



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

**NATÁCIA DA SILVA E SILVA**

**APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DA GELATINA DE PEIXE EM**  
**MICROENCAPSULAÇÃO E FILMES BIODEGRADÁVEIS**

**Belém**

**2017**



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

**NATÁCIA DA SILVA E SILVA**

**APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DA GELATINA DE PEIXE EM**  
**MICROENCAPSULAÇÃO E FILMES BIODEGRADÁVEIS**

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

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço

Belém

2017

**NATÁCIA DA SILVA E SILVA**

**APLICAÇÃO TECNOLÓGICA DA GELATINA DE PEIXE EM  
MICROENCAPSULAÇÃO E FILMES BIODEGRADÁVEIS**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço  
(FEA/ITEC/UFPA – Orientadora)

---

Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Júnior  
(FEA/ITEC/UFPA – Membro Interno)

---

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

---

Prof. Dr. Eder Augusto Furtado Araujo  
(FEA/ITEC/UFPA – Membro Externo)

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Elen Vanessa Costa da Silva  
(UEPA – Membro externo)

---

Prof. Dr. Antonio Manoel da Cruz Rodrigues  
(FEA/ITEC/UFPA — Suplente interno )

---

Prof. Dr. Marcos Enê Chaves Oliveira  
(EMPRAPA-Suplente externo)

*Dedico aos meus pais, minhas irmãs, meus  
sobrinhos e ao Zeus, por serem tudo na minha  
vida.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre me guiou e iluminou minha vida, mesmo quando o percurso parecia obscuro, mostrando o melhor caminho a seguir.

Ao meu pai e à minha mãe que são tudo na minha vida. Agradeço vocês por fazerem parte da minha vida e por serem tão maravilhosos. Todas as belas palavras não seriam suficientes para descrever a importância de suas presenças em minha vida e desculpa pela ausência.

As minhas irmãs, Priscila e Natália, que são indispensáveis. Agradeço o amor, o carinho, o apoio e a amizade constantes.

Aos meus sobrinhos Guilherme, Gustavo e Maria Alice. Guilherme que com seu jeitinho sempre fazia sua tia querida sair um pouco dos estudos e dar mais atenção para ele. Amo vocês.

Ao meu Zeus Rock, pelo companheirismo, descontração e alegrias proporcionadas durante toda essa caminhada.

A Professora Dr<sup>a</sup> Lúcia de Fátima Henriques Lourenço, pela orientação, apoio e oportunidade de crescimento. Serei eternamente grata pelo apoio dado durante esses anos de mestrado e doutorado. Muito obrigada.

Aos professores da banca, pelas valiosas contribuições ao longo do trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela contribuição profissional e ajuda nas dúvidas.

Aos amigos do Lapesca: Jayra, Elen Vanessa, Raíra pela amizade no decorrer desta Tese. Em especial a minha amiga Cleidiane Araújo, pela amizade e conversas sobre filmes biodegradáveis, tomando aquele café com orelha e ao amigo Enrique Pino pela amizade e ajuda na submissão dos artigos. A Heloisa Helena pela ajuda durante a manipulação no *spray drying*.

Ao meu amigo de todas as horas, Vanderson Dantas, que sempre estar disponível pra ajudar e que foi muito importante nesta caminhada.

Ao professor Marcos Enê, pela disponibilidade em ceder o laboratório para a realização dos experimentos, pois sempre estava disponível para abrir e fechar o laboratório conforme a necessidade.

Aos amigos Wanessa Araújo e Diego Aires pela ajuda na reta final da Tese.

Aos meus alunos Marcelo Batista e Jeniffer Thamires pela ajuda durante as realizações das análises. Muito Obrigada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos PPGCTA – UFPA e a CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Microcápsulas de <i>spray-drying</i> ..... | 20 |
|-------------------------------------------------------------|----|

### CAPÍTULO II

|                                                                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Formulações com diferentes concentrações de gelatina e goma obtidas em microscópio óptico (aumento de 100x) .....                                   | 41 |
| <b>Figura 2.</b> (A) Curvas de escoamento referentes as formulações, (B) Curvas de viscosidade versus a taxa de cisalhamento das diferentes emulsões avaliadas ..... | 43 |
| <b>Figura 3.</b> Microscopia eletrônica de varredura (MEV) produzidas com diferentes concentrações de gelatina de peixe e goma arábica .....                         | 46 |

### CAPÍTULO III

|                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Gráficos de superfície de resposta para atividade antioxidante, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e resistência à tração (RT), relacionando as concentrações de Gelatina de peixe, óleo de buriti e plastificante, para a obtenção de filme..... | 61 |
| <b>Figura 2.</b> Perfis de Desejabilidade para concentrações de gelatina de peixe, óleo de buriti e plastificante na obtenção do filme biodegradável .....                                                                                                            | 63 |
| <b>Figura 3.</b> (A) Curva de escoamento referente à solução filmogênica (emulsões), (B) Curva de viscosidade versus a taxa de deformação .....                                                                                                                       | 64 |
| <b>Figura 4.</b> Filme biodegradável, otimizado pela desejabilidade obtido com 2,3% gelatina de peixe, 30% de óleo de buriti e 13,18% de plastificante .....                                                                                                          | 67 |
| <b>Figura 5.</b> Microfotografias (a) da superfície e (b) corte transversal, do filme biodegradável de gelatina de peixe com óleo de buriti otimizado .....                                                                                                           | 67 |

### CAPÍTULO IV

|                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Atividade antioxidante dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos .....              | 85 |
| <b>Figura 2.</b> Atividade antimicrobiana dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos. ....            | 86 |
| <b>Figura 3.</b> Microscopia ótica dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos .....                   | 88 |
| <b>Figura 4.</b> Microscopia eletrônica de varredura dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos ..... | 89 |
| <b>Figura 5.</b> Imagens dos filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos. ....                                        | 90 |
| <b>Figura 6.</b> Seleção e classificação dos filmes biodegradáveis .....                                                                | 93 |

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

|                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Formulações levadas para o <i>spry-drying</i> .....                                                                           | 35 |
| <b>Tabela 1.</b> Caracterização da pele e da gelatina da pescada amarela .....                                                                 | 38 |
| <b>Tabela 2.</b> Perfil de aminoácidos presente na gelatina de pescada amarela e gelatina comercial .....                                      | 40 |
| <b>Tabela 3.</b> Eficiência de encapsulação em microcápsulas de óleo de peixe produzidas em <i>spray-drying</i> .....                          | 44 |
| <b>Tabela 4.</b> Atividade de água ( <i>aw</i> ) e cor instrumental em microcápsulas de óleo de peixe produzidas por <i>spray-drying</i> ..... | 45 |

### CAPÍTULO III

|                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Definição dos níveis das variáveis estudadas na obtenção do filme .....                                                                                              | 55 |
| <b>Tabela 2.</b> Resultados experimentais para atividade antioxidante, PVA e RT obtidos sob diferentes condições do Planejamento Fatorial Completo 2 <sup>3</sup> .....               | 58 |
| <b>Tabela 3.</b> Efeito estimado, erro, grau de significância estatística para o erro puro, regressão, falta de ajuste e R <sup>2</sup> , para atividade antioxidante, PVA e RT ..... | 59 |
| <b>Tabela 4.</b> Caracterização física, química, solubilidade e cor do filme biodegradável otimizado .....                                                                            | 65 |

### CAPÍTULO IV

|                                                                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Característica ideal do filme e ordem de prioridade das análises .....                                                    | 80 |
| <b>Tabela 2.</b> Resultados das caracterizações física, mecânica e cor dos filmes biodegradáveis .....                                     | 82 |
| <b>Tabela 3.</b> Filme ideal de gelatina de peixe adicionado de óleos essenciais e fixos .....                                             | 91 |
| <b>Tabela 4.</b> Resultados do Peso Ranking Ponderado, Peso Ranking Linear e Posição no Ranking dos diferentes filmes biodegradáveis ..... | 92 |

## SUMÁRIO

|                                                                                     |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>                                                     | <b>11</b>  |
| <b>2 OBJETIVO .....</b>                                                             | <b>15</b>  |
| 2.1 OBJETIVO GERAL .....                                                            | 15         |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                     | 15         |
| <b>3 ESTRUTURA DA TESE .....</b>                                                    | <b>16</b>  |
| <b>CAPÍTULO I .....</b>                                                             | <b>17</b>  |
| <b>1 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                                 | <b>17</b>  |
| 1.1 PRODUÇÃO DOS RECURSOS PESQUEIROS E APROVEITAMENTO DE SUBPRODUTOS DA PESCA ..... | 17         |
| 1.2 GELATINA DE PEIXE .....                                                         | 21         |
| <b>1.3 FILMES BIODEGRADÁVEIS .....</b>                                              | <b>227</b> |
| 1.3.1 PROPRIEDADES DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS .....                                  | 23         |
| 1.4 MICROENCAPSULAÇÃO .....                                                         | 17         |
| 1.4.1 MICROENCAPSULAÇÃO POR SPRAY- DRYING .....                                     | 24         |
| 1.5 ÓLEO DE PEIXE .....                                                             | 19         |
| <b>1.6. GOMA ARÁBICA.....</b>                                                       | <b>20</b>  |
| 1.7 ÓLEOS ESSENCIAS E FIXOS .....                                                   | 242        |
| <b>2 REFERÊNCIAS .....</b>                                                          | <b>26</b>  |
| <b>CAPÍTULO II .....</b>                                                            | <b>33</b>  |
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                           | <b>34</b>  |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                   | <b>36</b>  |
| 2.1 MATERIAL .....                                                                  | 36         |
| 2.2 EXTRAÇÃO DA GELATINA DA PELE DE PESCADA AMARELA (CYNOSCION ACOUPA).....         | 36         |
| 2.2.1 RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA GELATINA DE PEIXE .....                 | 36         |
| 2.2.2 Caracterização físico-química da pele e da gelatina de peixe.....             | 37         |
| 2.2.3 Perfil de aminoácidos da gelatina da pele de peixe .....                      | 37         |
| 2.3 FORMAÇÃO DA EMULSÃO .....                                                       | 37         |
| 2.4. CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES .....                                              | 386        |
| 2.4.1 Estabilidade da emulsão.....                                                  | 386        |
| 2.4.2 Microestrutura das emulsões.....                                              | 38         |
| 2.4.3 Viscosidade da emulsão.....                                                   | 38         |

|                                                                                                                                                        |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>2.5 MICROENCAPSULAÇÃO POR SPRAY-DRYING .....</b>                                                                                                    | <b>38</b>  |
| 2.5.1 Eficiência de encapsulação (% EE).....                                                                                                           | 38         |
| 2.5.2. Atividade de água (aw) e cor instrumental das microcápsulas .....                                                                               | 39         |
| 2.5.3 Microscopia eletrônica de varredura.....                                                                                                         | 39         |
| 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                                                                                                          | 39         |
| <b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                                  | <b>40</b>  |
| 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA PELE E DA GELATINA DA PESCADA AMARELA .....                                                                                      | 40         |
| 3.1.3 Perfil de aminoácidos da gelatina da pele de peixe .....                                                                                         | 41         |
| 3.2 CARACTERIZAÇÃO DA EMULSÃO .....                                                                                                                    | 42         |
| 3.2.1 Estabilidade da emulsão.....                                                                                                                     | 42         |
| 3.2.2 Microscopia óptica.....                                                                                                                          | 43         |
| 3.2.3 Viscosidade da emulsão.....                                                                                                                      | 44         |
| 3.3 MICROENCAPSULAÇÃO POR SPRAY-DRYING .....                                                                                                           | 45         |
| 3.3.1 Eficiência de Encapsulação (% EE).....                                                                                                           | 45         |
| 3.3.2 Atividade de água (aw) e Cor instrumental .....                                                                                                  | 47         |
| 3.3.3 Morfologia das partículas .....                                                                                                                  | 48         |
| <b>4 CONCLUSÃO.....</b>                                                                                                                                | <b>49</b>  |
| <b>5 REFERENCIAS .....</b>                                                                                                                             | <b>50</b>  |
| <b>CAPÍTULO III .....</b>                                                                                                                              | <b>531</b> |
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                                              | <b>54</b>  |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                                                                                       | <b>56</b>  |
| 2.1 MATERIAL.....                                                                                                                                      | 564        |
| 2.2 EXTRAÇÃO DA GELATINA DE PELE DE PEIXE DA PESCADA AMARELA<br>(CYNOSCIION ACOUPA).....                                                               | 564        |
| 2.3 PREPARAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS .....                                                                                                         | 56         |
| 2.3.1 Planejamento Fatorial Completo 2 <sup>3</sup> para Estabelecer as Variáveis do Processo de<br>Obtenção dos Filmes.....                           | 57         |
| 2.3.2 Determinação das Propriedades dos Filmes Biodegradáveis .....                                                                                    | 57         |
| 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                                                                                                          | 59         |
| <b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                                  | <b>60</b>  |
| 3.1 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO 2 <sup>3</sup> .....                                                                                                | 60         |
| 3.1.1 Estimativa das Variáveis, Significância e Análise de Variância das Respostas<br>Estudadas no Planejamento Fatorial Completo 2 <sup>3</sup> ..... | 59         |

|                                                                                                             |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2 OTIMIZAÇÃO DO FILME BIODEGRADÁVEL POR DESEJABILIDADE .....                                              | 65        |
| 3.3 PROPRIEDADES REOLÓGICAS DA SOLUÇÃO FILMOGÊNICA DO FILME BIODEGRADÁVEL OTIMIZADO .....                   | 66        |
| 3.4 CARACTERIZAÇÃO DO FILME BIODEGRADÁVEL OTIMIZADO .....                                                   | 67        |
| <b>4 CONCLUSÃO.....</b>                                                                                     | <b>69</b> |
| <b>5 REFERENCIAS .....</b>                                                                                  | <b>72</b> |
| <b>CAPÍTULO IV.....</b>                                                                                     | <b>76</b> |
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                   | <b>77</b> |
| <b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                                                           | <b>79</b> |
| 2.1 MATERIAL.....                                                                                           | 79        |
| 2.2 EXTRAÇÃO DA GELATINA DE PELE DE PEIXE DA PESCADA AMARELA (CYNOSCION ACOUPA).....                        | 79        |
| 2.3. PREPARAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS .....                                                             | 79        |
| <b>2.3.1 Determinação das propriedades dos filmes biodegradáveis .....</b>                                  | <b>77</b> |
| <b>2.3.2 Atividade antioxidante e antimicrobiana dos filmes biodegradáveis .....</b>                        | <b>79</b> |
| 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS .....                                                                     | 79        |
| <b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                                       | <b>84</b> |
| 3.1 DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS .....                                           | 84        |
| 3.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS .....                                 | 87        |
| 3.3 MICROSCOPIA ÓTICA E DE VARREDURA DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS ADICIONADOS DE ÓLEOS FIXOS E ESSENCIAIS..... | 88        |
| 3.4 CLASSIFICAÇÃO E SELEÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS APLICANDO O ALGORITMO K-VIZINHOS (KNN) .....          | 92        |
| <b>4 CONCLUSÃO.....</b>                                                                                     | <b>97</b> |
| <b>5 REFERENCIAS .....</b>                                                                                  | <b>98</b> |

## RESUMO GERAL

As indústrias de beneficiamento de pescado geram uma grande quantidade de materiais poluentes, como peles, da qual pode ser obtida gelatina para a elaboração de diversos produtos. Diante disto, o objetivo desta tese foi extrair gelatina da pele de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) e utilizar na microencapsulação de óleo de peixe por *spray-drying* e produção de filmes biodegradáveis com adição de óleos. O primeiro artigo consistiu na microencapsulação do óleo de peixe, na qual foram elaboradas quatro formulações com diferentes concentrações de goma arábica e gelatina da pele de pescada amarela como material de parede e óleo de peixe como recheio. Os resultados mostraram excelente eficiência de encapsulação da gelatina de peixe, acima de 94%, sendo possível substituir totalmente a goma arábica por gelatina de peixe no processo de microencapsulação. No segundo artigo foi proposto determinar por meio de um planejamento fatorial completo  $2^3$ , as condições ótimas de processo para o desenvolvimento de um filme biodegradável, de gelatina de peixe com adição de óleo de buriti e caracterizá-lo em relação as suas especificidades físicas, mecânicas e antioxidantes. As condições de otimização do processo foram 2,3% de gelatina de peixe, 30% de óleo de buriti e 13,18% de plastificante. Este estudo mostrou que a gelatina de peixe e óleo de buriti são fontes promissoras para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, podendo reduzir o impacto ambiental provocado pelos resíduos da indústria de pesca e plásticos derivados do petróleo. O terceiro artigo, teve como objetivo desenvolver materiais de embalagens ativas adicionadas de óleos essenciais e fixos e selecionar a melhor embalagem utilizando a inteligência computacional. A adição de óleo proporcionou maior elasticidade e espessura, não modificando a permeabilidade ao vapor de água. Os filmes apresentaram boas propriedades antioxidantes e antimicrobiana, sendo capaz de inibir *S. aureus* e *E. coli*. O filme adicionado de óleo de cravo, foi considerado o melhor, por meio da inteligência artificial utilizando o algoritmo dos K-vizinhos mais próximos (KNN) e o óleo de dendê pode ser um potencial para utilização em embalagens ativas em decorrência de suas excelentes propriedades e baixo custo. Com os resultados apresentados pode-se concluir que a produção de filmes biodegradáveis de gelatina de peixe e óleo de cravo, orégano, buriti e dendê, são alternativas promissoras, podendo reduzir o impacto ambiental provocado pelos resíduos da indústria de pesca e plásticos derivados do polietileno e polipropileno.

Palavras -chaves: gelatina, microencapsulação, filme biodegradável

## GENERAL ABSTRACT

The fish processing industries generate a large polluting materials quantity, such as furs, from which gelatine can be obtained for the several products elaboration. The aim of this study was to extract gelatine from yellow hake skin (*Cynoscion acoupa*) for microencapsulation of fish oil use by spray drying and biodegradable films production with the addition of diferente vegetal oils. The first paper consisted of the fish oil microencapsulation, in which four formulations with different concentrations of gum arabic and gelatine of the yellow hake skin were made as wall material and fish oil as a filling. The results showed excellent encapsulation efficiency of fish gelatine, above 94%, and it is possible to totally replace gum arabic with fish gelatin in the microencapsulation process. In the second paper it was proposed to determine by means of a complete factorial design  $2^3$  the optimal process conditions for a biodegradable film fish gelatine development with addition of buriti oil and to characterize it in relation to its physical, mechanical specificities and antioxidants. The process optimization conditions were 2.3% fish gelatine, 30% buriti oil and 13.18% plasticizer. This study showed that fish gelatine and buriti oil are promising sources for biodegradable packaging development, which can reduce the environmental impact caused by fishery and petroleum-based plastics. The third paper aimed to develop active packaging materials with added essential and fixed oils and to select the best packaging using computational intelligence. The oil addition provided greater elasticity and thickness, without modifying the permeability to water vapor. The films presented good antioxidant and antimicrobial properties, being able to inhibit *S. aureus* and *E. coli*. The added clove oil film was considered the best by artificial intelligence using the KNN algorithm and palm oil may be a potential for use in active packaging due to its excellent properties and low cost. With the results presented, it can be concluded that biodegradable fish gelatine films production and oil of clove, oregano, buriti and palm oil are promising alternatives and can reduce the environmental impact caused by fishing industry waste and plastics derived from polyethylene and polypropylene.

**Keywords:** gelatin, microencapsulation, biodegradable film

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é um dos maiores produtores de pescado do mundo e o estado do Pará, no ano de 2013, foi o maior produtor nacional, com produção de 728.393,80 toneladas, sendo 670.961 da pesca artesanal, 41.250 da pesca industrial e 16.182 da piscicultura, representando assim, uma das principais atividades econômicas do Estado do Pará (SEPAQ, 2015).

As indústrias de beneficiamento de pescado geram grandes quantidades de resíduos, como cabeças, aparas da filetagem, barbatanas, pele e carapaça, que possuem valor nutricional e podem ser utilizados como matéria prima para a elaboração de produtos, contribuindo para a diminuição dos impactos ambientais (BOSCOLO et al., 2005; SIMÕES et al., 2011). Dentre os possíveis produtos que podem ser elaborados a partir dos resíduos de pescado destacam-se a quitosa, a gelatina e o óleo de peixe (CONSTANT; STRINGHETA, 2002; KARIM; BHAT, 2009; OCAK, 2012).

A gelatina é um polipeptídio obtido por hidrólise térmica parcial do colágeno que possui capacidade de formar géis termorreversíveis, sendo uma proteína fibrosa derivada do colágeno (SCHRIEBER; GAREIS, 2007). Segundo Bueno et al. (2011) e Alfaro et al. (2013) a gelatina de peixe pode ser utilizada como material de parede para microencapsulação de óleo de peixe e formação de filmes biodegradáveis.

O óleo de peixe é considerado alimento funcional, pois além das funções nutritivas, pode ter efeitos benéficos à saúde. No entanto, um dos principais problemas associados a esses óleos é a fácil oxidação na presença de luz e oxigênio, com formação de produtos de degradação, que possuem odor e sabor desagradáveis, diminuindo a aceitação e vida comercial (KLAYPRADIT; HUANG, 2008; ARAB-TEHRANY et al., 2012; CARNEIRO et al., 2012).

Para manter o óleo de peixe oxidativamente estável, deve-se armazenar à baixa temperatura e sob atmosfera modificada. Outra alternativa promissora seria a microencapsulação (YEP et al., 2002; PACHECO; REGITANO-D'ARCE, 2009; ALVIM; GROSSO, 2010).

A microencapsulação por *spray-drying* é uma das técnicas mais utilizadas para a produção de flavors com baixa umidade, podendo ser definida como a transformação do material de alimentação em estado fluido (solução, dispersão ou pasta) em um produto particulado, formado pela atomização do fluido em um meio de secagem a quente

(GHARSALLAOUI et al., 2007). Neste processo podem ser utilizados como materiais de parede a gelatina de peixe (MCCLEMENTS, 2006; KARIM; BHAT, 2009).

Outra aplicação tecnológica da gelatina de peixe é a formação de filmes biodegradáveis, que pode ser definido como um filme fino preparado a partir de materiais biológicos, que age como barreira a elementos externos e, consequentemente, pode proteger o produto embalado, de danos físicos e biológicos (SANTANA et al., 2012).

Os filmes formados com proteínas de peixe apresentam propriedades funcionais interessantes, como a habilidade para formar redes, elasticidade e boa barreira ao oxigênio. No entanto, a barreira ao vapor de água é baixa em razão da sua natureza hidrofílica (NUNEZ-FLORES et al., 2012; ZAVAREZE et al., 2012).

Burt (2004) relata que a adição de óleos no filme, traz vantagens, pois muitos óleos possuem atividade antioxidante e antimicrobiana, o que pode melhorar as propriedades de barreira ao vapor de água, evitar a oxidação de lipídios e retardar a proliferação de micro-organismos nos produtos embalados, tornando o filme mais atrativo e aumentando a vida útil do produto.

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi extrair gelatina da pele de pescada amarela e realizar aplicações tecnológicas.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Extrair gelatina da pele de pescada amarela e realizar aplicações tecnológicas.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair gelatina da pele de pescada amarela e utilizar na microencapsulação de óleo de peixe por *spray-drying*
- Desenvolver e otimizar a produção de filme biodegradável de gelatina de peixe, adicionado de óleo de buriti
- Estudar as propriedades físicas, mecânicas, antioxidantes e antimicrobianas de filmes biodegradáveis , com óleos essenciais e fixos

### **3 ESTRUTURA DA TESE**

Este estudo foi organizado em capítulos que estão descritos da seguinte forma:

#### **CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA.**

**CAPÍTULO II – EXTRAÇÃO DE GELATINA DE PEIXE E APLICAÇÃO NO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE POR *SPRAY-DRYING*:** Este capítulo corresponde ao primeiro artigo da Tese submetido para revista *Innovative Food Science and Emerging Technologies* e encontra-se sob avaliação.

**CAPÍTULO III – DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE FILME BIODEGRADÁVEL DE GELATINA DE PEIXE ADICIONADO DE ÓLEO DE BURITI:** Este capítulo corresponde ao segundo artigo da Tese e foi aceito pela revista *Cyta - Journal of Food*.

**CAPÍTULO IV– ESTUDO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS, ANTIOXIDANTES, ANTIMICROBIANAS E APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL EM FILMES BIODEGRADÁVEIS COM ÓLEOS ESSENCIAIS E FIXOS:** Este capítulo corresponde ao terceiro artigo e que será submetido para a revista *Bioresource Technology*.

## CAPÍTULO I

### 1 REVISÃO DE LITERATURA

#### 1.1 PRODUÇÃO E RECURSOS PESQUEIROS E APROVEITAMENTO DE SUBPRODUTOS DA PESCA

De acordo com dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (2014), a produção pesqueira e aquícola mundial em 2013 atingiu 160 milhões de toneladas de pescado e esses elevados números refletem o forte crescimento da produção aquícola.

A produção de pescado no Brasil em 2013 foi de 2,5 milhões de toneladas, com um crescimento de 66% quando comparado com o ano de 2012, que teve uma produção de 1,5 milhão de toneladas (FAO, 2014).

A região Norte do Brasil é uma das regiões com maior participação quanto ao volume produzido no Brasil, o qual é fortemente impulsionado pelo estado do Pará, com uma produção de 728 mil toneladas (SEPAQ, 2015).

O beneficiamento do pescado nas indústrias pesqueiras gera subprodutos devido à falta de conhecimento do valor nutricional desses recursos, falta de tecnologia para aplicação e por não considerarem como matéria prima para elaboração de diversos produtos (BOSCOLO; FEIDEN, 2007; SIMÕES et al., 2011)

O aproveitamento do material residual de pescado, além de diminuir o problema de resíduos orgânicos, traz vantagens econômicas para as indústrias, pois seu aproveitamento agrega valor a estes resíduos, que antes não tinham nenhum valor comercial (AGUIAR et al., 2014).

Na etapa de filetagem, o aproveitamento do peixe é de apenas 30%. O restante são subprodutos que podem ser utilizados como fonte de proteínas ou lipídeos e também como matéria prima para produção de gelatina, que pode ser usada como material de parede para microencapsulação de óleo de peixes (GOMEZ-GUILLEN et al., 2007; BUENO et al., 2011).

#### 1.2 GELATINA DE PEIXE

A gelatina é uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno, a qual pode formar três cadeias  $\alpha$  independentes, uma cadeia  $\beta$  e uma  $\alpha$ , ou apenas uma cadeia  $\gamma$ . A

principal diferença entre as formas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  da gelatina é o peso molecular (KARIM; BHAT, 2009).

Existem dois tipos principais de gelatina, a gelatina do tipo A, quando o ponto isoelétrico reside em pH entre 7 e 9 e é derivado exclusivamente do colágeno pré-tratado em condições ácidas, e a gelatina do tipo B, que possui ponto isoelétrico entre pH 4,8 e 5,6, resultado do pré-tratamento alcalino do colágeno (GÓMEZ-GUILLEN et al., 2011).

Para aplicações alimentares, as características mais importantes da gelatina são a resistência do gel, a viscosidade, a gelificação e o ponto de fusão, propriedades estas afetadas por fatores, como: composição de aminoácidos, peso molecular dos aminoácidos, concentração da solução de gelatina, tempo e temperatura de maturação do gel, pH e teor de sal (CHOI; REGENSTEIN, 2000; GÓMEZ-ESTACA et al., 2009).

