



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA

DAVI ARAUJO CERQUEIRA

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA CAVALA (*Scomberomorus cavalla*)
REVESTIDA COM GELATINA DA PELE DO ATUM (*Thunnus albacares*)
ENRIQUECIDA COM TBHQ

FORTALEZA

2024

DAVI ARAUJO CERQUEIRA

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA CAVALA (*Scomberomorus cavalla*) REVESTIDA
COM GELATINA DA PELE DO ATUM (*Thunnus albacares*) ENRIQUECIDA COM
TBHQ

Dissertação de mestrado submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

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

C394a Cerqueira, Davi Araujo.

Avaliação da qualidade da cavala (*Scomberomorus cavalla*) revestida com gelatina da pele do atum (*Thunnus albacares*) enriquecida com TBHQ / Davi Araujo Cerqueira. – 2024.
94 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza.

1. Revestimento. 2. Antioxidante. 3. Pescado. 4. Vida-útil. I. Título.

CDD 639.2

DAVI ARAUJO CERQUEIRA

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA CAVALA (*Scomberomorus cavalla*) REVESTIDA
COM GELATINA DA PELE DO ATUM (*Thunnus albacares*) ENRIQUECIDA COM
TBHQ

Dissertação de mestrado submetida à coordenação do curso de Pós-graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Aprovada em: 27/09/2024.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Sara Monaliza Sousa Nogueira
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

À imperfeição do universo que fez tudo
acontecer como deveria ser.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à CAPES pelo apoio financeiro, essencial para a realização deste projeto.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão primeiramente à toda minha família, principalmente aos meus pais Andrelina Araujo e Raimundo Cerqueira, pelo apoio incondicional, compreensão e paciência ao longo desta jornada. Sem o incentivo e amor de vocês, este trabalho não seria possível.

Queria dedicar esse espaço também a minha cadelinha amada, Aika, que me fez esquecer um pouco da correria e das dificuldades enfrentadas durante esse período, quando chegava com a bolinha na boca querendo brincar, essa foi uma ótima válvula de escape.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Bartolomeu Souza, pela orientação e apoio ao longo desses dois anos. A banca examinadora, formada pelas professoras Francisca Gleire e Sara Monaliza, também merece meu reconhecimento pelas contribuições valiosas ao trabalho.

Um carinho especial aos amigos do LATEPE, Francisco Ikaro, Jacqueline Melo, Kamila Freitas, Karolina Costa, Sara Monaliza, Katharynna Gama e Pedro Ian vocês fizeram essa jornada ser muito mais proveitosa. Fica aqui os meus agradecimentos pela amizade e incentivo constante durante essa etapa.

Agradeço às melhores técnicas de laboratório, Claudia Cinthia e Claudia Brandão, a ajuda de vocês nos experimentos, assim como, o apoio e o carinho em todos os momentos foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

Meus agradecimentos as pessoas especiais da minha vida, Eliomara Gomes, Gisael Matheus e Pedro Anderson, compartilhar de todos os momentos ao lado de vocês durante essa etapa me fizeram continuar seguindo em frente. Cada palavra de incentivo, cada gesto de carinho e cada momento de apoio foram preciosos e fizeram toda a diferença, fica aqui minha eterna gratidão e carinho por cada um de vocês.

A todos os outros que eu não citei, mas que tenho guardado no coração, o tempo pode ter nos distanciado um pouco, mas acreditem que vocês foram parte essencial para que pudesse ser quem eu sou hoje e ter conseguido chegar aonde cheguei. Meu muito obrigado a cada um!

