



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

MAURÍCIO MADSON DOS SANTOS FREITAS

**Extrato polissacarídico de cogumelo *Pleurotus ostreatus* pode melhorar as
propriedades tecnológicas do filme de gelatina de peixe**

BELÉM
2020



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

MAURÍCIO MADSON DOS SANTOS FREITAS

**Extrato polissacarídico de cogumelo *Pleurotus ostreatus* pode melhorar as
propriedades tecnológicas do filme de gelatina de peixe**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará (UFPA), para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Lúcia de Fátima Henriques Lourenço

**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)**

F862e Freitas, Maurício Madson dos Santos

Extrato polissacarídico de cogumelo *Pleurotus ostreatus* pode melhorar as propriedades tecnológicas do filme de gelatina de peixe

/ Maurício Madson dos Santos Freitas. —
2020. 56 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em

Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2020.

1. Filme biodegradável. 2. Propriedades tecnológicas. 3. Gelatina de peixe. 4. Polissacarídeo. 5. *Pleurotus ostreatus*. I. Título.

CDD 664.02



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

MAURÍCIO MADSON DOS SANTOS FREITAS

DATA DA AVALIAÇÃO: ____ / ____ / _____

CONCEITO: _____

Banca examinadora:

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

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

Prof. Dra. Luiza Helena da Silva Martins
(FEA/ITEC/UFPA – Membro externo)

Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena
(FEA/ITEC/UFPA – Suplente)

BELÉM

2020

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora de Nazaré por conceber saúde, proteção e por não ter deixado fracassar nos momentos difíceis.

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

A Prof^ª Dr^ª Lúcia Lourenço que foi uma excelente orientadora, sempre confiando no meu trabalho e repassando todos os ensinamentos, sugestões, críticas que foram de fundamental importância durante essa jornada.

Aos membros da banca examinadora, Prof^ª. Dra. Regina Joele, Prof^ª. Dr. Luiza Martins e Prof^ª Dra. Heloisa, meus sinceros agradecimentos por toda colaboração e atenção.

A todos da família LAPOA, em especial a Natácia Silva, Cleidiane Araújo e Jaíra Batista por todo auxílio e conhecimento compartilhado.

Aos amigos que o PPGCTA me trouxe, em especial a Jézica, Mayara, Jhonatas, Saulo, Rafael, Robson, Ludinéia, Tatyane, Camile, Darly e tantos outros por tornarem essa caminhada mais leve.

A minha mãe Luiza, pela criação cheia de amor, carinho, conselhos, e por sempre apoiar minhas escolhas.

A minha família, em especial meus irmãos Mauro, Mailton, Denilda, Delmivete, Dinaely, Deane e Deize por sempre me apoiarem durante essa jornada, meu muito obrigado.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Cogumelo <i>Pleurotus ostreatus</i> | 17 |
| Figura 2. Curvas de níveis. A = permeabilidade ao vapor de água (PVA); B = resistência a tração (RT); C = Elongação (E)..... | 31 |
| Figura 3. Função desejabilidade para permeabilidade ao vapor de água, resistência a tração e alongação..... | 33 |
| Figura 4. Atividade antioxidante do extrato polissacarídico (POP) em diferentes concentrações..... | 34 |
| Figura 5. Peso molecular da gelatina de peixe (GA)..... | 35 |
| Figura 6. Espectros FTIR para amostras de gelatina de peixe (GA), extrato polissacarídico (POP) e do filme (POP-GA)..... | 36 |
| Figura 7. Resultado de XDR da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e filme otimizado (POP-GA)..... | 38 |
| Figura 8. Resultado de SEM: A) gelatina-GA, B) extrato polissacarídico-POP e C) Filme otimizado POP-GA..... | 39 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR)..... | 22 |
| Tabela 2. Valores obtidos no Delineamento Composto Central Rotacional para permeabilidade ao vapor de água, resistência a tração, alongação e condições otimizadas..... | 27 |
| Tabela 3. Efeitos lineares, quadráticos e de interações de polinômios de segunda ordem, associados a significância para cada resposta estudada (erro puro)..... | 28 |
| Tabela 4. Análise de Variância (ANOVA) para Permeabilidade ao Vapor de Água, Resistência a Tração e Alongação em função das variáveis independentes, teste F e R^2 | 29 |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 11 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 12 |
| 2.1 | Objetivo Geral..... | 12 |
| 2.2 | Objetivos Específico..... | 12 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 13 |
| 3.1 | Cenário da produção pesqueira..... | 13 |
| 3.2 | Gerenciamento de subprodutos da indústria de pesca..... | 14 |
| 3.3 | Gelatina..... | 15 |
| 3.4 | Polissacarídeo de cogumelo e seu potencial..... | 16 |
| 3.5 | Filmes biodegradáveis e suas propriedades..... | 19 |
| 3.5.1 | <i>Propriedades de barreira e mecânicas.....</i> | <i>19</i> |
| 3.5.2 | <i>Filme ativos com propriedades antioxidantes.....</i> | <i>20</i> |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 21 |
| 4.1 | Reagentes..... | 21 |
| 4.2 | Coleta, preparo e extração da gelatina..... | 21 |
| 4.3 | Obtenção do extrato polissacarídico (POP) liofilizado..... | 21 |
| 4.4 | Delineamento composto central rotacional (DCCR)..... | 22 |
| 4.5 | Preparação da solução filmogênica e obtenção do filme (POP-GA)..... | 23 |
| 4.6 | Caracterização da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e do filme (POP-GA)..... | 23 |
| 4.6.1 | <i>Determinação do peso molecular da gelatina por SDS-PAGE.....</i> | <i>23</i> |
| 4.6.2 | <i>Atividade antioxidante do extrato (POP) pela eliminação do radical DPPH.....</i> | <i>23</i> |
| 4.6.3 | <i>Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)...</i> | <i>24</i> |
| 4.6.4 | <i>Difração de raios X (XDR).....</i> | <i>24</i> |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4.6.5 | <i>Microscopia eletrônica de varredura (SEM)</i> | 24 |
| 4.6.6 | <i>Espessura do filme</i> | 24 |
| 4.6.7 | <i>Propriedades mecânicas do filme</i> | 24 |
| 4.6.8 | <i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA) do filme</i> | 25 |
| 4.6.9 | <i>Propriedades óticas do filme</i> | 25 |
| 4.6.10 | <i>Atividade antioxidante no filme otimizado (POP-GA)</i> | 26 |
| 4.7 | Análise estatística..... | 26 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 27 |
| 5.1 | Análise e ajustes de modelo..... | 27 |
| 5.2 | Curva de nível e definição das condições ótimas..... | 30 |
| 5.3 | Caracterização da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e filme (POP-GA)..... | 33 |
| 5.3.1 | <i>Atividade antioxidante do extrato polissacarídico (POP) pela eliminação do radical DPPH</i> | 33 |
| 5.3.2 | <i>Peso molecular da gelatina (GA)</i> | 35 |
| 5.3.3 | <i>Análise de grupos funcionais e ligações química</i> | 35 |
| 5.3.4 | <i>Análise de difração de raios-X (XDR)</i> | 37 |
| 5.3.5 | <i>Análise de microscopia eletrônica de varredura (SEM)</i> | 38 |
| 5.3.6 | <i>Propriedades óticas (Transparência e Opacidade) e atividade antioxidante (DPPH)</i> | 39 |
| 6 | CONCLUSÕES | 41 |
| 7 | LISTA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA | 43 |
| 8 | CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO | 45 |
| 9 | REFERENCIAS | 46 |

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do extrato polissacarídico (POP) obtido do cogumelo *Pleurotus ostreatus* nas propriedades tecnológicas de filmes de gelatina de peixe. As condições otimizadas deste estudo foram: 3.0% de gelatina (GA), 6.26% de plastificante e 1.0% de extrato polissacarídico (POP). Nessas condições foi possível obter valores de 5.30×10^{-11} g.m.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹ para PVA, 17.78% para resistência a tração e 15.56% para alongação. O filme otimizado (POP-GA) apresentou atividade antioxidante, características visuais e estruturais adequadas, conforme foi demonstrado pelas análises de FTIR, XDR e SEM. Portanto, as propriedades tecnológicas encontradas no filme com extrato polissacarídico e gelatina, apresentam potencial para a aplicação na indústria de alimentos, assim como na farmacêutica.

PALAVRAS-CHAVE: Filme biodegradável; Propriedades tecnológicas; Gelatina de peixe; Polissacarídeo; *Pleurotus ostreatus*;

ABSTRACT

The aim of this paper was to evaluate the influence of the polysaccharide extract (POP) obtained from the mushroom *Pleurotus ostreatus* on the technological properties of fish gelatin films. The optimization conditions of this study were: 3.0% gelatin (GA), 6.26% plasticizer and 1.0% polysaccharide extract (POP). Under these conditions it was possible to obtain values of 5.30×10^{-11} g.m.m⁻², s⁻¹.Pa⁻¹ of WPV, 17.78% of tensile strength and 15.56% of elongation. The optimal film (POP-GA) showed antioxidant activity, adequate visual and structural characteristics, as demonstrated by FTIR, XDR and SEM analyzes. Therefore, the technological properties found in the film with polysaccharide extract and gelatin, have potential for application in the food industry, as well as in the pharmaceutical industry.

KEYWORDS: Biodegradable film; gelatine; Mechanical properties and barrier; *Pleurotus ostreatus*

1. INTRODUÇÃO

O beneficiamento do pescado gera grandes quantidades de subprodutos durante as etapas de processamento, que muitas vezes são descartados provocando graves problemas ambientais. subprodutos como peles, cabeças, escamas, vísceras e nadadeiras alcançam cerca de 70% e somente 30% são de produtos beneficiados, sendo reflexo de um setor carente de tecnologias que visem seu aproveitamento (AGUIAR; LIMBERGER & SILVEIRA, 2015). A pele de peixe vem sendo utilizada como matéria prima para a extração de gelatina, que é uma proteína fibrosa proveniente da hidrólise térmica parcial do colágeno, que é composta por aproximadamente 19 aminoácidos, com alto teor de glicina, prolina e hidroxiprolina. (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002).

A gelatina apresenta alto potencial tecnológico para diversas aplicações, principalmente na indústria de alimentos, para produção de filmes biodegradáveis (NILSUWAN; BENJAKUL & PRODPRAN, 2018; HANANI; YEE & NOR-KHAIZURA, 2019; PRATEEPCHANACHAI et al., 2019). Filmes biodegradáveis são materiais que apresentam fina espessura, produzidos a partir de macromoléculas biológicas, como polissacarídeos, lipídeos e proteínas ou pela combinação destes. São desenvolvidos para reduzir os impactos ambientais causados pelo uso recorrente do plástico convencional derivado do petróleo (ARAÚJO et al., 2018).

A adição de compostos com propriedades bioativas na matriz de filmes biodegradáveis vem sendo amplamente estudada, pois podem contribuir com as propriedades mecânicas e de barreira, assim como, atribuir propriedades antioxidantes importantes para evitar a degradação oxidativa e consequentemente estender a vida de prateleira do alimento embalado (DOU et al., 2018; LUQMAN et al., 2018; KAEWPRACHU et al., 2018; CHENTIR et al., 2019; JRIDI et al., 2019).

Os polissacarídeos extraídos do cogumelo comestível da espécie *Pleurotus ostreatus* possuem diversas propriedades bioativas, tais como antioxidante (KHAN et al., 2017; MA et al., 2018), antitumoral (KONG et al., 2014; DEVI et al., 2015), antimicrobiano (AL-BAHRANI et al., 2017), antidiabético (ZHANG et al., 2016), anti-inflamatório (SILVEIRA et al., 2014), regulador do colesterol (ZHANG et al., 2017) e efeito contra o comprometimento cognitivo (ZHANG, YANG, JIN, YANG, & ZHANG, 2016).

A adição do extrato polissacarídico extraído do *Pleurotus ostreatus* em matrizes de filmes de gelatina pode melhorar as propriedades de barreiras e mecânicas, em função das

interações que podem ocorrer entre os polímeros-polímeros, além de contribuir com a atividade antioxidante. Desse modo, os filmes podem ter aplicabilidade na indústria de alimentos, farmacêutica, entre outras.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a influência do extrato polissacarídico (POP) obtido do cogumelo *Pleurotus ostreatus* nas propriedades tecnológicas dos filmes de gelatina de peixe.

2.2 Específicos

- Analisar as características estruturais da gelatina obtida da pele de pescada amarela *Cynoscion acoupa*;
- Avaliar as características estruturais e a atividade antioxidante do extrato polissacarídico;
- Otimizar a obtenção do filme de gelatina, plastificante e extrato polissacarídico;
- Avaliar as propriedades de barreira e mecânicas, microestrutura, e atividade antioxidante do filme otimizado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cenário da produção pesqueira

Segundo a Food and Agriculture Organization (FAO), a produção global de peixes atingiu cerca de 171 milhões de toneladas em 2016, com a aquicultura representando 47% do total desta produção. A produção oriunda da pesca extrativa manteve-se estagnada, apresentando pequena variação, entre 92,7 a 93,4 milhões de toneladas. Já em relação à aquicultura a produção variou de 70,3 a 73,8 milhões de toneladas. Segundo as perspectivas do estado da pesca mundial e da aquicultura, com as melhorias no modelo de pesca, o incentivo de avanços tecnológicos e o aumento da demanda de consumo de pescado, a produção pesqueira total no mundo deverá aumentar até o ano 2025 a 196 milhões de toneladas (FAO, 2016; FAO, 2018).