Outras propriedades da gelatina que devem ser observadas são: a composição, a solubilidade, a transparência, a cor, o odor e o sabor. No entanto, os principais atributos que melhor definem a qualidade de uma gelatina são a resistência do gel e a estabilidade térmica, como temperaturas de fusão e de geleificação (JAMILAH; HARVINDER, 2002; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007).

A gelatina é um dos biopolímeros mais populares, amplamente utilizada em alimentos, produtos farmacêuticos, cosméticos e aplicações fotográficas, em decorrência de suas propriedades funcionais e tecnológicas únicas. Contudo, um número crescente de novas aplicações tem sido encontrado para a gelatina em produtos como agentes emulsionantes, agentes formadores de espuma, estabilizantes coloidais, materiais formadores de película biodegradáveis e micro-agentes de encapsulamento (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

A maioria das gelatinas comerciais é produzida a partir de mamíferos, principalmente de bovinos e suínos, porém, esse tipo de gelatina possui restrições religiosas quanto o consumo entre muçumanos e judeus, o que não acontece com gelatinas extraídas da pele de peixe, e, portanto, podem ser uma alternativa a substituição da gelatina de mamífero para utilização em produtos alimentícios, o que não só satisfará as necessidades dos consumidores, como também serve como um meio para utilizar alguns subprodutos da indústria de pesca (ARNESEN; GILBER, 2007; KARIM; BHAT, 2009).

Para obtenção da gelatina de peixe, a pele deve passar por etapas, como pré-tratamentos, que podem ser por meios ácidos, alcalinos ou um processo misto (ácidos e básicos). Esta etapa consiste em um tratamento alcalino e/ou ácido, que quebra as ligações não covalentes assim como desorganiza a estrutura da proteína, produzindo, assim,

adequado inchaço e a solubilização do colágeno. A extração da gelatina, propriamente dita, só ocorre sob temperaturas acima de 40°C, o que provoca a desnaturação parcial do colágeno, dando origem à molécula de colágeno quebrada em pequenos pedaços fragmentados e as triplas hélices são separadas, fazendo com que o peso molecular varie dependendo da preparação e fonte da matéria prima (GOMEZ-GUILLÉN et al., 2007; WANG et al., 2008). O grau de colágeno convertido em gelatina está relacionado com o tipo de ambos os pré-tratamentos e o processo de extração de água quente, como também o pH, temperatura e tempo de extração (JOHNSTON-BANKS, 1990).

Segundo Zhou e Regenstein (2004) e Gómez-Guillén et al. (2011) a gelatina extraída da pele de peixe pode ser utilizada na fabricação de sobremesas, de filmes para produção de embalagens biodegradáveis e de cápsulas, além de poder ser utilizada como material de parede na produção de micropartículas, com diferentes aplicações.

Hansen et al. (2002), Bueno et al. (2011), Dai et al. (2011) também relataram que a gelatina extraída da pele de peixe pode ser utilizada na produção de micropartículas apresentando boas propriedades de formação de filmes.

Muyonga et al. (2004) e Avena-Bustillos et al. (2006) realizaram estudos comparativos entre gelatina de peixe e de mamífero e verificaram que as gelatinas de peixe têm concentrações menores de prolina e hidroxiprolina, em comparação com as de mamíferos, sendo esses aminoácidos um dos principais responsáveis pela estabilização e conformação da gelatina.

### 1.3 FILMES BIODEGRADÁVEIS

Filmes biodegradáveis podem ser definidos como materiais de fina espessura, preparados a partir de macromoléculas biológicas, que agem como barreira a elementos externos e consequentemente protegem o produto e aumentam sua vida comercial, podendo conter compostos antimicrobianos e antioxidantes (KROCHTA et al., 2002).

Os biopolímeros derivados de matérias primas naturais como polissacarídeos e proteínas como a de peixe, são considerados potenciais substitutos para filmes plásticos não biodegradáveis devido a seu baixo custo, fácil disponibilidade de recursos reprodutíveis e biodegradabilidade (JANJARASSKU; KROCHTA, 2010).

Para a formação dos filmes de gelatina de peixe, vários componentes são essenciais, sendo que cada um possui uma finalidade, como por exemplo, a gelatina de peixe, que possui a função de formar uma estrutura contínua, a água, que age como

solvente e o glicerol, como plastificante. Além disso, pode ser utilizado óleo que possui função de plastificante e pode diminuir a permeabilidade ao vapor de água, em decorrência de sua hidrofobicidade, e a goma arábica como surfactante (GUILBERT; GONTARD, 2005).

Uma das técnicas mais utilizadas para a elaboração de filmes é a “casting”, que compreendem o preparo de uma solução coloidal da macromolécula, adicionada ou não de aditivos, a aplicação dessa solução em um suporte adequado, seguida de secagem em condições controladas (MONTERREY- QUINTERO; SOBRAL, 2000).

### **1.3.1 Propriedades dos filmes biodegradáveis**

#### **Propriedades de barreira e permeabilidade ao vapor de água**

As propriedades de barreira são definidas como a capacidade de resistir à absorção ou à evaporação de gases e vapores, resistir à permeação de lipídeos e à passagem de luz (SARANTÓPOULOS, 2002). Gennadios et al. (1994) e Roy et al. (2000) relataram que filmes a base de proteínas possuem vantagens pois apresentam excelentes barreira ao oxigênio e dióxido de carbono, porém sua natureza hidrofílica faz deles bastantes ineficazes à barreira à umidade.

Em relação a permeabilidade ao vapor da água, esta 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).

De acordo com Müller et al. (2008) e Tongnuanchan et al. (2014), os filmes a base de gelatina de peixe são considerados hidrofílicos e desse modo a permeabilidade ao vapor da água é uma das propriedades mais discutidas, sendo essa propriedade influenciada pelas características intrínsecas do material, pelo teor do plastificante e pelas condições ambientais de umidade relativa e temperatura, às quais se encontram expostos.

Filmes muito permeáveis ao vapor da água não podem ser utilizados para embalar produtos que não possam absorver água como, por exemplo, os desidratados (MORAES, 2009; NUNEZ-FLORES et al., 2012).

Para melhorar a permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina, algumas alternativas podem ser utilizadas, como a adição de óleos, pois os mesmos são considerados hidrofóbicos, o que pode melhorar a permeabilidade ao vapor da água e

alguns óleos ainda possuem atividade antioxidante e antimicrobiana, o que pode levar ao aumento da vida comercial do produto embalado (BURT, 2004).

### **Propriedades mecânicas e solubilidade**

As propriedades mecânicas dos filmes são parâmetros muito importantes, pois estão relacionadas com a resistência dos filmes biodegradável, e os obtidos de proteínas são menos resistentes que os sintéticos (GENNADIOS et al., 1994; ZAVAREZE et al., 2012; TONGNUANCHAN et al., 2014). 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.

A solubilidade influencia no tipo de aplicação que será destinado o filme biodegradável, podendo essa propriedade ser modificada pelo tipo e concentração do plastificante, assim como a adição de óleos nos filmes (MULLER et al., 2008).

Filmes biodegradáveis com alta solubilidade podem ser interessantes para embalagens de alimentos desidratados que devam sofrer uma hidratação prévia ao consumo. Por outro lado, muitas aplicações demandam embalagens resistentes à água, como no caso de alimentos com alta atividade de água, ou mesmo para evitar a transpiração de produtos frescos e para o armazenamento é requerida uma baixa solubilidade do filme, porém, para alimentos que sofrerão cocção com os filmes, uma solubilidade alta é desejada (MONTERREY-QUINTERO, 1998; CARVALHO et al., 2000).

### **1.4 MICROENCAPSULAÇÃO**

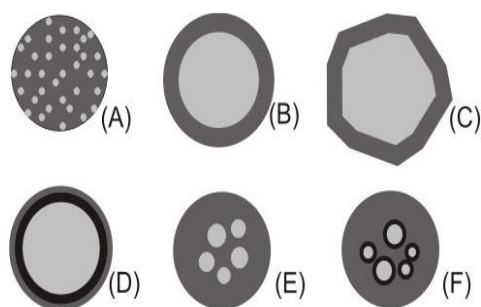
A microencapsulação é uma tecnologia onde materiais sólidos, líquidos ou até gasosos são envolvidos por uma fina camada polimérica, cujos compostos ou polímero podem ser de origem natural ou sintética (KLAYPRADIT; HUANG, 2008; FANG; BHANDARI, 2010).

A tecnologia de microencapsulação possui vantagens como a redução da reatividade do núcleo com fatores ambientais adversos, como efeitos indesejáveis da luz, umidade e oxigênio, contribuindo assim para um aumento da vida comercial do produto, diminuição da taxa de transferência do material para o ambiente exterior, promove fácil

manuseio, controla a liberação do núcleo do material e mascara o sabor e odor do produto (SHAHIDI; HAN, 1993; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Para microencapsular ingredientes alimentícios existem várias técnicas como *spray-drying*, extrusão, aprisionamento lipossoma, coacervação simples e coacervação complexa, entre outras (DESAI; PARK, 2005; GHARSALLAOUI et al., 2007; DE VOS et al., 2010; FANG; BHANDARI, 2010).

O tamanho das partículas obtidas na microencapsulação pode variar de alguns nanômetros até vários micrômetros, sendo bastante variável em função do método e dos agentes encapsulantes utilizados para prepará-las. As microcápsulas podem possuir várias formas, tamanhos, possuir um núcleo ou mais como pode ser visualizado na Figura 1 (CONSTANT; STRINGHETA, 2002).



**Figura 1.** Microcápsulas de *spray-drying*

(A): Matriz (microsfera); (B): Microcápsula simples; (C): Simples, irregular; (D): Duas paredes; (E): Vários núcleos; (F): Agrupamento de microcápsulas. Preto = Material de parede; Cinza: Recheio

Fonte: (AZEREDO, 2005).

#### 1.4.1 Microencapsulação por *spray-drying*

A microencapsulação por *spray-drying* é uma das técnicas mais utilizadas para a produção de flavors com baixa umidade, definida como a transformação do material de alimentação em estado fluido (solução, dispersão ou pasta) em um produto particulado, formado pela atomização do fluido em um meio de secagem a quente (GHARSALLAOUI et al., 2007).

O método de *spray-drying* é o mais comumente utilizado nas indústrias de alimentos em decorrência do seu baixo custo, produção de partículas de boa qualidade e sua simplicidade, se comparado aos demais métodos. É um processo contínuo que envolve várias etapas, como preparação da emulsão, homogeneização da dispersão,

atomização da massa para secagem e separação do produto em pó (DRUSCH et al., 2006; AHN et al., 2008).

Microencapsulação por *spray-drying*, apesar de utilizar altas temperaturas, pode ser aplicada em alimentos sensíveis ao calor, como produtos voláteis e óleos, sem afetar a qualidade do produto final, pois a rápida evaporação mantém relativamente baixa a temperatura das gotículas (RÉ, 1998; TONON et al., 2011).

A encapsulação de flavors constituídos de frações lipídicas e aromáticas tem o objetivo de minimizar a oxidação lipídica e a perda de voláteis e no caso específico da encapsulação de óleos, a goma arábica é amplamente aplicada devido à presença de proteínas que apresentam boa capacidade emulsificante em sua composição (FUCHS et al., 2006; DRUSCH; BERG, 2008).

Para Jafari et al. (2008), na microencapsulação de compostos como óleo, um dos parâmetros mais importantes para ser observado é a relação entre a massa do material de recheio e a massa do material de parede, pois na maioria dos trabalhos publicados, ocorre uma relação de material recheio e de parede de 1:4. Esta proporção é comumente adotada e reportada como o ponto ótimo para vários materiais, inclusive a goma arábica.

A seleção dos melhores materiais de revestimento ou parede é fundamental para a microencapsulação de alimentos e segundo Sheu e Rosenberg (1995), a melhor maneira para encapsular óleo de peixe é combinar materiais de revestimento, pois funcionam como uma matriz de suporte e como emulsificante.

Para Anwar e Kunz (2011) é necessário verificar quais combinações são melhores para microencapsular a quantidade correta de óleo de peixe, pois fatores como o métodos de microencapsulação e a seleção do material de parede irá influenciar na estabilidade da emulsão e estabilidade das microcápsulas produzidas.

## 1.5 ÓLEO DE PEIXE

Nos últimos anos o mercado mundial de alimentos está interessado em produtos que forneçam não apenas os valores nutritivos, mas também benefícios para a saúde humana e um desses segmentos é o chamado alimentos funcionais, no qual o óleo de peixe destaca-se por possuir ácidos graxos poli-insaturados, como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), que possuem funções fisiológicas e benefícios à saúde, como no tratamento de distúrbios cardiovasculares, cancer e artrite (BALK et al., 2006; SCHRAM et al., 2007).

Estudos epidemiológicos e de intervenção dietética sugerem que o consumo de ácidos graxos poli-insaturados induz uma variedade de benefícios à saúde do ser humano, tais como efeito anti-inflamatório, redução de doenças cardiovasculares, prevenção de osteoporose e distúrbio neurológico, como doença de Alzheimer, bem como uma menor incidência de depressão (RIEDIGER et al., 2009).

Segundo Aghbashlo et al. (2012) e Carneiro et al. (2012) os principais problemas na produção de alimentos utilizando óleo de peixe é a alta susceptibilidade à oxidação, o que afeta de forma negativa tanto seu valor nutricional quanto sensorial.

Desse modo, existe uma necessidade de proteger os óleos com o objetivo de torná-los mais estável durante o manuseio, o processamento e o armazenamento, aumentando a qualidade e a estabilidade do óleo de peixe (KLAYPRADIT; HUANG, 2008).

## 1.6 GOMA ARÁBICA

A goma arábica, também conhecida por goma indiana ou acácia é constituída de uma mistura complexa de sais, como cálcio, magnésio, potássio e ácido arábico (BUFFO et al., 2001; RODRIGUES-HUEVO et al., 2004).

Este tipo de goma é constituída por um arranjo altamente ramificado de galactose, arabinose, raminose e ácido glicurônico, possuindo também um componente protéico ligado covalentemente a esse arranjo molecular, conferindo assim à goma arábica propriedades emulsificantes (CHATTOPADHYAYA et al., 1998; ROMÁN-GUERRERO et al., 2009).

Segundo Charve e Reineccius (2009) e Trejo-Espino et al. (2010), a goma arábica é um dos materiais de parede mais comumente utilizados em microencapsulação, pois apresenta muitas características desejáveis, como, agente de encapsulante, alta solubilidade, baixa viscosidade e boas propriedades de emulsão.

## 1.7 ÓLEOS ESSÊNCIAS E FIXOS

A atividade antimicrobiana e antioxidante de óleos já tem sido relatada a muitos anos, porém só recentemente recebeu atenção por parte das indústrias alimentícias para possíveis aplicações tecnológicas (DAVIDSON, 2001; ZIVANOVIC et al., 2005).

Os principais componentes dos óleos essenciais responsáveis pela atividade antioxidante e antimicrobiana são os álcoois, aldeídos, ésteres, éteres, cetonas, fenóis e terpenos, como o carvacrol, o timol, o g-terpineno, o eugenol e o acetato de eugenilo,

sendo que cada tipo de óleo contém cerca de mais de 100 compostos. No entanto, a composição dos óleos essenciais e percentagem de componentes principais de uma determinada espécie de planta podem variar dependendo da época de colheita, fontes geográficas e até mesmo em função de uma parte da mesma planta (PRUDENT et al., 1995; LAMBERT et al., 2001; BURT, 2004).

Segundo Dimitrios (2006) e Jirovetz et al. (2006) o óleo essencial de orégano é considerado um dos óleos com maior atividade antioxidante, por conter elevadas concentrações de compostos fenólicos como carvacrol, terpeno e p-cimeno, capazes de eliminar os radicais livres. Já no óleo de cravo, a atividade antioxidante deve-se a presença de compostos como o eugenol, a beta-cariofileno e o acetato de eugenila.

Em relação ao óleo de dendê, a atividade antioxidante e antimicrobiana deve-se a presença de tocoferóis, que são fisiologicamente ativos como vitamina E e os ácidos graxos palmíticos, oleico e linoleico (SUNDRAM et al., 2003; EDEM, 2002).

O óleo vegetal de buriti é rico em carotenoides, ácido graxo e alta concentração de tocoferóis, comportando-se como uma das fontes mais ricas em provitamina A, com excelente atividade antioxidante e alta estabilidade oxidativa e por isso tem despertado interesse mundial, devido sua composição (BATISTA et al., 2012).

Estudos realizados por vários pesquisadores mostram que a incorporação de óleos em filmes biodegradáveis pode melhorar as propriedades antimicrobianas, antioxidantes e a permeabilidade ao vapor de água, além de diminuir a oxidação lipídica (ZIVANOVIC et al., 2005; EMIROĞLU et al., 2010; GÓMEZ-ESTACA et al., 2010; SILVA et al., 2016).

## 2 REFERÊNCIAS

- ALFARO, A. T.; FONSECA, G. G.; BALBINOT, E.; PRENTICE, C. Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food Science and Technology International**, v. 1, p.1-10, 2013.
- AGUIAR, G.P.S.; LIMBERGER, G.M.; SILVEIRA, E.L. Alternativas Tecnológicas para o Aproveitamento de Resíduos Provenientes da Industrialização de Pescados: **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 1, n.11, p.229-225, 2014.
- AGHBASHLO, M.; MOBLIA, H.; RAFIEE, S.; MADADLOU, A. Energy and exergy analyses of the spray drying process of fish oil microencapsulation. **Engineering II**, p. 229-241, 2012.
- AHN, J.H.; KIM, Y.P.; LEE, Y.M.; SEO, E.M.; LEE, K.W.; KIM, H.S. Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 107, n.1, p. 98-105, 2008.
- ALVIM, I. D.; GROSSO, C.R. F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 1069-1076, 2010.
- ANWAR, S. H.; KUNZ, B. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. **Journal of Food Engineering**, v.105, n.2, p.367-378, 2011.
- ARAB-TEHRANY, E.; JACQUOT, M.; GAIANI, C.; IMRAN, M.; DESOBRY, S.; LINDER, M. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science & Technology**, v. 25, p.24 -33, 2012.
- ARNESEN, J.A.; GILDBERG, A. Extraction and characterization of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource Technology**, v.98, n.1, p. 53-57, 2007.
- AZEREDO, H.M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.16, p. 89-97, 2005.
- AVENA-BUSTILLOS, R. J.; OLSEN, C. W.; OLSON, D. A.; CHIOU, B.; YEE, E.; BECHTEL, P. J. Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films. **Journal of Food Science**. v.71, p. 202-207.
- BATISTA, J. S.; OLINDA, R. G.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F., OLIVEIRA, A. F.,; PAIVA, E. S.; MEDEIROS, A. DA C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p.136–141, 2012.
- BALK, E. M.; LICHTENSTEIN, A. H.; CHUNG, M.; KUPELNICK, B.; CHEW, P.; LAU, J. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: A systematic review. **Atherosclerosis**, v.189, p.19–30,2006.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F.; FEIDEN, A.; BOMBARDELLI, R.A.; REIDEL, A. Farinha de Resíduos da Filetagem de Tilápias na Alimentação de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) na Fase de Reversão Sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p.1807-1812, 2005.

BUFFO, R.A.; REINECCIUS, G.A.; OEHLERT, G.W. Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acácia in beverage emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 53-66, 2001.

BUENO, C.M.; ALVIM, I. D.; KOBERSTEIN, T. C. R. D.; PORTELLA, M. C.; GROSSO, C. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.14, n.1, p. 65-73, 2011.

BURT, S Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal Food Microbiology**, v.94, n.3, p.223–253, 2004.

CARNEIRO, H.C.F.; TONON, R.V.; GROSSO, C.R.F.; HUBINGER, M.D.A. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v.115, p.433-451, 2012.

CARVALHO, A. G. S.; SILVA, V. M.; HUBINGER, M. D. Microencapsulation by spray drying of emulsified green coffee oil with two-layered membranes. **Food Research International**, 61, 236–245, 2014.

CONSTANT, P.B.L.; STRINGHETA, P.C. Microencapsulação de ingredientes Alimentícios. **Boletim do SBCTA**. v.36, p.12-18, 2002.

CHATTOPADHYAYA, S.; SINGHAL, R. S.; KULKARN, P. R. Oxidized starch as gum Arabic substitute for encapsulation of flavours. **Carbohydrate Polymers**, v. 37, p. 144-144, 1998.

CHARVE, J.; REINECCIUS, G.A. Encapsulation Performance of Proteins and Traditional Materials for Spray Dried Flavors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.6, p.2486-2492, 2009.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN J. M. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. **Journal of Food Science**, v.65, p.194-199, 2000.

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.

DAI-HUNG, N.; RYU, B.; VOA, T.; HIMAYAA, S. W.A.; WIJESEKARA, I.; KIM, S. Free radical scavenging and angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides from Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) skin gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 49, p.1110–1116, 2011.

DAVIDSON, P.M. On the nature trail in search of the wild antimicrobial. *Food Sci Technol* 15:55, 2001.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolics antioxidants. **Trends in Food Science and Technology**, v.17, n.9, p.505–512, 2006.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v.23, p.1361-1394, 2005.

DE VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v.20, p.292-302, 2010.

DRUSCH, S.; SEFERT, Y.; VAN, A.; SCHWARZ, K. Physicochemical characterization and oxidative stability of fish oil encapsulated in an amorphous matrix containing trealose. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 807-815, 2006.

DRUSCH, S.; BERG, S. Extractable oil in microcapsules prepared by spray-drying: Localization, determination and impact on oxidative stability. **Food Chemistry**, v. 109, 2008.

EDEM, D. O. Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological and toxicological aspects: A review. **Plants Foods for Human Nutrition**, v. 57, p. 319 - 341, 2002.

EMIROGLU, Z. K.; YEMIS, G. P.; COSKUN, B. K.; CANDOĞAN, K. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. **Meat Science**, v.86, n.2, p.283e288, 2010.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols e a review. **Trends in Food Science & Technology**.v.21, p.510-523, 2010.

FAO. **Produção de pescado Brasil**. Seaffod brasil.<http://seafoodbrasil.com.br/producao-de-pescado-nacional-cresce-mais-de-60>, 2014.

FAO. Pesca e aquicultura batem recorde de produção em 2013. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/fao-pesca-e-aquicultura-batem-recorde-de-producao-em-2013/>>. Acesso em: 05 fev. 2014.

FUCHS, M.; TURCHIULLI, C.; BOHIN, M.; CUVELIER, M.E; ORDANNAUD, C.; PEYRAT-MAILLARD, M.N.; DUMOULIN, E. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. **Journal of Food Engineering**, v. 75, n. 1, p. 27-35, 2006.

GENNADIOS, A.; MCHUGH, T.H.; WELLER, C.L.; KROCHTA, J.M. **Edible Coatings and Films Based on Protein**. Em *Edible Coating and Films to Improve Food Quality*. (editado por Krochta, J.M.; Baldin, E.A. e Nisperos-Carriedo, M.). p. 210-278, 1994.

GUILBERT, S.; GONTARD, N. Agro-polymers for edible and biodegradable films: review of agricultural polymeric materials, physical and mechanical characteristics. **Innovations in Food Packaging**, p. 263-276, 2005.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GOMEZ-GUILLEN, M.C.; IHL, M.; BIFANI, V.; SILVA, A.; MONTERO, P. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1133–1143, 2007.

GOMEZ-GUILLEN, M.C.; GIMENEZ, B.; LÓPEZ-CABALERO, M.E.; MONTERO, M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1813-1827, 2011.

GÓMEZ-ESTACA, J.; BRAVO, L.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; ALEMÁN, A.; MONTERO, P. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. **Food Chemistry**, v.112, p.18-25, 2010.

HANSEN, M.M.; VILSTRUP, P.; JENSEN, M.N. Fish gelatinous composition for use as an ingredient in tablets. **United States patent** 6423346, 2002.

JAMILAH, B.; HARVINDER, K. G. Properties of gelatins from skins of fish-black tilapia (*Oreochromismossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, v.77, p.81–84, 2002.

JANJARASSKUL, T.; KROCHTA, J.M. Edible packaging materials. **Annual Review of Food Science and Technology**. v. p. 415–448, 2010.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavors and oils during spray drying. **Drying Technology**, v. 26, p. 816-835, 2008.

JOHNSTON-BANKS, F. A. **Gelatin**. In: P. Harris (Ed.), Food gels, p. 233–291. London: Elsevier Applied Food Science Series, 1990.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; STOYANOVA, A. I. S. KRASTANOV, A., SCHMIDT, E. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.54, p.6303-6307, 2006.

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

KLAYPRADIT, W.; HUANG, Y-W. Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. **LWT – Food Science Technology**, v.41, p.1133-1139, 2008.

KROCHTA, J. Proteins as Raw Materials for Films and Coatings: Definitions, Current Status, and Opportunities. **Protein-Based Films and Coatings**. Boca Raton: CRC Press p.1–41, 2002.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P.; NYCHAS, G.-J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal Applied Microbiology**, 91, p.453-462, 2001.

MCCLEMENTS, D.J. Non-covalent interactions between proteins and polysaccharides. **Biotechnology Advances**, v.24, p.621-625, 2006.

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL, P.J.A. Preparo e Caracterização de Proteínas Miofibrilares de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 179-190, 2000.

MUYONGA, J. H.; COLE, C. G. B.; DUODU, K. G. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, v.85, p.81-89, 2004.

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

NUNEZ-FLORES R.; GIMÉNEZ B.; FERNÁNDEZ-MARTÍN F.; LÓPEZ-CABALLERO ME.; MONTERO MP, Gómez-Guillén MC. Role of lignosulphonate in properties of fish gelatin films. **Food Hydrocolloids**, v.27, n.1, p.60–71, 2012.

OCAK, B. Complex coacervation of collagen hydrolysate extracted from leather solid wastes and chitosan for controlled release of lavender oil. **Journal of Environmental Management**, v. 100, p.22-28, 2012.

PACHECO, S.G.A.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Estabilidade oxidativa de óleo de peixe encapsulado em diferentes tipos de embalagem em condição ambiente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p. 927-932, 2009.

PRUDENT, D.; PERINEAU, F.; BESSIERE, J.M.; MICHEL, G.M.; BACCOUS, J.C.,. Analysis of the essential oils of wild oregano from Martinique (*Coleus aromaticus* Benth.) e evaluation of its antibacteriostatic and fungistatic properties. **Journal Essential Oil Research**, v.7, 165-173, 1995.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technology**, v. 16, n. 6, p. 1195-1236, 1998.

RIEDIGER, N. D.; OTHMAN, R. A.; SUH, M.; MOGHADASIAN, M. H. A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease. **Journal of the American Dietetics Association**, v.109, n.4, p.668–679, 2009.

ROMÁN-GUERRERO, A.; PÉREZ-OROZCO, J.P.; CRUZ-SOSA, F.; JIMÉNEZ-ALVARADO, R.; VERNON-CARTER, E.J. Application and valuation of mesquite gum and its fractions as interfacial film formers and emulsifiers of orange peel-oil. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n.3, p.708-713, 2009.

RODRIGUES-HUEVO, M E.; PEDROZA-ISLAS, R.; PRADO-BARRAGAM, L. A.; BERISTAIN, C. I.; VERNON-CARTER, E.J. Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. **Journal of Food Science**, v. 69, p.351-359, 2004.

SANTANA, M.C.C.; MACHADO, B.A.S.; SILVA, T.N.S.; NUNES, IT.; DRUZIAN, J.I. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.3, p.544-550, 2013.

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

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine Handbook** - Theory and Industrial Practice. Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH ; Co. KGaA, 2007.

