Packaging Technology and Science*, *28*(6), 557–564. <https://doi.org/10.1002/pts.2110>
- Arancibia, M. Y., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2014). Release of volatile compounds and biodegradability of active soy protein lignin blend films with added citronella essential oil. *Food Control*, *44*, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.025>
- Arrieta, M. P., Fortunati, E., Dominici, F., López, J., & Kenny, J. M. (2015). Bionanocomposite films based on plasticized PLA-PHB/cellulose nanocrystal blends. *Carbohydrate Polymers*, *121*, 265–275. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.056>
- Ayón-Reyna, L. E., González-Robles, A., Rendón-Maldonado, J. G., Báez-Flores, M. E., López-López, M. E., & Vega-García, M. O. (2017). Application of a hydrothermal-calcium chloride treatment to inhibit postharvest anthracnose development in papaya. *Postharvest Biology and Technology*, *124*, 85–90.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.10.009>

- Azene, M., Workneh, T. S., & Woldetsadik, K. (2014). Effect of packaging materials and storage environment on postharvest quality of papaya fruit. *Journal of Food Science and Technology*, *51*(6), 1041–1055. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0607-6>
- Batista, J. T. S., Matias, C. S. A., Freitas, M. M. D. S., Nascimento, G. D. S., Vieira, L. L., & Lourenço, L. D. F. H. (2020). 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*, *00*(00), 1–15. <https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1720880>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Castelo Branco Melo, N. F., de MendonçaSoares, B. L., Marques Diniz, K., Ferreira Leal, C., Canto, D., Flores, M. A. P., ... Montenegro Stamford, T. C. (2018). Effects of fungal chitosan nanoparticles as eco-friendly edible coatings on the quality of postharvest table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, *139*(February), 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.01.014>
- Colussi, R., Pinto, V. Z., El Halal, S. L. M., Biduski, B., Prietto, L., Castilhos, D. D., ... Dias, A. R. G. (2017). Acetylated rice starches films with different levels of amylose: Mechanical, water vapor barrier, thermal, and biodegradability properties. *Food Chemistry*, *221*, 1614–1620. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.129>
- Cortez-Vega, W. R., Pizato, S., De Souza, J. T. A., & Prentice, C. (2014). Using edible coatings from Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) protein isolate and organo-clay nanocomposite for improve the conservation properties of fresh-cut “Formosa” papaya. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *22*, 197–202. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.12.007>
- Cuq, B., Aymard, C., Cuq, J.L., Guilbert, S. (1995). Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. *Journal of Food Science*, *60*(6), 1369-1374. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb04593.x>
- Cunha, M. C. da, Passos, F. R., Mendes, F. Q., Pigozzi, M. T., & Carvalho, A. M. X. de. (2018). Propolis extract from different botanical sources in postharvest conservation of papaya. *Acta Scientiarum. Technology*, *40*(1), 31074. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v40i1.31074>

- Deng, Z., Jung, J., Simonsen, J., & Zhao, Y. (2017). Cellulose nanomaterials emulsion coatings for controlling physiological activity, modifying surface morphology, and enhancing storability of postharvest bananas (*Musa acuminata*). *Food Chemistry*, 232, 359–368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.028>
- Ferreira, D. C. M., Molina, G., & Pelissari, F. M. (2020). Effect of Edible Coating from Cassava Starch and Babassu Flour (*Orbignya phalerata*) on Brazilian Cerrado Fruits Quality. *Food and Bioprocess Technology*, 13(1), 172–179. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02366-z>
- Gayosso-García Sancho, L. E., Yahia, E. M., & González-Aguilar, G. A. (2011). Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya (*Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. *Food Research International*, 44(5), 1284–1291. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.001>
- Gol, N. B., Patel, P. R., & Rao, T. V. R. (2013). Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 185–195. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.008>
- Hassan B, Chatha SAS, Hussain AI, Zia KM, Akhtar N (2018) Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1095–1107.
- Hernandez-Montiel, L. G., Gutierrez-Perez, E. D., Murillo-Amador, B., Vero, S., Chiquito-Contreras, R. G., & Rincon-Enriquez, G. (2018). Mechanisms employed by *Debaryomyces hansenii* in biological control of anthracnose disease on papaya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 139(August 2017), 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.01.015>
- Hoque, M. S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2011). Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Food Hydrocolloids*, 25(1), 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.05.008>
- John, A., Yang, J., Liu, J., Jiang, Y., & Yang, B. (2018). The structure changes of water-soluble polysaccharides in papaya during ripening. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 152–156. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.059>
- Joyce de Queiróz Barbosa Galo; Maria Luzenira de Souza; Jorge Ferreira Kusdra; Claudia Fabrino Machado Mattiuz. (n.d.). Conservação pós-colheita de mamão “Sunrise