RESUMO

A produção global de recursos marinhos alcançou 185,4 milhões de toneladas, gerando resíduos que podem ser aproveitados para criar produtos com valor agregado. A cavala é uma espécie popular no Nordeste do Brasil, especialmente no Ceará. O atum amarelo, por outro lado, gera resíduos importantes, como a gelatina da pele, que tem potencial biotecnológico. Este estudo visa avaliar o tempo de prateleira e a qualidade de postas de cavala aspergidas com uma solução filmogênica composta por gelatina extraída da pele de atum, glicerol e terq-butyl-hidroquinona. Para extração da gelatina foi feita uma limpeza das peles em água e NaCl, seguido por tratamento com ácido acético e neutralização com NaOH. Em seguida, as peles passaram por hidrólise alcalina e ácida para quebrar o colágeno. Na etapa de extração, as peles foram misturadas com água, agitadas a 45 °C por 2 horas, filtradas e a solução obtida foi liofilizada e moída. Após a extração, foram realizadas análises para determinar a força de gel, DSC, FT-IR, cor e composição centesimal. Para avaliar a ação antioxidante, foram preparadas quatro soluções filmogênicas com 1% de gelatina e diferentes concentrações de TBHQ (0,01%, 0,02%, 0,03%). A solução final para aplicação no pescado continha 1% de gelatina, 0,5% de glicerol e 0,03% de TBHQ em 2000 mL de água destilada. Esta solução foi aplicada em postas de cavala, que foram armazenadas a 4 °C e avaliadas quanto à qualidade ao longo de 20 dias. Os resultados mostraram que a gelatina extraída das peles de atum teve um rendimento de 11,66%. A análise centesimal revelou um alto teor de proteínas. A força de gel junto com o DSC e FT-IR evidenciaram boas propriedades mecânicas que possibilitam a formação da solução filmogênica. A atividade antioxidante aumentou de forma proporcional com a concentração de TBHQ. Essa gelatina, com 0,03% de TBHQ, foi eficiente em controlar a oxidação lipídica, manter o pH estável, atuar como barreira contra bactérias e preservar as características de cor do pescado. Dessa forma, pode-se concluir que a ação da gelatina com aditivo de um antioxidante sintético em concentrações aceitáveis, o TBHQ, confere uma barreira de proteção ao pescado, atrelado as boas condições de armazenamento.

Palavras chave: revestimento; antioxidante; pescado; vida-útil.

ABSTRACT

Global production of marine resources reached 185.4 million tons, producing waste that can be used to create value-added products. Mackerel is a popular species in the Northeast of Brazil, especially in Ceará. While yellowfin tuna generates important waste, such as gelatin from its skin, which has biotechnological potential. This study aims to evaluate the shelf life and quality of mackerel fillets coated with gelatin extracted from tuna skin, glycerol and tert-butylhydroquinone. The gelatin was extracted from cleaning the skins in water and NaCl, followed by treatment with acetic acid and neutralization with NaOH. The skins then underwent alkaline and acid hydrolysis to break down the collagen. In the extraction step, the skins were mixed with water, agitated at 45 °C for 2 hours, filtered, and the obtained solution was lyophilized and ground. After extraction, analyses were conducted to determine gel strength, DSC, FT-IR, color, and centesimal composition. To assess antioxidant activity, four filmogenic solutions with 1% gelatin and different TBHQ concentrations (0.01%, 0.02%, 0.03%) were prepared. The final solution for application contained 1% gelatin, 0.5% glycerol, and 0.03% TBHQ in 2000 mL of distilled water. This solution was applied to mackerel steaks, which were stored at 4 °C and evaluated for quality over 20 days. Results showed that gelatin extracted from tuna skins had a yield of 11.66%. The centesimal composition revealed a high protein content. Gel strength, along with DSC and FT-IR, indicated good mechanical properties for forming the filmogenic solution. Antioxidant activity increased proportionally with TBHQ concentration. This gelatin, with 0.03% TBHQ, was effective in controlling lipid oxidation, maintaining pH stability, acting as a barrier against bacteria, and preserving the color characteristics of the fish. Thus, it can be stated that the action of gelatin with the additive of a synthetic antioxidant in acceptable concentrations, TBHQ, provides extra protection to the fish, coupled with good storage conditions.

Keywords: coating; antioxidant; fish; shelf life.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Curva de Calorimetria diferencial de varredura (DSC) da gelatina extraída a partir da pele de atum (*Thunnus albacares*)..... 52
- Gráfico 2 – Espectros vibracionais no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) da gelatina extraída a partir da pele de atum (*Thunnus albacares*)..... 53
- Gráfico 3 – Curva padrão de ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 100 µg/mL, usada para quantificar os teores de compostos fenólicos totais (CFT) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%..... 56
- Gráfico 4 – Curva padrão de quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 10 a 250 µg/mL, usada para quantificar os teores de flavonoides (TF) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%..... 59
- Gráfico 5 – Capacidade de sequestro do radical DPPH do controle positivo (ácido ascórbico)..... 61
- Gráfico 6 – Capacidade de sequestro do radical DPPH das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%..... 62
- Gráfico 7 – Poder de quelção de íons ferrosos (FIC) do controle positivo do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)..... 63
- Gráfico 8 – Poder de quelção de íons ferrosos (FIC) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%..... 65
- Gráfico 9 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, do controle positivo butil hidroxianisol (BHA)..... 66
- Gráfico 10 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%..... 67
- Gráfico 11 – Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico)..... 68