SCHRAM, L. B.; NIELSEN, C. J.; PORSGAARD, T.; NIELSEN, N. S.; HOLM, R.; MU, H. Food matrices affect the bioavailability of (n-3) polyunsaturated fatty acids in a single meal study in humans. **Food Research International**, v.40, p.1062-1068, 2007.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.

SHEU, T.Y.; ROSENBERG, M. Microencapsulation by spray drying ethyl caprylate in whey protein and carbohydrate wall systems. **Journal of Food Science**, v. 60, n.1, p. 98-103, 1995.

SILVA, M.; LOPES, P. S.; DA SILVA, C. F.;YOSHIDA, C. M. P. Active packaging material based on buriti oil - *Mauritia flexuosa* L.f. (*Arecaceae*) incorporated into chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**, v.133, n.12, p.1-9, 2016.

SIMÕES, A.S.; MORI, R. Y.; FARIA, R.; CASTRO, H.F. Desempenho da matriz híbrida Sio2-quitosana na imobilização da lipase microbiana de *Candida rugosa*. **Química Nova**, v. 34, p. 33-38, 2011.

SUNDRAM, KALYANA; SAMBANTHAMURTHI, RAVIGADEVI; TAN, YEW-AI. Palm fruit chemistry and nutrition. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 12, p. 355 - 362, 2003.

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.6, n.62, 2014.

TONON, R.V.; CARLOS, R.F.; MÍRIAM, D. G.; HUBINGER FACULTY, H. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**. v. 44, p. 282-289, 2012.

TREJO-ESPINO, J.L.; RODRÍGUEZ-MONROY, M.; VERNON-CARTER, E.J.; CRUZ-SOSA, F. Emulsifying properties of the gum produced by *Prosopis laevigata*

(Humb. & Bonpl. Ex willd) M.C. Johnst (Mesquite) cells suspension culture in bioreactor. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, v. 9, n. 3, p.251-260, 2010.

YEP, Y. L.; LI, D.; MANN, N. J.; BODE, O.; SINCLAIR, A. J. Bread enriched with microencapsulated tuna oil increases plasma docosahexaenoic acid and total omega-3 fatty acids in humans. Asia Pacific. **Journal of Clinical Nutrition**, v.11, p.281-291, 2002.

WANG, Y.; YANG, H.; REGENSTEIN, J. M. Characterization of fish gelatin at nanoscale using atomic force microscopy. **Food Biophysics**, v. 3, p. 269-272, 2008.

ZAVAREZE, E. R.; HALAL, S.L.M.; TELLES, A. C.; HERNANDES, P. Biodegradable films based on myofibrillar proteins of fish. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, p. 53-57, 2012.

ZHOU, P.; REGENSTEIN, J.M. Optimization of extraction conditions for pollock skin gelatin. **Journal of Food Science**, v.69, p.393-398, 2004.

ZIVANOVIC, S.; CHI, S.; DRAUGHON, A.F. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, 2005.

## CAPÍTULO II

### EXTRAÇÃO DE GELATINA DE PEIXE E APLICAÇÃO NO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO DE PEIXE POR *SPRAY-DRYING*

**RESUMO:** As indústrias de beneficiamento de pescado geram uma grande quantidade de materiais poluentes, como peles, da qual pode ser obtida gelatina para a elaboração de diversos produtos. Diante disto, o objetivo deste trabalho foi extrair gelatina da pele de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) e utilizar na microencapsulação de óleo de peixe por *spray-drying*. Para a microencapsulação foram elaboradas quatro formulações com diferentes concentrações de goma arábica e gelatina da pele de pescada amarela como material de parede e óleo de peixe como recheio. As emulsões foram caracterizadas quanto a estabilidade, microscopia óptica e viscosidade e as micropartículas, após o processo de secagem em *spray-drying*, em relação a eficiência de microencapsulação, atividade de água, cor e morfologia. A gelatina de peixe apresentou excelente rendimento (24,33%), ponto de fusão de 23°C, força do gel de 244g, viscosidade de 3,21cP e quantidades de aminoácidos prolina e hidroxiprolina, maiores que a gelatina comercial. Todas as emulsões permaneceram estáveis durante 24 horas, com viscosidade mais elevada para as amostras com gelatina de peixe. O pó obtido apresentou micropartículas de formato arredondado e enrugado, com excelente eficiência de encapsulação, acima de 94%, sendo possível substituir totalmente a goma arábica por gelatina de peixe no processo de microencapsulação.

**Palavras-chave:** micropartículas; aminoácidos; emulsões; eficiência de encapsulação.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de pescado do mundo e essa grande produção durante o beneficiamento nas indústrias pesqueiras gera resíduos como cabeças, aparas e peles, que possuem valor nutricional e podem ser utilizados para a elaboração de produtos, contribuindo para a diminuição dos impactos ambientais (SIMÕES et al., 2011). Dentre os produtos que podem ser elaborados a partir desses resíduos destacam-se a gelatina e o óleo de peixe (KARIM; BHAT, 2009; OCAK, 2012).

A gelatina é um polipeptídeo obtido por hidrólise térmica parcial do colágeno, que possui capacidade de formar géis termorreversíveis. A gelatina de peixe pode ser utilizada para elaborar filmes biodegradáveis e como material de parede para microencapsulação de óleos (BUENO et al., 2011; ALFARO et al., 2013).

O óleo de peixe é considerado alimento funcional, pois além das funções nutritivas, pode ter efeitos benéficos à saúde, como a diminuição de doenças cardiovasculares. No entanto, um dos principais problemas associados a esses óleos ricos em ácidos graxos poli-insaturados é a fácil oxidação, com formação de produtos, que possuem odor e sabor desagradáveis, diminuindo aceitação sensorial e vida comercial, podendo a microencapsulação ser uma alternativa para esse problema (ARAB-TEHRANY et al., 2012; CARNEIRO et al., 2013).

Microencapsulação por *spray-drying* pode ser definida como a transformação do material de alimentação, em estado fluido, em um produto particulado, formado pela atomização do fluido em um meio de secagem a quente (GHARSALLAOUI et al., 2007). No encapsulamento de óleo por *spray-drying*, uma etapa importante é a preparação da emulsão, quando considerada a combinação dos materiais utilizados, podendo ser empregado a gelatina de peixe (KARIM; BHAT, 2009; CARVALHO et al., 2014).

A gelatina de peixe tem sido considerada alternativa para o encapsulamento de produtos alimentícios, podendo ser extraída de subprodutos da indústria de processamento de peixe e ser utilizada como substituta da gelatina de mamíferos (SURH et al., 2006; LI et al., 2009).

Considera-se que o aproveitamento de resíduos oriundos da indústria além de minimizar o problema de eliminação deste material poluente e de difícil descarte, pode trazer vantagens econômicas para as indústrias por agregar valor aos subprodutos, pela transformação em produtos, como a gelatina de peixe (AGUIAR et al., 2014).

O objetivo deste trabalho foi extrair gelatina da pele de pescada amarela, determinar suas características físico-químicas e tecnológicas e utilizar na microencapsulação de óleo de peixe por *spray-drying*, buscando substituir a goma arábica por gelatina no processo de microencapsulação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

Foi utilizada pele de peixe da espécie pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), obtida do processo de filetagem, proveniente do mercado de peixe Ver-o-peso (Belém, Brasil), para a produção da gelatina. A goma arábica em pó (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Brasil) foi utilizada como material de parede e o óleo de peixe ômega 3 (Iána D Amazônia, Belém, Brasil) foi utilizado como material de recheio.

### 2.2 EXTRAÇÃO DA GELATINA DA PELE DE PESCADA AMARELA (*CYNOSCION ACOUPA*)

A extração do colágeno de pele da pescada amarela foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Montero e Gomez-Guillen (2000) com adaptações da concentração da solução, do tempo e temperatura de imersão, obtidas através de ensaios preliminares. As peles foram cortadas em pedaços 4cm x 4cm, lavadas com água corrente e imersas em solução de cloreto de sódio- NaCl (Isofar, Brasil) 0,6 M 1:5 (peso/volume) por 15 minutos, sob agitação de 85 rpm a 25°C em incubadora Shaker (Luca-223, Brasil). Em seguida o material foi submerso em solução de hidróxido de sódio- NaOH (Vetec, Brasil) a 0,3M, 1:5 (peso/volume) por 15 minutos, sob agitação contínua e lavado com água corrente. Posteriormente foi imerso em solução de ácido acético- C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (Audaz, Brasil) 0,02 M, 1:5 (peso/volume) por uma hora, sob agitação, e lavado com água corrente. A fase de extração foi realizada com água destilada em banho maria (Tecnal, Te-057, Brasil), por 12 h a 50 °C, mantendo 1:5 (peso/volume). Após a extração, o filtrado obtido foi colocado em bandejas de inox, congelado em ultra freezer (Coldlab, Cl 200-80v, Brasil) e liofilizado a -50°C/36 horas (Liotop- L101, Brasil). Finalmente a gelatina obtida foi embalada a vácuo (Embaladora Fastvac, F200, Brasil) e armazenada a -26°C em ultra freezer até a realização das análises e microencapsulação.

#### 2.2.1 Rendimento do processo de extração da gelatina de peixe

O rendimento da extração foi calculado de acordo com a Equação (1), expresso em g de gelatina/100g de pele, segundo Binsi et al. (2009).

$$\text{Rendimento de gelatina (\%)} = \frac{\text{peso da gelatina em pó (g)}}{\text{peso umido da pele fresca (g)}} \times 100$$

(1)

### 2.2.2 Caracterização físico-química da pele e da gelatina de peixe

As análises de proteínas, umidade e cinzas foram realizadas de acordo com AOAC (2000) e os lipídios por Bligh e Dyer (1959), em triplicata. A viscosidade, expressa em centipoise (cP), foi determinada em viscosímetro de Ostwald-Fenski, nº100 (Cannon-Fenske, Brasil) e utilizou o método British Standard Institution (B.S.I., 1975). O ponto de fusão foi determinado em soluções de gelatina a 6,67% (CHOI; REGENSTEIN, 2000). A força do gel (Bloom) foi determinada em analisador de textura (Reo Tex, SD-700, Sunscientific) usando sonda de teflon cilíndrica, com 12,5 mm de diâmetro, pressionando 4 mm no gel de gelatina com velocidade de 1 mm/s (CHOI; REGENSTEIN, 2000).

### 2.2.3 Perfil de aminoácidos da gelatina da pele de peixe

Para determinar o perfil de aminoácidos foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta performance Waters-PICO Tag™, Waters 712 WISP, EUA (Waters, Watford, Herts, UK), segundo o método proposto por White et al. (1986).

## 2.3 FORMAÇÃO DA EMULSÃO

Os materiais de parede, goma arábica e gelatina de peixe, foram dispersos em água destilada a 60°C. Após resfriamento, foi adicionado à mistura o óleo de peixe e a emulsão foi formada em homogeneizador do tipo rotor-extrator (Tecnal Te-102, Brasil), operando a 14.000 rpm, por 8 minutos.

Para verificar o efeito da concentração de gelatina de peixe na microencapsulação do óleo de peixe foram realizadas quatro formulações com diferentes concentrações de gelatina e goma arábica, definidas por testes preliminares e identificadas conforme a tabela 1:

Tabela 1: Formulações levadas para o *spry-drying*

| Análise           | Formulações  |              |              |              |
|-------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                   | Formulação A | Formulação B | Formulação C | Formulação D |
| Goma arábica      | 10%          | -----        | 8,5%         | 7,5%         |
| Óleo de peixe     | 20%          | 20%          | 20%          | 20%          |
| Gelatina de peixe | -----        | 10%          | 1,5%         | 2,5%         |

## 2.4 CARACTERIZAÇÃO DAS EMULSÕES

### 2.4.1 Estabilidade da emulsão

Imediatamente após o preparo das emulsões, 25 mL de cada formulação foi colocado em um tubo cilíndrico com diâmetro interno de 15 mm e altura de 65 mm, selado com plástico e armazenado a 25°C por 24 horas. A estabilidade da emulsão foi analisado pela separação de fase, observada durante o armazenamento segundo Frascareli et al. (2012).

### 2.4.2 Microestrutura das emulsões

A microestrutura das emulsões foi avaliada logo após o processo de homogeneização por microscopia ótica. Para isso, alíquotas das amostras foram colocadas em lâminas cobertas com lamínulas e observadas em um microscópio ótico (Bel PHOTONICS 1306594, Brasil), com aumento da lente objetiva de 100x (FRASCARELI et al., 2012).

### 2.4.3 Viscosidade da emulsão

O estudo do comportamento reológico das amostras foi realizado após 24 horas de armazenamento sob 25°C, segundo Frascareli et al. (2012), com adaptações, utilizando um viscosímetro (Haake, VT 550, Alemanha) acoplado ao sistema de configuração de cilindros coaxiais copo SV e cilindros SV1. Cada amostra foi submetida a uma rampa contínua de taxa de deformação na faixa de 0 a 300 s<sup>-1</sup> durante 120.

## 2.5 MICROENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY-DRYING*

A obtenção das microcápsulas foi realizada em um mini *spray-drying* (Buchi B-290, Suíça), utilizando pressão do atomizador de 8 bar, taxa de aspiração (aspirador) 100%, temperatura do ar de entrada de 136°C, vazão de alimentação de 40% (12 mL/minuto). Testes experimentais foram realizados para definir os parâmetros do processo.

### 2.5.1 Eficiência de encapsulação (% EE)

A eficiência de encapsulação (%EE) foi determinada segundo a metodologia proposta por Bae e Lee (2008) e Carvalho et al. (2014), conforme a Equação (2). Esta

análise indica a quantidade de óleo não encapsulado presente na superfície das microcápsulas e está diretamente relacionada com a eficiência de encapsulação.

$$EE = \left( \frac{TO - SO}{TO} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde: TO é a quantidade de óleo total e SO é a quantidade de óleo na superfície das microcápsulas.

### 2.5.2 Atividade de água (aw) e cor instrumental das microcápsulas

A atividade de água (aw) foi determinada em AQUALAB 4TE, (Decagon Devices, USA) e a cor foi determinada utilizando colorímetro MINOLTA modelo CR 310, obtendo-se parâmetros de L\* (luminosidade), a\* (intensidade do vermelho), b\* (intensidade do amarelo), C\* (valor do croma) e h\* (ângulo de tonalidade).

### 2.5.3 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia do pó foi determinada por microscopia eletrônica de varredura (Leo-Zeiss, 1430, Inglaterra). Para o procedimento, as amostras foram fixadas em fita adesiva e observadas sua estrutura.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises de atividade de água, cor e eficiência de encapsulação (% EE) foram submetidas a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), utilizando programa Statistica versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA PELE E DA GELATINA DA PESCADA AMARELA

A Tabela 2 mostra os resultados da caracterização da pele e da gelatina da pescada amarela.

**Tabela 2:** Caracterização da pele e da gelatina da pescada amarela.

| Análises            | Pele         | Gelatina de peixe |
|---------------------|--------------|-------------------|
| Rendimento (%)      | -            | 24.33 ± 0.56      |
| Umidade (%)         | 71.62 ± 0.20 | 5.07 ± 0.02       |
| Lipídeos (%)        | 3.72 ± 0.01  | 1.59 ± 0.10       |
| Proteínas (%)       | 23.7 ± 0.51  | 89.55 ± 0.20      |
| Ponto de fusão (°C) | -            | 23 ± 0.20         |
| Força do gel (g)    | -            | 244 ± 0.03        |
| Viscosidade (cP)    | -            | 3.21 ± 0.02       |

\*Média ± desvio padrão.

O rendimento de extração da gelatina de pescada amarela foi de 24,33%, valores de 15% e 18,1% foram relatados por Grossman et al (1992) e Songchotikunpan et al (2008) respectivamente, para a pele de tilápia do Nilo. Silva et al. (2017) encontraram rendimentos de 8 a 24,7% para extração de gelatina da pele de filhote (*Brachyplatystoma filamentosum*) quando variaram o tempo e a temperatura de extração. Segundo Karim e Bhat (2009), o rendimento da gelatina de mamífero é de 6 a 19%, entretando, como no presente estudo foram encontrados valores mais elevados, a pele de pescada amarela pode ser uma alternativa para extração de gelatina.

O rendimento pode estar relacionado com a espécie, temperatura de extração e metodologia utilizada. Segundo Holzer (1996) e Silva et al. (2017) a temperatura de extração da gelatina é muito importante, podendo baixas temperaturas resultar em rendimentos inferiores e extração incompleta, enquanto que temperaturas muito elevadas tendem degradar a gelatina, afetando sua qualidade, reduzindo a força do gel. Outros fatores que podem influenciar na variação do rendimento são: a composição da pele, a gordura, a quantidade de componentes solúveis, a idade e a espécie de peixe (MUYONGA et al., 2004; JONGJAREONRAK et al., 2006).

Songchotikunpan et al. (2008), obtiveram 67,7% de umidade para pele de tilápia do Nilo, resultado comparável ao da pescada amarela. Quanto ao teor de lipídios na pele, foi baixo devido a pescada amarela ser considerada um peixe magro, além disso, o pré-tratamento com NaCl, NaOH e C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, incluindo as lavagens, foram eficazes na remoção da gordura, pois ocorreu uma diminuição da pele para a gelatina. Grossman et al. (1992)

relataram que o odor peculiar das peles de pescado deve-se aos compostos nitrogenados e às gorduras que contêm grandes porcentagens de ácidos graxos insaturados.

O conteúdo de proteínas aumentou na gelatina quando comparado a pele, devido a extração do colágeno e concentração. É importante destacar que o teor de proteína na pele, representa a quantidade de colágeno presente e influencia no rendimento máximo da gelatina (BILUCA et al., 2001; MUYONGA et al., 2004). Alfaro e Silva (2010) ao analisarem pele de tilápia, obtiveram valores de 22,80% de proteína, próximo ao encontrado para a pele de pescada amarela. Songchotikunpan et al. (2008) e Silva et al. (2017) encontraram valores de proteína na gelatina de peixe 89,4% e 72,76%, respectivamente, semelhantes ao encontrado neste trabalho.

O ponto de fusão da gelatina de pescada amarela foi próximo aos valor encontrado para gelatina de filhote (23,73°C) e menor quando comparado com gelatina comercial (28,16°C), nos resultados descritos por Silva et al. (2017). O valor de força do gel da gelatina do presente estudo ficou dentro da faixa desejada para alimentos que é de 50 à 300g. Esse parâmetro é a principal propriedade física da gelatina e determina o seu valor comercial. A força do gel da gelatina da pele de pescada amarela ficou próxima aos resultados obtidos por Silva et al. (2011) para gelatinas de peles da cabeça de carpa.

A viscosidade da gelatina da pele de pescada ficou dentro da faixa de viscosidade para gelatinas comercial que é de 2 a 7 cP (JOHNSTON-BANKS, 1990; JAMILAH; HARVINDER, 2002), demonstrando assim, boas propriedades tecnológicas.

### **3.1.1 Perfil de aminoácidos da gelatina da pele de peixe**

Os resultados do perfil de aminoácidos da gelatina da pescada amarela e de uma gelatina comercial estão apresentados na Tabela 3.

Em gelatinas, o teor de aminoácidos e a sequência varia de uma fonte para outra, sendo normalmente compostas de grandes quantidades de prolina, hidroxiprolina e glicina (KARIM; BHAT, 2009). O conteúdo total de prolina e hidroxiprolina na gelatina de pescada amarela foi 22,71%, ficando acima do encontrado por Songchotikunpan et al. (2008) em gelatina comercial (19,26%) e por Silva et al. (2017), em gelatina de filhote (13,53%). Os aminoácidos prolina e hidroxiprolina estabilizam as estruturas da gelatina durante a formação de gel, conferindo melhores propriedades viscoelástica, fatores importantes para as gelatinas (FOEGEDING et al., 1996). Esse elevado conteúdo de prolina e hidroxiprolina da gelatina de pescada amarela influenciou nas suas propriedades tecnológicas como força do gel e viscosidade, obtendo resultados satisfatórios para

futuras aplicações tecnológicas. A glicina foi o principal aminoácido presente na gelatina de pescada amarela, estando próximos dos valores encontrados na gelatina comercial. Desse modo, a gelatina da pescada amarela pode ser utilizada como substituta da gelatina de mamíferos, minimizando problemas de material poluente, trazendo vantagens econômicas para a indústria de pesca.

**Tabela 3:** Perfil de aminoácidos presente na gelatina de pescada amarela e gelatina comercial

| Aminoácidos               | Gelatina pescada amarela% | Gelatina comercial<br>Songchotikunpan et<br>.(2008) |
|---------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------|
| Ácido Aspártico           | 5.22                      | 7.84                                                |
| Ácido Glutâmico           | 7.59                      | 8.46                                                |
| Serina                    | 2.05                      | 3.18                                                |
| Glicina                   | 22.77                     | 22.45                                               |
| Histidina                 | 1.10                      | 0.20                                                |
| Taurina                   | ND                        | -                                                   |
| Arginina                  | 7.07                      | 7.43                                                |
| Treonina                  | 2.44                      | 5.92                                                |
| Alanina                   | 9.18                      | 12.55                                               |
| Prolina                   | 13.69                     | 9.80                                                |
| Hidroxiprolina            | 9.02                      | 9.46                                                |
| Tirosina                  | 0.82                      | 0.81                                                |
| Valina                    | 1.65                      | 1.98                                                |
| Metionina                 | 1.86                      | 0.82                                                |
| Cistina                   | 1.38                      | 0.19                                                |
| Isoleucina                | 0.80                      | 1.06                                                |
| Leucina                   | 2.76                      | 2.32                                                |
| Fenilalanina              | 1.97                      | 1.66                                                |
| Lisina                    | 2.69                      | 3.42                                                |
| Somatória dos Aminoácidos | 94.06 %                   | -                                                   |
| Proteína Bruta            | 94.33                     | -                                                   |

## 3.2 CARACTERIZAÇÃO DA EMULSÃO

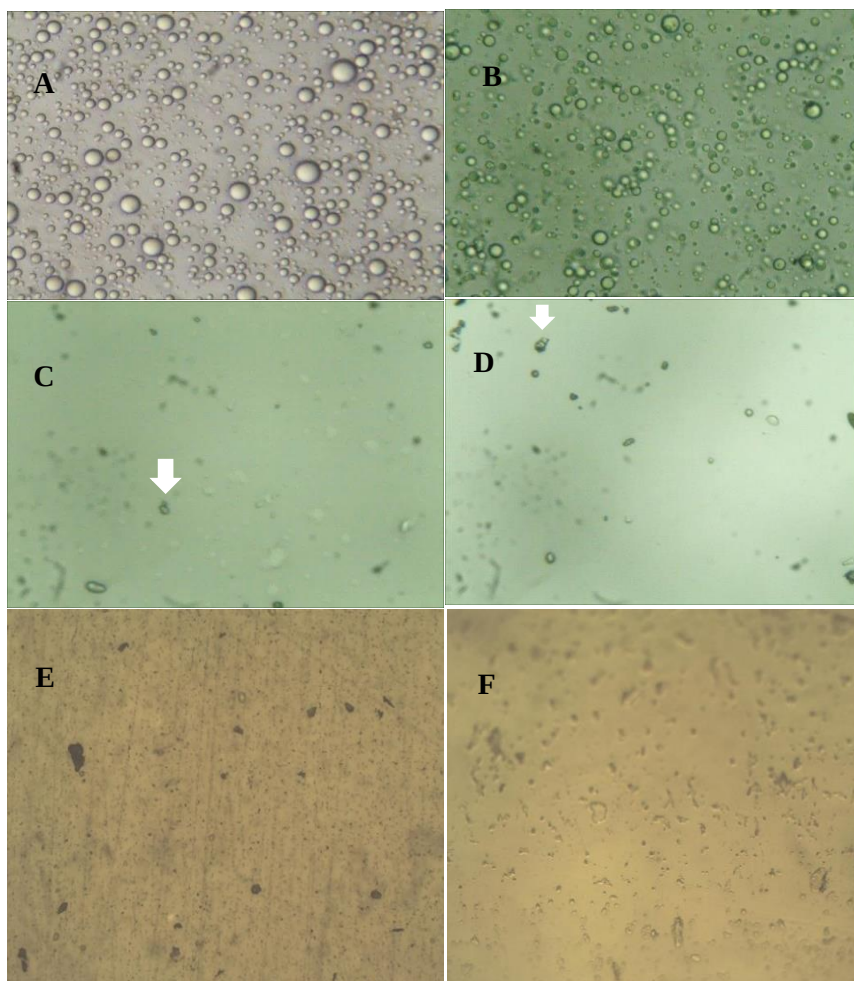
### 3.2.1 Estabilidade da emulsão

A estabilidade da emulsão pode determinar alguns dos parâmetros chaves na qualidade das microcápsulas de óleo, como por exemplo, a eficiência de microencapsulação e estabilidade oxidativa (RAMAKRISHNAN et al., 2013). A gelatina de pele de pescada amarela demonstrou ser bom material de parede, pois as emulsões foram estáveis, não ocorrendo separação de fases após 24 horas. Segundo Pourashouri et al. (2014) a gelatina é capaz de atuar como agente emulsificante, em emulsões de óleo em água, proporcionando a estabilidade das emulsões, sendo importante durante a secagem e encapsulamento. Diante disso, é possível realizar o processo de

microencapsulação em até 24 horas sem alterar a solução, por não ocorrer separação de fases.

### 3.2.2 Microscopia óptica

Na Figura 1 encontram-se imagens obtidas no microscópio óptico das formulações com diferentes concentrações de gelatina e goma, somente goma e gelatina de peixe, obtidas em microscópio óptico.



**Figura 1.** Formulações com diferentes concentrações de gelatina e goma obtidas em microscópio óptico (aumento de 100x): (A) 10% de goma arábica e 20% de óleo de peixe, (B) 10% de gelatina de peixe e 20% de óleo de peixe, (C) 8,5% de goma arábica, 1,5% gelatina de peixe, 20% óleo de peixe, (D) 7,5% de goma arábica, 2,5% gelatina de peixe, 20% óleo de peixe. (E) Goma arábica (F) Gelatina de peixe.

Os diferentes materiais de parede e concentrações empregados apresentaram efeitos diferentes na formação das partículas. As formulações (A e B) produzidas apenas com goma arábica e gelatina de peixe, respectivamente, apresentaram gotas mais uniformes e em maiores quantidades. Nas formulações formadas com a combinação de goma e gelatina de peixe (C e D) verificou-se grande dispersão das gotas, onde a

distribuição diminuiu com o aumento do teor de gelatina de peixe, sendo observadas poucas gotículas nessas amostras.

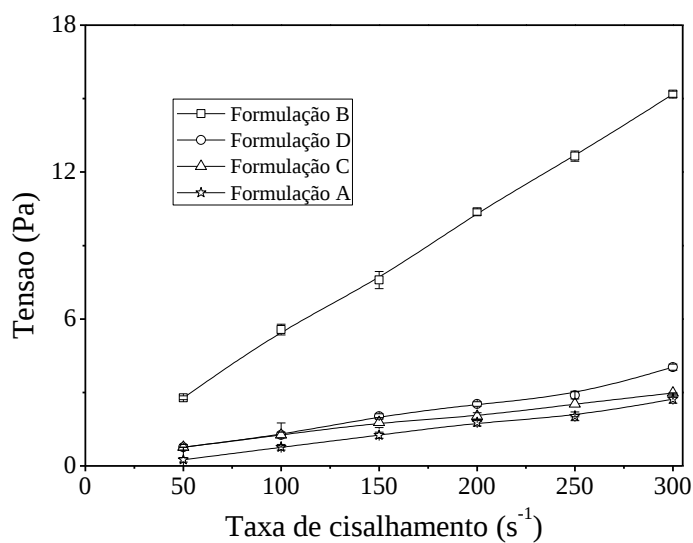
Foi observado nas formulações (C e D) produzidas com mistura de goma arábica e gelatina de peixe, maior dispersão da goma arábica (pontos escuros, representados na seta) e gelatina de peixe (gotículas mais claras), formando poucas emulsões e praticamente ausência de gotículas, influenciando na eficiência de microencapsulação, demonstrando que são incompatíveis.