A China é o principal produtor e exportador de pescado e produtos de pesca. No caso da aquicultura produziu 45,5 milhões de toneladas, ou seja, mais de 60% da produção mundial. No Brasil, a pesca costeira pode ser realizada na extensão de 8.500 km da costa marinha, pois apresentam grande diversidade de ecossistemas. Durante os últimos anos, o principal aumento na produção total de pescado foi impulsionado pela aquicultura (FAO, 2016; WWF, 2016).

A produção brasileira de pescado foi de 1,4 milhão de toneladas, sendo a pesca marinha responsável por 803,2 mil toneladas e a aquicultura por 628,7 mil toneladas, o que lhe rendeu a 23ª e a 12ª colocação nos rankings mundiais, respectivamente. A maior parte da produção ficou concentrada na região Nordeste, seguida das regiões Sul, Norte, Sudeste e Centro-Oeste, respectivamente. A produção da pesca marinha no Brasil se destaca pelas capturas de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*), corvina (*Micropogonias furnieri*), bonito-listrado (*Katsuwonus pelamis*), pescada-amarela (*Cynoscion acoupa*) e tainha (*Mugil spp.*) (FAO, 2016).

A pesca na região Norte é realizada no litoral dos estados do Pará e Amapá, a região é coberta por manguezais, e são fortemente influenciadas pela descarga do rio Amazonas. A região Norte é responsável por gerar 16,9% do total das capturas marinhas brasileiras. As estatísticas mostram que nessa região são exploradas, tanto em escala artesanal quanto industrial. As principais espécies são pescada-amarela (*Cynoscion acoupa*), pescadinha-gó (*Macrodon ancylodon*), pargo (*Lutjanus purpureus*), serra (*Scomberomorus brasiliensis*) e gurijuba (*Arius sp*) (WWF, 2016).

A pescada amarela *Cynoscion acoupa* é amplamente distribuída pelo litoral brasileiro, é uma das espécies nobres mais exploradas na costa norte. A sua carne possui grande valor comercial, e a bexiga natatória desta espécie também atinge altos valores no mercado internacional, que é utilizada como matéria prima para a elaboração de emulsificantes e clarificantes (WOLFF; KOCH & ISAAC, 2000; ALMEIDA et al., 2016).

Oliveira et al. (2017) avaliaram o comportamento do mercado nacional e da região Norte do Brasil, quanto à evolução da produção, consumo e balança comercial de pescado. Os resultados indicaram que a produção nacional de pescado tem crescido nas últimas décadas em função do desenvolvimento da aquicultura. Sendo que as principais regiões produtoras são Nordeste, Norte e o Sul, onde Santa Catarina é o estado de maior destaque, com o Pará ocupando o segundo lugar.

No entanto, quando o pescado passa pelas etapas de industrialização, que envolve a sua obtenção, conservação, processamento, embalagem, transporte e a comercialização, são gerados resíduos como (cabeça, vísceras, nadadeira, cauda, coluna vertebral, barbatana, escamas e restos de carne) que podem representar cerca de 20-80% da matéria-prima utilizada, variando conforme as espécies e o tipo de processamento (BROOKS, 2013).

3.2 Gerenciamento de subprodutos da indústria de pesca

Durante as etapas de beneficiamento do pescado são geradas quantidades significativas de subprodutos, que muitas das vezes são descartados no próprio meio ambiente, provocando graves problemas ambientais. Isto é reflexo de um setor carente de técnicas de processamento que visem o aproveitamento para a obtenção de co-produtos de qualidade, minimizando assim os impactos ambientais (AGUIAR; LIMBERGER & SILVEIRA, 2015; BATISTA et al., 2019).

Na indústria, quando se trata especificamente da etapa de filetagem, o rendimento do peixe capturado é de 30%, os outros 70% da matéria-prima são subprodutos, como cabeça, escama, vísceras, peles e cartilagem (BUENO, CRISTINA, & DIAS, 2011; GJERDE et al., 2012; MA et al., 2012; NETO & OSTRENSKY, 2013; AGUIAR, LIMBERGER, & SILVEIRA, 2015).

A destinação correta, como o aproveitamento de resíduos produzidos durante o beneficiamento do pescado, além de sanar o grande problema de destinação dos resíduos

orgânicos, material poluente e de difícil descarte, traz vantagens econômicas para a indústria, pois seu aproveitamento agrega valor a estes subprodutos, que antes não tinham valor e eram descartado (LEITÃO & FAVACHO, 2015; SILVA; BONNAS & SILVA, 2015). A pele de peixe, proveniente da etapa de beneficiamento do pescado, vem sendo utilizada como matéria prima para a extração de gelatina. Cerca de 30% dos resíduos que são gerados durante o processamento de peixe são peles, escamas e ossos que são ricos em colágeno, precursor da gelatina (BUENO; CRISTINA & DIAS, 2011).

3.3 Gelatina

A gelatina é uma proteína fibrosa proveniente da hidrólise térmica parcial do colágeno que possui a capacidade de formar géis físicos termoreversíveis. Sua obtenção geralmente é realizada a partir de peles e ossos de bovinos e suínos (BUENO; CRISTINA & DIAS, 2011). Na literatura são relatadas 19 variedades de colágeno, que são denominados de tipos I ao XIX. Com base na sua estrutura macromolecular, o colágeno pode ser dividido em três grandes grupos: a) colágeno fibroso estriado, o qual inclui os tipos I, II e III; b) colágeno não fibroso, que contém o tipo IV (ou colágeno da membrana basal); c) colágeno miofibrilar, que engloba os tipos VI e VII (matriz miofibrilar), V, IX e X (colágeno pericelular), e VIII e XI ainda não foram classificados (XIONG, 1997).

A unidade básica do colágeno é o tropocolágeno que é formado por três subunidades (cadeias de polipeptídeos), arranjadas em tripla hélice, que se entrelaçam em formato helicoidal, unidas por ligações de hidrogênio, formando uma molécula linear com 180nm de comprimento, 1,4 a 1,5nm de largura e massa molar de 360.000 Da. As moléculas de tropocolágeno são estabilizadas por interações químicas, como de Van der Waals, hidrofóbicas e eletrostáticas (PRESTES, 2013).

A gelatina é formada por cadeias proteicas simples resultante da desnaturação térmica ou degradação química e física das fibras proteicas insolúveis do colágeno, este é composto por aproximadamente 19 aminoácidos, com alto teor de glicina, prolina e hidroxiprolina. A mudança no conteúdo desses aminoácidos, principalmente a prolina e hidroxiprolina, acarreta em menor formação de pontes de hidrogênio da gelatina em soluções aquosas, ocasionando na redução da temperatura de geleificação, consequentemente nas suas propriedades tecnológicas (NORLAND, 1990).

Os aminoácidos prolina e hidroxiprolina são responsáveis pela estrutura secundária do colágeno e pela estabilidade da tripla hélice. Uma menor quantidade ou falta de hidroxiprolina faz com que o colágeno perca a conformação de tripla hélice quando submetido a elevação da temperatura. A gelatina possui algumas propriedades funcionais que são divididas em dois grupos: o primeiro grupo são as propriedades gelificantes (força do gel, viscosidade, espessamento, texturização e ligação de água) e o segundo grupo referem-se as propriedades de superfície, ou seja, formação e estabilização da emulsão, formação de espuma, formação de filme, coesão e adesão (SILVA, LOURENÇO & PENA, 2017).

Silva (2017), extraiu e caracterizou a gelatina da pele de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), e encontraram ponto de fusão de 23 °C, força do gel 244 g e viscosidade de 3,21 cP. Também avaliaram o perfil de aminoácidos da gelatina, onde verificou-se valores de 22,77, 13,69 e 9,02% para glicina, prolina e hidroxiprolina, respectivamente. Esses aminoácidos são importantes para estabilizar a estrutura da gelatina durante a formação do gel, conferindo assim melhores propriedades viscoelásticas, que é um fator importante para gelatinas.

Dessa forma, a gelatina apresenta alta potencial tecnológico para diversas aplicações, principalmente na indústria de alimentos, para produção de filmes biodegradáveis (NÚÑEZ-FLORES et al., 2012; YAO et al., 2017; NILSUWAN et al., 2018; SILVA et al., 2018). Na indústria farmacêutica, a gelatina é utilizada como transportador e/ou em mecanismos de liberação controlada de fármacos, baseada na fraca antigenicidade, biodegradabilidade, bioatividade, ótimos agentes gelificantes, cinética de liberação eficiente e rentabilidade (CARO et al., 2016; CEBI et al., 2016).

3.4 Polissacarídeo de cogumelo e seu potencial

O *Pleurotus ostreatus* também conhecido como cogumelo-ostra (Fig. 1) é o segundo cogumelo mais produzido e consumido pelo mercado mundial, sendo o mais popular na China. Essa espécie pode ser encontrada em florestas tropicais e subtropicais, e também pode ser cultivada artificialmente, pela facilidade de adaptação. Pode ser produzida com substratos simples que contenham celulose, hemicelulose e lignina, necessitando de um tempo curto de cultivo quando comparada com outras espécies de cogumelos (CARRASCO-

GONZÁLEZ; SERNA-SALDÍVAR & GUTIÉRREZ-URIBE, 2017; BELLETTINI et al., 2019).



Figura 1. Cogumelo *Pleurotus ostreatus*

Fonte: autor

O cogumelo-ostra é uma espécie de cogumelo comestível que é famoso pelo seu sabor agradável, sendo muito estudado e valorizado, por apresentar propriedades nutricionais e medicinais relevantes. Possuem grandes quantidades de proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais, e baixo teor de gordura (KONG et al., 2014).

Atualmente, a China é o principal produtor de cogumelo comestível, responsável por gerar cerca de 64% da produção mundial (CARRASCO-GONZÁLEZ; SERNA-SALDÍVAR & GUTIÉRREZ-URIBE, 2017). A produção de cogumelo usando diferentes resíduos é uma alternativa interessante do ponto de vista biotecnológico, pois além de agregar valor a estes subprodutos de baixo custo, podem contribuir com o meio ambiente, reciclando esses resíduos orgânicos, principalmente os que são gerados pela indústria agrícola.

Em diversos países do mundo já foram relatados estudos referente a produção de cogumelo comestível com diferentes tipos de resíduos, como é o caso da palha e bagaço de trigo (PANT; REDDY & ADHOLEYA, 2006), resíduos de azeitona para produção de azeite (RUIZ-RODRIGUEZ et al., 2010), palha de arroz e miolo de milho (CHANAKYA; MALAYIL & VIJAYALAKSHMI, 2015), serragem de bambu (YAMAUCHI et al., 2018), folhas de palmeira e óleo de palma (RIZKI & TAMAI, 2011).

O Brasil por dispor de grande biodiversidade, com inúmeras matérias-primas, acabam gerando grandes quantidades de resíduos durante o seu beneficiamento. Estes

resíduos podem ser utilizados como substrato para a produção de cogumelos, como relatados na literatura. Já foram utilizados na produção de cogumelo a palha de feijão, palha de milho, casca de café (DIAS et al., 2003), e subprodutos da agroindústria do óleo de palma (MORAIS et al., 2017). Assim, os cogumelos comestíveis vêm ganhando espaço considerável nos setores industriais, devido a seu valor nutricional, efeitos benéficos e sua capacidade de reciclar resíduos agroindustriais.

Os efeitos medicinalmente benéficos do *Pleurotus ostreatus* são bem conhecidos em todo o mundo, os principais compostos bioativos fúngicos que são responsáveis por esses efeitos benéficos, são os polissacarídeos (β -glucanos), peptídeos, proteínas, lectinas, compostos fenólicos, terpenoides e enzimas (CARRASCO-GONZÁLEZ; SERNASALDÍVAR & GUTIÉRREZ-URIBE, 2017).

Os cogumelos se destacam como importantes recursos naturais de agentes imunomoduladores e anticancerígenos. A maioria dos imunomoduladores dos cogumelos pertencem aos polissacarídeos, em particular os β -D-glucanos, complexos glicopeptídeo e proteoglicanos, responsáveis em ativar células efetoras imunológicas, tais como linfócitos, macrófagos, células T, células dendríticas (DCs) e células naturais Killer (NK), responsáveis pela imunidade inata e adaptativa, produzindo algumas modificações nas respostas biológicas (MORADALI et al., 2007; WASSER, 2011; REN; PERERA & HEMAR, 2012; KONG et al., 2014).

Os efeitos farmacológicos dos polissacarídeos geralmente variam de acordo com a sua estrutura, conformação, tamanho e peso molecular (LUO et al., 2018). No entanto, os estudos sobre a elucidação das estruturas dos polissacarídeos de cogumelos vêm sendo amplamente estudadas (LIU et al., 2014; MAITY et al., 2014; NANDI et al., 2014; SILVEIRA et al., 2014; CHEN et al., 2017), pois é importante para verificar o tipo e potencial dos mesmos e assim, indicar aplicações nos mais variados seguimentos, principalmente para a indústria alimentícia e farmacêutica.

Os polissacarídeos de cogumelos se destacam como importantes agentes a serem explorados pela indústria, visto que, já foram relatados trabalhos do uso de polissacarídeos de cogumelos na produção de probióticos com propriedades antitumorais e imunomoduladoras (SINGDEVSACHAN et al., 2016), e adjuvante de nano vacina e nano drogas (MORENO-MENDIETA et al., 2017; SUN et al., 2018).

3.5 Filmes biodegradáveis e suas propriedades

Com o uso recorrente de embalagens sintéticas derivadas do petróleo, buscou-se alternativas que visem a substituição ou redução das embalagens convencionais visando diminuir os impactos ambientais. Assim, surgiram as pesquisas voltadas para a produção de filmes biodegradáveis, os quais são materiais de fina espessura, produzidos a partir de macromoléculas biológicas como os polissacarídeos, lipídeos ou proteínas e tem como objetivo atuar como barreira a elementos externos, protegendo o alimento ou produto embalado (ARAÚJO et al., 2018).