- Solo” com uso de quitosana. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2), 305–312.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1590/0100-2945-194/13>
- Kaewprachu, P., Osako, K., Benjakul, S., & Rawdkuen, S. (2016). Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. *Journal of Food Science and Technology*, 53(4), 2083–2091.
<https://doi.org/10.1007/s13197-016-2170-7>
- Kaewprachu, P., Osako, K., Rungraeng, N., & Rawdkuen, S. (2018). Characterization of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1463–1473.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.011>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685.
<https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Linke, M., & Geyer, M. (2013). Condensation dynamics in plastic film packaging of fruit and vegetables. *Journal of Food Engineering*, 116(1), 144–154.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.11.026>
- Martucci, J. F., & Ruseckaite, R. A. (2015). Biodegradation behavior of three-layer sheets based on gelatin and poly (lactic acid) buried under indoor soil conditions. *Polymer Degradation and Stability*, 116, 36–44.
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2015.03.005>
- Matta, F., Maria, S., Caon, T., Ignacio, J., Helena, L., & Mei, I. (2015). Postharvest Biology and Technology Edible films and coatings based on starch / gelatin : Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 57–64.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.05.015>
- Monterrey-quintero, E. S., & Sobral, P. J. A. (2000). Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para elaboração de biofilmes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, 35(1), 179-189. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000100020>
- Murmu, S. B., & Mishra, H. N. (2017). Engineering evaluation of thickness and type of packaging materials based on the modified atmosphere packaging requirements of guava (Cv. Baruipur). *LWT - Food Science and Technology*, 78, 273–280.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.043>
- Narsaiah, K., Wilson, R. A., Gokul, K., Mandge, H. M., Jha, S. N., Bhadwal, S., & Vij,

- S. (2015). Effect of bacteriocin-incorporated alginate coating on shelf-life of minimally processed papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology*, *100*, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.10.003>
- Nguyen, D. M., Do, T. V. V., Grillet, A., Ha Thuc, H., & Ha Thuc, C. N. (2016). Biodegradability of polymer film based on low density polyethylene and cassava starch. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *115*, 257–265. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.09.004>
- Nogueira, D., & Martins, V. G. (2019). Use of Different Proteins to Produce Biodegradable Films and Blends. *Journal of Polymers and the Environment*, *27*(9), 2027–2039. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01494-z>
- Oliveira, L. F.; Ascheri, D. P. R.; & Ascheri, J. L. R. (2011) Desenvolvimento, caracterização de filmes comestíveis de fécula de mangarito (*Xanthosoma mafaffa* Schott) e sua aplicação em frutos de jaboticaba. *Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, *29*(2), 265–280.
- Oliveira, V. R. L., Santos, F. K. G., Leite, R. H. L., Aroucha, E. M. M., & Silva, K. N. O. (2018). Use of biopolymeric coating hydrophobized with beeswax in post-harvest conservation of guavas. *Food Chemistry*, *259*(November 2017), 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.101>
- Oliveirai, J. de, Silva, I. G., Silva, P. P. M. da, & Spoto, M. H. F. (2014). Atmosfera modificada e refrigeração para conservação pós-colheita de camu-camu. *Ciência Rural*, *44*(6), 1126–1133. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782014000600028>
- Ong, M. K., Forney, C. F., Alderson, P. G., & Ali, A. (2013). Postharvest profile of a Solo variety ‘Frangi’ during ripening at ambient temperature. *Scientia Horticulturae*, *160*, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.05.026>
- Ortiz-duarte, G., Pérez-cabrera, L. E., Artés-hernández, F., & Martínez-hernández, G. B. (2019). Postharvest Biology and Technology Ag-chitosan nanocomposites in edible coatings affect the quality of fresh-cut melon. *Postharvest Biology and Technology*, *147*(October 2018), 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.09.021>
- Palafox-Carlos, H., Yahia, E., Islas-Osuna, M. A., Gutierrez-Martinez, P., Robles-Sánchez, M., & González-Aguilar, G. A. (2012). Effect of ripeness stage of mango fruit (*Mangifera indica* L., cv. Ataulfo) on physiological parameters and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae*, *135*, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.11.027>
- Pellá, M. C. G., Silva, O. A., Pellá, M. G., Beneton, A. G., Caetano, J., Simões, M. R., &