Gráfico 12 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.....	69
Gráfico 13 – Valores correspondentes a determinação do teor de nitrogênio presentes nas amostras de <i>Scomberomorus cavalla</i> dos grupos controle e tratamento para a quantificação das bases voláteis totais.....	71
Gráfico 14 – Valores correspondentes a determinação ao teor de nitrogênio da trimetilamina presentes nas amostras de <i>Scomberomorus cavalla</i> dos grupos controle e tratamento para a quantificação das aminas terciárias.....	73
Gráfico 15 – Valores correspondentes a avaliação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico presentes nas amostras de <i>Scomberomorus cavalla</i> dos grupos controle e tratamento para a quantificação do teor de oxidação lipídica quantificado pelo teor de malonaldeído (MDA).....	75
Gráfico 16 – Valores correspondentes aos valores de pH das amostras de <i>Scomberomorus cavalla</i> dos grupos controle e tratamento.....	77
Gráfico 17 – Valores correspondentes a contagem padrão de placas de bactérias psicotróficas das amostras de <i>Scomberomorus cavalla</i> dos grupos controle e tratamento para a quantificação do número de unidades formadoras de colônias.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição centesimal da gelatina extraída a partir da pele do atum (<i>Thunnus Albacares</i>).....	47
Tabela 2 – Valores de L*, a* e b* da amostra de gelatina extraída da pele de atum (<i>Thunnus Albacares</i>).....	54
Tabela 3 – Valores de absorvância, monitorada em 765 nm (média ± desvio padrão), de acordo com as concentrações da solução de ácido gálico (G7384, Sigma), variando de 25 a 200 µg/mL).....	56
Tabela 4 – Teores dos compostos fenólicos totais (CFT), expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por mililitros (mL) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%).....	57
Tabela 5 – Valores de absorvância, monitorada em 425 nm (média ± desvio padrão), de acordo com as concentrações da solução de quercetina (33795-1, Aldrich), variando de 10 a 200 µg/mL).....	58
Tabela 6 – Teores de flavonoides (TF), expressos em mg de equivalentes de quercetina (EQ) por mililitros (mL) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.....	59
Tabela 7 – Capacidade de sequestro do radical DPPH do controle positivo (ácido ascórbico) e da concentração efetiva que induz metade do efeito máximo (EC50).....	60
Tabela 8 – Capacidade de sequestro do radical DPPH das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.....	61
Tabela 9 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA) e da concentração efetiva que induz metade do efeito máximo (EC50).....	63
Tabela 10 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.....	64
Tabela 11 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, do controle positivo butil hidroxianisol (BHA).....	65

Tabela 12 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.....	66
Tabela 13 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico).....	68
Tabela 14 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.....	69
Tabela 15 – Valores correspondentes a determinação ao teor de nitrogênio da trimetilamina presentes nas amostras de <i>Scomberomorus cavalla</i> dos grupos controle e tratamento para a quantificação das aminas terciárias.....	74
Tabela 16 – Valores correspondentes de cor (L^* , a^* e b^*) das amostras de <i>Scomberomorus cavalla</i> dos grupos controle e tratamento.....	81