Diversos pesquisadores desenvolveram filmes a partir de fontes naturais e renováveis, com o intuito de criar material semelhante ao plástico convencional, foram produzidos filmes de polissacarídeos como amido, celulose, quitosana, pectina (BONILLA et al., 2013; ESPITIA et al., 2013; CARVALHO et al., 2017), lipídeos (ceras) e proteínas (zeína e gelatina), (ALI et al., 2014; RIBEIRO et al., 2015; SILVA et al., 2018) como também combinação dessas matérias primas (LI et al., 2013; BAHRAM et al., 2014; TONGNUANCHAN; BENJAKUL & PRODPRAN, 2014; FAKHOURI et al., 2015).

3.5.1 Propriedades de barreira e mecânicas

As propriedades de barreira são definidas como a capacidade de resistir à absorção ou à evaporação de gases e vapores, à permeação de lipídeos e à passagem de luz (SARANÓPOULOS, 2002). A permeabilidade ao vapor da água, é muito importante pois influencia na proteção contra a ação de gases, luz, odores e vapor da água, constituindo assim, uma barreira entre o ambiente externo e o produto no interior (SARANTÓPOULOS, 2002). Filmes com alta permeabilidade ao vapor da água não devem ser utilizados para embalar produtos que não podem absorver água como, por exemplo, os desidratados (NÚÑEZ-FLORES et al., 2012).

As propriedades mecânicas dos filmes são parâmetros muito importantes, pois estão relacionadas com a resistência dos filmes. De acordo com Cuq (2002) as propriedades mecânicas dos filmes são influenciadas pela hidrofobicidade da película, comprimento da cadeia do polímero, ligações de hidrogênio e agente plastificante.

3.5.2 Filmes ativos com propriedades antioxidantes

O desenvolvimento de filmes biodegradáveis para serem utilizados na conservação de alimentos é economicamente viável, e tem sido objeto de vários estudos (SHAHBAZI et al., 2016; KUMAR; MITRA & HALDER, 2017). Os filmes ativos com propriedades antioxidantes podem ser utilizados para aumentar a vida útil dos produtos embalados, sendo uma das tecnologias mais promissoras para a preservação de alimentos sensíveis à oxidação (NUNES et al., 2018).

Pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de filmes se concentram em adicionar compostos na matriz a fim de melhorar suas propriedades físicas, mecânicas, de barreira, como também atribuir propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Os principais constituintes que são adicionados em filmes são os óleos essenciais e fixos (SHEN & KAMDEM, 2015; HAFSA et al., 2016; TONGNUANCHAN, BENJAKUL, & PRODPRAN, 2016; KIM, BEAK, & SONG, 2018; SILVA et al., 2018;), como também são incorporados outros compostos que são responsáveis pela atividade antioxidante como é o caso de antocianinas (URANGA et al., 2018), lupeol (PATEL et al., 2018), galato de epigallocatequina (NILSUWAN; BENJAKUL & PRODPRAN, 2018), extratos etanólicos de plantas (BONILLA & SOBRAL, 2016), óleo essencial de *Zataria multiflora* e monolaurina (MORADI et al., 2016), ácido protocatecúico (LIU et al., 2017), dentre outros.

A incorporação de substâncias com atividade antioxidante no filme, visa obter aplicabilidade na indústria, pois podem proteger os alimentos de elementos externos, evitando a degradação oxidativa, inibindo as reações de oxidação e, conseqüentemente estendendo a sua vida de prateleira (ATARÉS & CHIRALT, 2016; AHMED et al., 2017).

A adição de determinadas substâncias em filmes de gelatina é uma alternativa promissora, principalmente para indústria de alimentos e farmacêutica, que utilizam matrizes como veículo para transportar substâncias, através de mecanismo de liberação controlada. Estas substâncias têm atividade biológica no organismo, pois são compostos com atividade antioxidante, que inibem os radicais livres no organismo, sendo benéficos para a saúde (BANDO & TABATA, 2018; GRITSCH et al., 2018; HUANG et al., 2018; INOO; LIKITDECHAROJ & RATANAVARAPORN, 2018; ROCHA-GARCÍA et al., 2018; SHAMLOO et al., 2018; LUPINA et al., 2019).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Reagentes

Foram utilizados Dodecilsulfato de sódio (SDS) 95% e β -mercaptoetanol ($\geq 99\%$) (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) da empresa Loba Chemie, Mumbai, Índia. O marcador padrão de proteínas e Coomassie Blue R-250 foram adquiridos à Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA. O DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foi adquirido à Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Todos os outros reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico.

4.2 Coleta, preparo e extração da gelatina

As peles de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) foram coletadas na indústria de pesca localizada no município de Vigia, estado do Pará, Brasil, que foram acondicionadas em embalagens de polietileno e transportadas em caixas isotérmicas com gelo até o laboratório. Em seguida foram lavadas com água destilada e cortadas em 4 cm x 4 cm.

Para a extração da gelatina foi utilizada a metodologia proposta por Montero & Gómez-Guilén (2000), com algumas modificações. As peles foram adicionadas em Erlenmeyer contendo NaCl 0,6 M (10 min, 85 rpm) em NaOH 0,3 M (15 min, 85 rpm) e em CH₃COOH 0,02 M (60 min, 85 rpm) na razão 1/5 (p/v). A agitação foi realizada em incubadora Shaker (modelo Luca-223, Lucadema, Brasil). As peles foram lavadas em água destilada imediatamente após cada uma dessas etapas. Posteriormente, foi adicionada água destilada 1/5 (p/v) nas peles e mantidas a 60 °C por 12 h em banho termostatizado (modelo TE-057, Tecnal, Brasil). A solução aquosa obtida de gelatina foi filtrada em tecido (malha 70) para remover os resíduos.

4.3 Obtenção do extrato polissacarídico (POP) liofilizado

Foi adquirido 1 kg de cogumelos com umidade de 89% da espécie *Pleurotus ostreatus* de fornecedor certificado (Grupo MNS) Campo Grande Pilar do Sul/SP, Brasil. Os cogumelos foram armazenados a 4°C até a extração. Os cogumelos foram colocados em água quente na proporção 1:3 (m/v) por 3h, posteriormente a fase líquida foi separada do material sólido por filtração. A fase líquida foi concentrada em evaporador rotativo a 60 °C (Quimis – Q344B), e precipitado com etanol frio (4 °C) na proporção 1:3 (v/v). O precipitado foi ressuspenso em água destilada até a completa solubilização, em seguida foi desproteínado

pelo método Sevag, usando clorofórmio:n-butanol na razão 4:1 (v/v), por 3 vezes. O extrato foi precipitado com etanol frio a 4 °C na razão 3:1 (v/v), solubilizado em água e liofilizado.

4.4 Delineamento composto central rotacional (DCCR)

Para estabelecer a melhor combinação de gelatina de peixe (GA), plastificante (P) e extrato polissacarídico (POP) foi realizado um planejamento fatorial completo 2^3 , com 17 experimentos (Tab. 1), sendo 8 ensaios fatoriais (níveis ± 1), 3 no ponto central (nível 0) e 6 nos níveis axiais $\pm \alpha$. As variáveis independentes foram: concentração de gelatina (X1, %), concentração de plastificante (X2, %) e concentração de extrato polissacarídico (X3, %), que foram definidas através de testes preliminares. A permeabilidade ao vapor de água (Y1), resistência a tração (Y2) e porcentagem de alongação (Y3) são as variáveis dependentes. Os resultados desejados são: baixos valores de permeabilidade ao vapor de água e altos valores de resistência a tração e alongação.

Tabela 1. Delineamento composto central rotacional (DCCR).

| Ensaio | Codificados | | | Reais | | |
|--------|-------------|-------|-------|--------|---------|---------|
| | X1 | X2 | X3 | X1 (%) | X2 (%)* | X3 (%)* |
| 1 | -1 | -1 | -1 | 2.0 | 1.28 | 0.5 |
| 2 | -1 | -1 | +1 | 2.0 | 1.28 | 1.5 |
| 3 | -1 | +1 | -1 | 2.0 | 5.00 | 0.5 |
| 4 | -1 | +1 | +1 | 2.0 | 5.00 | 1.5 |
| 5 | +1 | -1 | -1 | 4.0 | 1.28 | 0.5 |
| 6 | +1 | -1 | +1 | 4.0 | 1.28 | 1.5 |
| 7 | +1 | +1 | -1 | 4.0 | 5.00 | 0.5 |
| 8 | +1 | +1 | +1 | 4.0 | 5.00 | 1.5 |
| 9 | -1.68 | 0 | 0 | 1.3 | 3.14 | 1.0 |
| 10 | +1.68 | 0 | 0 | 4.7 | 3.14 | 1.0 |
| 11 | 0 | -1.68 | 0 | 3.0 | 0.01 | 1.0 |
| 12 | 0 | +1.68 | 0 | 3.0 | 6.26 | 1.0 |
| 13 | 0 | 0 | -1.68 | 3.0 | 3.14 | 0.2 |
| 14 | 0 | 0 | +1.68 | 3.0 | 3.14 | 1.8 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 3.0 | 3.14 | 1.0 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 3.0 | 3.14 | 1.0 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 3.0 | 3.14 | 1.0 |

X1 = concentração de gelatina; X2 = concentração de plastificante; X3 = concentração do extrato. * Valores calculados em relação a massa de gelatina.

4.5 Preparação da solução filmogênica e obtenção do filme (POP-GA)

As soluções filmogênicas foram preparadas de acordo com a metodologia proposta por Tongnuanchan et al. (2014) com algumas modificações. As concentrações de gelatina (GA), plastificante (P) e extrato (POP) foram misturados com água destilada (p/v) por suspensão, de acordo com o delineamento composto central rotacional (Tab. 1). Essa mistura foi homogeneizada a 15.000 rpm por 10 minutos em Turratec (Tecnal, TE-102), para obter as soluções filmogênicas (POP-GA). De acordo com o método *casting*, 120mL da solução filmogênica, foram colocados em suporte de silicone (22cm de diâmetro x 3cm de altura) e secas em estufa (Tecnal, TE-394/3) a 35°C por 15 horas.

4.6 Caracterização da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e do filme (POP-GA)

4.6.1 Determinação do peso molecular da gelatina por SDS-PAGE

A gelatina foi analisada por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de acordo com o procedimento proposto por (LAEMMLI, 1970). No pré-tratamento a amostra de gelatina (0.015g) foi misturada com 1000 μ L de SDS 5% e aquecida a 80 °C por 1h. Em seguida, foi misturada na proporção de 1:1 com uma solução tampão (7.5 mL de Tris-HCl 1M pH 6.8, 35 mL de SDS 10%, 0.15 g de azul de bromofenol, 15 mL de glicerol, 75 mL de água destilada e 700 μ L de β MerCaptoethanol 14.3 M). Alíquotas de 15 μ L foram aplicadas em gel de separação a 8% e empilhamento a 5%. Após a separação, as bandas foram reveladas com o corante Coomassie Blue-R-250. O padrão Bio-RAD foi utilizado como marcador.

4.6.2 Atividade antioxidante do extrato (POP) pela eliminação do radical DPPH

A atividade antioxidante pela eliminação do radical DPPH do extrato (POP) foi avaliada de acordo com o método de Liu, Du, Wang, Zha, & Zhang (2014). Onde 1.0 mL de solução da amostra de polissacarídeo nas concentrações, 0, 2, 4, 5, 10 e 15 mg/mL, foram misturadas com 2.0 mL de solução de DPPH (0.1 mM). As misturas foram deixadas em repouso durante 30 min à temperatura ambiente antes de medir a absorbância a 517 nm. A água destilada foi utilizada como branco e o ácido ascórbico como controle positivo. Todos

os testes foram realizados em triplicata. A atividade de eliminação dos radicais DPPH foi calculada pela equação:

$$\text{Eliminação de radicais DPPH (\%)} = \frac{(\text{Abs Controle} - \text{Abs da Amostra})}{\text{Abs Controle}} \times 100$$

4.6.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR)

O espectro de FTIR da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e do filme otimizado (POP-GA) foram realizados usando o espectrômetro Agilent Cary 630 (cristal de seleneto de zinco) com Transformada de Fourier e Reflectância Total Atenuada (FTIR-ATR), na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

4.6.4 Difração de raios X (XDR)

As amostras de gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e filme otimizado (POP-GA) foram depositadas sobre um suporte de vidro próprio do equipamento difratômetro: D8 Advance da Bruker com geometria Bragg-Brentano e detector LynxEye, exposta à radiação Cu ($K\alpha_1=1.540598 \text{ \AA}$) submetida à 40 kV e 200 mA 0.5°/min.

4.6.5 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

As amostras de gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e filme otimizado (POP-GA) foram revestidas com pó de ouro e analisadas em sistema de microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Leo-Zeiss, modelo 1430) sob vácuo a uma voltagem de aceleração de 20 kV.

4.6.6 Espessura do filme

A espessura dos filmes foi medida utilizando micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (Insize, modelo IP54). Foram selecionados dez locais aleatórios em torno de cada filme para esta determinação.

4.6.7 Propriedades mecânicas do filme

A resistência à tração (RT) e porcentagem de alongamento na ruptura (E) dos filmes foram determinadas empregando metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) em

texturômetro (Texture Analyzer, Brookfield). As medidas foram realizadas na temperatura de ($\pm 23^{\circ}\text{C}$). A separação inicial das garras e a velocidade foram de 30 mm e $1 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente, de acordo com metodologia descrita por Zavareze et al. (2012). As amostras foram cortadas em tiras de 60 mm de comprimento e 20 mm de largura. A resistência à tração (RT) e a porcentagem de alongação (E) foram calculadas pelas equações:

$$RT = \frac{Fm}{A}$$

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

$$E = \frac{d_T}{d_{inicial}} \times 100$$

Onde: E: alongação (%); d_T : distância total no momento da ruptura (mm); $d_{inicial}$: distância inicial de separação das garras (30 mm).