Tonon et al. (2011) e Frascareli et al. (2012) ao microencapsularem óleo de café e linhaça, respectivamente, observaram que ao diminuir a quantidade de goma e aumentar outro material de parede como goma maltodextrina e goma arábica, menor era a quantidade gotículas nas emulsões, também observado na presente pesquisa. A figura E mostra que a goma arábica quando diluída em água, apresenta pontos escuros e a figura F, apresenta a gelatina de peixe diluída em água, apresenta gotículas claras.

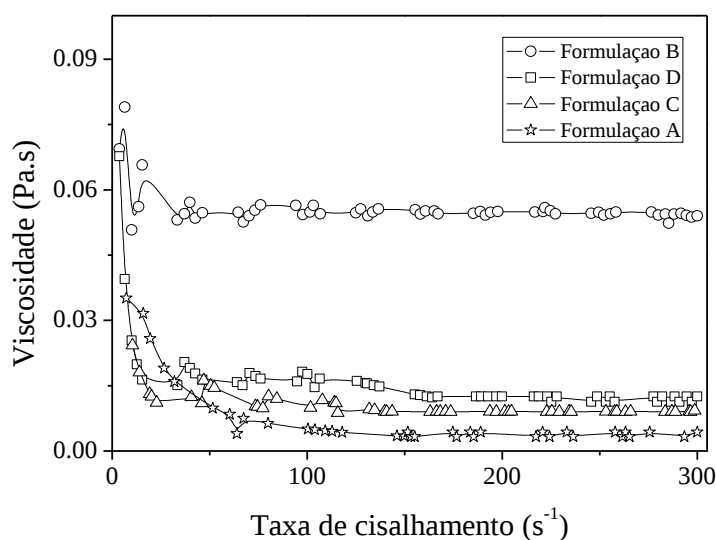
### **3.2.3 Viscosidade da emulsão**

As curvas de fluxos das emulsões produzidas com diferentes concentrações de material de parede (gelatina e goma) são mostrados na Figura 2A. Na figura verifica-se que a viscosidade da emulsão aumentou com o teor de gelatina de peixe. Este fato pode estar relacionado com as propriedades dos aminoácidos. Tonon et al. (2011) e Frascareli et al. (2012) observaram que ao aumentar o teor de goma arábica, houve aumento da viscosidade, porém, nestes trabalhos só foi utilizada goma como material de parede.

Na Figura 2B as dispersões estudadas apresentaram comportamento newtoniano, pois a viscosidade permaneceu constante ao aumentar a velocidade de cisalhamento na faixa estudada ( $0-300\text{ s}^{-1}$ ), apresentando uma viscosidade definida, características de fluidos newtonianos. Esse mesmo comportamento foi observado por Tonon et al. (2011), em solução composta por goma arábica e óleo de linhaça.



(A)



(B)

**Figura 2.** (A) Curvas de escoamento referentes as formulações, (B) Curvas de viscosidade versus a taxa de cisalhamento das diferentes emulsões avaliadas.

### 3.3 MICROENCAPSULÇÃO POR SPRAY-DRYING

#### 3.3.1 Eficiência de Encapsulação (% EE)

Os resultados da Eficiência de Encapsulação em microcápsulas de óleo de peixe produzidas em *spray-drying* são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Eficiência de encapsulação em microcápsulas de óleo de peixe produzidas em spray-drying.

| Análise | Formulações                  |                              |                               |                               |
|---------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|         | Formulação A                 | Formulação B                 | Formulação C                  | Formulação D                  |
| EE%     | 99,73 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup> | 99,50 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup> | 96,71 $\pm$ 1,02 <sup>c</sup> | 94,93 $\pm$ 0,99 <sup>d</sup> |

\*Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0.05$ ). (A) 10% de goma arábica e 20% de óleo de peixe, (B) 10% de gelatina de peixe e 20% de óleo de peixe, (C) 8,5% de goma arábica, 1,5% gelatina de peixe, 20% óleo de peixe, (D) 7,5% de goma arábica, 2,5% gelatina de peixe, 20% óleo de peixe.

A Eficiência de encapsulação (%EE) variou de 94,93% a 99,73% e apresentou diferença significativa ( $p \leq 0.05$ ) em todas as amostras, sendo influenciada pelo tipo e concentração do material de parede. Este parâmetro é importante, pois determina a quantidade de óleo aprisionado interferindo na vida comercial e armazenamento das microcápsulas. De acordo com os resultados observados na Tabela 3, os melhores valores de EE% foram nas microcápsulas que continham apenas goma e/ou gelatina de peixe (formulações A e B), ou seja, continha somente um material de parede e não uma combinação como nas formulações C e D. Observou-se que a gelatina e a goma arábica possuem maior eficiência de microencapsulação quando utilizadas separadas.

Frascareli et al. (2012) ao estudarem a microencapsulação de óleo de café, observaram que o aumento da quantidade de goma arábica, elevou a EE%, devido maior disponibilidade de material de parede para recobrir o óleo no interior da microcápsula.

Os percentuais de EE% do presente estudo foram superiores aos resultados encontrados por Carvalho et al. (2014) que encontraram valores de de 86 a 97% para microencapsulação de óleo de café com lecitina e quitosana, Tonon et al. (2011), encontraram resultados de 51 a 92 % para óleo de linhaça e Frascareli et al. (2012) obtiveram resultados de 47 a 82% na microencapsulação de óleo de café com goma arábica.

A gelatina de peixe demonstrou excelentes propriedades como material de parede para microencapsular óleo utilizando *spray-drying*. Esses bons resultados, deve-se provavelmente ao fato da mesma ter apresentado valores elevado de prolina e hidroxiprolina, observado no perfil de aminoácidos, melhorando assim, suas propriedades reológicas e funcionais como material de parede.

Segundo Pourashouri et al. (2014) a gelatina atua como agente emulsificante e material membranoso, formando rapidamente uma crosta devido a presença de

aminoácidos como hidroxiprolina em contato com o óleo e o ar quente, impedindo que o material de recheio se espalhe para a superfície, aumentando a eficiência de microencapsulação.

### 3.3.2 Atividade de água ( $a_w$ ) e Cor instrumental

Os resultados das análises de  $a_w$  e cor realizadas nas microcápsulas de óleo de peixe produzidas por *spray-drying* podem ser visualizadas na tabela 5.

Observa-se que todas as amostras apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0.05$ ) para  $a_w$ , mostrando que os diferentes materiais de parede e concentrações interferiram no resultado, onde as amostras que apresentaram valores mais elevados continham gelatina de peixe. Isto ocorreu durante a secagem da gelatina no *spray-drying*, devido o processo de geleificação, o que dificulta a secagem.

Por outro lado, pode-se verificar que o tipo e concentração de material de parede utilizado para microencapsular o óleo de peixe, influenciou a coloração do pó obtido, na qual a formulação A, produzida apenas com goma arábica foi a que apresentou uma coloração mais clara demonstrada pelos maiores valores de  $L^*$  e a adição de gelatina de peixe proporcionou uma coloração mais escura para os pós obtidos, devido a coloração da pele da pescada amarela. Para os parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$ , croma e ângulo, as amostras não apresentaram diferença significativa, demonstrando uma coloração clara, fato comprovado pelos valores do ângulo de tonalidade em torno de 100 e elevados valores para luminosidade.

**Tabela 5:** Atividade de água ( $a_w$ ) e cor instrumental em microcápsulas de óleo de peixe produzidas por *spray-drying*

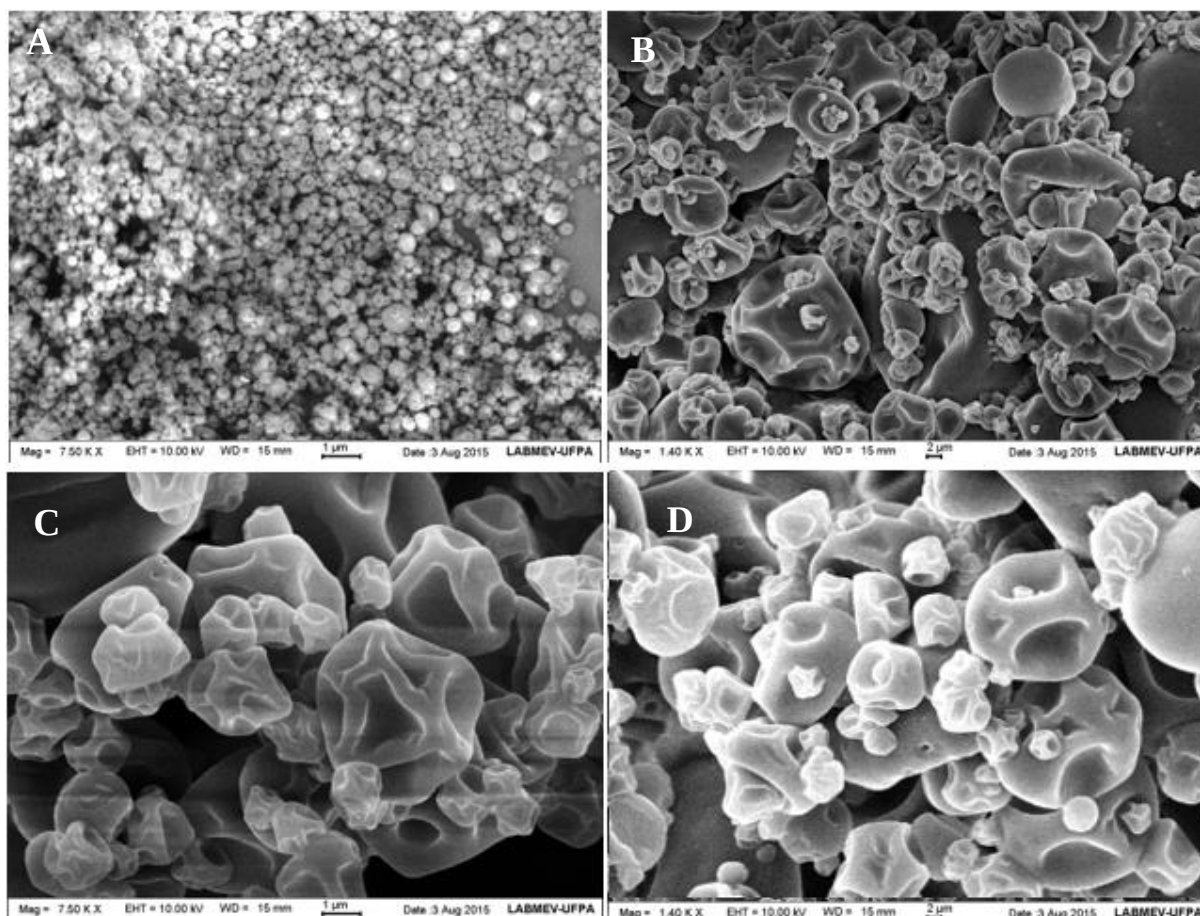
| Análises    | Formulações              |                          |                          |                          |
|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|             | A                        | B                        | C                        | D                        |
| $a_w$       | 0.16±0.00 <sup>a</sup>   | 0.30±0.00 <sup>b</sup>   | 0.41±0.00 <sup>c</sup>   | 0.42±0.00 <sup>d</sup>   |
| $L^*$       | 87.04±0.20 <sup>ac</sup> | 81.34±0.60 <sup>ac</sup> | 86.22±0.15 <sup>c</sup>  | 84.66±0.34 <sup>c</sup>  |
| $a^*$       | -3.40±0.34 <sup>a</sup>  | -3.11±0.08 <sup>a</sup>  | -3.40±0.28 <sup>a</sup>  | -3.51±0.04 <sup>a</sup>  |
| $b^*$       | 13.64±1.02 <sup>a</sup>  | 14.69±0.01 <sup>a</sup>  | 13.31±0.77 <sup>a</sup>  | 13.32±0.17 <sup>a</sup>  |
| C*(Croma)   | 14.29±0.60 <sup>a</sup>  | 15.04±0.02 <sup>a</sup>  | 13.96±0.47 <sup>a</sup>  | 13.81±0.12 <sup>a</sup>  |
| H° (ângulo) | 104.41±1.40 <sup>a</sup> | 102.11±0.09 <sup>a</sup> | 104.08±1.60 <sup>a</sup> | 104.77±0.34 <sup>a</sup> |

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0.05$ ). (A) 10% de goma arábica e 20% de óleo de peixe, (B) 10% de gelatina de peixe e 20% de óleo de peixe, (C) 8,5% de goma arábica, 1,5% gelatina de peixe, 20% óleo de peixe, (D) 7,5% de goma arábica, 2,5% gelatina de peixe, 20% óleo de peixe.

### 3.3.3 Morfologia das partículas

Por meio das imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura 3) é possível observar que a maioria das amostras apresentou morfologia semelhante, superfícies arredondadas e tamanhos variados, característicos da microencapsulação por *spray-drying*. Este resultado é semelhante ao encontrado por Frascareli et al. (2012) e Tonon et al. (2011), que utilizaram goma arábica como material de parede.

As partículas não apresentaram fissuras ou rachaduras aparentes, o que é importante para proporcionar menor permeabilidade aos gases e melhor proteção. Além disso, as superfícies foram côncavas e enrugadas, típico de microcápsulas produzidas por pulverização. Segundo Klinkesorn et al. (2005), a microencapsulação por *Spray-drying* provoca a solidificação do material de parede antes da expansão das microcápsulas, secagem desigual.



**Figura 3.** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) produzidas com diferentes concentrações de gelatina de peixe e goma arábica. (A) 10% de goma e 20% de óleo de peixe, (B) 10% de gelatina de peixe e 20% de óleo de peixe, (C) 8,5% de goma, 1,5% gelatina de peixe, 20% óleo de peixe, (D) 7,5% de goma, 2,5% gelatina de peixe, 20% óleo de peixe.

#### 4 CONCLUSÃO

A gelatina da pescada amarela apresentou valores de aminoácidos superiores aos relatados na literatura para gelatina comercial e peixes de outras espécies e características funcionais e tecnológicas dentro da faixa adequada para alimentos. A gelatina obtida no presente estudo apresentou excelente eficiência de microencapsulação, podendo substituir a goma arábica como material de parede no processo de microencapsulação por *spray drying*, gerando uma alternativa, visto que a goma arábica possui alto custo, além de minimizar problemas de material poluente, trazendo vantagens econômicas para a indústria de pesca.

## 5 REFERENCIAS

ALFARO, A. T.; SILVA, E. F. Propriedades Reológicas da Gelatina Obtida A Partir De Pele De Tilápia Rheological Properties Of Gelatin From Skin Of Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.4, p.555–561, 2010.

AOAC. Official Methods Of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemists. Horwitz, W, 17a Ed. Arlington: Aoac Inc, 2000.

ARAB-TEHRANY, E.; JACQUOT, M.; GAIANI, C.; IMRAN, M.; DESOBRY, S.; LINDER, M. Beneficial Effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science & Technology**, v.25, n.1, p.24–33, may, 2012.

B.S.I. Methods For Sampling And Testing Gelatin (Physical And Chemical Methods). London, 1975.

BAE, E. K.; LEE, S. J. Microencapsulation of avocado oil by spray drying using whey protein and maltodextrin. **Journal of Microencapsulation**, v.25, n.8, p.549–560, oct.2008.

BILUCA, F.C., MARQUETTI, C.; ALFARO, A.T. Production catfish skin and bone gelatin (*Clarias gariepinus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.5, p.418–426, 2001.

BINSI, P. K.; SHAMASUNDAR, B. A.; DILEEP, A. O.; BADI, F.; HOWELL, N. K.. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v.23, n.1, p.132–145, jan. 2009.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.8, p.389–395, 1959.

BUENO, M. C.; ALVIM, D. I.; KOBERSTEIN, R. D. C.; PORTELLA, M. C.; GROSSO, C. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.14, n.1, p.65–73, jan./mar. 2011.

BUFFO, R. A.; REINECCIUS, G. A.; OEHLERT, G. W. Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions. **Food Hydrocolloids**, v.15, n.1, p.53–66, jan. 2001.

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v.115, n.4, p.443–451, apr. 2013.

CARVALHO, A. G. S.; SILVA, V. M.; HUBINGER, M. D. Microencapsulation by spray drying of emulsified green coffee oil with two-layered membranes. **Food Research International**, v.61, p.236–245, july, 2014.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. **Journal of Food Science**, v.65, n.2, p.194–199, mar. 2000.

FOEGEDING, E.A.; LANIER, T.C.; HULTIN, H.O. Collagen. **In:** O.R. FENNEMA (Ed.), *Food Chemistry*. 3<sup>rd</sup> ed., p. 902–906). New York: Marcel Dekker, Inc, 1996.

FRASCARELI, E. C.; SILVA, V. M.; TONON, R. V.; HUBINGER, M. D. Effect Of Process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, n.3, p.413–424, july, 2012.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**, v.40, n.9, p.1107–1121, nov. 2007.

GROSSMAN, S.; Gan, R.; BERGMAN, M.; ISRAEL, H. **Process For The Production Of Gelatin From Fish Skins**. United States Patent, p.338–595, 1992.

HOLZER, D. **Gelatin Production**. United States Patent, p.208, 1996.

JAMILAH, B.; HARVINDER, K. G. Properties of gelatins from skins of fish - black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, v.77, n.1, p.81–84, may, 2002.

JOHNSTON-BANKS, F.A. **Gelatin**. New York: Elsevier Applied Sciences, 1990.

JONGJAREONRAK, A.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n.8, p.1216–1222, dec. 2006.

KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish Gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n.3, p.563–576, may, 2009.

KLINKESORN, U.; SOPHANODORA, P.; CHINACHOTI, P.; DECKER, E.; MCCLEMENTS, D. J. Encapsulation of emulsified tuna oil in two-layered interfacial membranes prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. **Food Hydrocolloids**, v.19, n.6, p.1044–1053, nov. 2005.

LI, W.; WU, G.; CHEN, H.; WANG, M. Preparation and characterization of gelatin/sds/nacmc microcapsules with compact wall structure by complex coacervation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.333, n.1-3, p.133–137, feb. 2009.

MCCLEMENTS, D. J. Non-Covalent interactions between proteins and polysaccharides. **Biotechnology Advances**, v.24, n.6, p.621–625, nov./dec. 2006.

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

MUYONGA, J. H.; COLE, C. G. B.; DUODU, K. G. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, v.85, n.1, p.81–89, mar. 2004.

POURASHOURI, P.; SHABANPOUR, B.; RAZAVI, S. H.; JAFARI, S. M.; SHABANI, A.; AUBOURG, S. P. Impact of wall materials on physicochemical properties of microencapsulated fish oil by spray drying. **Food and Bioprocess Technology**, v.7, n.8, p.2354–2365, aug. 2014.

RAMAKRISHNAN, S.; FERRANDO, M.; ACEÑA-MUÑOZ, L.; DE LAMOCASELLVÍ, S.; GÜELL, C. Fish oil microcapsules from o/w emulsions produced by premix membrane emulsification. **Food and Bioprocess Technology**, v.6, n.11, p.3088–3101, nov. 2013.

SILVA, R.; BANDEIRA, S.F.; PETRY, F.C.; PINTO, L.A.A. Gelatin extraction from skins of common carp heads. **Ciência Rural**, v.41, n.5, p.904–909, 2011.

SILVA, E.V.; LOURENÇO, L.F.H.; PENA, R.S. Optimization and characterization of gelatin from kumakuma (*Brachyplatystoma filamentosum*) skin. *CyTA. Journal of Food*. p.1947-6337, 2017.

SIMÕES, A. S.; MORI, R. Y.; FARIA, R.; DE CASTRO, H. F.; MENDES, A. A. Desempenho da matriz híbrida Sio 2-Quitosana na imobilização da lipase microbiana de candida rugosa. **Química Nova**, v.34, n.1, p33–38, 2011.

SONGCHOTIKUNPAN, P.; TATTIYAKUL, J.; SUPAPHOL, P. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.42, n.3, p.247–255, apr. 2008.

SURH, J.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.20, n.5, p.596–606, july, 2006.

TONON, R. V.; GROSSO, C. R. F.; HUBINGER, M. D. influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, n.1, p.282–289, 2011.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the waters pico-tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of Automatic Chemistry**, v.8, n.4, p.170–177, 1986.

YANG, Y.; ANVARI, M.; PAN, C. H.; CHUNG, D. Characterisation of interactions between fish gelatin and gum arabic in aqueous solutions. **Food Chemistry**, v.135, n.2, p.555–561, nov. 2012.

### CAPÍTULO III

#### DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE FILME BIODEGRADÁVEL DE GELATINA DE PEIXE ADICIONADO DE ÓLEO DE BURITI

**RESUMO:** No presente trabalho foi proposto determinar por meio de um planejamento fatorial completo  $2^3$ , as condições ótimas de processo para o desenvolvimento de um filme biodegradável, de gelatina de peixe com adição de óleo de buriti e caracterizá-lo em relação as suas especificidades físicas, mecânicas antioxidantes. Os filmes foram obtidos com diferentes concentrações de gelatina de peixe, plastificante e óleo de buriti por meio do método *casting* e analisou-se a influência desses componentes sobre suas propriedades. O aumento na concentração de óleo de buriti proporcionou ao filme maiores propriedades antioxidantes e a diminuição da gelatina e glicerol, menor permeabilidade ao vapor de água, aumentando a resistência à tração. As condições de otimização do processo foram 2,3% de gelatina de peixe, 30% de óleo de buriti e 13,18% de plastificante. Os filmes produzidos nessas condições apresentaram alta atividade antioxidante ( $24,77\mu\text{mol}$  de TE/g), resistência mecânica (8,04 MPa) e permeabilidade ao vapor de água satisfatório ( $0,38 \times 10^{-10} \text{ g. m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$ ). O filme apresentou baixa solubilidade em água, umidade e atividade de água, contribuindo para sua integridade, não apresentando defeitos. Este estudo mostrou que a gelatina de peixe e óleo de buriti são fontes promissoras para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, podendo reduzir o impacto ambiental provocado pelos resíduos da indústria de pesca e plásticos derivados do petróleo.

**Palavras-chaves:** pescado; gelatina; otimização; filme biodegradável; óleo de buriti.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os consumidores e indústrias de alimentos, tem buscado a utilização de embalagens com matérias biodegradáveis, com o objetivo de reduzir o impacto ambiental provocado pelos plásticos convencionais derivados do petróleo (GÜÇBILMEZ et al., 2007; WU et al., 2014).

As indústrias de beneficiamento de pescado geram uma grande quantidade de matérias poluentes, como cabeças e peles, que possuem valor nutricional e podem ser utilizados para a elaboração de produtos, contribuindo para a diminuição dos impactos ambientais (SIMÕES et al., 2011). Dentre os possíveis produtos que podem ser elaborados a partir desses resíduos destacam-se a quitosana e a gelatina (KARIM; BHAT, 2009; OCAK, 2012).

A gelatina é um polipeptídeo obtido por hidrólise térmica do colágeno, possui capacidade de formar géis termorreversíveis, e tem ocorrido interesse na sua utilização para aplicações de embalagens, em decorrência de sua excelente formação de filme, abundância, por não ser toxica, biocompatível e biodegradável (ALFARO et al., 2013; et al., 2014; AHMAD et al., 2015).

Filmes biodegradáveis podem ser preparados a partir de polímeros naturais como proteínas, lipídios e polissacarídeos, ou uma combinação desses compostos (LIMPAN et al., 2010). Além disso, pode ser adicionado óleo em sua composição para melhorar suas propriedades (TONGNUANCHAN et al. 2014).

O óleo de buriti tem despertado interesse mundialmente, devido sua composição química e farmacológica, rico em carotenoides, ácido graxo e alta concentração de tocoferóis, comportando-se como uma das fontes mais ricas em provitamina A, com excelente atividade antioxidante e alta estabilidade oxidativa (BATISTA et al., 2012).

A adição de óleo de buriti em filmes biodegradáveis, é uma alternativa para melhorar propriedades como barreira de vapor de água, tornando mais atrativo, aumentando a vida útil do produto (BURT, 2004; NUNEZ-FLORES et al., 2012; SILVA et al., 2016).

O objetivo deste trabalho foi determinar as condições ótimas para desenvolver filme biodegradável de gelatina de peixe com adição de óleo de buriti, através de planejamento fatorial completo  $2^3$ . Os filmes, foram caracterizados em relação a atividade antioxidante, propriedade mecânica, permeabilidade ao vapor de água, viscosidade da

solução filmogênica, espessura, solubilidade em água, parâmetros de cor e microestrutura.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

Pele de peixe da espécie pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) utilizada para obter a gelatina, foi oriunda do mercado de peixe Ver-o-peso (Belém, Brasil). A goma arábica em pó pura (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Brasil) como surfactante, óleo de buriti doado pela empresa Beraca (Beraca, Belém, Brasil) e glicerol (Isofar, Glicerina PA com 99,5% de pureza) utilizado como plastificante.

### 2.2 EXTRAÇÃO DA GELATINA DE PELE DE PEIXE DA PESCADA AMARELA (*Cynoscion acoupa*)

A extração da gelatina de pele da pescada amarela foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Montero e Gomez-Guillen (2000) com adaptações da concentração da solução, do tempo e temperatura de imersão, obtidas através de ensaios preliminares. As peles foram cortadas em 4cm x 4cm, lavadas em água corrente e imersas em solução de cloreto de sódio (Isofar, Brasil) 0,6 M 1:5 (peso/volume) por 15 minutos, sob agitação de 85 rpm a 25°C em incubadora Shaker (Luca-223, Brasil). Em seguida o material foi submerso em solução de hidróxido de sódio (Vetec, Brasil) a 0,3M, 1:5 (peso/volume) por 15 minutos, sob agitação contínua e lavado em água corrente. Posteriormente foi imerso em solução de ácido acético (Audaz, Brasil) 0,02 M, 1:5 (peso/volume) por uma hora sob agitação e lavado em água corrente. A fase de extração foi realizada com água destilada em banho maria (Tecnal, Te-057, Brasil) por 12 h a 50 °C, mantendo 1:5 (peso/volume). Após a extração, o filtrado obtido foi colocado em bandejas de inox, congelado em ultra freezer (Coldlab, Cl 200-80v, Brasil) e liofilizado a -50°C/36 horas (Liotop- L101, Brasil). Finalmente a gelatina obtida foi embalada a vácuo (Embaladora Fastvac, F200, Brasil) e armazenada a -26°C em ultra freezer até a realização dos filmes.