- Dragunski, D. C. (2020). Effect of gelatin and casein additions on starch edible biodegradable films for fruit surface coating. *Food Chemistry*, 309(March 2019), 125764. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125764>
- Pereira, G. V. da S., Pereira, G. V. da S., Araujo, E. F. de, Xavier, E. M. P., Joele, M. R. S. P., & Lourenço, L. de F. H. (2019a). Optimized process to produce biodegradable films with myofibrillar proteins from fish byproducts. *Food Packaging and Shelf Life*, 21(October 2018), 100364. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100364>
- Pereira, G. V. S., Pereira, G. V. S., Neves, E. M. P. X., Joele, M. R. S. P., Lima, C. L. S. de, & Lourenço, L. de F. H. (2019b). 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*, 39(suppl 1), 287–294. <https://doi.org/10.1590/fst.03718>
- Pereira, G. V. S., Pereira, G. V. S., Neves, E. M. P. X., Rego, J. A. R., Brasil, D. S. B., Lourenço, L. de F. H., & Joele, M. R. S. P. (2020). Glycerol and fatty acid influences on the rheological and technological properties of composite films from residues of *Cynoscion acoupa*. *Food Bioscience*, 38, 100773.
- Pereira, G. V. S.; Pereira, G. V. S.; Neves, E. M. P. X.; Oliveira, L. C.; Pena, R. S.; Calado, V.; Lourenço, L. F. H. (2021a). Biodegradable films from fishing industry waste: Technological properties and hygroscopic behavior. *Journal of Composite Materials*, 55(28): 4169–4181.
- Pereira, G. V. S., Pereira, G. V. S., Neves, E. M. P. X., Albuquerque, G. A., Rego, J. A. R., Cardoso, D. N. P., Brasil, D. S. B., Joele, M. R. S. P. (2021b). Effect of the Mixture of Polymers on the Rheological and Technological Properties of Composite Films of Acoupa Weakfish (*Cynoscion acoupa*) and Cassava Starch (*Manihot esculenta* C.). *Food and Bioprocess Technology*. 14:1199–1215. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02622-1>.
- Pereira, G. V. S.; Pereira, G. V. S.; Oliveira, L. C.; Cardoso, D. N. P.; Calado, V.; Lourenço, L. F. H. (2021c). Rheological characterization and influence of different biodegradable and edible coatings on post-harvest quality of guava. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45:e15335. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15335>.
- Podshivalov, A., Zakharova, M., Glazacheva, E., & Uspenskaya, M. (2017). Gelatin/potato starch edible biocomposite films: Correlation between morphology and physical properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1162–1172. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.079>