4.6.8 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) do filme

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada utilizando o método modificado ASTM D882-95 descrito por Arfat et al. (2014). As amostras dos filmes foram seladas com adesivo de silicone na abertura circular de um recipiente de vidro de 4.5 cm de diâmetro e 7.0 cm de altura contendo 10 g de sílica gel a 0 % UR; 0 Pa de pressão de vapor de água a 30°C . Estes recipientes de permeação foram colocados em dessecadores contendo água destilada a 30°C a 99% UR; 4244,9 Pa de pressão de vapor de água a 30°C . Foram pesados em intervalos de 1h por um período de 10 horas. A PVA foi calculada pela equação:

$$PVA = \frac{W \cdot X}{A \cdot t \cdot \Delta P}$$

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

4.6.9 Propriedades óticas do filme

A transparência dos filmes foi determinada em espectrofotômetro (Pharmacia Biotech 2000, modelo 08-2106), a 600 nm pelo método ASTM D1746 por meio da equação

a seguir (Arfat et al. (2014), em triplicata Já os resultados para opacidade foram apresentados como a razão entre a absorbância e a espessura do filme (mm) (Abs. 600nm.mm-1).

$$\text{Transparência} = \frac{-\log \%T}{e}$$

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

4.6.10 Atividade antioxidante no filme otimizado (POP-GA)

A atividade antioxidante foi determinada de acordo com Bai et al. (2019) e Gao, He, Sun, He, & Zeng (2019) com algumas modificações. Cerca de 1 g do filme otimizado foi colocado em erlenmeyer com 50 mL de água destilada, sob agitação de 150 rpm por 24h a 25 °C. Alíquotas de 2 mL da amostra foram misturadas com 2 mL de solução de DPPH (0,1 mM), que permaneceram em repouso no escuro por 30 minutos. Após esse período foi feita a leitura das amostras a 517 nm em espectrofotômetro (Pharmacia Biotech 2000, modelo 08-2106). A atividade sequestradora do radical DPPH foi calculada de acordo com a equação:

$$\text{DPPH atividade sequestradora do radical (\%)} = \frac{\text{Absorbância da Amostra}}{\text{Absorbância do Controle}} \times 100$$

4.7 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada no programa Statistica® versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004) avaliando os efeitos, análise de variância (ANOVA) e análise de curvas de níveis para o delineamento composto central rotacional. A função desejabilidade foi utilizada para otimizar a melhor condição do filme de gelatina com adição de extrato polissacarídico (POP), com intervalo de 95% de confiança ($p < 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise e ajustes de modelo

Os valores obtidos no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para permeabilidade ao vapor de água, resistência a tração e alongação dos filmes em função da concentração de gelatina (GA), plastificante e extrato polissacarídico (POP), são mostrados na Tab. 2. Os efeitos lineares, quadráticos e interação para cada resposta, são mostrados na Tab. 3.

Tabela 2. Valores obtidos no Delineamento Composto Central Rotacional para permeabilidade ao vapor de água, resistência a tração, alongação e condições otimizadas.

| Ensaio | Variáveis Independentes | | | Respostas | | |
|----------------------|-------------------------|-------|--------------------|---------------|---------------------|------------|
| | X1 | X2 | X3 | Y1 | Y2 | Y3 |
| 1 | 2.0 | 1.28 | 0.5 | 9.63±0.15 | 13.76±0.68 | 12.75±0.29 |
| 2 | 2.0 | 1.28 | 1.5 | 5.81±0.17 | 14.89±0.23 | 12.42±0.18 |
| 3 | 2.0 | 5.00 | 0.5 | 4.72±0.38 | 13.97±0.21 | 18.36±0.33 |
| 4 | 2.0 | 5.00 | 1.5 | 2.12±0.21 | 14.79±0.22 | 17.12±0.45 |
| 5 | 4.0 | 1.28 | 0.5 | 3.22±0.13 | 15.76±0.50 | 13.11±0.19 |
| 6 | 4.0 | 1.28 | 1.5 | 2.95±0.15 | 16.54±0.28 | 11.22±0.35 |
| 7 | 4.0 | 5.00 | 0.5 | 1.35±0.12 | 16.21±0.20 | 13.18±0.44 |
| 8 | 4.0 | 5.00 | 1.5 | 7.74±0.14 | 17.49±0.29 | 12.31±0.58 |
| 9 | 1.3 | 3.14 | 1.0 | 7.13±0.11 | 12.33±0.21 | 12.58±0.59 |
| 10 | 4.7 | 3.14 | 1.0 | 4.83±0.10 | 17.29±0.23 | 12.11±0.12 |
| 11 | 3.0 | 0.01 | 1.0 | 5.58±0.11 | 15.41±0.37 | 10.49±0.38 |
| 12 | 3.0 | 6.26 | 1.0 | 5.39±0.16 | 17.78±0.28 | 15.56±0.48 |
| 13 | 3.0 | 3.14 | 0.2 | 2.77±0.18 | 11.12±0.59 | 13.12±0.14 |
| 14 | 3.0 | 3.14 | 1.8 | 2.98±0.19 | 17.44±0.23 | 12.58±0.12 |
| 15 | 3.0 | 3.14 | 1.0 | 6.91±0.22 | 11.42±0.21 | 16.31±0.53 |
| 16 | 3.0 | 3.14 | 1.0 | 6.38±0.21 | 11.37±0.22 | 16.20±0.17 |
| 17 | 3.0 | 3.14 | 1.0 | 6.60±0.23 | 11.45±0.15 | 16.17±0.39 |
| Condições otimizadas | | | Valor Experimental | Valor Predito | Desvio Relativo (%) | |
| X1 | X2 | X3 | | | | |
| 3.0 % | 6.26 % | 1.0 % | | | | |
| | Y1 | | 4.55 | 4.83 | 6.15 | |
| | Y2 | | 18.02 | 17.20 | 4.55 | |
| | Y3 | | 15.56 | 16.24 | 4.37 | |

Y1 = permeabilidade ao vapor de água ($\text{g.m.m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$) $\times 10^{-11}$; Y2 = Resistência a tração (Mpa); Y3 = Elongação (%).

Tabela 3. Efeitos lineares, quadráticos e de interação de polinômios de segunda ordem, associados a significância para cada resposta estudada (erro puro).

| Variáveis Independentes | PVA-Y1 ($\text{g.m.m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$) | | RT-Y2 (Mpa) | | E-Y3 (%) | |
|-------------------------|---|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| | Efeito | p-valor | Efeito | p-valor | Efeito | p-valor |
| Constante | 6.63 | 0.00 | 11.42 | 0.00 | 16.09 | 0.00 |
| X1 | -1.59 | 0.00 | 2.47 | 0.00 | -1.69 | 0.00 |
| X1 ² | -0.38 | 0.13 | 2.30 | 0.00 | -2.09 | 0.00 |
| X2 | -0.88 | 0.02 | 0.81 | 0.00 | 2.93 | 0.00 |
| X2 ² | -0.74 | 0.04 | 3.62 | 0.00 | -1.65 | 0.00 |
| X3 | 0.00 | 0.97 | 2.15 | 0.00 | -0.79 | 0.00 |
| X3 ² | -2.84 | 0.00 | 2.17 | 0.00 | -1.89 | 0.00 |
| X1X2 | 2.88 | 0.00 | 0.32 | 0.00 | -2.29 | 0.00 |
| X1X3 | 3.13 | 0.00 | 0.02 | 0.43 | -0.30 | 0.02 |
| X2X3 | 1.97 | 0.01 | 0.04 | 0.23 | 0.02 | 0.65 |

X1 = Efeito linear da Gelatina; X2 = Efeito linear do plastificante; X3 = Efeito linear do extrato (POP); X1² = Efeito quadrático da gelatina; X2² = Efeito quadrático do plastificante; X3² = Efeito quadrático do extrato (POP); PVA = permeabilidade ao vapor de água; RT = resistência a tração; E = Elongação. Valores em negrito indicam permanência no modelo ajustado.

Com relação a permeabilidade ao vapor de água a Tab. 3, mostra que o fator X3² obteve o maior efeito negativo, ou seja, quando o extrato polissacarídico (POP) é adicionado no filme, há redução na permeabilidade ao vapor de água. Essa redução está provavelmente associada as interações que ocorrem entre os polímeros de gelatina e extrato polissacarídico, criando uma barreira contra o vapor de água, que é recomendado para filmes. Para a resistência a tração apenas duas variáveis (X1X3 e X2X3) não foram significativas. E para alongação, todas os efeitos foram significativos, com exceção da interação (X2X3). Após a eliminação dos efeitos não significativos, verificou-se através da análise de variância (ANOVA) a significância da regressão e da falta de ajuste ($p \geq 0,05$), utilizando o teste F e coeficiente de correlação (R^2) (Tab. 4).

Tabela 4. Análise de Variância (ANOVA) para Permeabilidade ao Vapor de Água, Resistência a Tração e Elongação em função das variáveis independentes, teste F e R^2 .

| Permeabilidade ao vapor de água (PVA) | | | | | | |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------|
| Fonte de variação | SS | DF | QM | FC | FT | R² |
| Regressão | 76.17460 | 7 | 76.17460 | 83.91029 | 3.01 | 0.93 |
| Falta de ajuste | 5.83846 | 7 | 0.83407 | 0.918772 | 3.01 | |
| Erro puro | 0.14180 | 2 | 0.07090 | | | |
| Total | 80.81442 | 16 | | | | |

Modelo de ajuste: $Y_1 = 6.63 - 159X_1 - 0.88X_2 - 0.80X_2^2 - 2.64X_3^2 + 2.88X_1X_2 + 3.13X_1X_3 + 1.97X_2X_3$

| Resistência à Tração (RT) | | | | | | |
|----------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------|
| Fonte de variação | SS | DF | QM | FC | FT | R² |
| Regressão | 102.89 | 7 | 102.89 | 111.19 | 3.29 | 0.90 |
| Falta de ajuste | 8.32 | 7 | 1.19 | 1.28 | 3.29 | |
| Erro puro | 0.003 | 2 | 0.001 | | | |
| Total | 91.03 | 16 | | | | |

| Elongação | | | | | | |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------------|
| Fonte de variação | SS | DF | QM | FC | FT | R² |
| Regressão | 81.05 | 8 | 81.05 | 55.46 | 3.44 | 0.85 |
| Falta de ajuste | 11.68 | 6 | 1.94 | 1.33 | 3.34 | |
| Erro puro | 0.01 | 2 | 0.005 | | | |
| Total | 82.53 | 16 | | | | |

SS = Soma dos quadrados; DF = Graus de liberdade; QM = Média quadrática

Pode-se observar (Tab. 4) que para a permeabilidade ao vapor de água (Y_1) o modelo obtido foi significativo ($F_{cal} > F_{tab}$), preditivo, e a falta de ajuste não foi significativa. Além disso, o PVA apresentou $R^2 > 0.93$, explicando 93% da variação dos resultados experimentais, indicando alta correlação entre os dados experimentais e os previstos. Para resistência a tração (Y_2) e alongação (Y_3) a falta de ajuste foi significativa, indicando que o modelo não se relaciona exatamente aos dados experimentais, mas pode ser utilizado para avaliar o comportamento da resposta, associado aos elevados $R^2 > 0.90$ e 0.85 , respectivamente.

5.2 Curva de nível e definição das condições ótimas

Para explicar melhor as relações e interações entre variáveis independentes e respostas (PVA, RT e E), gráficos de curvas de níveis foram utilizados (Fig. 2). A permeabilidade ao vapor de água (PVA) é um parâmetro muito importante para filmes/e ou embalagens de alimentos, pois avalia a transferência de umidade entre o alimento embalado e o ambiente externo. O valor de PVA pode ser afetado por fatores importantes, como propriedades químicas e estruturais dos polímeros, interações hidrofóbicas entre os constituintes do filme, além da concentração dos aditivos utilizados. Para manter o frescor dos alimentos, é desejado obter filmes com valores mais baixos possíveis de PVA (YADAV et al., 2020).

A PVA foi influenciada positivamente pelo aumento dos valores das variáveis individualmente (Fig. 2 A). Observa-se que com o aumento da concentração de extrato polissacarídico (POP) no filme, houve redução no valor de PVA, confirmando seu efeito negativo para essa resposta (Tab. 3). Nas maiores concentrações de extrato polissacarídico (POP) foi possível obter valores de 2.12×10^{-11} e 2.95×10^{-11} g.m.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹ (Tab. 2). Os resultados encontrados foram melhores, quando comparados com estudos recentes publicados por Ali et al. (2019); Hanani, Yee, & Nor-khaizura (2019) e Adilah, Jamilah, Noranizan, & Hanani (2018).

A redução no valor da PVA pode ser explicada porque nos materiais poliméricos, a água se difunde com mais facilidade nas regiões amorfas, devido ao grau de desordem das moléculas, que nas regiões cristalinas altamente ordenadas e densamente empacotadas (LUPINA et al., 2019). Com base no antes exposto, pode-se deduzir que a adição do extrato polissacarídico (POP) nos filmes de gelatina promoveu diminuição na PVA, em função do seu caráter semicristalino, conforme demonstrado pela análise de DRX (Fig. 7). Portanto, o extrato polissacarídico (POP) promove o aumento da barreira molecular, impedindo a passagem de moléculas de água através do filme (AZARIFAR et al., 2019).