### 2.3 PREPARAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Os filmes foram obtidos de acordo com Tongnuanchan et al. (2014) com algumas modificações. Diferentes concentrações de gelatina de peixe, óleo de buriti e plastificante (glicerol), foram misturadas com água destilada (p/v) por suspensão, de acordo com o planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> apresentado na Tabela 1, fixando à concentração de

surfactante (goma arábica) em 30% em relação ao óleo. A solução final foi homogeneizada a 15.000 rpm por 5 minutos em homogeneizador Turratrec (Tecnal, TE-102), obtendo-se as soluções filmogênicas (SF). De acordo com o método *casting*, 120mL da solução filmogênica (SF) foram colocadas em suporte de silicone (22cm de diâmetro x 3cm de altura) e submetidas a secagem em estufa incubadora (Quimis, Q315M) a temperatura de 30°C por 20 horas. Após a secagem, os filmes para a avaliação da atividade antioxidante, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e resistência à tração (RT) foram acondicionados em sacos de polietileno em temperatura ambiente.

### 2.3.1 Planejamento Fatorial Completo 2<sup>3</sup> para Estabelecer as Variáveis do Processo de Obtenção dos Filmes

Para estabelecer a melhor combinação de gelatina de peixe, óleo de buriti e plastificante na obtenção do filme, foi utilizado um planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup>, constituído por ensaios lineares -1 e +1, ensaios com pontos axiais  $-\alpha$  e  $+\alpha$ , definidos em -1,68 e 1,68, respectivamente e 3 repetições no ponto central. Foram utilizadas como variáveis independentes a concentração de gelatina de peixe (GP), óleo de buriti (OL) e plastificante (PL) e como variáveis dependentes a atividade antioxidante, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e resistência à tração (RT), como pode ser observado na tabela 1.

**Tabela 1:** Definição dos níveis das variáveis estudadas na obtenção do filme

| FATORES (%)            | $-\alpha$<br>(-1,68) | -1 | 0  | +1 | $+\alpha$<br>(1,68) |
|------------------------|----------------------|----|----|----|---------------------|
| Gelatina de peixe (GP) | 2,3                  | 3  | 4  | 5  | 5,6                 |
| Óleo de buriti (OB)    | 13,18                | 20 | 30 | 40 | 46,81               |
| Plastificante (PL)     | 13,18                | 20 | 30 | 40 | 46,81               |

### 2.3.2 Determinação das Propriedades dos Filmes Biodegradáveis

A atividade antioxidante foi determinada por espectrofotometria de absorção UV-Visível, utilizando o radical ABTS (2,2-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), de acordo com as metodologias descritas por Brand-Willians et al. (1995) e Re et al. (1999).

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 em recipiente de vidro de 4,5 cm x 7,0 cm (diâmetro x altura), contendo 10 g de sílica gel a 0% UR e pressão de vapor de água (Pa)

a 30°C igual a zero. Os recipientes 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 através da Equação 1.

$$WVP = W.X/A.t.\Delta P \quad (1)$$

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

A resistência à tração (RT) dos filmes foram determinadas empregando-se metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) descrita por Limpan et al. (2010) utilizando texturômetro (QTS, Brookfield), realizadas em temperatura ambiente. A separação inicial das garras e a velocidade da probe foram de 50 mm e  $1\text{ mm.s}^{-1}$ , respectivamente. As amostras foram cortadas em pedaços de 100 mm x 25 mm (comprimento x largura) e calculada pela Equação 2.

$$RT = F_m/A \quad (2)$$

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

A viscosidade das soluções filmogênicas foram realizadas por meio da determinação de curvas de fluxo (tensão de cisalhamento x taxa de corte) em viscosímetro (Haake, VT 550, Alemanha) acoplado ao sistema de configuração de cilindros coaxiais copo SV e cilindros SV1. Os ensaios reológicos foram realizados a 28°C, com taxa de cisalhamento variando entre 0 e  $300\text{ s}^{-1}$  no intervalo de tempo de 120s.

A espessura dos filmes foi medida utilizando-se um micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (Insize, modelo IP54). Foram selecionados oito locais aleatórios em cada filme com afastamento da borda de 60 mm.

Para avaliar a solubilidade, os filmes foram recortados em discos de 2 cm de diâmetro e colocados em estufa a 105°C por 24 horas e pesados. Em seguida, os filmes secos foram imersos em recipientes com 50 mL de água sendo este sistema agitado em Incubadora Shaker refrigerada (Lucadema, modelo Luca-223) com velocidade de 150

rpm por um período de 24 horas, a 25°C. Após este período, as amostras foram filtradas e o material retido submetido a secagem (105°C por 24 horas), para determinar o material não dissolvido em água (GONTARD et al., 1994).

A umidade foi realizada conforme a AOAC (2000), por secagem em estufa a 105°C, até peso constante e a atividade de água ( $a_w$ ) foi determinada em AQUALAB 4TE, (Decagon Devices, USA).

A cor dos filmes foi determinada utilizando colorímetro MINOLTA modelo CR 310, obtendo-se parâmetros de  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (intensidade do vermelho),  $b^*$  (intensidade do amarelo),  $C^*$  (valor do croma) e  $h^*$  (ângulo de tonalidade).

A microestrutura da superfície superior e da secção transversal dos filmes foi determinada utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Leo-Zeiss, modelo 1430).

## 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi realizada por meio do programa Statistica versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004) utilizando os resultados das análises de antioxidantes, permeabilidade ao vapor de água e resistência à tração, obtendo hierarquização dos efeitos, análise de variância e superfície de resposta para o planejamento fatorial completo  $2^3$  e a função desejabilidade para estimar as condições ótimas para a obtenção do filme.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO 2<sup>3</sup>

A matriz codificada e seus respectivos níveis juntamente com os valores experimentais dos parâmetros atividade antioxidante, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e Resistência à tração (RT) são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Resultados experimentais para atividade antioxidante, PVA e RT obtidos sob diferentes condições do Planejamento Fatorial Completo 2<sup>3</sup>

| Ensaio | Valores codificados |        |        | Valores EXPERIMENTAIS       |                                                                                  |          |
|--------|---------------------|--------|--------|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------|
|        | GP (%)              | OB (%) | PL (%) | ANTIOXIDANTE (μmol de TE/g) | PVA (x10 <sup>-10</sup> g.m <sup>-1</sup> . s <sup>-1</sup> . Pa <sup>-1</sup> ) | RT (MPa) |
| 1      | -1                  | -1     | -1     | 10,89                       | 0,52                                                                             | 5,78     |
| 2      | 1                   | -1     | -1     | 8,23                        | 1,82                                                                             | 3,35     |
| 3      | -1                  | 1      | -1     | 23,28                       | 1,14                                                                             | 4,71     |
| 4      | 1                   | 1      | -1     | 12,92                       | 1,23                                                                             | 2,79     |
| 5      | -1                  | -1     | 1      | 11,00                       | 1,51                                                                             | 1,76     |
| 6      | 1                   | -1     | 1      | 11,79                       | 2,49                                                                             | 1,15     |
| 7      | -1                  | 1      | 1      | 10,12                       | 1,71                                                                             | 0,97     |
| 8      | 1                   | 1      | 1      | 7,56                        | 1,75                                                                             | 0,64     |
| 9      | 0                   | 0      | -1,68  | 18,02                       | 1,10                                                                             | 4,962    |
| 10     | 0                   | 0      | 1,68   | 22,01                       | 1,9                                                                              | 0,65     |
| 11     | 0                   | -1,68  | 0      | 5,89                        | 2,37                                                                             | 2,06     |
| 12     | 0                   | 1,68   | 0      | 9,75                        | 1,56                                                                             | 1,37     |
| 13     | -1,68               | 0      | 0      | 7,65                        | 1,18                                                                             | 1,55     |
| 14     | 1,68                | 0      | 0      | 4,50                        | 1,65                                                                             | 0,78     |
| 15     | 0                   | 0      | 0      | 8,91                        | 1,33                                                                             | 0,98     |
| 16     | 0                   | 0      | 0      | 10,20                       | 1,32                                                                             | 1,26     |
| 17     | 0                   | 0      | 0      | 9,01                        | 1,46                                                                             | 1,31     |

GP (%): Gelatina de peixe; OB (%): Óleo de Buriti; PL (%): Plastificante; PVA: Permeabilidade ao vapor de água (x10<sup>-10</sup> g.m<sup>-1</sup>. s<sup>-1</sup>. Pa<sup>-1</sup>); RT: Resistência à tração. TE=trolox equivalente (ABTS).

Os resultados apresentados na Tabela 2, obtidos para os diferentes ensaios realizados apresentaram valores máximo e mínimo de 23,20 à 4,50 μmol de TE/g para atividade antioxidante, 2,49 à 0,52 x10<sup>-10</sup> g.m<sup>-1</sup>. s<sup>-1</sup>. Pa<sup>-1</sup> para permeabilidade ao vapor de água e 5,78 à 0,64 MPa para Resistência à tração, determinados através do erro puro e

pela soma quadrática residual, demonstrando assim, a influência da concentração dos componentes utilizados nas propriedades dos filmes de gelatina de peixe.

### 3.1.1 Estimativa das Variáveis, Significância e Análise de Variância das Respostas Estudadas no Planejamento Fatorial Completo 2<sup>3</sup>

**Tabela 3:** Efeito estimado, erro, grau de significância estatística para o erro puro, regressão, falta de ajuste e R<sup>2</sup>, para atividade antioxidante, PVA e RT.

| ATIVIDADE ANTIOXIDANTE                                                                                                  |               |              |               | F-Valor                       |                               |                |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|--------------|---------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|
| Variáveis                                                                                                               | Efeito        | Erro         | P-valor       | Regressão<br>F <sub>CAL</sub> | F. ajuste<br>F <sub>CAL</sub> | R <sup>2</sup> |
| <b>(1) GP (L)</b>                                                                                                       | <b>-2,941</b> | <b>0,388</b> | <b>0,016</b>  | 98,81                         | 12,23*                        | 0,90           |
| <b>GP (Q)</b>                                                                                                           | <b>-2,083</b> | <b>0,427</b> | <b>0,039</b>  |                               |                               |                |
| <b>(2) OB (L)</b>                                                                                                       | <b>2,702</b>  | <b>0,388</b> | <b>0,020</b>  |                               |                               |                |
| <b>OB (Q)</b>                                                                                                           | <b>-0,849</b> | <b>0,427</b> | <b>0,185</b>  |                               |                               |                |
| <b>(3) PL (L)</b>                                                                                                       | <b>-1,193</b> | <b>0,388</b> | <b>0,091</b>  |                               |                               |                |
| <b>PL (Q)</b>                                                                                                           | <b>7,769</b>  | <b>0,427</b> | <b>0,003</b>  |                               |                               |                |
| <b>GP by OB</b>                                                                                                         | <b>-2,760</b> | <b>0,507</b> | <b>0,0321</b> |                               |                               |                |
| <b>GP by PL</b>                                                                                                         | <b>2,809</b>  | <b>0,507</b> | <b>0,031</b>  |                               |                               |                |
| <b>OB by PL</b>                                                                                                         | <b>-5,550</b> | <b>0,507</b> | <b>0,008</b>  |                               |                               |                |
| <b>Modelo</b> 9,338 - 1,470G - 1,041G <sup>2</sup> + 1,351O + 3,884P <sup>2</sup> - 1,38GO + 1,404 GP - 2,77LP          |               |              |               |                               |                               |                |
| PVA                                                                                                                     |               |              |               | F-Valor                       |                               |                |
| Variáveis                                                                                                               | Efeito        | Erro         | P-valor       | Regressão<br>F <sub>CAL</sub> | F. ajuste<br>F <sub>CAL</sub> | R <sup>2</sup> |
| <b>(1) GP (L)</b>                                                                                                       | <b>0,468</b>  | <b>0,043</b> | <b>0,008</b>  | 99,11                         | 5,89*                         | 0,90           |
| <b>GP (Q)</b>                                                                                                           | <b>-0,022</b> | <b>0,048</b> | <b>0,684</b>  |                               |                               |                |
| <b>(2) OB (L)</b>                                                                                                       | <b>-0,274</b> | <b>0,043</b> | <b>0,024</b>  |                               |                               |                |
| <b>OB (Q)</b>                                                                                                           | <b>0,364</b>  | <b>0,048</b> | <b>0,016</b>  |                               |                               |                |
| <b>(3) PL (L)</b>                                                                                                       | <b>0,597</b>  | <b>0,043</b> | <b>0,005</b>  |                               |                               |                |
| <b>PL (Q)</b>                                                                                                           | <b>0,037</b>  | <b>0,048</b> | <b>0,513</b>  |                               |                               |                |
| <b>GP by OB</b>                                                                                                         | <b>-0,536</b> | <b>0,057</b> | <b>0,011</b>  |                               |                               |                |
| <b>GP by PL</b>                                                                                                         | <b>-0,088</b> | <b>0,057</b> | <b>0,261</b>  |                               |                               |                |
| <b>OB by PL</b>                                                                                                         | <b>-0,141</b> | <b>0,057</b> | <b>0,130</b>  |                               |                               |                |
| <b>Modelo</b> 1,382 + 0,234G - 0,011O + 0,182O <sup>2</sup> + 0,298P - 0,268GO                                          |               |              |               |                               |                               |                |
| RT                                                                                                                      |               |              |               | F-Valor                       |                               |                |
| Variáveis                                                                                                               | Efeito        | Erro         | P-valor       | Regressão<br>F <sub>CAL</sub> | F. ajuste<br>F <sub>CAL</sub> | R <sup>2</sup> |
| <b>(1) GP (L)</b>                                                                                                       | <b>-0,962</b> | <b>0,095</b> | <b>0,009</b>  | 215,41                        | 11,33*                        | 0,93           |
| <b>GP (Q)</b>                                                                                                           | <b>0,299</b>  | <b>0,105</b> | <b>0,104</b>  |                               |                               |                |
| <b>(2) OB (L)</b>                                                                                                       | <b>-0,600</b> | <b>0,095</b> | <b>0,024</b>  |                               |                               |                |
| <b>OB (Q)</b>                                                                                                           | <b>0,690</b>  | <b>0,105</b> | <b>0,022</b>  |                               |                               |                |
| <b>(3) PL (L)</b>                                                                                                       | <b>-2,836</b> | <b>0,095</b> | <b>0,001</b>  |                               |                               |                |
| <b>PL (Q)</b>                                                                                                           | <b>1,460</b>  | <b>0,105</b> | <b>0,005</b>  |                               |                               |                |
| <b>GP by OB</b>                                                                                                         | <b>0,195</b>  | <b>0,124</b> | <b>0,257</b>  |                               |                               |                |
| <b>GP by 3L</b>                                                                                                         | <b>0,855</b>  | <b>0,124</b> | <b>0,020</b>  |                               |                               |                |
| <b>OB by 3L</b>                                                                                                         | <b>0,082</b>  | <b>0,124</b> | <b>0,578</b>  |                               |                               |                |
| <b>Modelo</b> 1,142 - 0,481G + 0,149G <sup>2</sup> - 0,30 + 0,345O <sup>2</sup> - 1,418P + 0,73P <sup>2</sup> + 0,427GP |               |              |               |                               |                               |                |

GP: Gelatina de peixe; OB: Óleo de buriti; PL: Plastificante; Regressão: F<sub>TAB</sub>: 19,35 (Antioxidante); F<sub>TAB</sub>: 19,29 (PVA-permeabilidade ao vapor de água); F<sub>TAB</sub>: 19,32 (RT- resistência à tração); Falta de ajuste: F<sub>TAB</sub>: 19,35 (Antioxidante); F<sub>TAB</sub>: 19,38 (PVA); F<sub>TAB</sub>: 19,37 (RT); \*não significativo.

Como pode ser observado na Tabela 3, para a atividade antioxidante o óleo linear e o plastificante quadrático, apresentaram efeito significativo positivo, indicando que o aumento da concentração desses componentes na formação do filme, implica na elevação da atividade antioxidante. Este aumento da atividade antioxidante, com a elevação da concentração do óleo de buriti, deve-se a presença de carotenoides, compostos fenólicos e vitamina E na forma de  $\alpha$ -tocoferol, presente no óleo (BATISTA et al., 2012; KOOLEN et al., 2013).

O óleo linear apresentou efeito significativo negativo sobre a resposta permeabilidade ao vapor de água, indicando que ao passar do nível -1 para +1 ocorre diminuição do PVA, tornando, o filme menos susceptível a absorver água do ambiente. Esse fato deve-se a hidrofobicidade dos óleos.

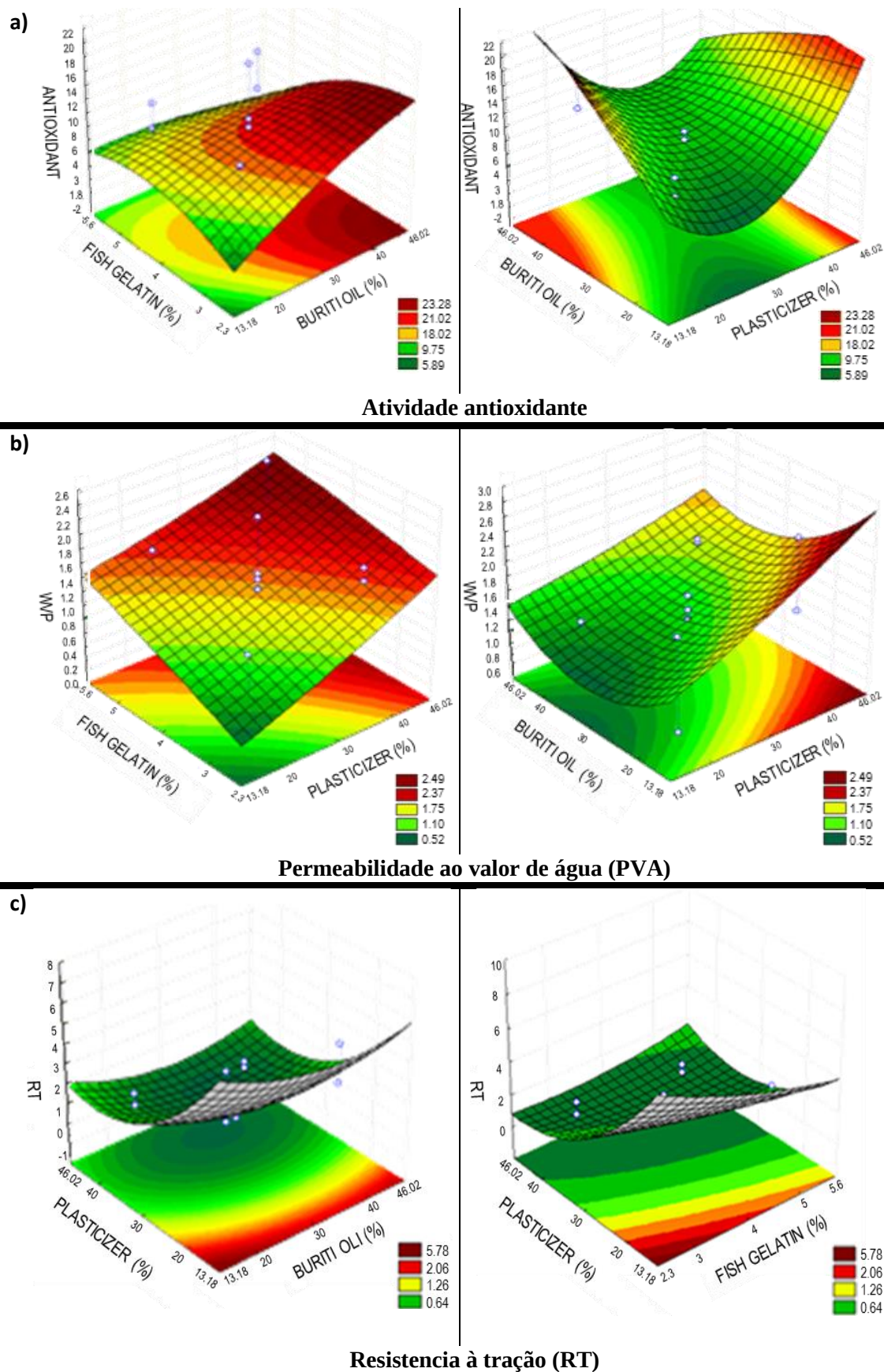
A concentração de plastificante linear foi o fator que apresentou maior efeito sobre a resistência à tração, onde o aumento da concentração de plastificante implica na diminuição da RT do filme, tornando-o menos resistente e mais elástico. A função do plastificante é proporcionar ao filme flexibilidade (RODRÍGUEZ-NÚÑEZ et al., 2014).

Após eliminar os parâmetros com efeitos não significativos, verificou-se a significância da regressão e da falta de ajuste com 95% de confiança.

A análise de variância (ANOVA) mostrou que os modelos ajustados para todas as respostas (atividade antioxidante, PVA e RT) apresentaram regressão significativa ( $F_{cal} > F_{tab}$ ), falta de ajuste não significativa e também preditiva, pois Segundo Box e Wetz (1973), para uma regressão ser significativa não apenas estatisticamente, mais também ser útil para fins preditivos, o valor do F calculado para a regressão deve ser no mínimo de quatro a cinco vezes maiores que o valor de F tabelado, fato observado neste trabalho.

Além disso, o valor de  $R^2$ , para as variáveis, atividade antioxidante, PVA e RT, indicaram que o modelo descreveu adequadamente o comportamento do processo, explicando entre 90% a 93% a variação dos dados experimentais.

Na Figura 1 são mostrados os gráficos de superfície de resposta para atividade antioxidante, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e resistência à tração (RT), considerando concentração de gelatina, óleo de buriti e plastificante.



**Figura 1.** Gráficos de superfície de resposta para atividade antioxidante, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e resistência à tração (RT), relacionando as concentrações de Gelatina de peixe, óleo de buriti e plastificante, para a obtenção de filme.

Analisando a Figura 1 (a), verifica-se que o aumento na concentração de óleo, a partir do ponto central, favorece a elevação da atividade antioxidante, comprovando assim, a presença de compostos presentes no óleo com atividade antioxidante.

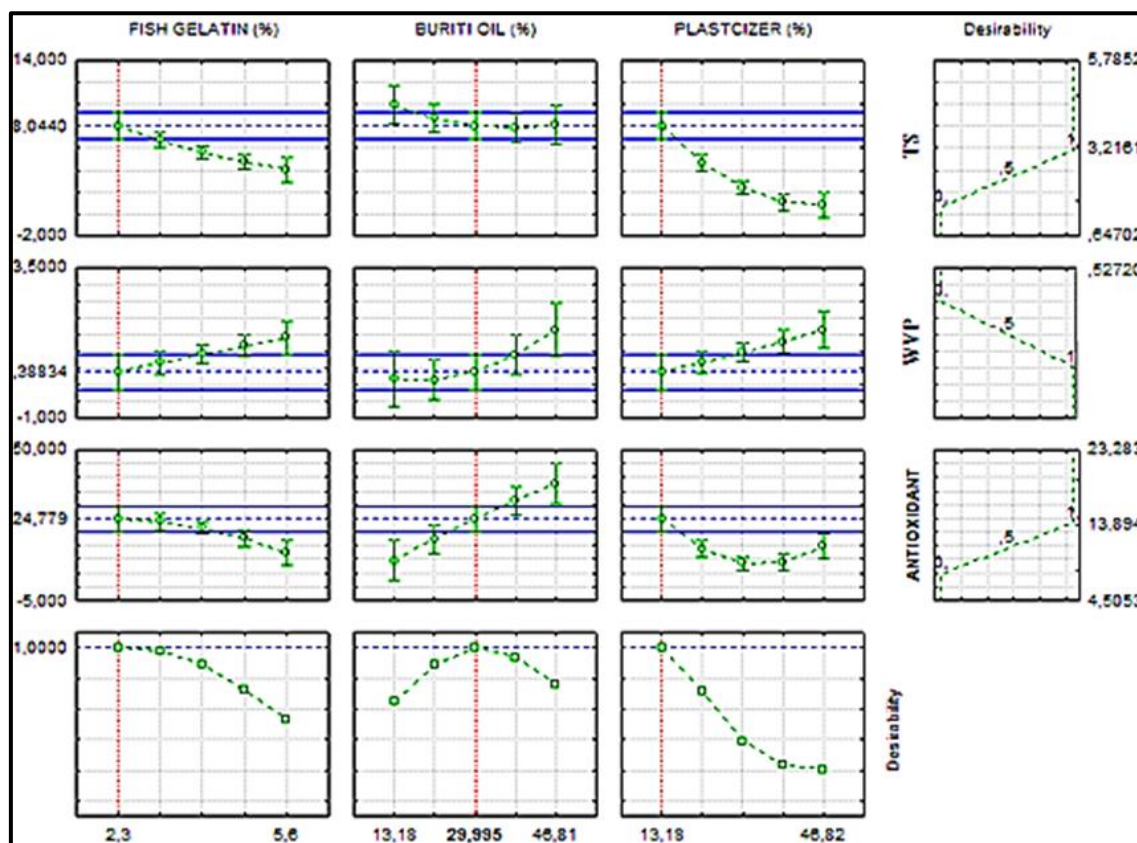
Em relação a permeabilidade ao vapor de água, observa-se na Figura 2 (b), que ocorre um aumento da permeabilidade ao vapor de água com a elevação da gelatina de peixe e plastificante. Esse comportamento é justificado pelo fato da gelatina de peixe possuir características hidrofílicas, devido sua elevada composição em aminoácidos polares como glicina, serina, treonina e tirosina, como observado nos resultados da tabela 3, de perfil de aminoácidos da gelatina de pescada amarela do presente trabalho, absorvendo assim, a água do ambiente (KROCHTA, 2002). O mesmo acontece para o glicerol, utilizado como plastificante, componente este hidrofílico e ao ser incorporado na rede protéica, localiza-se entre os peptídeos, reduzindo a proximidade entre as cadeias de proteínas e, conseqüentemente, facilita a mobilidade molecular e intensifica a afinidade pela água, aumentando a permeabilidade ao vapor de água (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 1999). Desse modo, a região que apresenta menores PVA encontra-se, nas concentrações mais baixas de gelatina de peixe e plastificante e concentrações de óleo de buriti na faixa de 30 a 40%.

A Figura 1 (c) mostra que os menores valores de gelatina e glicerol proporciona uma elevação na resposta em estudo, tornando o filme mais resistente. Esse evento deve-se ao fato da gelatina de peixe e do glicerol, serem hidrofílicos e valores elevados desses componentes, proporciona ao filme maior absorção de água e elasticidade, conseqüentemente menor resistência. Em relação ao óleo, observa-se que em toda faixa estudada, do nível -1 ao + 1, obtém-se valores elevados para RT, não ocorrendo modificações das propriedades mecânicas dos filmes.

Tongnuanchan et al. (2014), elaboraram filmes à base de gelatina de peixe adicionado de óleos essenciais e observaram que os óleos proporcionaram uma diminuição da resistência à tração, fato este não observado no presente estudo, pois em toda faixa da concentração de óleo estudada, obteve-se ótimos resultados para RT, independente da concentração. Esses diferentes comportamentos relatados, segundo Bakkali et al. (2008), e Hoque et al. (2011), está relacionado com a composição dos óleos, que interajam de forma divergente com as proteínas, modificando as propriedades mecânicas dos filmes.

### 3.2 OTIMIZAÇÃO DO FILME BIODEGRADÁVEL POR DESEJABILIDADE

A estimativa das condições ótimas para a obtenção do filme biodegradável foi realizada através da Função Desejabilidade. Os perfis de desejabilidade são apresentados na Figura. 2.



**Figura 2.** Perfis de Desejabilidade para concentrações de gelatina de peixe, óleo de buriti e plastificante na obtenção do filme biodegradável.

Na Figura 2, os nove primeiros gráficos superiores apresentam o perfil de desejabilidade individual e os valores preditos para as respostas, RT, PVA e antioxidante, onde a linha azul tracejada representa os valores ótimos para cada resposta e os três últimos gráficos, apresentam as concentrações ótimas de gelatina de peixe, óleo de buriti e plastificante, indicados pelas linhas tracejadas em vermelho.