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

BR	Brasil
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CPP	Contagem Padrão em Placas
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EUA	Estados Unidos da América
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FT-IR	Análise de espectroscopia infravermelha transformada de Fourier
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LATEPE	Laboratório de Tecnologia do Pescado
LTB	Laboratório de Tecnologia de Biomassa
N-BVT	Bases Nitrogenadas Voláteis Totais
N-TMA	Ácido Trimetilamina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCA	Agar Padrão para Contagem
QS	<i>Quorum Sensing</i>
SRATB	Avaliação das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBCA	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TBHQ	Terc-butil-hidroquinona
TCA	Ácido tricloroacético
Tg	Transição vítrea
TPs	<i>Tea polyphenols</i> ou polifenóis do chá
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	Objetivo Geral.....	20
2.2	Objetivos Específicos.....	20
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
3.1	Gelatina.....	21
3.2	Antioxidantes como aditivos alimentares.....	22
3.2.1	<i>Aditivos alimentares incorporados a gelatina</i>	22
3.2.2	<i>Terc-butil-hidroquinona (TBHQ)</i>	23
3.3	Espécies marinhas.....	25
3.3.1	<i>Cavala-verdadeira</i>	25
3.3.2	<i>Atum-amarelo</i>	27
3.4	Análises de qualidade do pescado.....	27
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1	Extração da gelatina.....	30
4.1.1	<i>Cálculo de rendimento de gelatina a partir da pele do atum</i>	31
4.2	Composição centesimal da gelatina.....	31
4.2.1	<i>Proteínas</i>	31
4.2.2	<i>Lipídios</i>	32
4.2.3	<i>Umidade</i>	33
4.2.4	<i>Cinzas</i>	33
4.3	Caracterização da gelatina.....	34
4.3.1	<i>Determinação da força de gel</i>	34
4.3.2	<i>Calorimetria diferencial de varredura (DSC)</i>	34
4.3.3	<i>Análise de espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FT-IR)</i>	34
4.3.4	<i>Análise de cor</i>	35
4.4	Análises antioxidantes.....	35
4.4.1	<i>Preparo das soluções filmogênicas</i>	35
4.4.2	<i>Determinação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT)</i>	35
4.4.3	<i>Determinação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF)</i>	36

4.4.4	Determinação da atividade antioxidante in vitro	36
4.4.4.1	Capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH).....	36
4.4.4.2	Poder de quelação de íons ferrosos (FIC).....	37
4.4.4.3	Poder de redução de íons férricos (FRAP).....	38
4.4.4.4	Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB).....	39
4.5	Asperção da solução filomgênica nas postas de cavala-verdadeira ..	40
4.6	Avaliação da qualidade do pescado	41
4.6.1	Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (N-BVT)	41
4.6.2	Nitrogênio da Trimetilamina (N-TMA)	42
4.6.3	Oxidação Lipídica (avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – SRATB)	42
4.6.4	Análise de pH	43
4.6.5	Análise microbiológica	44
4.7	Análise estatística	44
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	Rendimento da extração da gelatina a partir da pele do atum (<i>Thunnus albacares</i>)	46
5.2	Composição centesimal	47
5.3	Caracterização da gelatina	49
5.3.1	Força de gel	49
5.3.2	Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	51
5.3.3	Análise de espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FT-IR)	52
5.3.4	Análise de cor	54
5.4	Avaliação antioxidante da solução filmogênica	55
5.4.1	Quantificação dos teores de CFT e TF nas soluções de gelatina	55
5.4.2	Determinação da atividade antioxidante in vitro	60
5.5	Avaliação da qualidade do pescado	70
5.5.1	Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (N-BVT)	70
5.5.2	Nitrogênio da Trimetilamina (N-TMA)	72
5.5.3	Oxidação Lipídica (avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – SRATB)	74
5.5.4	Análise de pH	77

5.5.5	<i>Análise microbiológica</i>	79
5.5.6	<i>Análise de cor das amostras</i>	80
6	CONCLUSÃO	83
	REFERÊNCIAS	84

1 INTRODUÇÃO

A produção global de pescado representa um dado muito importante para a compreensão da importância desse produto a nível mundial, visto que, nos últimos anos essa produção foi de 185,4 milhões de toneladas de acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, reforçando a ideia de que a produção desses peixes deve permanecer consistente (FAO, 2024). Nesse intuito, destaca-se que uma parte do pescado produzido gera uma grande quantidade de resíduos que não são utilizados para alimentação de forma direta. Cabeça, cauda, pele, escamas, intestino, nadadeiras e brânquias, são resíduos amplamente utilizados para extração de proteínas, lipídios, peptídeos bioativos, enzimas, minerais, e até mesmo, colágeno e gelatina (WANGKHEIRAKPAM *et al.*, 2019).