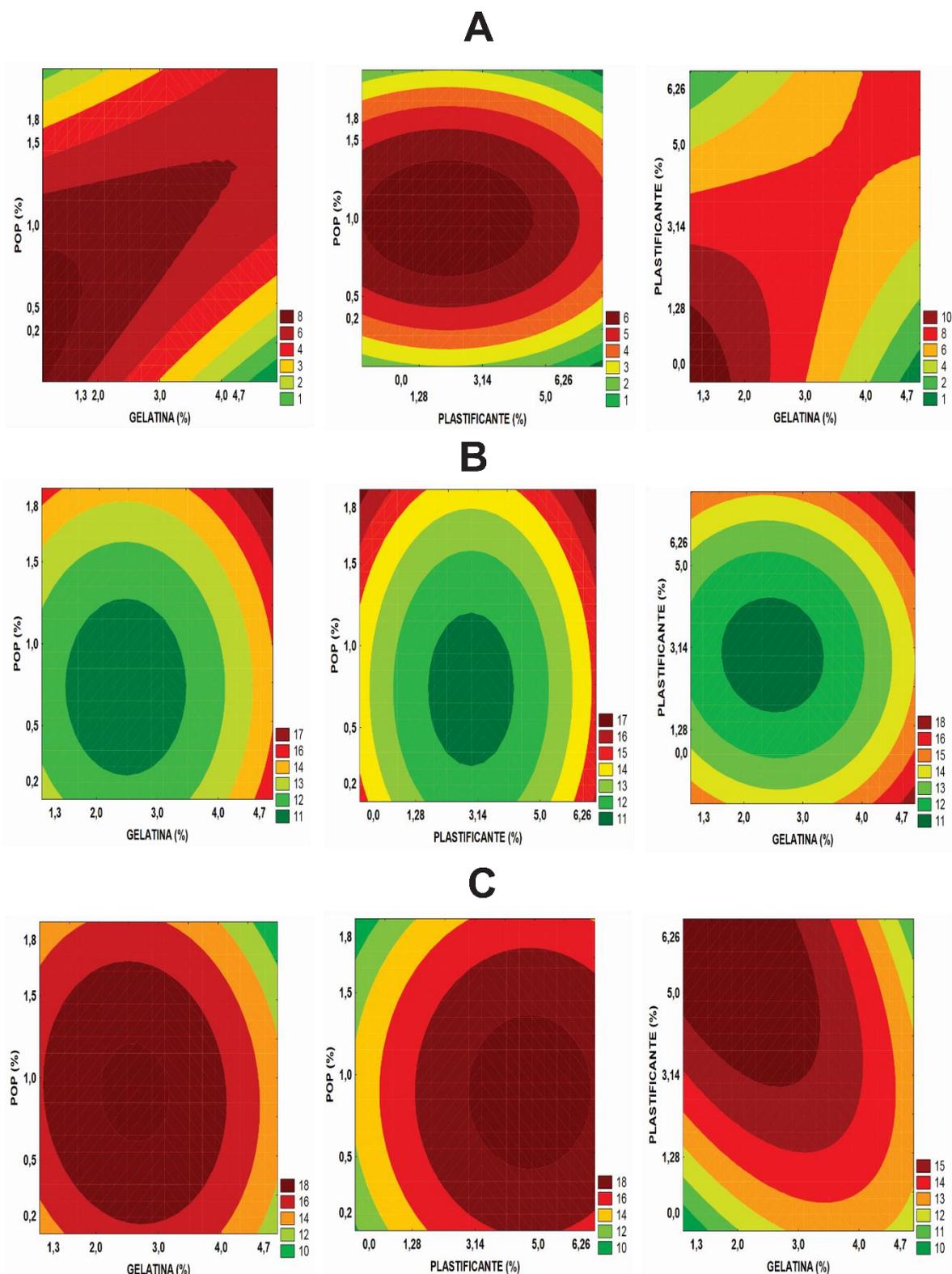


Figura 2. Curvas de níveis. A = permeabilidade ao vapor de água (PVA); B = resistência a tração (RT); C = Elongação (E)

Foram observadas pequenas variações nos resultados dos ensaios de resistência a tração (Tab. 2). No geral, pode-se indicar que o extrato polissacarídico (POP) foi responsável por atribuir elevada resistência a tração em todos os ensaios avaliados, confirmando seu

efeito positivo para essa resposta (Tab. 3). Os valores obtidos são superiores em até 22 vezes quando comparados com outros resultados da literatura (RIVERO, GARCÍA, & PINOTTI 2010; ADILAH et al., 2018; ZHANG, SIMPSON, & DUMONT 2018; HANANI et al., 2019).

A adição do extrato polissacarídico (POP) melhora as características de resistência a tração em função da formação de complexos moleculares e interações fracas como ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e provavelmente interações covalentes. Além disso, a adição do extrato em filmes pode preencher os espaços vazios nas regiões amorfas da matriz polimérica, diminuindo a mobilidade e flexibilidade das cadeias promovendo o aumento das regiões cristalinas (NAZMI; ISA & SARBON, 2017; AZARIFAR et al., 2019; HANANI; YEE & NOR-KHAIZURA, 2019; OLIVEIRA et al., 2019).

Valores baixos de alongação (E) também foram observados, mas esse efeito já era esperado, uma vez que os parâmetros de resistência a tração e alongação são inversamente proporcionais (MOEINI et al., 2020). Na Fig. 2 C, observa-se que a faixa de concentração que variou de 0.4 a 1.5% de extrato polissacarídico (POP), foi responsável por cobrir a região dos melhores valores de alongação.

O maior nível (+1) de extrato polissacarídico (POP), combinado ao menor de gelatina (-1) e maior de plastificante (+1), foi responsável em obter o melhor valor de alongação de 17.12% (Tab. 2). Hanani et al. (2019) encontrou valores que variaram de 1.94 a 2.09% em filmes de gelatina de peixe com adição de pó da casca da romã, valores inferiores aos apresentados nesse estudo.

A Fig. 3 mostra o gráfico da função desejabilidade para as respostas permeabilidade ao vapor de água, resistência a tração e alongação que foi baseada no nível de confiança de 95%. A condição ótima do filme ocorreu nas concentrações de 3% de gelatina, 6.26% de plastificante e 1.0% de extrato polissacarídico (POP). Nessas condições foi possível obter valores de 4.55×10^{-11} g.m.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹ para PVA, 18.02% para resistência a tração e 15.56% para alongação, esses valores foram comparados com os valores preditos pelos modelos de regressão. A diferença entre o valor experimental e predito resultou em baixo desvio relativo (Tab. 2), demonstrando que as condições utilizadas indicam ajuste adequado para as atividades sugeridas, dentro da faixa experimental estudada.

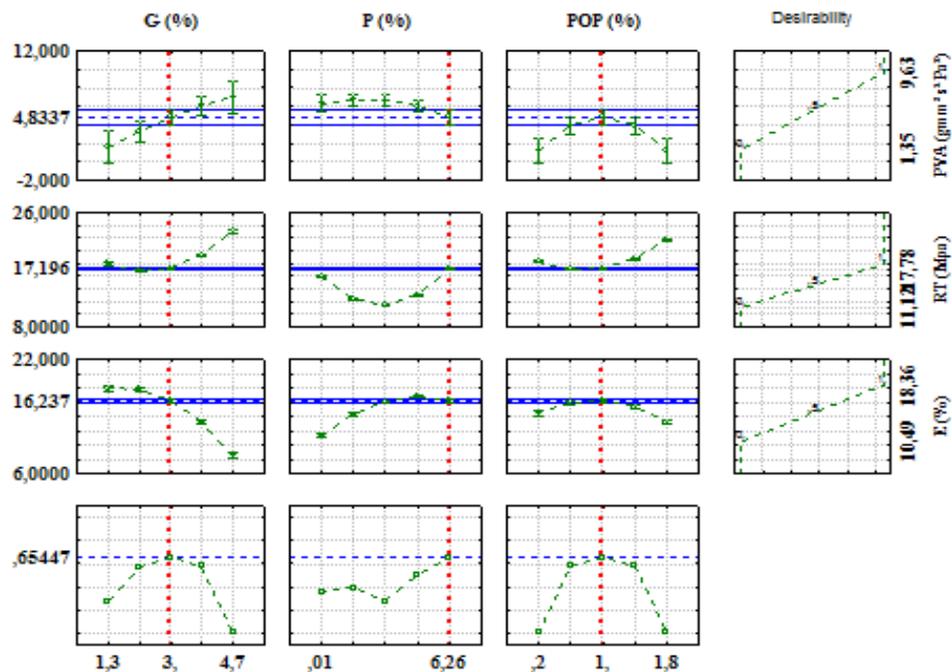


Figura 3. Função desejabilidade para permeabilidade ao vapor de água, resistência a tração e alongação.

5.3 Caracterização da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e filme (POP-GA)

5.3.1 Atividade antioxidante do extrato polissacarídico (POP) pela eliminação do radical DPPH

Os radicais livres de DPPH podem ser reduzidos na presença de um antioxidante, e são amplamente usados para estimar a eliminação de radicais livres de vários antioxidantes, incluindo polissacarídeos. A porcentagem de inibição do radical DPPH pelo extrato polissacarídico (POP) encontra-se na Fig. 4.

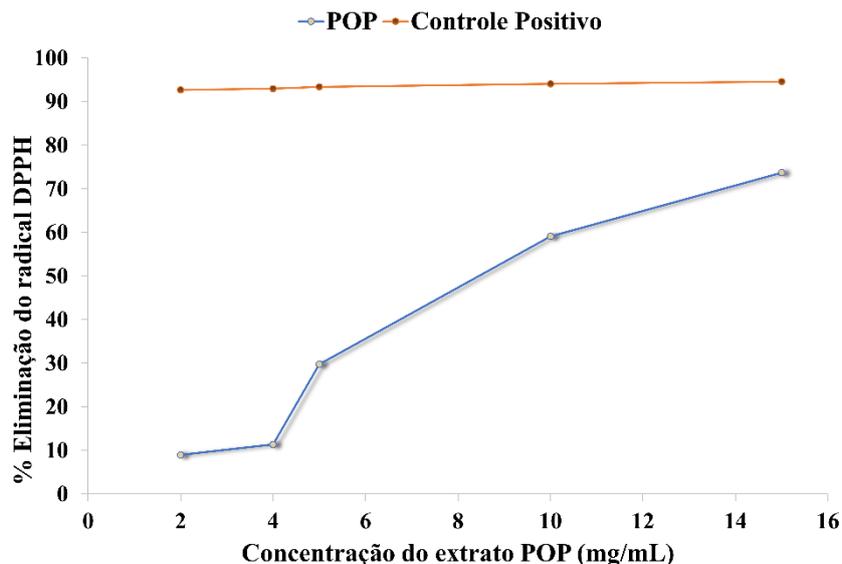


Figura 4. Atividade antioxidante do extrato polissacarídico (POP) em diferentes concentrações

A atividade de inibição do radical DPPH aumentou de acordo com o aumento da concentração do extrato polissacarídico (POP). As concentrações estudadas variaram de 2-15 mg/mL, obtendo-se valores de 8.98 a 73.71%, respectivamente para a inibição. Esses resultados demonstram que o extrato polissacarídico (POP) é um potente agente de eliminação do radical DPPH.

Resultados semelhantes foram relatados por Khan et al. (2017) que avaliaram a capacidade de eliminação de β -glucano de *Pleurotus ostreatus* em concentrações de 1-5 mg/mL obtendo valores de 10.95 a 46.88%, respectivamente. Vários outros autores avaliaram o potencial antioxidante do polissacarídeo isolado de *Pleurotus ostreatus* como Yan et al. (2019) que nas concentrações de 0.5-10 mg/mL obtiveram 30 a 97% de eliminação do radical DPPH, respectivamente; Ma et al. (2018) em 1-6 mg/mL obtiveram valores de 30 a 70% de eliminação e Xia et al., (2011) encontraram 57.7% em 8 mg/mL. A atividade antioxidante deste polissacarídeo está associada principalmente ao seu peso molecular, composição monossacarídica, conformação da cadeia e associações com proteínas (BARBOSA et al., 2020).

5.3.2 Peso molecular da gelatina (GA)

Na Fig. 5 observa-se o perfil da distribuição do peso molecular da gelatina obtida da pele da pescada amarela. A gelatina é constituída de duas cadeias diferentes ($\alpha 1$ e $\alpha 2$) com diferentes pesos molecular 86,39 e 68,39 KDa, respectivamente. Duas bandas de alto peso molecular, dímeros- β (158,12 KDa) e trímeros- γ (204,64 KDa). Uma banda com menor intensidade, com peso molecular de 43,35 KDa, pode estar associada a peptídeos resultantes da degradação das cadeias α , β e γ , induzidas pelo processo térmico (KITTIPIHATTANABAWON; BENJAKUL & SINTHUSAMRAN, 2016). Estes resultados sugerem que a gelatina extraída da pele da pescada amarela pode ser identificada como colágeno do tipo I (ARUMUGAM; SHARMA & BALAKRISHNAN, 2018; LI et al., 2018; BHUIMBAR; BHAGWAT & DANDGE, 2019).