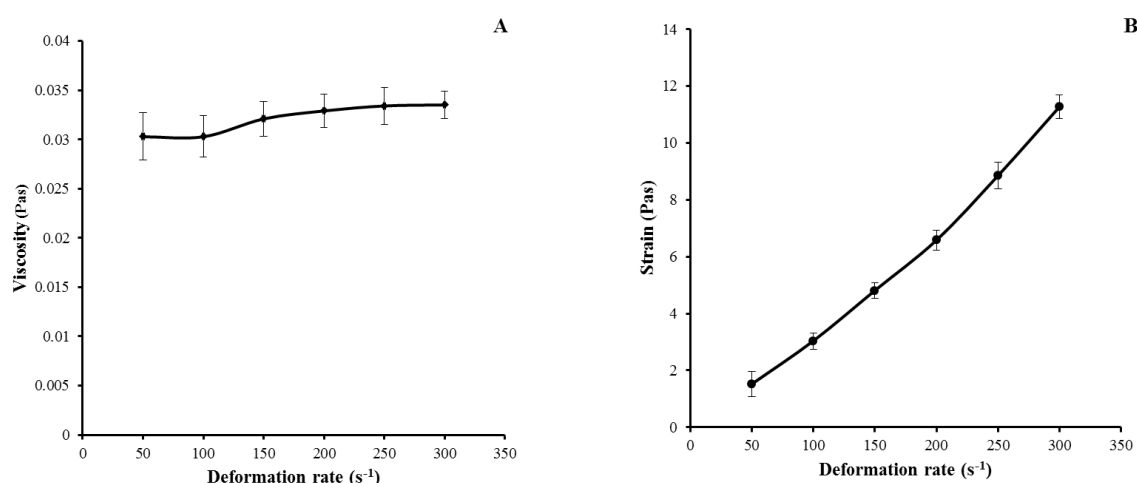
Com base nos resultados da função desejabilidade foi possível verificar que para se obter filmes com o máximo valor dessa função desejabilidade global (igual a 100%) deve-se utilizar concentrações de gelatina de peixe, óleo de buriti e plastificante nos níveis -1,68, 30% e -1,68, respectivamente, conforme o planejamento fatorial completo  $2^3$ . Portanto, as concentrações definidas como ótimas para o processo de obtenção de filmes biodegradáveis com propriedades antioxidantes foram 2,3% de gelatina de peixe, 30% de óleo de buriti e 13,18% de plastificante. O filme assim elaborado, apresenta valores

médios de resistência à tração de 8,04 MPa, permeabilidade ao vapor de água de 0,38  $\times 10^{-10}$  g.m<sup>-1</sup>. s<sup>-1</sup>. Pa<sup>-1</sup> e atividade antioxidante de 24,77  $\mu$ mol de TE/g. Nessas condições supõe-se que o filme, terá baixa permeabilidade ao vapor de água e alta resistência à tração e atividade antioxidante.

Os resultados obtidos na desejabilidade, são compatíveis com os dados experimentais avaliados através da superfície de resposta, na qual mostra uma tendência, para utilização de baixas concentrações de gelatina de peixe e plastificante e valores de óleo de buriti, próximo ao ponto central.

### 3.3 PROPRIEDADES REOLÓGICAS DA SOLUÇÃO FILMOGÊNICA DO FILME BIODEGRADÁVEL OTIMIZADO

Na Figura 3 encontra-se as curvas de escoamento referente a solução filmogênica do filme de gelatina de peixe com óleo de buriti.



**Figura 3.** (A) Curva de escoamento referente à solução filmogênica (emulsões), (B) Curva de viscosidade versus a taxa de deformação.

A viscosidade encontrada na solução filmogênica do presente estudo foi considerada baixa, Figura 3 (A), o que é indicada para a produção de filme biodegradável, facilitando a dissolução da solução, manuseio e transporte, além de interferir na espessura, moldagem e secagem. Peressini et al. (2003), relata que baixa viscosidade proporciona uniformidade no filme, influencia na sua aparência e flui com melhor facilidade na superfície depositada. Cuq et al. (1995), sugere a utilização de soluções filmogênicas com viscosidade abaixo de 0,7 Pas.

Como pode ser observado na Figura 3 (B) a solução filmogênica apresentou um comportamento não-newtoniano, pois a viscosidade aumentou com a taxa de

cisalhamento. Os comportamentos de fluidos não-newtonianos, podem ser explicados por mudanças na estrutura das cadeias das moléculas com aumento do gradiente de velocidade (NASCIMENTO et al., 2012). Em um líquido, a viscosidade é uma função de forças intermoleculares que restringem o movimento molecular (NURUL et al., 1999).

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO DO FILME BIODÉGRADÁVEL OTIMIZADO

**Tabela 4:** Caracterização física, química, solubilidade e cor do filme biodegradável otimizado.

| Determinações     | Resultados        |
|-------------------|-------------------|
| Espessura (mm)    | $0,095 \pm 0,04$  |
| Solubilidade (%)  | $19,63 \pm 0,012$ |
| Umidade (%)       | $18,92 \pm 0,45$  |
| $A_w$             | $0,45 \pm 0,00$   |
| Parâmetros de cor |                   |
| $L^*$             | $77,48 \pm 0,20$  |
| $a^*$             | $-3,35 \pm 0,16$  |
| $b^*$             | $76,08 \pm 0,34$  |
| $H^\circ$         | $92,51 \pm 0,13$  |
| $C^*$             | $76,25 \pm 0,22$  |

Medias  $\pm$  desvio padrão. As análises foram realizadas em triplicata.

O valor da espessura do filme encontrado neste trabalho foi de 0,095 mm, resultado este, superior ao encontrado por Tongnuanchan et al. (2014) em filme de gelatina de peixe e próximo aos filmes com óleos essenciais. Esse comportamento de aumento da espessura conforme a adição de óleo, segundo o mesmo autor, deve-se ao fato, do óleo penetrar na rede do filme, impedindo a interação entre as cadeias de gelatina, diminuindo a formação de uma rede compacta e consequentemente aumento da espessura. De acordo com Benbettaieb et al. (2014) o aumento da concentração de gelatina, produz filme de elevada espessura, devido a maior concentração de sólidos.

A solubilidade do filme otimizado foi bem menor ao relatado por Ahmad et al. (2015) que encontraram valores de 94,9% para filmes de gelatina de peixe e Pereda et al. (2011) obtiveram valores de 100% para filmes de gelatina bovina.

Filmes de gelatina tendem a possuir uma alta solubilidade em decorrência da presença de aminoácidos hidrofílicos como glicina, como observado na Tabela de perfil de aminoácidos, do capítulo 2 que se hidratam, dissolvendo-se na presença de água, levando a uma maior solubilização (HOQUE et al., 2011; YAO et al., 2017). No presente estudo foi encontrado valores menores de solubilidade, devido a adição de óleo que contribuiu para a hidrofobicidade do filme, diminuindo assim, sua dissolução, além da

baixa umidade e atividade de água, que colaboram para forte integridade estrutural dos componentes, resultando em menos locais hidrofílicos disponíveis para se unir a água. Silva et al. (2016) observaram uma diminuição da solubilidade com a adição de óleo de buriti em filme de quitosana.

A umidade e atividade de água são fatores importantes para a indústria, pois determina a disponibilidade de água para as reações químicas, enzimáticas e crescimento microbiano e para filmes influencia também na sua aplicabilidade. Os resultados de atividade de água e umidade (Tabela 4) foram de 18,92% e 0,45 respectivamente para o filme biodegradável de gelatina com adição de óleo de buriti. Gutierrez et al. (2015), observaram valores de 32 à 52% para umidade e 0,473 à 0,524 para atividade de água em filmes de amido.

Os baixos valores de umidade e atividade de água do presente estudo, demonstram que ocorreu uma efetiva homogeneidade da amostra e boa interação do plastificante com a gelatina, deixando menos regiões disponíveis para sorção de água. Além disso, adição de óleo de buriti foi um fator que contribui para esses resultados em decorrência de suas propriedades hidrofóbicas, demonstrando assim, a boa qualidade do filme de gelatina de peixe.

Em filme de amido ocorre baixa interação do glicerol e amilopectica, deixando as hidroxilas livres, facilitando a absorção de água e consequentemente o filme fica mais hidrofílico, aumentando sua umidade (FLORES et al., 2007, HU et al., 2009). Filmes com alta umidade ocorre menor interação de seus componentes, diminuindo a temperatura de degradação, afetando assim, sua estabilidade térmica e consequentemente sua vida comercial (GUTIERREZ et al., 2015; GONZÁLEZ et al., 2017).

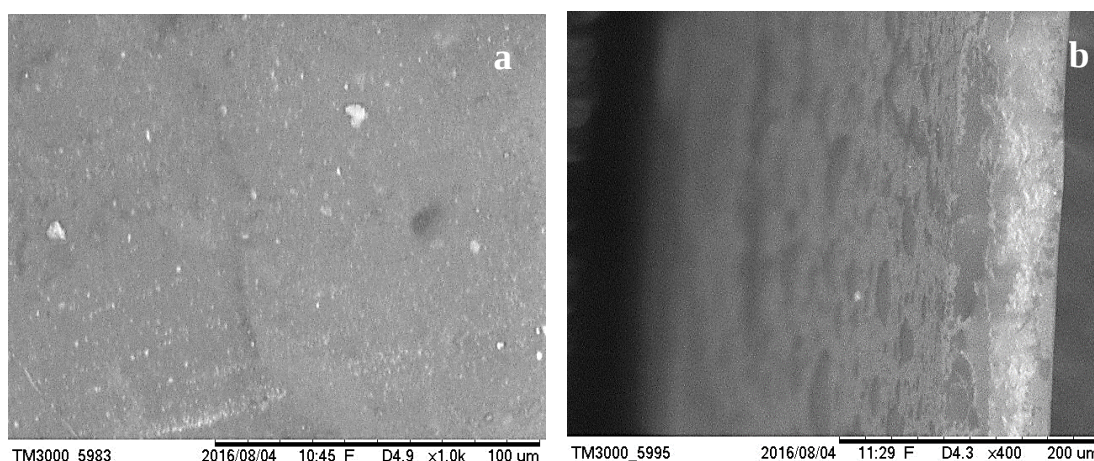
O óleo de buriti proporcionou ao filme de gelatina de peixe coloração amarela, como mostrado através do parâmetro  $b^*$  (76,08) da Tabela 4 e confirmado na Figura 4. Ao comparar os resultados obtidos neste estudo com os observados por Silva et al. (2016), ao elaborarem filme de quitosana com adição de óleo de buriti, encontraram valores de 40,99 para  $b^*$ . Verifica-se que o filme do presente trabalho apresentou uma coloração amarela mais intensa.

O valor de  $L^*$  mostra uma alta luminosidade. Esses resultados, deve-se a presença de altas concentrações de carotenoides, principalmente  $\beta$ -caroteno, presente no óleo de buriti. Através dos valores de croma  $C^*$ , verifica-se que o filme apresentou um amarelo intenso e o ângulo de 92,51, confirma a coloração amarela (LITTLE, 1975). O filme obteve uma aparência homogênea sem rugosidades e defeitos visíveis.



**Figura 4.** Filme biodegradável, otimizado pela desejabilidade obtido com 2,3% gelatina de peixe, 30% de óleo de buriti e 13,18% de plastificante.

Os resultados da microscopia eletrônica da superfície e do corte transversal do filme otimizado pela desejabilidade estão apresentados na Figura 5 (a-b), respectivamente.



**Figura 5.** Microfotografias (a) da superfície e (b) corte transversal, do filme biodegradável de gelatina de peixe com óleo de buriti otimizado.

A imagem da superfície do filme Figura 5 (a) revela uma estrutura relativamente homogênea, onde a gelatina agrega-se formando uma rede coesa e contínua. A película apresentou-se lisa, plana, sem poros e rachaduras. Os pontos brancos observados são de goma arábica em decorrência da solubilização incompleta. Tongnuanchan et al. (2014), também relataram em filmes a base de gelatina de peixe, a não solubilização total dos componentes do filme.

No corte transversal do filme Figura 5 (b) é possível observar a estrutura do filme internamente, mostrando pequenas rugosidades e formação de fendas em toda a espessura do filme. Esse fato pode ser atribuído a presença de gelatina e gotículas de óleo, tornando

o filme mais rugoso. A pouca quantidade de gelatina de peixe utilizada na formulação do filme e a presença de gotículas de óleo no interior do filme, contribuiu para a baixa permeabilidade ao vapor de água em decorrência da hidrofobicidade do óleo. O óleo pode impedir a transferência de molécula de água, proporcionando menor permeabilidade ao vapor de água em filmes.

#### 4 CONCLUSÃO

A gelatina da pele de peixe obtida dos resíduos de filetagem da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) e o óleo de buriti, são alternativas para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis, cujas propriedades podem ser modificadas controlando as concentrações dos componentes utilizados. A gelatina, o óleo e o plastificante, interferem significativamente nas propriedades físicas, mecânicas e antioxidantes dos filmes, podendo ser produzido filmes resistentes, com baixa permeabilidade ao vapor de água, pouco solúvel em água e com boa aparência. O filme de gelatina de peixe adicionado de óleo de buriti possui potencial industrial para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis, com antioxidante natural, auxiliando na extensão da vida útil e conservação dos alimentos ricos em lipídios, como margarina, azeite, peixes, evitando a oxidação desses produtos.

## 5 REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.; NIRMAL, N. P.; CHUPROM, J. Blend film based on fish gelatine/curdlan for packaging applications: spectral, microstructural and thermal characteristics. **RSC Advances**, v.5, n.120, p.99044–99057, 2015.
- ALFARO, A. D. T.; FONSECA, G. G.; BALBINOT, E.; MACHADO, A.; PRENTICE, C. Physical and chemical properties of wami tilapia skin gelatin. **Food Science and Technology**, Campinas, v.33, n.3, p.592–595, 2013.
- ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.39, p.58–67, 2014.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. HORWITZ, W, 17.ed. Arlington: AOAC Inc, 2000.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.446–475, 2008.
- BATISTA, J. S.; OLINDA, R. G.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; MEDEIROS, A. DA C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p.136–141, 2012.
- BENBETTAÏEB, N.; KUREK, M.; BORNAZ, S.; DEBEAUFORT, F. Barrier, structural and mechanical properties of bovine gelatin-chitosan blend films related to biopolymer interactions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.94, n.12, 2409–2419, 2014.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT. **Food Science and Technology**, v.28, n.1, p.25–30, 1995.
- BOX, G.E.P.; WETZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function. University of Wisconsin Technical Report, n.9, 1973.
- BURT, S Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal Food Microbiology**, v.94, n.3, p.223–253, 2004.
- CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Edible Packaging Films Based on Fish Myofibrillar Proteins: Formulation and Functional Properties. **Journal of Food Science**, v.60, n.6, p.1369–1374, 1995.
- SILVA, M.; LOPES, P. S.; DA SILVA, C. F.; YOSHIDA, C. M. P. Active packaging material based on buriti oil - *Mauritia flexuosa* L.f. (*Arecaceae*) incorporated into chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**, v.133, n.12, p.1–9, 2016.

FLORES, S.; FAMÁ, L.; ROJAS, A. M.; GOYANES, S.; GERSCHENSON, L. Physical properties of tapioca-starch edible films: Influence of filmmaking and potassium sorbate. **Food Research International**, v.40, n.2, p.257–265, 2007.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids - water-vapor permeability and other physical-properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.29, n.1, p.39–50, 1994.

GONZÁLEZ, K.; MARTIN, L.; GONZÁLEZ, A.; RETEGI, A.; ECEIZA, A.; GABILONDO, N. D-isosorbide and 1,3-propanediol as plasticizers for starch-based films: Characterization and aging study. **Journal of Applied Polymer Science**, v.134, n.20, p.1–10, 2017.

GÜÇBILMEZ, Ç. M.; YEMENICIOĞLU, A.; ARSLANOĞLU, A. Antimicrobial and antioxidant activity of edible zein films incorporated with lysozyme, albumin proteins and disodium EDTA. **Food Research International**, v.40, n.1, p.80–91, 2007.

GUTIÉRREZ, T. J.; MORALES, N. J.; PÉREZ, E.; TAPIA, M. S.; FAMÁ, L. Physico-chemical properties of edible films derived from native and phosphated cush-cush yam and cassava starches. **Food Packaging and Shelf Life**, v.3, p.1–8, 2015.

HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.1, p.82–90, 2011.

HU, G.; CHEN, J.; GAO, J. Preparation and characteristics of oxidized potato starch films. **Carbohydrate Polymers**, v.76, n.2, p.291–298, 2009.

KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v.23, n.3, p.563–576, 2009.

KOOLEN, H. H. F.; DA SILVA, F. M. A.; GOZZO, F. C.; DE SOUZA, A. Q. L.; DE SOUZA, A. D. L. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.51, n.2, p.467–473, 2013.

KROCHTA, J. Proteins as Raw Materials for Films and Coatings: Definitions, Current Status, and Opportunities. **Protein-Based Films and Coatings**. Boca Raton: CRC Press p.1–41, 2002.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.; PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v.100, n.1, p.85–92, 2010.

LITTLE, A. off on a tangent. A research note. **Journal of Food Science**, v.40, p. 410–411, 1975.

MONTERREY-QUINTERO, E. S.; SOBRAL, P. J. A. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para elaboração de biofilmes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.1, p.179-189, 2000.

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

NASCIMENTO, T. A.; CALADO, V.; CARVALHO, C. W. P. Development and characterization of flexible film based on starch and passion fruit mesocarp flour with nanoparticles. **Food Research International**, v.49, n.1, p.588–595, 2012.

NUNEZ-FLORES R.; GIMÉNEZ B.; FERNÁNDEZ-MARTÍN F.; LÓPEZ-CABALLERO M.E.; MONTERO M.P., GÓMEZ-GUILLÉN M.C. Role of lignosulphonate in properties of fish gelatin films. **Food Hydrocollods**, v.27, n.1, p.60–71, 2012.

NURUL I., M.; MOHD. AZEMI, B. M. N.; MANAN, D. M. A. Rheological behaviour of sago (*Metroxylon sagu*) starch paste. **Food Chemistry**, v.64, p.501-505, 1999.

OCAK, B. Complex coacervation of collagen hydrolysate extracted from leather solid wastes and chitosan for controlled release of lavender oil. **Journal of Environmental Management**, v.100, p.22–28, 2012.

PEREDA, M.; PONCE, A. G.; MARCOVICH, N. E.; RUSECKAITE, R. A.; MARTUCCI, J. F. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.5, p.1372–1381, 2011.

PERESSINI, D.; BRAVIN, B.; LAPASIN, R.; RIZZOTTI, C.; SENSIDONI, A. Starch-methylcellulose based edible films: Rheological properties of film-forming dispersions. **Journal of Food Engineering**, v.59, n.1, p.25–32, 2003.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, n.9, p.1231–1237, 1999.

RODRÍGUEZ-NÚÑEZ, J. R.; MADERA-SANTANA, T. J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; SOTO VALDEZ, H. Chitosan/Hydrophilic plasticizer-based films: preparation, physicochemical and antimicrobial properties. **Journal of Polymers and the Environment**, v.22, n.1, p.41–51, 2014.

SIMÕES, A. S.; MORI, R. Y.; FARIA, R.; DE CASTRO, H. F.; MENDES, A. A. Desempenho da matriz híbrida SiO<sub>2</sub>-quitosana na imobilização da lipase microbiana de *Candida rugosa*. **Química Nova**, v.34, v.1, p.33–38, 2011.

STATSOFT. **Statistica for Windows**, versão 7.0. (Software estatístico), 2004.

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.6, n.62, p.1–12, 2014.

WU, J.; GE, S.; LIU, H.; WANG, S.; CHEN, S.; WANG, J.; ZHANG, Q. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v.2, n.1, p.7–16, 2014.

YAO, Y.; DING, D.; SHAO, H.; PENG, Q.; HUANG, Y. Antibacterial activity and physical properties of fish gelatin-chitosan edible films supplemented with D-Limonene. **International Journal of Polymer Science**, v.2017, n.2017, p.1-9, 2017.

## CAPÍTULO IV

### ESTUDO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS, ANTIOXIDANTES, ANTIMICROBIANAS E APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL EM FILMES BIODEGRADÁVEIS COM ÓLEOS ESSENCIAIS E FIXOS

**RESUMO:** As indústrias de beneficiamento de pescado geram uma grande quantidade de materiais poluentes, como peles, que possuem valor nutricional e podem ser utilizados para a elaboração de produtos, diante disso, o presente trabalho, teve como objetivo extrair gelatina da pele de pescada amarela, desenvolver materiais de embalagens ativas adicionadas de óleos essenciais e fixos e selecionar a melhor embalagem utilizando a inteligência computacional. Os filmes foram obtidos por meio do método *casting* e analisou-se suas propriedades físicas, mecânicas, antioxidantes, antimicrobiana e microestrutura. Todos os filmes mostraram-se resistentes, apresentando diferença significativa para resistência à tração. A adição de óleo proporcionou maior elasticidade e espessura, não modificando a permeabilidade ao vapor de água. A goma arábica, utilizada como surfactante, por ser um componente hidrofílico, proporcionou a absorção de água, aumentando a permeabilidade dos filmes, umidade e atividade de água. Os filmes apresentaram boas propriedades antioxidantes e antimicrobiana, sendo capaz de inibir *S. aureus* e *E. coli*. O filme adicionado de óleo de cravo, foi considerado o melhor, por meio da inteligência artificial utilizando o algoritmo dos K-vizinhos mais próximos (KNN) e o óleo de dendê pode ser um potencial para utilização em embalagens ativas em decorrência de suas excelentes propriedades e baixo custo. Com os resultados apresentados pode-se concluir que a produção de filmes biodegradáveis de gelatina de peixe e óleo de cravo, orégano, buriti e dendê, são alternativas promissoras, podendo reduzir o impacto ambiental provocado pelos resíduos da indústria de pesca e plásticos derivados do polietileno e polipropileno.

**Palavras-chaves:** resíduo; pescado; embalagem ativa; algoritmo KNN.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, materiais sintéticos como polietileno e polipropieno tornaram-se componentes essenciais em embalagens de alimentos, pois possuem alta resistência e baixa permeabilidade ao vapor de água e à luz. No entanto, esses materiais não são biodegradáveis e contêm muitos componentes nocivos aos alimentos, além de gerar grande quantidade de resíduos, poluindo o meio ambiente (YAO et al., 2017).

Muitos pesquisadores têm buscado desenvolver embalagens ativas biodegradáveis, de baixo custo, fácil preparação; produzidas com polissacarídeos, proteínas, lipídios naturais ou com uma combinação destes materiais (GONTARD et al., 1994; GÓMEZ-ESTACA et al., 2010; TONGNUANCHAN et al. 2014; AGUIRRE-LOREDO et al., 2015).

A gelatina é um polipeptídeo obtido pela hidrólise térmica do colágeno, possui a capacidade de formar géis termo reversíveis, e tem sido utilizado na elaboração de embalagens, por possuir a capacidade de formar filmes, não ser tóxica, além de ser biocompatível e biodegradável (ALFARO et al., 2013; TONGNUANCHAN et al., 2014; AHMAD et al., 2015).

As embalagens ativas podem ser definidas como aquelas que, além de proteger, interage com o produto embalado, fornece efeitos desejáveis e prolonga a vida comercial dos alimentos. Dentre as inúmeras embalagens ativas, pode-se destacar os filmes com adição de óleos com atividades antimicrobianas, as embalagens com atmosferas modificadas, absorvedores de oxigênio e de etileno (VERMEIREN et al., 1999; ROBERTSON, 2006; SILVA et al., 2016).

Os óleos essenciais e fixos têm sido estudados, por apresentarem atividade antioxidante e antimicrobiana, e podem ser adicionados em filmes biodegradáveis obtidos de polímeros naturais como quitosana e/ou gelatina (KOOLEN et al., 2013; WU et al., 2014; SILVA et al., 2016).

Ahmad et al. (2015), Tongnuanchan et al. (2014) e Nakashima et al. (2016) realizam pesquisas para avaliar as propriedades físicas, atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes adicionados de óleos essenciais, como limão, cravo e manjerição. No entanto, ainda são poucas as pesquisas na literatura que correlacionam a atividade antioxidante e antimicrobiana de filmes adicionados de óleos essenciais e fixos.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi utilizar gelatina da pele de pescada amarela para desenvolver embalagens ativas adicionadas de óleos essenciais e fixos e

selecionar a melhor embalagem utilizando a inteligência artificial. Estes filmes foram caracterizados quanto a atividade antioxidante, antimicrobiana, propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água, parâmetros de cor, microscopia ótica e microestrutura.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

A pele de peixe da espécie pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), utilizada para obter a gelatina, foi obtida no mercado Ver-o-Peso (Belém, Brasil). O óleo de buriti foi doado pela empresa Beraca (Beraca, Belém, Brasil) e o óleo de dendê pela Embrapa Amazônia Oriental. O óleo de cravo e orégano foram adquiridos da empresa Quinarí (Quinarí-casa das essências). O glicerol (Isofar, Glicerina PA com 99,5% de pureza) foi utilizado como plastificante e a goma arábica em pó pura (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Brasil), como surfactante.

### 2.2 EXTRAÇÃO DA GELATINA DE PELE DE PEIXE DA PESCADA AMARELA (*Cynoscion acoupa*)

A extração da gelatina da pele da pescada amarela foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Silva et al (2018).

### 2.3. PREPARAÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

Os filmes foram obtidos de acordo com Silva et al (2018) utilizando as concentrações do filme biodegradável otimizado, com algumas adaptações como o tipo de óleo utilizado.

#### 2.3.1 Determinação das propriedades dos filmes biodegradáveis

A resistência à tração (RT) e a elongação (%E) dos filmes foram determinadas em temperatura ambiente, empregando a metodologia ASTM D882-91 (ASTM, 1996) descrita por Limpan et al. (2010), utilizando texturômetro (QTS, Brookfield), na qual a separação inicial das garras e a velocidade da probe foram de 50 mm e 1 mm.s<sup>-1</sup>, respectivamente. Os filmes foram cortados em pedaços de 100 mm x 25 mm (comprimento x largura) e a RT e %E foram calculadas conforme as Equações 1 e 2, respectivamente.

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

Onde: RT: Resistência à tração (MPa); F<sub>m</sub>: Força máxima no momento da ruptura do filme (N); A: área da secção transversal do filme (m<sup>2</sup>).

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

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

A espessura dos filmes foi medida utilizando um micrômetro digital com resolução de 0,001 mm (Insize, modelo IP54). Foram selecionados oito locais aleatórios em cada filme com afastamento da borda de 60 mm.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de gelatina de peixe com adição de óleos e do controle, foram determinadas utilizando o método modificado ASTM D882-95 (ARFAT et al., 2014). As amostras dos filmes foram seladas com adesivo de silicone em recipiente de vidro de 4,5 cm x 7,0 cm (diâmetro x altura), contendo 10 g de sílica gel a 0% UR e pressão de vapor de água (Pa) a 30°C igual a zero. Os recipientes foram colocados em dessecadores com 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 3.