- Ramesh, S., Leen, K. H., Kumutha, K., & Arof, A. K. (2007). FTIR studies of PVC/PMMA blend based polymer electrolytes. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 66(4–5), 1237–1242. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2006.06.012>
- Rana, S., Siddiqui, S., & Goyal, A. (2015). Extension of the shelf life of guava by individual packaging with cling and shrink films. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 8148–8155. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1881-5>
- Reis, R. C., Viana, E. de S., de Jesus, J. L., Lima, L. F., Neves, T. T. das, & Conceição, E. A. da. (2015). Compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades melhoradas de mamão. *Ciência Rural*, 45(11), 2076–2081. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140776>
- Rockenbach, M. F., Boneti, J. I., Cangahuala-Inocente, G. C., Gavioli-Nascimento, M. C. A., & Guerra, M. P. (2015). Histological and proteomics analysis of apple defense responses to the development of *Colletotrichum gloeosporioides* on leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 89, 97–107. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2015.01.003>
- Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121(4), 996–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). *Biological degradation of plastics: A comprehensive review*. 26, 246–265. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>
- Shriner, R.L., & Fuson, R.C. (1983). *Identificação Sistemática de Compostos Orgânicos*. Rio de Janeiro, RJ, Brazil: Publisher Guanabara Dois S.A.
- Silva, W. B., Silva, G. M. C., Santana, D. B., Salvador, A. R., Medeiros, D. B., Belghith, I., Misobutsi, G. P. (2018). Chitosan delays ripening and ROS production in guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *Food Chemistry*, 242, 232–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.052>
- Sousa, T. M., Hernandez, T., Cristina, P., Souto, D. S., Federal, U., & Grosso, D. M. (2012). Microrganismos patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitária em carne moída comercializada na cidade de barra do garças , MT. *Acta Veterinaria Brasilica*, 6(2), 124–130. <https://doi.org/10.21708/avb.2012.6.2.2646>
- Storck, C. R., Nunes, G. L., Oliveira, B. B. de, & Basso, C. (2013). Leaves, stalk, pell

- and seeds of vegetables: nutritional composition, utilization and sensory analysis in food preparations. *Ciência Rural*, 43(3), 537–543. Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/cr/v43n3/a8413cr6971.pdf>
- Viana, E. de S., Reis, R. C., da Silva, S. C. S., das Neves, T. T., & de Jesus, J. L. (2015). Avaliação físico-química e sensorial de frutos de genótipos melhorados de mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 45(3), 297–303. <https://doi.org/10.1590/1983-40632015v4535008>
- Zavareze, E. da R., Halal, S. L. M. El, Marques e Silva, R., Dias, A. R. G., & Prentice-Hernández, C. (2014). 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*, 38(4), 1973–1981. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12173>
- Zhang, L., Li, Q., Jia, S., Huang, Z., & Luo, Y. (2018). Effect of different stunning methods on antioxidant status, in vivo myofibrillar protein oxidation, and the susceptibility to oxidation of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during 72 h postmortem. *Food Chemistry*, 246(October 2017), 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.140>

APÊNDICE A - Dados de cor dos frutos analisados.

Tabela 2. Cor dos tratamentos controle e revestidos F1, F2 e F3.