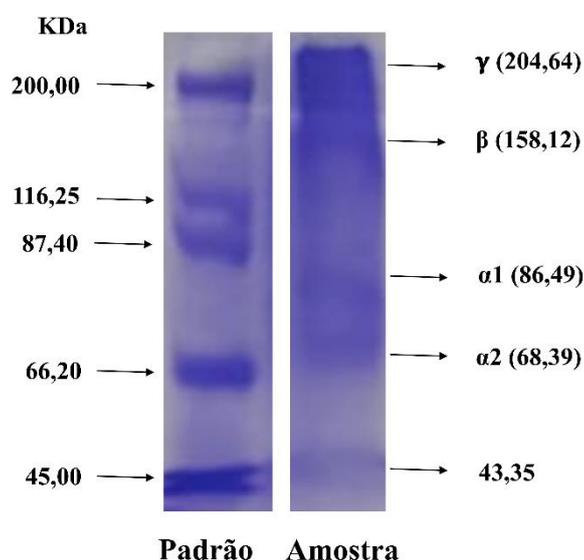


Figura 5. Peso molecular da gelatina de peixe (GA)

5.3.3 Análise de grupos funcionais e ligações química

A Fig. 6 mostra os espectros de FTIR da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e do filme otimizado (POP-GA). Os espectros de FTIR da gelatina de pescada amarela é semelhante ao da piramutaba (OLIVEIRA et al., 2019), da truta (KAMER et al., 2019) e da gelatina comercial (SINTHUSAMRAN et al., 2017). Picos característicos de amida A, amida B, amida I, amida II e amida III, identificados na gelatina estão intimamente relacionados com a composição de aminoácidos, principalmente prolina e hidroxiprolina

(SUN et al., 2017). Picos característicos de Amida A observada na região de 3249 cm^{-1} , corresponde as vibrações dos grupos OH e NH (CHEN et al., 2016; JRIDI et al., 2019). A banda de amida B foi encontrada em 2925 cm^{-1} e está associado a regiões de deslocamento assimétrico de CH₂ e NH₃⁺ (BHUIMBAR; BHAGWAT & DANDGE, 2019).

As bandas de amida I, II e III são responsáveis pelo grau de ordem molecular encontrado no colágeno, além de estarem envolvidas na formação da estrutura helicoidal tripla (CHEN et al., 2016). Amida I foi observada em torno de 1622 cm^{-1} , relacionadas as vibrações de alongamento dos grupos C = O e CN (LIU et al., 2012). Amida II observada em 1535 cm^{-1} , corresponde as vibrações dos grupos NH e CN, responsáveis pela disponibilidade de ligações de hidrogênio e ordem molecular da estrutura tridimensional da gelatina (SINTHUSAMRAN; BENJAKUL & KISHIMURA, 2013; ARUMUGAM; SHARMA & BALAKRISHNAN, 2018). O pico da amida III, observado em 1244 cm^{-1} , são vibrações de alongamento C-N e N-H, responsáveis pela flexão de planos de ligações amídicas (SIONKOWSKA et al., 2015).

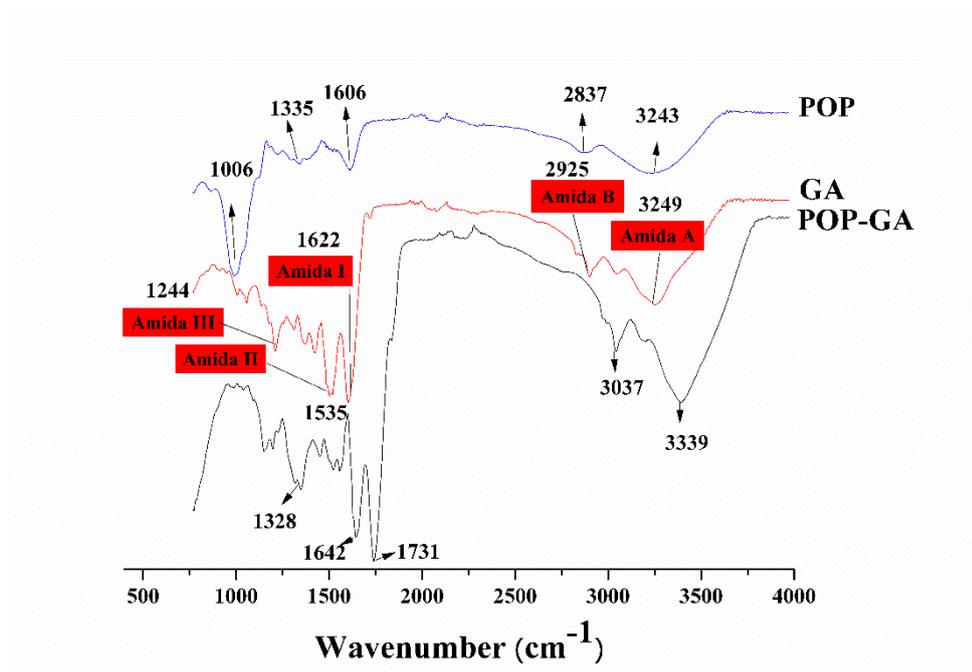


Figura 6. Espectros FTIR para amostras de gelatina de peixe (GA), extrato polissacarídico (POP) e do filme (POP-GA).

No extrato polissacarídico (POP) foram observadas bandas de absorção intensas próximas a 3243 cm^{-1} , que correspondem a amida A, associada a vibração de alongamento

de OH e NH. As bandas em torno de 2873 cm^{-1} , correspondem a amida B, atribuída a vibração de alongamento CH, incluindo CH_2 e CH_3 . O pico observado em 1606 cm^{-1} , são característicos de amida I, relacionadas as vibrações de alongamento dos grupos C=O e CN. A região do pico a 1335 cm^{-1} é atribuída à vibração de estreitamento de C-O-C ou C-O-H, sugerindo a presença de anel de piranose (MA et al., 2018; YAN et al., 2019b). Também, foi observado pico na região de 1006 cm^{-1} , característicos de ligações β -glicosídicas, específicas de β -glucanos (ZHANG, DAI, KONG, & CHEN, 2012). Resultados semelhantes de FTIR foram observados em polissacarídeos extraídos de cogumelo do gênero *Pleurotus* spp por (YIM et al., 2012; RADZKI et al., 2016; SULISTIANY; SUDIRMAN & DHARMAPUTRA, 2017).

Para o filme otimizado (POP-GA), várias bandas de absorção foram deslocadas para comprimento de onda maiores. Picos da amida A foi deslocado para 3339 cm^{-1} e da amida B para 3037 cm^{-1} . Os deslocamentos batocrômicos indicam a formação de pontes de hidrogênio intermoleculares entre a gelatina e o extrato polissacarídico (LASSOUED et al., 2014; STAROSZCZYK et al., 2014). Estudos recentes com polissacarídeos, como k-carragenina, quitosana e combinações de goma arábica, quitosana e gelatina, mostram efeitos semelhantes (PRANOTO; MIN & JIN, 2007; STAROSZCZYK et al., 2014; VORON'KO et al., 2015; QIAO et al., 2017; GONÇALVES et al., 2018).

A adição de extrato polissacarídico na gelatina também aumentou a amplitude das bandas de amida I de 1622 cm^{-1} para 1731 cm^{-1} e da amida III de 1244 cm^{-1} para 1328 cm^{-1} indicando que as interações intermoleculares entre as cadeias de gelatina se fortaleceram. Estas interações entre as cadeias de gelatina reduz as ligações eletrostáticas entre os polímeros, favorecendo interações fracas como pontes de hidrogênio e fortes como as covalentes (JRIDI et al., 2014). Enquanto o deslocamento da amida II de 1535 cm^{-1} para 1642 cm^{-1} confirma a presença de interações eletrostáticas entre os polieletrólitos do grupo hidroxila de glucanos e os grupos amino de Lys, Hyl, His e Arg da gelatina (STAROSZCZYK et al., 2014).

5.3.4 Análise de difração de raios-X (XDR)

A Fig 7, mostra os perfis de XDR de gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e do filme otimizado (POP-GA). Esta análise tem sido amplamente aplicada para identificar a estrutura de diferentes tipos de materiais. Em geral, os materiais cristalinos mostram picos de difração estreitos e agudos, enquanto que os amorfos exibem picos amplos. Os padrões

de difração do extrato polissacarídico (POP), contém picos amplos, monodisperso e homogêneo, típicos de substância semi-cristalina. Esta característica polimérica indica o grau de cristalinidade da estrutura dos polissacarídeos. Os padrões de difração para a gelatina e filmes são parecidos, indicando uma estrutura amorfa (NAZMI; ISA & SARBON, 2017; QIAO et al., 2017).

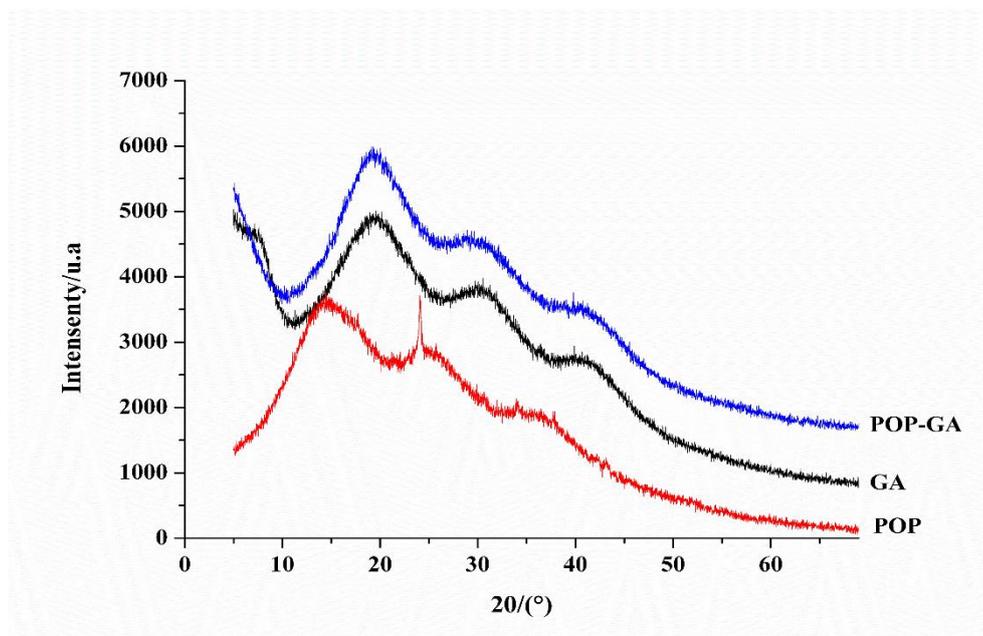


Figura 7. Resultado XDR da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e filme otimizado (POP-GA)

5.3.5 Análise de microscopia eletrônica de varredura (SEM)

A Fig. 8, mostra as características morfológicas da gelatina (GA), extrato polissacarídico (POP) e filme otimizado (POP-GA). A gelatina extraída da pele da pescada amarela apresenta uma superfície fina, lisa e folhosa lamelar. Estrutura folhosa lamelar é típica de gelatina com alta concentração de colágeno do tipo I. Este tipo de colágeno apresenta alta capacidade de absorção de água, favorecendo características plásticas na formulação de filmes (TAMILMOZHI, VEERURAJ, & ARUMUGAM, 2013). A morfologia do extrato polissacarídico (POP) é irregular, com arranjo semelhante a teias de aranha, favorecendo a higroscopicidade e solubilidade em meio aquoso.

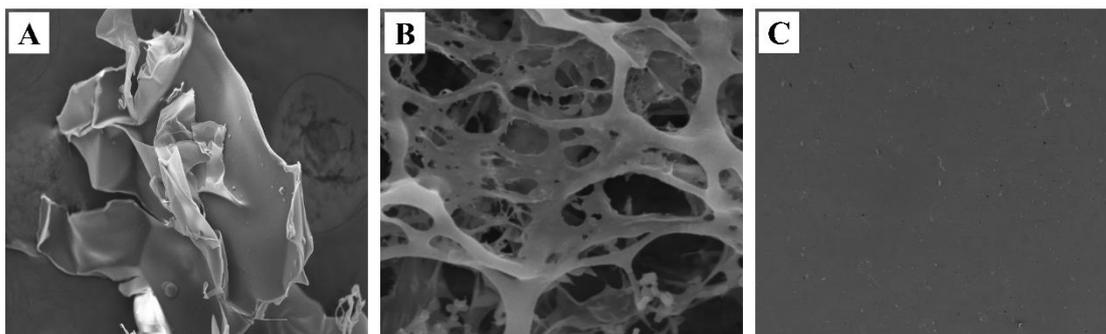


Figura 8. Resultado de SEM: A - gelatina-GA (400x); B - extrato polissacarídico-POP (20.000x) e C - filme otimizado POP-GA (100x)

O filme (POP-GA), obtido após a otimização, apresenta características homogênea, lisa e sem rachaduras. Os resultados indicam boa coesão e agregação da gelatina com o extrato polissacarídico. No entanto, foram observadas pequenas partículas insolúveis, provavelmente de gelatina, mas que não afetaram de forma significativa as propriedades tecnológicas do filme.

5.3.6 Propriedades óticas (Transparência e Opacidade) e atividade antioxidante (DPPH)

As propriedades óticas, como transparência e opacidade são de fundamental importância para a aplicação de filmes sobre a superfície de alimentos, pois elas estão relacionadas com a aparência e proteção contra a luz dos alimentos embalados. Quanto menor o valor de transparência mais transparente é o filme (LÓPEZ et al., 2017). Na literatura, geralmente são encontrados valores de transparência para filmes de gelatina que variam de 0.41 a 3.29%, logo são filmes transparentes (KAEWPRACHU et al., 2018; LUQMAN et al., 2018). No presente estudo, o filme otimizado apresentou valores de $5.31\% \pm 0.10$ e $5.99\% \pm 0.11$ para transparência e opacidade, respectivamente, indicando filmes mais opacos e menos transparentes. Resultados semelhantes foram encontrados em filme de gelatina com adição de cera de abelha e cera de carnaúba (ZHANG et al., 2018).