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

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

Para avaliar a solubilidade, os filmes foram recortados em discos de 2 cm de diâmetro, colocados em estufa a 105°C por 24 horas, e pesados. Em seguida, os filmes secos foram imersos em recipientes com 50 mL de água. Este sistema foi agitado em incubadora shaker refrigerada (Lucadema, modelo Luca-223), com velocidade de 150 rpm por um período de 24 horas, a 25°C. Após este período, as amostras foram filtradas e o material retido foi submetido a secagem (105°C por 24 horas), para determinar o material não dissolvido em água (GONTARD et al., 1994).

A umidade dos filmes foi realizada conforme a AOAC (1997), por secagem em estufa a 105°C, até peso constante e a atividade de água ( $a_w$ ) foi determinada em AQUALAB 4TE, (Decagon Devices, USA).

A cor dos filmes foi determinada em colorímetro MINOLTA modelo CR 310, obtendo-se os parâmetros de  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (intensidade do vermelho),  $b^*$  (intensidade do amarelo),  $C^*$  (valor do croma) e  $h^*$  (ângulo de tonalidade).

Os filmes foram avaliados em microscópio óptico (Bel PHOTONICS 1306594, Brasil), com aumento da lente objetiva de 100x. Nesta análise, os filmes foram colocados em lâminas cobertas com lamínulas de vidro e observadas suas imagens. As microestruturas da superfície superior e da secção transversal dos filmes foram determinadas utilizando microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Leo-Zeiss, modelo 1430).

### 2.3.2 Atividade antioxidante e antimicrobiana dos filmes biodegradáveis

A atividade antioxidante foi determinada por espectrofotometria de absorção UV-Visível, utilizando o radical ABTS (2,2- DPPH - 2,2-difenil-1-picrilhidrazil), de acordo com a metodologia descrita por Re et al. (1999). O procedimento adotado para verificar a atividade antimicrobiana dos filmes, foi a zona de inibição por meio do método de disco-difusão em ágar conforme Gómez-Estaca et al. (2010). Os filmes foram cortados em discos de 1,5 cm de diâmetro e introduzidos em placas contendo meio ágar Muelle-Hilton (MHA), previamente inoculadas com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os inóculos com aproximadamente  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> foram padronizados anteriormente, utilizando a Escala de McFarland. As placas foram incubadas a 37°C por 24h e os diâmetros das zonas de inibição do crescimento ao redor dos discos foram mensurados utilizando um paquímetro milimétrico. Os testes foram realizados em triplicata.

## 2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados das análises de resistência à tração, alongação, espessura, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, umidade, atividade de água, atividade antioxidante e antimicrobiana, foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), utilizando programa Statistica versão 7.0 (STATSOFT Inc., 2004).

A classificação e seleção do melhor filme biodegradável foi realizado aplicando o algoritmo k-vizinhos (knn), pois a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey apenas mostra se existe diferença significativa nas propriedades dos diferentes filmes, porém, não estabelece qual o mais viável para a aplicação como embalagem biodegradável. Desse modo, uma análise computacional, utilizando um método de

inteligência artificial, o algoritmo K-vizinho (KNN), que utiliza a distância Euclidiana para agrupar ou classificar itens semelhantes, pode solucionar esse problema.

A metodologia empregada no processo de classificação e seleção dos filmes biodegradáveis foi realizada conforme descrita abaixo:

1. Obtenção da base de dados: Nesta etapa foram obtidos resultados em triplicata das análises de atividade água, resistência à tração, alongação, espessura, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, umidade, atividade antioxidante e antimicrobiana realizadas nos filmes, obtendo um conjunto de dados de 27 amostras.
2. Suposição das características ideais de um filme biodegradável: Esta etapa foi descrita com base na literatura (Tongnuanchan et al., 2014; Silva et al., 2016), como seriam as características de um filme ideal, conforme as análises realizadas. Além disso, foi realizado uma lista de prioridade, ou seja, qual a importância da análise, como pode ser visualizado na Tabela 1.

**Tabela 1:** Característica ideal do filme e ordem de prioridade das análises

| Ordem de prioridade | Análises                        | Característica ideal                |
|---------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| 1 <sup>a</sup>      | Atividade antioxidante          | Maior valor condição ideal do filme |
| 2 <sup>a</sup>      | Atividade antimicrobiana        | Maior valor condição ideal do filme |
| 3 <sup>a</sup>      | Resistência à tração            | Maior valor condição ideal do filme |
| 4 <sup>a</sup>      | Elongação                       | Maior valor condição ideal do filme |
| 5 <sup>a</sup>      | Permeabilidade ao vapor de água | Menor valor condição ideal do filme |
| 6 <sup>a</sup>      | Solubilidade                    | Menor valor condição ideal do filme |
| 7 <sup>a</sup>      | Espessura                       | Menor valor condição ideal do filme |
| 8 <sup>a</sup>      | Atividade de água               | Menor valor condição ideal do filme |
| 9 <sup>a</sup>      | Umidade                         | Menor valor condição ideal do filme |

3. Definição do filme biodegradável ideal: Nesta etapa foi implementado um algoritmo que selecionou, a partir dos vinte e sete registros da base de dados, a combinação que representa o caso ideal (filme ideal), levando em consideração a prioridade das análises e característica de um filme ideal, baseado na literatura.
4. Classificação e seleção do melhor filme: Nesta etapa, foi realizado o cálculo da distância euclidiana de cada registro, por meio do algoritmo dos K-vizinhos (KNN), obtendo o ranking dos filmes que estão mais próximos do filme ideal, classificando e definindo o filme mais adequado para aplicação como embalagem biodegradável. É importante destacar, que quanto menor a distância euclidiana, mais próximo do ideal estará o filme produzido.

Desse modo, por meio de um conjunto de dados previamente classificados como  $X = \{x_1, x_2, \dots, x_n\}$  e uma nova observação a ser definida por  $Y = \{y_1, y_2, \dots, y_n\}$  foi obtida a distância euclidiana utilizando a Equação 4. Todos os testes foram desenvolvidos no Matlab.

$$\text{dist}(X, Y) = \sqrt{p_1(x_1 - y_1)^2 + p_2(x_2 - y_2)^2 + \dots + p_n(x_n - y_n)^2} \quad (4)$$

onde,  $p_i$  é um elemento do conjunto  $P$ . O conjunto de dados  $P = \{p_1, p_2, \dots, p_n\}$  é um vetor de tamanho  $n$  que pode ser usado para aplicar determinada ponderação baseada na ordem de prioridade dos elementos, conforme Tabela 1. Para obtenção do melhor filme, foram consideradas duas análises. A primeira foi composta por pesos ponderados que leva em consideração a ordem de prioridade dos elementos. Neste caso, foi definido a função linear  $p_j = -0,1125 \text{ pr}_{\text{elem}} + 1,1125$ , onde  $\text{pr}_{\text{elem}}$  representa a ordem de prioridade do elemento que varia de 1 (Atividade antioxidante) até 9 (Umididade), conforme definido na Tabela 1. Já a segunda, considera a definição dos elementos do conjunto  $P$  como:  $p_j = \{1 \mid 0 < j < 10\}$ , onde  $j$  é o elemento da lista de prioridades definido na Tabela 1.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

**Tabela 2:** Resultados das caracterizações física, mecânica e cor dos filmes biodegradáveis.

| Análises     | Filmes Biodegradáveis    |                          |                          |                          |                          |
|--------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|              | Controle                 | Buriti                   | Dendê                    | Cravo                    | Orégano                  |
| RT           | 88.03 ±3.58 <sup>a</sup> | 30.08±1.08 <sup>b</sup>  | 38.12±1.25 <sup>c</sup>  | 53.18±0.28 <sup>d</sup>  | 27.82±0.22 <sup>e</sup>  |
| Elongação    | 118.06±0.29 <sup>a</sup> | 126.90±0.05 <sup>b</sup> | 126.73±0.11 <sup>b</sup> | 127.20±0.2 <sup>bc</sup> | 127.77±0.07 <sup>c</sup> |
| Espessura    | 0.05±0.00 <sup>a</sup>   | 0.06±0.00 <sup>b</sup>   | 0.07±0.00 <sup>c</sup>   | 0.06±0.00 <sup>b</sup>   | 0.09 ±0.00 <sup>d</sup>  |
| PVA          | 2.08 ±0.24 <sup>a</sup>  | 4.90 ±0.24 <sup>b</sup>  | 3.31 ±0.35 <sup>c</sup>  | 5.04 ±0.47 <sup>d</sup>  | 7.33 ±0.12 <sup>d</sup>  |
| Solubilidade | 19.19 ±0.52 <sup>a</sup> | 23.59 ±0.63 <sup>b</sup> | 11.84 ±0.09 <sup>c</sup> | 11.20 ±0.22 <sup>c</sup> | 19.08 ±0.56 <sup>a</sup> |
| Umidade      | 5.31 ±0.30 <sup>a</sup>  | 9.44 ±0.37 <sup>b</sup>  | 11.41 ±0.76 <sup>c</sup> | 12.05 ±0.51 <sup>d</sup> | 12.90 ±0.48 <sup>e</sup> |
| aw           | 0.39 ±0.00 <sup>a</sup>  | 0.47 ±0.00 <sup>b</sup>  | 0.45 ±0.04 <sup>ab</sup> | 0.56 ±0.00 <sup>c</sup>  | 0.60 ±0.00 <sup>d</sup>  |
| L            | 89.69 ±0.13 <sup>a</sup> | 76.30 ±0.28 <sup>b</sup> | 79.50 ±0.43 <sup>c</sup> | 87.16 ±0.09 <sup>d</sup> | 86.38 ±1.21 <sup>d</sup> |
| a            | -3.80 ±0.06 <sup>a</sup> | -0.04 ±0.01 <sup>b</sup> | -0.01 ±0.55 <sup>b</sup> | -3.30 ±0.02 <sup>a</sup> | -3.71 ±0.08 <sup>a</sup> |
| b            | 7.65 ±0.29 <sup>a</sup>  | 63.15 ±3.32 <sup>b</sup> | 87.50 ±2.10 <sup>c</sup> | 13.73 ±0.41 <sup>d</sup> | 8.49 ±0.00 <sup>ad</sup> |
| C*           | 8.58 ±0.27 <sup>a</sup>  | 63.15 ±3.32 <sup>b</sup> | 88.84 ±0.21 <sup>c</sup> | 14.12 ±0.41 <sup>d</sup> | 9.45 ±0.24 <sup>ad</sup> |
| h            | 116.83±0.76 <sup>a</sup> | 90.27 ±0.40 <sup>b</sup> | 89.75 ±0.35 <sup>b</sup> | 103.54±0.29 <sup>c</sup> | 114.10±0.14 <sup>d</sup> |

Média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ). RT: Resistência à tração; PVA: Permeabilidade ao vapor de água

Observa-se na Tabela 2, que todos os filmes apresentaram diferença ( $p \leq 0,05$ ) para resistência à tração devido a adição de diferentes óleos o que provocou mudança nas propriedades dos mesmos. O filme controle foi o que apresentou maior resistência, quando comparado com os filmes adicionados de óleos. Verifica-se também, que entre os óleos incorporados, o de cravo, foi o que produziu filme com maior resistência à tração, seguido do dendê, do buriti e do orégano.

A diminuição da resistência à tração com a adição de óleo em filmes biodegradáveis, também foi observado por Tongnuanchan et al. (2014), em filmes de gelatina de peixe adicionado de óleos essenciais e por Silva et al. (2016), em filme de quitosana com óleo de buriti. A diferença observada na RT entre os filmes, pode estar relacionada ao tipo de óleo incorporado no filme, pois segundo Bakkali et al. (2008) e Hoque et al. (2011), os óleos por apresentarem composições diferentes, interagem de forma diferenciada com as proteínas na formação dos filmes, interferindo nas propriedades mecânicas. As características dos lipídios dos óleos adicionados e a capacidade de interação com as moléculas de proteínas na rede,

afetam a emulsão, pois as interações entre as moléculas as não-polares dos óleos e as moléculas polares dos polímeros são baixas, afetando as propriedades dos filmes (GONTARD et al., 1994; YANG; PAULSON, 2000).

A adição de óleo proporcionou maior elasticidade aos filmes, quando comparados ao filme controle (sem adição de óleo), demonstrando que os óleos essenciais e fixos funcionaram como plastificantes (Tabela 2). Essa maior elasticidade aos filmes, pode estar relacionada com a penetração dos óleos na matriz dos filmes, aumentando o volume e espaço entre as cadeias de macromoléculas, proporcionando maior mobilidade.

Segundo Wang et al. (2011) e Limpisophon et al. (2010) a adição de óleos em filmes, pode provocar o aumento da elongação, pois as substâncias hidrofóbicas dos óleos impedem as interações entre as cadeias de proteínas e consequentemente os filmes produzidos apresentam menor rigidez e mais flexibilidade.

As espessuras de todos os filmes contendo os óleos foram maiores do que o controle. Essa maior espessura dos filmes, ocorreu devido ao óleo e a goma arábica penetrarem na estrutura interna do filme, impedindo a interação entre as moléculas da gelatina. O filme de orégano foi o que apresentou a maior espessura, seguido do dendê, buriti e cravo que não apresentaram diferença significativa. Essa variação de espessura, segundo por Tongnuanchan et al. (2014) pode estar relacionado com as diferentes tensões superficiais e o tamanho das gotículas dos óleos, em decorrência de suas diferentes composições. De acordo com Silva et al. (2016), filmes com maior espessura, tendem a ser menos biodegradáveis. Desse modo, o filme controle pode degradar mais rapidamente no meio ambiente, ao contrário do filme de orégano.

O filme controle apresentou a menor permeabilidade ao vapor de água (PVA) ao ser comparado com os filmes adicionados de óleos. Observa-se que a adição de diferentes óleos nos filmes, não diminuiu a PVA, como relatado em trabalhos realizados por Wu et al. (2014) e Silva et al. (2016). Este aumento da PVA nos filmes adicionados de óleos, pode estar relacionado com a presença de goma arábica utilizada como surfactante, devido a mesma ser hidrofílica (ANDERSON et al., 1985; ROMÁN-GUERRERO et al., 2009), contribuindo para a absorção de água e o aumento da PVA. Os resultados obtidos para a espessura, também contribuem para o aumento da PVA (Tabela 2), pois o filme com a menor espessura foi o controle e segundo pesquisas realizadas por McHugh et al. (1994), Rivero et al. (2009), Abugoch et al. (2010) e Pereda et al. (2011), o aumento da espessura e da umidade contribui para a elevação da PVA.

Dependendo da aplicação tecnológica do filme, uma baixa PVA é indicada. O filme com adição de óleo de dendê, foi o que apresentou a menor PVA, quando comparado aos adicionados com óleos de cravo e/ou orégano. Esse fato é importante, pois os óleos essenciais possuem um valor de mercado muito elevado, quando comparado ao de dendê, o que pode dificultar sua aplicação industrial. Outro aspecto importante relacionado ao óleo de dendê, é que o mesmo é um dos mais comercializados no mundo e possuem um alto valor nutricional, em decorrência da presença de tocoferóis, que são fisiologicamente ativo como vitamina E, ácidos graxos palmítico, oleico e linoleico (SUNDRAM et al., 2003; EDEM, 2002) e podem ser acionados em alimentos para enriquecer nutricionalmente.

A solubilidade dos filmes de dendê e de cravo apresentaram os menores valores e foram iguais estatisticamente, demonstrando que óleos essenciais e fixos, com diferentes valores de mercado podem produzir filmes com a mesma solubilidade. A solubilidade dos filmes do presente estudo foi menor quando comparado com os produzidos por Wu et al. (2014), que encontraram valores de 30,16 a 32,81% em filmes de gelatina e quitosana adicionados de óleo de orégano. De acordo com Ahmad et al. (2015), filmes com baixa solubilidade são indicados para o armazenamento de alimentos, porém, filmes com alta solubilidade são apropriados para o revestimento de produtos alimentícios que necessitam de cocção. Desse modo, os filmes de dendê e cravo podem ser utilizados para o armazenamento de produtos por um longo tempo.

Em relação a umidade, todos os filmes apresentaram diferença ( $p \leq 0.05$ ). O filme controle apresentou menor umidade, atividade de água, PVA e espessura, o que pode ser atribuído a ausência de goma arábica que é um componente hidrofílico. Além disso, esses resultados influenciaram na maior RT do filme controle quando comparado aos filmes adicionados de óleos. Este fato deve-se provavelmente a maior interação intermolecular das cadeias de proteínas no filme controle.

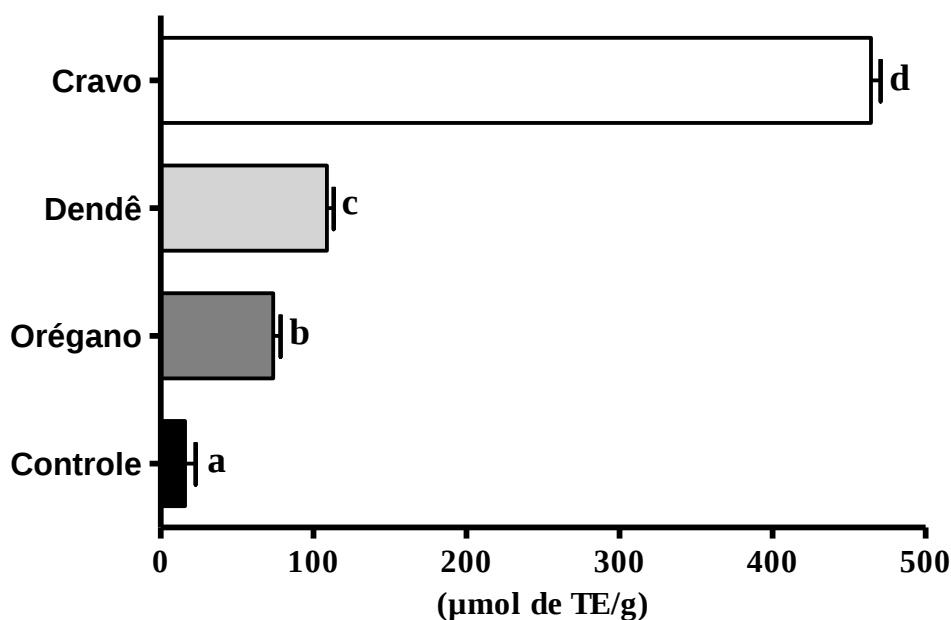
Em relação a cor, os menores valores de L e maiores de b\* e a\* nos filmes de buriti e dendê, indicam que os mesmos são mais escuros e amarelos, em comparação com os demais filmes biodegradáveis. A coloração amarela deve-se a presença de altas concentrações de carotenoides, principalmente  $\beta$ -caroteno encontrada nos óleos de buriti e de dendê (BAHARIN et al., 2001; BATISTA et al., 2012; RIBEIRO et al., 2011). Já os filmes controle, cravo e orégano, apresentaram uma coloração mais clara, demonstrado pelos elevados valores de L e baixos de b\*.

Em relação ao croma, os maiores valores foram para os filmes de dendê e buriti, evidenciando assim, a maior intensidade da coloração desses filmes, assim como, o

ângulo de tonalidade que foi próximo a 90°, afirmando sua cor amarela. Desse modo, a adição de diferentes óleos, tem impacto direto na cor dos filmes produzidos e a cor, pode ser um importante parâmetro na aceitação por parte do consumidor, quando os filmes forem utilizados como embalagens.

### 3.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS

A Figura 1 mostra a atividade antioxidante dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos.



**Figura 1.** Atividade antioxidante dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos (μmol de TE/g).

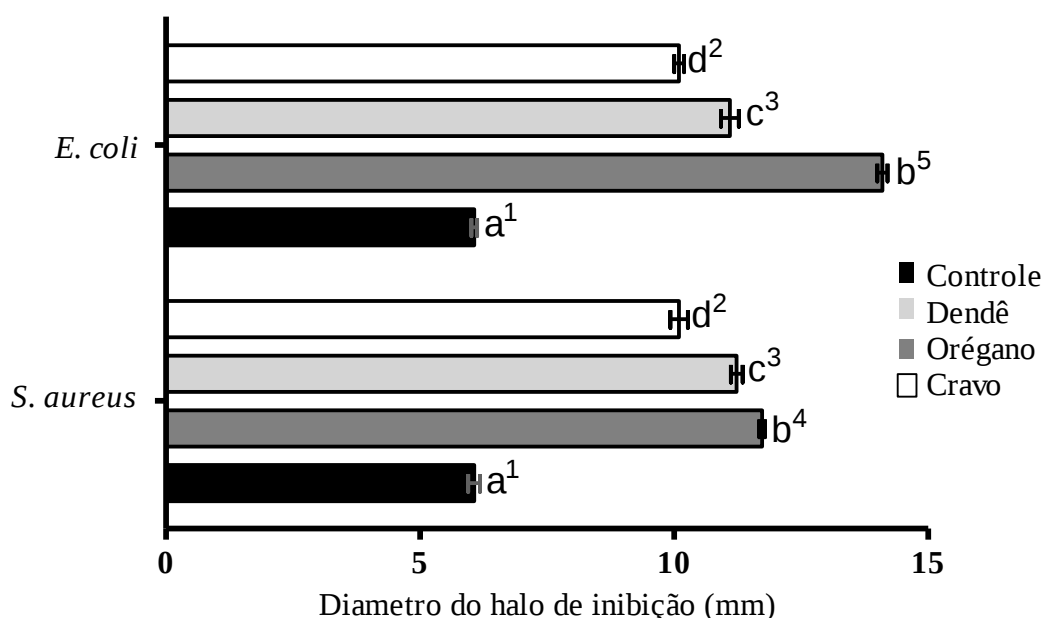
O filme controle foi o que apresentou a menor atividade antioxidante, pois na sua formulação não continha componentes com propriedades antioxidantes. A adição de óleos fixos e essenciais ocasionaram o aparecimento da atividade antioxidante, com melhores resultados para os filmes adicionados de óleo de cravo, seguido de buriti, dendê e orégano. Segundo Jirovetz et al. (2006) e Gulçin et al. (2012) a atividade antioxidante do óleo de cravo, deve-se a presença de compostos como eugenol, beta-cariofileno e acetato de eugenila.

O efeito da adição dos óleos essenciais de cravo, orégano e buriti, sobre a atividade antioxidante já era esperado, visto que foi relatado na literatura (DIMITRIOS, 2006; GULÇIN et al., 2012; KOOLEN et al., 2013). No entanto, os óleos de buriti e dendê apresentaram

resultados mais elevados quando comparado com o óleo essencial de orégano e segundo Dimitrios (2006) este óleo é considerado com maior atividade antioxidante por conter elevadas concentrações de compostos fenólicos como carvacrol, terpeno e pcimeno, que são capazes de eliminar os radicais livres.

Os resultados relevantes encontrados nos filmes adicionados de óleo de dendê e buriti deve-se a presença de flavonoides, polifenóis, antocianinas, tocoferóis e ácidos graxos palmítico, oleico e linoleico (EDEM, 2002; SUNDRAM et al., 2003; KOOLEN et al., 2013).

Observa-se na Figura 2, que todos os filmes apresentaram atividade antimicrobiana para os micro-organismos testados. No entanto, com a adição dos diferentes óleos ocorreu a elevação da atividade antimicrobiana.



**Figura 2.** Atividade antimicrobiana dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos. a,b,c,d diferença significativa entre os diferentes tratamentos para cada microorganismo. 1, 2,3,4, 5 diferença significativa entre os diferentes microorganismos para cada um dos tratamentos.

O filme controle apresentou atividade antimicrobiana para *S. aureus* e *E. coli*, obtendo valores de 6,06 mm, não apresentando diferença significativa, porém foi menor quando comparado com os filmes com os óleos. Segundo Minervini et al. (2003) e Di Bernardini et al. (2010), a atividade antimicrobiana da gelatina de peixe, deve-se a presença de oligopeptídeos e aminoácidos de cadeia lateral, obtidos durante a hidrólise

da gelatina. Por outro lado, Gómez-Estaca et al. (2010) elaboraram filmes biodegradáveis de gelatina de peixe e quitosana e não encontraram atividade antimicrobiana, mesmo já tendo sido relatado na literatura. Porém, segundo Jeon et al. (2002), López-Caballero et al. (2005) e Fernández-Saiz et al. (2009), os resultados da atividade antimicrobiana da mesma matéria prima, podem variar, pois dependem dos procedimentos experimentais utilizados.

O filme adicionado de óleo essencial de orégano, apresentou a maior atividade antimicrobiana, 14,1mm para *E.coli* e 11,73mm para *S. aureus*, próximo aos resultados encontrados para o filme adicionado de óleo fixo de dendê, que obtiveram valores de 11,23 mm para *S. aureus* e 11,1mm para *E.coli*. A atividade antimicrobiana do óleo de orégano, segundo Lambert et al. (2001) e Oussalah et al. (2004), deve-se a presença de composto fenólicos presentes, como carvacrol, timol e eugenol, que possuem grande efeito antimicrobiano, principalmente para *E.coli*; fato este observado no presente estudo. Em relação ao óleo de dendê, a atividade antimicrobiana observada, deve-se ao fato do mesmo ser rico em tocoferóis, que são fisiologicamente ativos como vitamina E e os ácidos graxos palmítico, oleico e linoleico (SUNDRAM et al., 2003; EDEM, 2002).

Os resultados encontrados para o óleo de dendê são relevantes, visto que o óleo de orégano é um dos mais relatos na literatura como um dos principais óleos com elevado capacidade antimicrobiana, e neste estudo a atividade antimicrobiana do óleo de dendê foi próximo a do orégano. Além disso, quando comparado com o óleo de orégano, o de dendê possui um valor comercial menor, é um dos mais consumidos mundialmente, de fácil extração e rendimento mais elevado, podendo ser uma alternativa para a produção de embalagens ativas com atividade antimicrobiana e antioxidante que controlem os agentes patogênicos dos alimentos, mantendo sua composição nutricional.

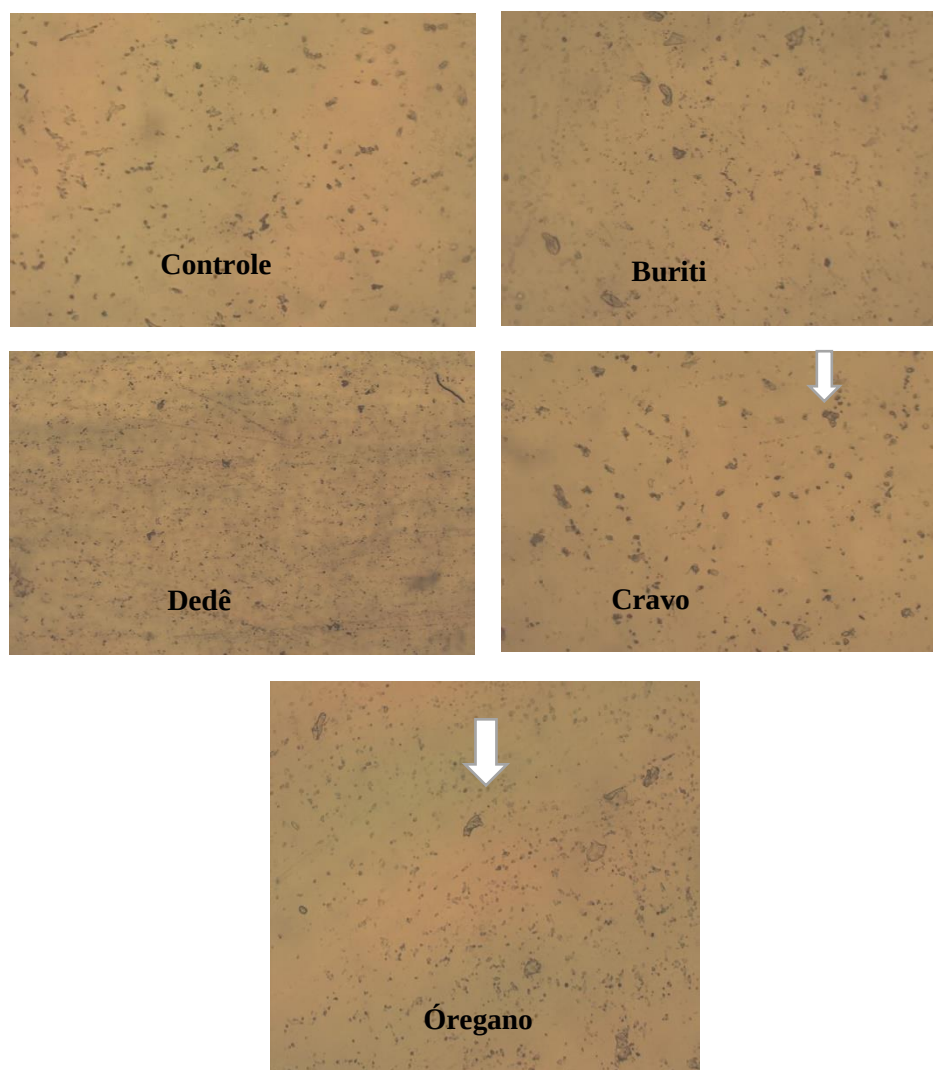
O filme adicionado de óleo essencial de cravo foi eficaz para o controle dos dois micro-organismos testados, não apresentando diferença significativa, o qual obteve valores de 10,1 mm para *E.coli* e *S. aureus*. Essa atividade antimicrobiana do óleo de cravo, pode ser atribuída ao seu conteúdo de monoterpenos que atua degradando a membrana citoplasmática das bactérias (ZHANG et al., 2008).