Parâmetros	Tempo de armazenamento (dias)					
	D0	D3	D6	D9	D13	D16
L*						
Controle	57,31±0,66 ^{bD}	60,11±0,27 ^{bC}	64,24±0,06 ^{aB}	74,48±0,19 ^{aA}	-	-
F1	62,58±0,48 ^{aD}	63,68±0,29 ^{aC}	64,68±0,39 ^{aB}	72,71±0,06 ^{bA}	-	-
F2	56,67±0,44 ^{bE}	57,11±0,13 ^{cE}	58,18±0,16 ^{bD}	64,69±0,21 ^{cC}	69,63±0,14 ^{aB}	72,79±0,19 ^{aA}
F3	54,19±0,19 ^{cE}	54,29±0,12 ^{dE}	55,05±0,08 ^{cD}	58,64±0,44 ^{dC}	59,32±0,31 ^{bB}	63,86±0,016 ^{bA}
a*						
Controle	-17,65±0,27 ^{abA}	-16,35±0,41 ^{cB}	-15,96±0,18 ^{bB}	+3,71±0,18 ^{dC}	-	-
F1	-13,47±0,36 ^{cA}	-13,12±0,11 ^{dA}	-12,22±0,41 ^{cB}	+4,76±0,11 ^{cC}	-	-
F2	-18,17±0,46 ^{aA}	-17,92±0,09 ^{aA}	-16,71±0,17 ^{aB}	-14,14±0,20 ^{bC}	+3,22±0,02 ^{bD}	+5,68±0,07 ^{bE}
F3	-17,17±0,21 ^{bA}	-17,15±0,07 ^{bA}	-17,07±0,00 ^{aA}	-16,78±0,20 ^{aAB}	-16,51,026 ^{aB}	-15,42±0,16 ^{aC}
b*						
Controle	36,54±0,54 ^{aD}	38,08±0,05 ^{aC}	40,04±0,43 ^{aB}	57,75±0,03 ^{aA}	-	-
F1	30,62±0,26 ^{dC}	31,68±0,01 ^{dB}	31,94±0,13 ^{dB}	47,28±0,67 ^{bA}	-	-
F2	35,35±0,05 ^{bE}	35,85±0,06 ^{bD}	36,14±0,26 ^{bD}	47,18±0,27 ^{bC}	55,32±0,12 ^{aB}	59,77±0,18 ^{aA}
F3	33,98±0,30 ^{cE}	34,35±0,06 ^{cDE}	34,74, ±0,08 ^{cD}	36,44±0,30 ^{cC}	37,47±0,25 ^{bB}	45,23±0,19 ^{bA}
C*						
Controle	40,12±0,66 ^{bD}	41,14±0,10 ^{bC}	42,56±0,11 ^{abB}	57,89±0,12 ^{aA}	-	-
F1	32,67±0,15 ^{dB}	33,24±0,11 ^{dB}	33,58±0,87 ^{cB}	48,12±0,70 ^{bA}	-	-
F2	42,09±0,89 ^{aD}	42,53±0,10 ^{aD}	43,11±0,57 ^{aD}	48,35±0,06 ^{bC}	55,80±0,14 ^{aB}	60,19±0,15 ^{aA}
F3	38,23±0,07 ^{cF}	40,61±0,09 ^{cE}	41,62±0,20 ^{bD}	42,36±0,26 ^{cC}	42,81±0,25 ^{bB}	47,15±0,10 ^{bA}
h°						
Controle	116,86±0,21 ^{aA}	113,54±0,48 ^{cB}	112,79±0,13 ^{bB}	87,99±0,84 ^{dC}	-	-
F1	114,21±0,09 ^{cA}	112,69±0,28 ^{dB}	111,73±0,51 ^{bB}	92,15±0,61 ^{cC}	-	-
F2	115,53±0,70 ^{bA}	115,31±0,13 ^{bA}	114,97±0,82 ^{aA}	106,47±0,04 ^{bB}	92,58±0,26 ^{bC}	89,39±0,26 ^{aD}
F3	116,71±0,36 ^{aA}	116,36±0,11 ^{aAB}	115,83±0,03 ^{aBC}	115,27±0,14 ^{aC}	114,57±0,46 ^{aD}	112,44±0,30 ^{bE}

F1: filme PVC, F2: 1% PML e 0,5% ácido palmítico e F3: 1% PML, 2% amido mandioca e 30% glicerol. Letras minúsculas iguais não diferem entre os tratamentos e letras maiúsculas iguais não diferem para o mesmo tratamento durante os dias de análise pelo teste de Fisher LSD ($p \leq 0,05$).