A adição de substâncias bioativas na matriz do filme, tem a finalidade de melhorar as características tecnológicas para que possam ser utilizados na indústria de alimentos. Substâncias antioxidantes como polissacarídeos são adicionadas na formulação de filmes para proteger os alimentos de agentes externos, evitando a degradação oxidativa, inibindo reações de oxidação e, conseqüentemente estendendo sua vida de prateleira (ATARÉS & CHIRALT, 2016; AHMED et al., 2017). No presente estudo, o filme otimizado (POP-GA)

apresentou eliminação de $41.57\% \pm 1.46$ para o radical DPPH e essa atividade antioxidante está relacionada ao extrato polissacarídico (POP) adicionado no filme (Fig. 4).

A atividade antioxidante dos polissacarídeos está relacionada a composição monossacarídica, peso molecular e conformação das cadeias (BARBOSA et al., 2020). Os resultados do presente trabalho são superiores ao reportado por Zhang et al. (2018) que encontrou valores de 5.5 a 7.2% de eliminação do mesmo radical para filmes de gelatina com adição de cera de abelha e de carnaúba. Já Rasid, Nazmi, Isa, & Sarbon (2018), encontraram resultados semelhantes ao do presente estudo, 31.21 a 47.51% de eliminação do mesmo radical em filmes de gelatina com adição de extrato de *Centella asiática* (L).

6. CONCLUSÕES

A adição do extrato polissacarídico (POP) no filme de gelatina melhorou as propriedades tecnológicas. Os resultados de FTIR, SEM e XDR demonstraram que houve a formação de um complexo molecular, permitindo uma boa adesão e coesão entre a gelatina (GA) e o extrato polissacarídico (POP).

De acordo com o modelo proposto, as condições de otimização foram de 3% de gelatina, 6.26% de plastificante e 1.0% de extrato polissacarídico (POP). Nessas condições foi possível obter valores de $4.55 \times 10^{-11} \text{ g.m.m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$ para PVA, 18.02% para resistência a tração e 15.56% para alongação. O filme otimizado (POP-GA) apresentou capacidade antioxidante, apresentando potencial para a aplicação na indústria de alimentos para uso de embalagens.

Agradecimentos

Mauricio Madson dos Santos Freitas agradece a CAPES/PROPESP/UFPA. Esse estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

7. LISTA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA

7.1 Artigos Publicados

BATISTA, J. T. S.; ARAÚJO MATIAS, C. S.; **FREITAS, M. M. S.**; NASCIMENTO, G. S.; VIEIRA, L. L.; LOURENÇO, L. F. H. Technological Properties of Biodegradable Films Produced with Myofibrillar Proteins Extracted from Gilded cat-fish (*Brachyplatystoma rousseauxii*) Carcasses and Parings. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2020. DOI: 10.1080/10498850.2020.1720880

BARBOSA, J. R.; **FREITAS, M. M. S.**; MARTINS, L. H. S.; CARVALHO JÚNIOR, R. N. Polysaccharides of mushroom *Pleurotus* spp.: New extraction techniques, biological activities and development of new technologies. Carbohydrate Polymers, v. 229, p. 115550, 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115550

7.2 Capítulos de Livros Publicados

BARBOSA, J. R ; **FREITAS, M. M. S.**; RODRIGUES, I. C. S.; OLIVEIRA, M. E. C. Avaliação da produtividade e eficiência biológica de macrofungos comestíveis cultivados em resíduos agroindustriais da Amazônia. 1ed. Ponta Grossa - PR: Atena Editora, 2019, v. 1, p. 29-36. DOI: 10.22533/at.ed.5891908033

BARBOSA, J. R ; AGUIAR, I. Q. S.; **FREITAS, M. M. S.**; CARVALHO JUNIOR, R. N.; OLIVEIRA, M. E. C. Construção de um modelo NIR (espectroscopia no infravermelho próximo) para predição de produção e consumo de polissacarídeos extracelulares durante a fermentação dos resíduos da palma de óleo por *Pleurotus Ostreatus*. 1ed. Ponta Grossa - PR: Atena Editora, 2019, v. 1, p. 30-39. DOI: 10.22533/at.ed.3861923094

FREITAS, M. M. S.; SALAZAR, M. L. A. R.; MOREIRA, M. O.; SANTOS, G. R.; CORREA, N. C. F. Potencial econômico dos sub-produtos provenientes da indústria de pescado: estudo de caso da filetagem de peixe numa empresa localizada no município de Vigia-Pa. 1ed. Ponta Grossa - PR: Atena Editora, 2019, v. 3, p. 115-132. DOI: 10.22533/at.ed.98019091013

BARBOSA, J. R.; **FREITAS, M. M. S.**; MARTINS, L. H. S.; KOMESU, A.; LOPES, A. S.; CARVALHO JUNIOR, R. N.; RAI, M. Application of Mycogenic Nanoparticles Against

Neurodegenerative Diseases. In: Mahendra Rai; Alka Yadav. (Org.). Application of Mycogenic Nanoparticles Against Neurodegenerative Diseases. 1ed. Cham: Springer Nature, 2019, v. 1, p. 139-162. DOI: 10.1007/978-3-030-30930-5_5

BARBOSA, J. R.; **FREITAS, M. M. S.**; OLIVEIRA, M. E. C. Valorização de resíduos da palma de óleo (*elaeis* sp) para produção de polissacarídeos extracelulares por *Postreatus ostreatus*. 1ed. Ponta Grossa - PR: Atena Editora, 2018, v. 1, p. 41-49. DOI: 10.22533/at.ed.475180110

8. CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

| Atividades | 1º 2018 | 2º 2018 | 1º 2019 | 2º 2019 | 1º 2020 |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Revisão da literatura | X | X | X | X | |
| Coleta da matéria-prima | X | | | | |
| Preparo da matéria-prima | X | X | | | |
| Apresentação da Dissertação II | | X | | | |
| Extração do extrato e gelatina | | X | X | | |
| Preparo dos filmes biodegradáveis | | X | X | X | |
| Realização das análises | | X | X | X | |
| Análise dos resultados | | X | X | X | |
| Apresentação da Dissertação III | | | X | | |
| Discussão dos resultados | | | X | X | |
| Elaboração do artigo | | | | X | |
| Divulgação dos resultados e submissão do artigo | | | | X | X |
| Apresentação final da Dissertação | | | | | X |

9. REFERENCIAS

ADILAH, A. N. et al. Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 1–7, 2018.

AGUIAR, G. P. S.; LIMBERGER, G. M.; SILVEIRA, E. L. Alternativas tecnológicas para o aproveitamento de resíduos provenientes da industrialização de pescados. **Interdisciplinar: Revista Eletrônica da UNIVAR**, v. 1, n. 13, p. 153–164, 2015.

AHMED, I. et al. A comprehensive review on the application of active packaging technologies to muscle foods. **Food Control**, v. 82, p. 163–178, 2017.

AL-BAHRANI, R. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using tree oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* and its inhibitory activity against pathogenic bacteria. **Materials Letters**, v. 186, p. 21–25, 2017.

ALI, A. M. M.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S. Effect of squalene as a glycerol substitute on morphological and barrier properties of golden carp (*Probarbus Jullieni*) skin gelatin film. **Food Hydrocolloids**, v. 97, p. 105201, 2019.

ALI, Y. et al. Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. **Food hydrocolloids**, v. 41, p. 265–273, 2014.

ALMEIDA, Z. DA S. et al. Biologia reprodutiva da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) capturada na baía de São Marcos, Maranhão, Brasil. **Biota Amazônia**, v. 6, p. 46–54, 2016.

ARAÚJO, C. S. et al. Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 23–30, 2018.

ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; SUMPAPAPOL, P. Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 265–273.

ARUMUGAM, G. K. S.; SHARMA, D.; BALAKRISHNAN, R. M. Extraction, optimization and characterization of collagen from sole fish skin. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 9, p. 19–26, 2018.

ATARÉS, L.; CHIRALT, A. Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 51–62, 2016.

AZARIFAR, M. et al. The optimization of gelatin-CMC based active films containing chitin nano fiber and *Trachyspermum ammi* essential oil by response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, v. 208, p. 457–468, 2019.

BAHRAM, S. et al. Whey protein concentrate edible film activated with cinnamon essential oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 3, p. 1251–1258, 2014.

BAI, R. et al. Development and characterization of antioxidant active packaging and intelligent Al³⁺-sensing films based on carboxymethyl chitosan and quercetin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 1074–1084, 2019.

BARBOSA, J. R. et al. Polysaccharides of mushroom *Pleurotus* spp.: New extraction techniques, biological activities and development of new technologies. **Carbohydrate Polymers**, v. 229, p. 115550, 2020.

BATISTA, J. T. S. et al. Study of the effect of the chitosan use on the properties of biodegradable films of myofibrillar proteins of fish residues using response surface methodology. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, p. 100306, 2019.

BELLETTINI, M. B. et al. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 4, p. 633–646, 2019.

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

BONILLA, J. et al. Properties of wheat starch film-forming dispersions and films as affected by chitosan addition. **Journal of Food Engineering**, v. 114, p. 303–312, 2013.

BONILLA, J.; SOBRAL, P. J. A. Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. **Food Bioscience**, v. 1, p. 17–25, 2016.

BROOKS MS, R. V. Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. 05, n. 04, p. 107–129, 2013.

BUENO, C. M.; CRISTINA, T.; DIAS, R. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v. 14, p. 65–73, 2011.

CARO, N. et al. Novel active packaging based on films of chitosan and chitosan/quinoa protein printed with chitosan-tripolyphosphate-thymol nanoparticles via thermal ink-jet printing. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 520–532, 2016.

CARRASCO-GONZÁLEZ, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 58, p. 69–81, 2017.

CARVALHO, D. D. M. et al. Filme ativo de acetato de celulose incorporado com nanosuspensão de curcumina. **Polímeros**, v. 27, p. 70–76, 2017.

CEBI, N. et al. An evaluation of Fourier transforms infrared spectroscopy method for the classification and discrimination of bovine, porcine and fish gelatins. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1109–1115, 2016.

CHANAKYA, H. N.; MALAYIL, S.; VIJAYALAKSHMI, C. Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agro-residues. **Energy for Sustainable Development**, v. 27, p. 84–92, 2015.

CHEN, J. et al. Extraction and characterization of acid-soluble collagen from scales and skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 453–459, 2016.

CHEN, Y. et al. Structural elucidation of three antioxidative polysaccharides from *Tricholoma lobayense*. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 484–492, 2017.

CHENTIR, I. et al. Biofunctional gelatin-based films incorporated with food grade phycocyanin extracted from the Saharian cyanobacterium *Arthrospira* sp. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 715–725, 2019.

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

DEVI, K. S. P. et al. Immune augmentation and Dalton ' s Lymphoma tumor inhibition by glucans/glycans isolated from the mycelia and fruit body of *Pleurotus ostreatus*. **International Immunopharmacology**, v. 25, p. 207–217, 2015.

DIAS, E. S. et al. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 27, p. 1363–1369, 2003.

DOU, L. et al. Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 1377–1383, 2018.

ESPITIA, P. J. P. et al. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. **Food hydrocolloids**, v. 35, p. 287–296, 2013.

FAKHOURI, F. M. et al. Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 109, p. 57–64, 2015.

FAO – Food and Agriculture Organization. El estado mundial de la pesca y la acuicultura (SOFIA). Rome: FAO, 224 p. 2016.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable

development goals. Rome: FAO, 277 p. 2018.

GAO, H. et al. A functional polysaccharide film forming by pectin, chitosan, and tea polyphenols. **Carbohydrate Polymers**, v. 215, p. 1–7, 2019.

GJERDE, B. et al. Quantitative genetics of body weight, fillet weight and fillet yield in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 342–343, p. 117–124, 2012.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 25–34, 2002.

GONÇALVES, N. D. et al. Comparison of microparticles produced with combinations of gelatin, chitosan and gum Arabic. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 427–432, 2018.

GRITSCH, L. et al. Crosslinked gelatin hydrogels as carriers for controlled heparin release. **Materials Letters**, v. 228, p. 375–378, 2018.

HAFSA, J. et al. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 356–364, 2016.

HANANI, Z. A. N.; YEE, F. C.; NOR-KHAIZURA, M. A. R. Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 253–259, 2019.

HUANG, Z. et al. Injectable polyphosphazene/gelatin hybrid hydrogel for biomedical applications. **Materials & Design**, v. 160, p. 1137–1147, 2018.

INOO, K.; BANDO, H.; TABATA, Y. Insulin secretion of mixed insulinoma aggregates-gelatin hydrogel microspheres after subcutaneous transplantation. **Regenerative Therapy**, v. 8, p. 38–45, 2018.

JRIDI, M. et al. Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin – chitosan composite edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 373–379, 2014.

JRIDI, M. et al. Development and characterization of grey triggerfish gelatin/agar bilayer and blend films containing vine leaves bioactive compounds. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 370–378, 2019.

KAEWPRACHU, P. et al. Gelatin films with nisin and catechin for minced pork preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 18, p. 173–183, 2018.

KAMER, D. D. A. et al. Effect of confectionery solutes on the rheological properties of fish (*Oncorhynchus mykiss*) gelatin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 101, p. 499–405, 2019.