O filme com óleo de buriti apresentou diferença significativa para os micro-organismos testados, apresentando valores de 9,1 e 9,7 mm de inibição para *E.coli* e *S.aureus*, respectivamente. O óleo de buriti, segundo Nazif (2002) e Batista et al., (2012) possui atividade antimicrobiana para bactérias gram-positivas e negativas, devido a sua composição, pois são ricos em carotenoides, compostos fenólicos e vitamina E, na forma

de  $\alpha$ -tocoferol, com alto nível de ácidos graxos saturados e insaturados, como linoleico e palmítico

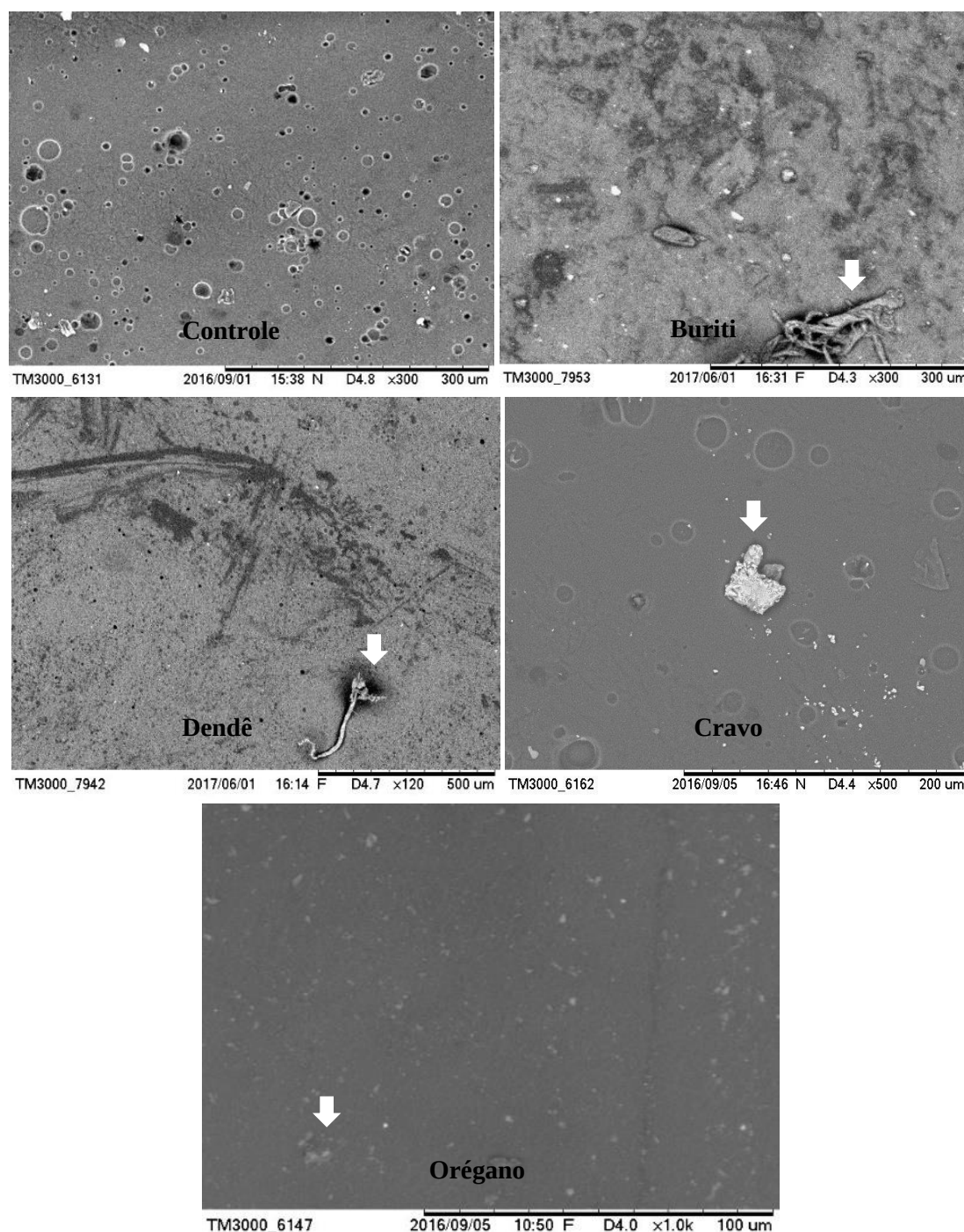
### 3.3 MICROSCOPIA ÓTICA E DE VARREDURA DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS ADICIONADOS DE ÓLEOS FIXOS E ESSENCIAIS.

A Figura 3 mostra a microscopia ótica dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos



**Figura 3.** Microscopia ótica dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos.

A Figura 4 mostra a microscopia eletrônica de fixos.



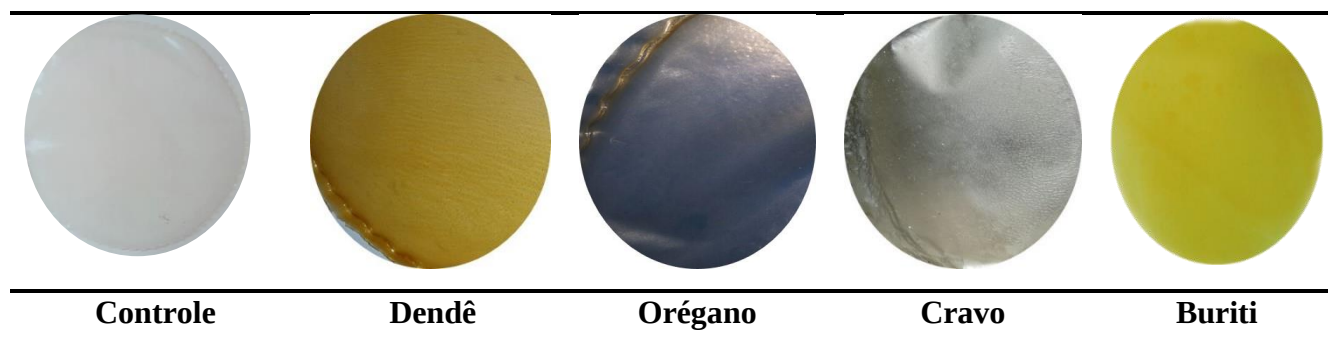
**Figura 4.** Microscopia eletrônica de varredura dos diferentes filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos.

Os filmes adicionados de óleos apresentaram gelatina e gotículas de goma arábica não dissolvidas (indicado pela seta), o que pode ter contribuído para algumas propriedades dos filmes, como maiores valores de PVA, devido a gelatina e a goma serem hidrofílicas, absorvendo a umidade do ambiente.

Os filmes adicionados de óleo de cravo e orégano foram os que apresentaram a maior PVA (Tabela 2), o que pode ser atribuído a não homogeneização da goma arábica,

e pode ser visualizado nas imagens do microscópio ótico e microscopia eletrônica de varredura (Figuras 3 e 4). As bolas redondas apresentadas no filme controle (Figura 3, no microscópio ótico), correspondem a não dissolução completa da gelatina de pescada amarela, deixando fissuras no filme.

Observa-se nas imagens obtidas no microscópio ótico e na microscopia eletrônica, que os filmes não apresentaram uma estrutura homogênea. No entanto, quando visualizadas a olho nú (Figura 5), os mesmos apresentam-se homogêneos, sem nenhuma fissura e os filmes de buriti e dendê são mais escuros e amarelos, em comparação com os demais filmes biodegradáveis, fato este confirmado com os menores valores de L e maiores de  $b^*$  e  $a^*$ .



**Figura 5.** Imagens dos filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos.

### 3.4 CLASSIFICAÇÃO E SELEÇÃO DOS FILMES BIODEGRADÁVEIS APLICANDO O ALGORITMO K-VIZINHOS (KNN)

A Tabela 3, mostra os resultados do filme ideal obtido por meio do algoritmo K-vizinhos.

**Tabela 3** - Filme ideal de gelatina de peixe adicionado de óleos essenciais e fixos

| Análises | Resultados |
|----------|------------|
|----------|------------|

|                                 |                                                                             |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Atividade antioxidante          | 480.79 ( $\mu\text{mol de TE/g}$ )                                          |
| Atividade antimicrobiana        | 14.20 (mm)                                                                  |
| Resistência à tração            | 93.02 (Mpa)                                                                 |
| Elongação                       | 127.86 (%)                                                                  |
| Permeabilidade ao vapor de água | $1.75 \times 10^{-10} \text{ g.m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}$ |
| Solubilidade                    | 10.89(%)                                                                    |
| Espessura                       | 0.043 (mm)                                                                  |
| Atividade de água               | 0.389                                                                       |
| Umidade                         | 5.01 (%)                                                                    |

A Tabela 3 apresenta o filme ideal, obtido após a descrição baseado na literatura e lista de prioridades. Observa-se por meio dos resultados do Algoritmo dos K-vizinhos mais próximos (KNN), que o filme ideal determinado via cálculos computacionais, utilizando inteligência artificial, deve apresentar elevados valores de atividade antioxidante, estando próximos dos valores encontrados para o filme de óleo de cravo. Para atividade antimicrobiana, o filme definido como ideal deveria apresentar valores de 14,20 mm, estando acima dos resultados encontrados para os filmes do presente estudo. Para resistência a tração e alongação, os elevados valores obtidos, indicam que os mesmos são bem resistente e elásticos, fatores importantes para embalagens. Para PVA, o valor definido foi de 1,75, resultado este baixo, indicando que o filme ideal pode possuir uma boa propriedade de barreira à absorção de água.

Em relação a solubilidade, o valor definido como ideal foi próximo ao encontrado para os filmes de dendê e cravo, demonstrando as boas propriedades desses filmes. Os resultados encontrados para espessura, atividade de água e umidade, mostram que o filme ideal deve apresentar fina espessura e baixa possibilidade de desenvolvimento de micro-organismos.

A Tabela 4, mostra os resultados do peso ranking ponderado e linear e a posição no Ranking dos diferentes filmes.

**Tabela 4** - Resultados do Peso Ranking Ponderado, Peso Ranking Linear e Posição no Ranking dos diferentes filmes biodegradáveis.

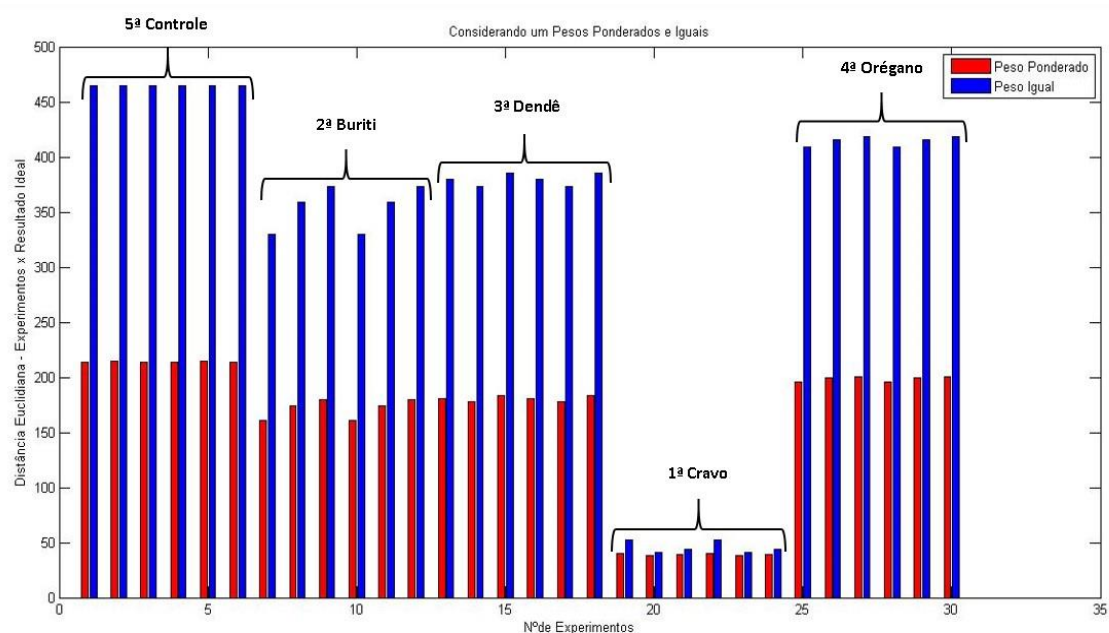
| Tipos de filmes | Peso Ranking Ponderado | Peso Ranking Linear | Posição no Ranking |
|-----------------|------------------------|---------------------|--------------------|
| Controle        | 214.17                 | 464.43              | 5                  |
| Buriti          | 171.30                 | 353.95              | 2                  |
| Dendê           | 180.54                 | 379.20              | 3                  |
| Cravo           | 39.06                  | 45.68               | 1                  |
| Orégano         | 198.57                 | 414.61              | 4                  |

A Tabela 4 mostra a seleção e a classificação dos filmes baseado no peso do ranking, levando em consideração a distância euclidiana. Esses resultados foram obtidos baseado no filme ideal descrito na Tabela 3.

Para ter uma variação na análise dos dados foram realizados dois experimentos, no qual um levou em consideração que havia uma ponderação a partir da importância de cada elemento (ordem de prioridade e característica das análises), sendo representado pelo peso ranking ponderado e o segundo, peso ranking linear, que considerou que todos os itens possuíam o mesmo peso. Observa-se que a menor distância euclidiana foi para o filme adicionado de óleo de cravo, levando em consideração o peso ponderado e o peso linear, obtendo valores de 39.06 e 45.68, respectivamente. Desse modo, o filme adicionado de óleo de cravo apresentou a melhor posição no ranking, sendo classificado como o melhor filme dentre os experimentos do presente trabalho, pois ficou mais próximo do filme ideal, definido pelo algoritmo dos K-vizinhos, seguido pelos filmes de buriti, dendê, orégano e controle.

Observa-se, que para todos os casos, levando em consideração o peso ponderado e linear, o resultado foi o mesmo, variando apenas o valor da distância euclidiana, obtendo os filmes a mesma posição no ranking, reforçando assim, o acerto do algoritmo utilizado por meio da inteligência artificial.

A Figura 5 mostra a seleção e classificação dos filmes biodegradáveis adicionados de óleos essenciais e fixos, definidos pela inteligência artificial.



**Figura 6.** Seleção e classificação dos filmes biodegradáveis.

A Figura 6, confirma os dados obtidos na Tabela 4, o qual mostra a distância euclidiana, utilizando o peso ponderado e o peso linear. Observa-se, que o filme que apresentou a menor distância euclidiana foi o filme de óleo de cravo, sendo o melhor filme.

Fazendo uma análise com a base de dados apresentados na Figura 1, o filme de gelatina adicionado de óleo de cravo foi o que apresentou os maiores valores para atividade antioxidante, o que contribuiu para ser indicado como o melhor. Filme com elevada atividade antioxidante é um fator positivo para o desenvolvimento de embalagens alimentícias ativas, visto que, o mesmo pode ser usado para minimizar ou prevenir a oxidação lipídica, em produtos alimentícios retardando a formação de produtos de oxidação tóxica, mantendo a qualidade e prolongando a vida comercial dos produtos embalados. Além disso, o filme de óleo de cravo apresentou os maiores valores de resistência à tração e alongação dentre os filmes adicionados de óleos, propriedades importantes para a produção de embalagens, ficando mais próximo das características de embalagens sintéticas, que são altamente resistentes e flexíveis.

Em relação aos filmes de buriti e dendê, que obtiveram a classificação em segundo e terceiro colocado no ranking, respectivamente, apresentaram boas propriedades antioxidantes e antimicrobiana, além de baixa permeabilidade ao vapor de água e umidade, considerados importantes para as propriedades das embalagens. Segundo Galdeano (2007), baixa PVA é indicado para filmes biodegradáveis, pois evita a transferência de umidade entre o alimento e o ambiente externo, evitando assim, sua

deterioração e conseqüentemente aumentando a vida comercial do produto embalado com esses filmes.

Em relação ao filme controle (sem adição de óleo), o mesmo ficou em última colocação no ranking devido não ter apresentado resultados satisfatórios para atividade antioxidante e antimicrobiana.

Os resultados encontrados indicam que os filmes definidos como os melhores pelo algoritmo dos K-vizinhos (KNN), utilizando a inteligência artificial, devem apresentar boas propriedades antioxidante, antimicrobiana e baixa permeabilidade ao vapor de água, para serem utilizados como embalagens no armazenamento de produtos alimentícios.

#### **4 CONCLUSÃO**

Os filmes produzidos foram afetados de formas diferentes pela adição de óleos, apresentando-se menos rígidos e mais flexíveis, com propriedades antioxidantes, sendo efetivos contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. O filme biodegradável produzido com gelatina e óleo de cravo foi considerado o ideal, por meio da inteligência artificial utilizando o algoritmo dos K-vizinhos mais próximos (KNN), seguido de buriti, dendê, orégano e controle. Os resultados demonstraram que a gelatina da pele de peixe obtida da pescada amarela e os óleos fixos e essenciais, possuem potencial para serem utilizados como material de embalagens biodegradáveis ativas, pois controlam os agentes patogênicos dos alimentos.

## 5 REFERENCIAS

ABUGOCH, L. E.; TAPIA, C.; VILLAMÁN, M. C.; YAZDANI-PEDRAM, M.; & DÍAZ-DOSQUE, M. Characterization of quinoa proteine chitosan blend edible films. **Food Hydrocolloids**, v.25, n. 2011, p. 879-886, 2010.

AGUIRRE-LOREDO, R. Y.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A.I.; MORALES-SÁNCHEZ, E.; GÓMEZ-ALDAPA, C.A.; VELÁZQUEZ, G Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. **Food Chemistry**, v. 196, p. 560-566, apr. 2016.

AHMAD, M.; NIRMAL, N. P.; CHUPROM, J. Blend film based on fish gelatine/curdlan for packaging applications: spectral, microstructural and thermal characteristics. **RSC Advances**, v.5, n.120, p.99044–99057, 2015.

ALFARO, T., FONSECA, G. G., BALBINOT, E., MACHADO, A.; PRENTICE, C. Physical and chemical properties of wami tilapia skin gelatin. **Food Science And Technology**, v.33, n.3, p.592–595, jul./sept. 2013.

ANDERSON, D.M.W.; HOWLETT, J.F.; McNAB, C.G.A. The amino acid composition of the proteinaceous component of gum arabic (*Acacia senegal*, L.) Willd.). **Food Additives Contaminants**, v.2, n.3, p.159-164, 1985.

ARFAT, Y. A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; OSAKO, K. Development and characterisation of blend films based on fish protein isolate and fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.39, p.58–67, 20014.

AOAC. Official Methods of Analysis Of The Association Of Official Analytical Chemists. Horwitz, W, 17a Ed. Arlington: Aoac Inc, 2000.

BAHARIN, B. S.; LATIP, R. A.; CHE MAN Y. B.; RAHMAN, A. The effect of carotene extraction system on crude palm oil quality, carotene composition, and carotene stability during storage. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 78, p. 851-855, 2001.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.446–475, 2008.

BATISTA, J. S.; OLINDA, R. G.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; MEDEIROS, A. DA C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciência Rural**, v.42, n.1, p.136–141, 2012.

DI BERNARDINI, R.; HARNEDY, P.; BOLTON, D.; KERRY, J.; O'NEILL, E., MULLEN, A. M. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. **Food Chemistry**, v.124, p.1296-1307, 2011.

DIMITRIOS, B. Sources of natural phenolics antioxidants **Trends in Food Science and Technology** 17 (2006) 505–512.

EDEM, D. O. Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological and toxicological aspects: A review. **Plants Foods for Human Nutrition**, v. 57, p. 319 - 341, 2002.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids - water-vapor permeability and other physical-properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.29, n.1, p.39–50, 1994.

GÓMEZ-ESTACA, J.; BRAVO, L.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; ALEMÁN, A.; MONTERO, P. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. **Food Chemistry**, v.112, p.18-25, 2010.

GULÇIN, I.; ELMASTAS, M ; ABOUL-ENEIN, H.Y Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. **Arabian Journal of Chemistry**, v.5, p.489–499, 2012.

HOQUE, M. S.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.1, p82–90, 2011.

JEON, Y.-J.; KAMIL, J.Y.V.A.; SHAHIDI, F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.20, p.5167-5178, 2002.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER,G.; STOYANOVA, A I.S.; KRASTANOV, A.; SCHMIDT, E. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, , v.54, p.6303-6307, 2006.

KOOLEN, H. H. F.; DA SILVA, F. M. A.; GOZZO, F. C.; DE SOUZA, A. Q. L.; DE SOUZA, A. D. L. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.51, n.2, p.467–473, 2013.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P.; NYCHAS, G.-J. E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal Applied Microbiological**, v.91, p.453-462, 2001.

LIMPAN, N.; PRODPRAN, T.; BENJAKUL, S.;PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v.100, n.1, p.85–92, 2010.

LIMPISOPHON, K.; TANAKA, M.; OSAKO, K. Characterisation of gelatin-fatty acid emulsion films based on blue shark (*Prionace glauca*) skin gelatin. **Food Chemistry**, v.122, n.4, p.1095–1101, 2010.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; PÉREZ-MATEOS, M.; MONTERO, P. A. Chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.303-311, 2005.

MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Sorbitol vs glycerolplasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, n.4, p.841–845, 1994.

MINERVINI, F.; ALGARON, F.; RIZZELLO, C. G.; FOX, P. F.; MONNET, V.; GOBBETTI, M. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinase-hydrolyzed casein of milk from six species. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.5297-5305, 2003.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Extracting Conditions For Megrim (*Lepidorhombus Boscii*) Skin Collagen Affect Functional Properties Of The Resulting Gelatin. **Journal of Food Science**, v.65, n.3, p.434–438.apr. 2000.

MORAES, A. R. F.; VIDIGAL, M. C. T. R.; SOARES, N. F. F.; MORAES, L. P.; MELO, N. R.; GONÇALVES, M. P. J. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano aromatizado para aplicação em massa de pastel. **Ciência Rural**, v. 41, n. 3, p. 537-543, 2011.

NAKASHIMA, A.Y., CHEVALIER, R.C.; CORTEZ-VEJA, W.R. Desenvolvimento e caracterização de filmes de colágeno com adição de óleo essencial de cravo-da-índia. **Journal Bioenergy and Food Science**, v.3, n.1, p.50-57, 2016.

NAZIF, N. M. Phytoconstituents of *Zizyphus spina-christi* L. fruits and their antimicrobial activity **Food Chemistry**, v.76, n.1, p. 77-81. 2002.

OUSSALAH M.; CAILLET S.; SALMIÉRI S.; SAUCIER L.; LACROIX M. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.5598–5605, 2004.

PEREDA, M.; PONCE, A. G.; MARCOVICH, N. E.; RUSECKAITE, R. A.; MARTUCCI, J. F. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. **Food Hydrocolloids**, v.25, n.5, p.1372–1381, 2011.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, n.9, p.1231–1237, 1999.

RIBEIRO, B. D.; BARRETO, D. W.; COELHO, M. A. Z. Technological aspects of  $\beta$ -carotene production. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, n. 5, p. 693 - 701, 2011.

RIVERO, S.; GARCÍA, M. A.; PINOTTI, A. Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. **Journal of Food Engineering**, v.90, p.531-539, 2009.

ROBERTSON, G.L. **Food Packaging: Principles and practice**. Boca Raton – FL: CRC Press, 550 p. 2006.

ROMÁN-GUERRERO, A., J. OROZCO-VILLAFUERTE, PÉREZ-OROZCO, J.P.; CRUZ-SOSAA, F.; JIMÉNEZ-ALVARADO, R.; VERNON-CARTER, E.J. Application and evaluation of mesquite gum and its fractions as interfacial film formers and emulsifiers of orange peel-oil. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n.3, p.708-713, 2009.

SILVA, M.; LOPES, P. S.; DA SILVA, C. F.; YOSHIDA, C. M. P. Active packaging material based on buriti oil - *Mauritia flexuosa* L.f. (*Arecaceae*) incorporated into chitosan films. **Journal of Applied Polymer Science**, v.133, n.12, p.1-9, 2016.

SUNDRAM, K.; SAMBANTHAMURTHI, R.; TAN, YEW-AI. Palm fruit chemistry and nutrition. Asia pacific. **Journal of Clinical Nutrition**, v. 12, p. 355 - 362, 2003.

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.6, n.62, 2014.

WU, J.; GE, S.; LIU, H.; WANG, S.; CHEN, S.; WANG, J.; ZHANG, Q. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v.2, n.1, p.7–16, 2014.

YAO, Y.; DING, D.; SHAO, H.; PENG, Q.; HUANG, Y. Antibacterial activity and physical properties of fish gelatin-chitosan edible films supplemented with D-Limonene. **International Journal of Polymer Science**, v.2017, n.2017, p.1-9, 2017.

YANG, Y.; ANVARI, M.; PAN, C. H.; CHUNG, D. Characterisation of interactions between fish gelatin and gum arabic in aqueous solutions. **Food Chemistry**, v.135, n.2, p.555–561, nov. 2012.

WANG, Y.; YANG, H.; REGENSTEIN, J. M. Characterization of fish gelatin at nanoscale using atomic force microscopy. **Food Biophysics**, v. 3, p. 269-272, 2008.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE, F.; BEEST, M.V.; KRUIJF, N.; DEBEVERE, J. Development in the active packaging of foods. **Trends in Food Science e Technology**, v. 10, n.3 p. 77-86, 1999.

ZHANG, H.; SHEN, Y.; BAO, Y.; HE, Y.; FENG, F.; ZHENG, X. Characterization 343 and synergistic antimicrobial activities of food-grade dilution-stable microemulsions 344 against *Bacillus subtilis*. **Food Research International**, v.41, n.5, p.495–499, 2008.