- KHAN, A. A. et al. Structural, rheological, antioxidant, and functional properties of β – glucan extracted from edible mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Coprinus atrimentarius*. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 11, p. 67–74, 2017.
- KIM, H.; BEAK, S.; SONG, K. BIN. Development of a hagfish skin gelatin film containing cinnamon bark essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 96, p. 583–588, 2018.
- KITTIPHATTANABAWON, P.; BENJAKUL, S.; SINTHUSAMRAN, S. Gelatin from clown featherback skin:Extraction conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 186–192, 2016.
- KONG, F. et al. Anti-tumor and macrophage activation induced by alkali-extracted polysaccharide from *Pleurotus ostreatus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 69, p. 561–566, 2014.
- KUMAR, S.; MITRA, A.; HALDER, D. Centella asiatica leaf mediated synthesis of silver nanocolloid and its application as filler in gelatin based antimicrobial nanocomposite film. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 293–300, 2017.
- LAEMMLI, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **MRC Laboratory of Molecular Biology**, v. 227, p. 680–685, 1970.
- LASSOUED, I. et al. Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. **Food hydrocolloids**, v. 41, p. 309–318, 2014.
- LEITÃO, B. R. G.; FAVACHO, M. C. Elaboração e avaliação nutricional da farinha da pele do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) e utilização em produtos. **Revista de Extensão do IFAM**, v. 1, p. 65–70, 2015.
- LI, H. et al. Comparison of chitosan/starch composite film properties before and after. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 52, p. 275–279, 2013.
- LI, J. et al. Extraction and characterization of type I collagen from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its potential application in biomedical sca ff old material for tissue engineering. **Process Biochemistry**, v. 74, p. 156–163, 2018.
- LIKITDECHAROJ, P.; RATANAVARAPORN, J. Comparative study in physico-chemical properties of gelatin derivatives and their microspheres as carriers for controlled release of green tea's extract. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 47, p. 367–374, 2018.
- LIU, J. et al. Preparation and characterization of protocatechuic acid grafted chitosan films with antioxidant activity. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 457–466, 2017.

LIU, Y. et al. Physicochemical characterization of a high molecular weight bioactive β -D-glucan from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 968–974, 2014.

LIU, Y. et al. Structural analysis and antioxidant activities of polysaccharide isolated from *Jinqian mushroom*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p. 63–68, 2014.

LIU, Z. et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 311–317, 2012.

LÓPEZ, D. et al. Edible film with antioxidant capacity based on salmon gelatin and boldine. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 160–169, 2017.

LUO, B. et al. Characterization and immunological activity of polysaccharides from *Ixeris polycephala*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 804–812, 2018.

LUPINA, K. et al. Edible films made from blends of gelatin and polysaccharide-based emulsifiers - A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 96, p. 555–567, 2019.

LUQMAN, A. et al. Chitosan, gelatin and methylcellulose films incorporated with tannic acid for food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1119–1126, 2018.

MA, J. T. D. et al. Genetic improvement of tilapias in China: Genetic parameters and selection responses in fillet traits of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after six generations of multi-trait selection for growth and fillet yield. **Aquaculture**, v. 366–367, p. 67–75, 2012.

MA, L. et al. Characterization of Se-enriched *Pleurotus ostreatus* polysaccharides and their antioxidant effects in vitro. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 421–429, 2018.

MAITY, P. et al. Structure elucidation and antioxidant properties of a soluble β -D-glucan from mushroom *Entoloma lividoalbum*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 63, p. 140–149, 2014.

MOEINI, A. et al. Thermoplastic starch and bioactive chitosan sub-microparticle biocomposites: Antifungal and chemico-physical properties of the films. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115627, 2020.

MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILÉN, M. C. Extracting Conditions for Megrim (*Lepidorhombus boschii*) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. **JFS: Food Chemistry and Toxicology**, v. 65, p. 434–438, 2000.

MORADALI, M. F. et al. Immunomodulating and anticancer agents in the realm of

macromycetes fungi (macrofungi). **International Immunopharmacology**, v. 7, p. 701–724, 2007.

MORADI, M. et al. Antioxidant and antimicrobial effects of zein edible film impregnated with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and monolaurin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 72, p. 37–43, 2016.

MORAIS, K. S. et al. Subprodutos da agroindústria do óleo de palma (dendê) para cultivo de cogumelos comestíveis e nutrição de peixes. **Revista Biotecnologia & Ciencia**, v. 6, p. 25–54, 2017.

MORENO-MENDIETA, S. et al. Potential of glucans as vaccine adjuvants: A review of the α -glucans case. **Carbohydrate Polymers**, v. 165, p. 103–114, 2017.

NANDI, A. K. et al. Antioxidant and immunostimulant β -glucan from edible mushroom *Russula albonigra* (Krombh.) Fr. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 774–782, 2014.

NAZMI, N. N.; ISA, M. I. N.; SARBON, N. M. Preparation and characterization of chicken skin gelatin/CMC composite film as compared to bovine gelatin film. **Food Bioscience**, v. 19, p. 149–155, 2017.

NETO, R. M.; OSTRENSKY, A. Nutrient load estimation in the waste of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) reared in cages in tropical climate conditions. **Aquaculture Research**, p. 1–14, 2013.

NILSUWAN, K.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Properties and antioxidative activity of fish gelatin-based film incorporated with epigallocatechin gallate. **Food hydrocolloids**, v. 80, p. 212–221, 2018.

NORLAND, R. R. Fish gelatin. *Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability* (p. 325-333). Lancaster: Technomic Publishing Co. 1990.

NUNES, M. R. et al. Antioxidant and antimicrobial methylcellulose films containing *Lippia alba* extract and silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 192, p. 37–43, 2018.

NÚÑEZ-FLORES, R. et al. Role of lignosulphonate in properties of fish gelatin films. **Food hydrocolloids**, v. 27, p. 60–71, 2012.

OLIVEIRA, C. L. et al. Improvement of the characteristics of fish gelatin – gum arabic through the formation of the polyelectrolyte complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 223, p. 115068, 2019.

OLIVEIRA, L. M. et al. Comportamento da produção e do mercado de pescado no Brasil e no estado do Pará. **Centro Científico Conhecer- Goiânia**, v. 13, n. 24, p. 152–166, 2017.

PANT, D.; REDDY, U. G.; ADHOLEYA, A. Cultivation of oyster mushrooms on wheat straw and bagasse substrate amended with distillery effluent. **World Journal of**

Microbiology and Biotechnology, v. 22, p. 267–275, 2006.

PATEL, S. et al. Preparation and optimization of chitosan-gelatin films for sustained delivery of lupeol for wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1888–1897, 2018.

PRANOTO, Y.; MIN, C.; JIN, H. Characterizations of fish gelatin films added with gellan and kappa-carrageenan. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, p. 766–774, 2007.

PRATEEPCHANACHAI, S. et al. Improvement of mechanical and heat-sealing properties of edible chitosan films via addition of gelatin and CO₂ treatment of film-forming solutions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 589–600, 2019.

PRESTES, R. C. Colágeno e Seus Derivados: Características e Aplicações em Produtos Cárneos Collagen and Its Derivatives: Characteristics and Applications in Meat Products. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 15, n. 1, p. 65–74, 2013.

QIAO, C. et al. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. **Food Chemistry**, n. 235, p. 45–50, 2017.

RADZKI, W. et al. Effect of processing on the content and biological activity of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* mushroom. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 27–33, 2016.

RASID, N. A. M. et al. Rheological, functional and antioxidant properties of films forming solution and active gelatin films incorporated with *Centella asiatica* (L.) urban extract. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 18, p. 115–124, 2018.

REN, L.; PERERA, C.; HEMAR, Y. Antitumor activity of mushroom polysaccharides: A review. **Food and Function**, v. 3, p. 1118–1130, 2012.

RIBEIRO, W. X. et al. Characterization of biodegradable film based on zein and oleic acid added with nanocarbonate. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1890–1894, 2015.

RIVERO, S.; GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A. Correlations between structural, barrier, thermal and mechanical properties of plasticized gelatin films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 369–375, 2010.

RIZKI, M.; TAMAI, Y. Effects of different nitrogen rich substrates and their combination to the yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, p. 1695–1702, 2011.

ROCHA-GARCÍA, D. et al. Gelatin-based Porous Silicon Hydrogel Composites for the Controlled Release of Tramadol. **European Polymer Journal**, v. 108, p. 485–497, 2018.

RUIZ-RODRIGUEZ, A. et al. Effect of olive mill waste (OMW) supplementation to Oyster mushrooms substrates on the cultivation parameters and fruiting bodies quality.

International Biodeterioration and Biodegradation, v. 64, n. 7, p. 638–645, 2010.

SHAHBAZI, M. et al. Carboxymethyl cellulose film modification through surface photo-crosslinking and chemical crosslinking for food packaging applications. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 378–389, 2016.

SHAMLOO, A. et al. Accelerated full-thickness wound healing via sustained FGF delivery based on a PVA/chitosan/gelatin hydrogel incorporating PCL microspheres. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 537, p. 278–287, 2018.

SHEN, Z.; KAMDEN, D. P. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. **International journal of biological macromolecules**, v. 74, p. 289–96, 2015.

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

SILVA, N. S. **Aplicação tecnológica da gelatina de peixe em microencapsulação e filmes biodegradáveis**. 2017. 98 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.

SILVA, N. DA S. et al. Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. **CyTA - Journal of Food**, v. 16, p. 340–349, 2018.

SILVA, R. A.; BONNAS, D. S.; SILVA, P. F. Aproveitamento dos resíduos gerados no processamento de postas de surubim (*pseudoplatystoma corruscans*) para elaboração de nuggets. **Contextos da Alimentação-Revista de Comportamento, Cultura e Sociedade**, v. 3, p. 37–48, 2015.

SILVEIRA, M. L. L. et al. Structural characterization and anti-inflammatory activity of a linear b-d-glucan isolated from *Pleurotus sajor-caju*. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 588–596, 2014.

SINGDEVSACHAN, S. K. et al. Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomodulating properties: A review. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2016.

SINTHUSAMRAN, S. et al. Physical and rheological properties of fish gelatin gel as influenced by κ -carrageenan. **Food Bioscience**, v. 20, p. 88–95, 2017.

SINTHUSAMRAN, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). **Food Chemistry**, v. 138, p. 2435–2441, 2013.

SIONKOWSKA, A. et al. Isolation and characterization of collagen from the skin of Brama

- australis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 80, p. 605–609, 2015.
- STAROSZCZYK, H. et al. Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films : FT-IR study. **Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 707–712, 2014.
- SULISTIANY, H.; SUDIRMAN, L. I.; DHARMAPUTRA, O. S. Production of Fruiting Body and Antioxidant Activity of Wild *Pleurotus*. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 23, p. 191–195, 2017.
- SUN, B. et al. Polysaccharides as vaccine adjuvants. **Vaccine**, v. 36, p. 5226–5234, 2018.
- SUN, L. et al. Characterization of acid- and pepsin-soluble collagen extracted from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 8–14, 2017.
- TAMILMOZHI, S.; VEERURAJ, A.; ARUMUGAM, M. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*). **Food Research International**, v. 54, p. 499-1505, 2013.
- TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Comparative studies on properties and antioxidative activity of fish skin gelatin films incorporated with essential oils from various sources. **International Aquatic Research**, v. 62, p. 1–12, 2014.
- TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Mechanical, thermal and heat sealing properties of fish skin gelatin film containing palm oil and basil essential oil with different surfactants. **Food hydrocolloids**, v. 56, p. 93–107, 2016.
- URANGA, J. et al. Development of active fish gelatin films with anthocyanins by compression molding. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 313–320, 2018.
- VORON'KO, N. G. et al. The chitosan–gelatin (bio)polyelectrolyte complexes formation in an acidic medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 265–272, 2015.
- WASSER, S. P. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, p. 1323–1332, 2011.
- WWF - World Wildlife Fund. Situação e tendências da pesca marítima no Brasil e o papel dos subsídios. São Paulo - SP, WWF – Brasil, p. 76, 2016.
- WOLFF, M.; KOCH, V.; ISAAC, V. A trophic flow model of the caete mangrove estuary (North Brazil) with considerations for the sustainable use of its resources. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 50, n. 6, p. 789–803, 2000.
- XIA, F. et al. Antioxidant effects of a water-soluble proteoglycan isolated from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus*. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v.

42, p. 402–407, 2011.

XIONG, Y. L. Collagen. In: Food Proteins and their applications. Ed. Srinivasan damodaram. p. 356-358, 1997.

YADAV, S. et al. Preparation, physicochemical and biological evaluation of quercetin based chitosan-gelatin film for food packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, p. 115348, 2020.

YAMAUCHI, M. et al. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostrreatus*) on fermented moso bamboo sawdust. **Journal of King Saud University - Science**, p. 0–4, 2018.

YAN, J. et al. Analyses of active antioxidant polysaccharides from four edible mushrooms. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 123, p. 945–956, 2019a.

YAN, J. et al. A 3-O-methylated heterogalactan from *Pleurotus eryngii* activates macrophages. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, p. 706–715, 2019b.

YAO, Y. et al. Antibacterial Activity and Physical Properties of Fish Gelatin-Chitosan Edible Films Supplemented with D-Limonene. **International Journal of Polymer Science**, p. 1–9, 2017.

YIM, H. S. et al. Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom, *Pleurotus porrigens*. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 235–242, 2012.

ZHANG, Y. et al. Characterization and in vitro antioxidant activities of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, p. 259–265, 2012.

ZHANG, Y. et al. Antidiabetic effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* in streptozotocin-induced diabetic rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 83, p. 126–132, 2016a.

ZHANG, Y. et al. Polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* alleviate cognitive impairment in a rat model of Alzheimer's disease. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 935–941, 2016b.

ZHANG, Y. et al. Regulating dyslipidemia effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* on fat-emulsion-induced hyperlipidemia rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 107–116, 2017.

ZHANG, Y.; SIMPSON, B. K.; DUMONT, M.-J. Effect of beeswax and carnauba wax addition on properties of gelatin films: A comparative study. **Food Bioscience**, v. 26, p. 88–95, 2018.