Durante o beneficiamento do pescado, o alvo principal é a separação do filé das demais partes do peixe, essas partes correspondem aos resíduos, no qual grande parte deles são descartados pela indústria pesqueira, pois não é o alvo principal do beneficiamento. Esses resíduos gerados podem ser um atrativo na fabricação de produtos que tenham um valor agregado e possam incorporá-lo à algum outro produto final, voltados ou não para a alimentação humana (MACHADO *et al.*, 2020).

O gênero *Thunnus* compreende as espécies dos atuns, esse peixe movimentou a atividade econômica não só no Ceará, mas a nível nacional. Três espécies estão presentes ao longo do litoral cearense, sendo elas o atum amarelo (*Thunnus albacares*), o atum bandolim (*Thunnus obesus*) e até mesmo o listrado-bonito ou atum-bonito (*Katsuwonus pelamis*), as quais possuem características em comum, pertencentes a família Scombridae. Cerca de 70% do peso de um atum, corresponde a resíduos ou subprodutos, que podem representar um recurso de grande importância para extração de compostos com grande potencial e de alto valor agregado (GAROFALO *et al.*, 2023).

A utilização de subprodutos do atum para a geração de compostos de valor agregado vem sendo estudada com o intuito de promover aplicações biotecnológicas ou farmacêuticas com alto valor de mercado com a formulação de produtos alternativos com grandes concentrações proteicas (SHAHIDI *et al.*, 2019; KRASAE, WORAWATTANAMATEEKUL & HINSUI, 2023). Dentre tantos, destaca-se a gelatina obtida a partir da pele do atum, que apresenta inúmeras características, destacando-

se principalmente por apresentar pontos positivos em manter a qualidade final do produto e diminuir o crescimento bacteriano durante o armazenamento (SEKARINA *et al.*, 2023).

Nessa perspectiva, o colágeno é uma proteína estrutural complexa e abundante, encontrada em diversos grupos de animais, como os peixes. A gelatina é obtida por meio de uma hidrólise parcial e desnaturação térmica do colágeno, resultando na quebra de ligações intermoleculares e intramoleculares das fibras colágenas. Esse processo resulta na formação da gelatina, cujas características estruturais são influenciadas pela estrutura e composição de cada subunidade. A composição da gelatina está diretamente relacionada à origem do colágeno, apresentando uma significativa quantidade de resíduos de prolina, hidroxiprolina e glicina totalizando aproximadamente 12%, 12% e 21%, respectivamente (COPPOLA *et al.*, 2021).

A gelatina se destaca como um dos principais biopolímeros utilizados na produção de filmes biodegradáveis, sendo um polipeptídeo de alto peso molecular encontrado naturalmente em diversas fontes animais, como pele de suínos, bovinos e peixes com propriedades filmogênicas notáveis sendo um biomaterial de grande interesse (PAHOFF *et al.*, 2019). Contudo, suas propriedades hidrofóbicas contribuem para um processo acelerado de degradação, ocasionando a quebra das ligações de hidrogênio e a desestruturação da matriz física da gelatina, sendo então necessário a inclusão de compostos que possam melhorar as suas propriedades, como o exemplo de substâncias antioxidantes (RIGUETO *et al.*, 2021; RIGUETO *et al.*, 2022).

A utilização de antioxidantes visa reduzir a capacidade oxidativa de alguns compostos presentes na musculatura do pescado, que pode acabar intensificando o processo de deterioração desse produto, afetando os lipídios, as proteínas e os pigmentos da carne, resultando na deterioração da cor, do sabor, da textura e do valor nutricional (LORENZO *et al.*, 2018). Cada vez mais, vem-se enfatizando o uso de antioxidantes, com moléculas que tenham a capacidade de reduzir a velocidade de reações oxidativas em alimentos naturais. Dentre alguns desses antioxidantes, destacam-se os tocoferóis, ácido ascórbico, os carotenóides, os compostos fenólicos, o butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), o propil galato (PG), e principalmente, o terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (SILVA *et al.*, 2019).

O TBHQ, é um antioxidante amplamente utilizado para reduzir a oxidação lipídica. Nesse processo, pode ocorrer alteração do sabor, da cor e do valor nutricional

final dos alimentos. Em particular, a presença natural de gordura nos tecidos de alguns alimentos de origem animal, podem se tornar rançosos, resultando em odores desagradáveis (TERRELL, 2021). Este antioxidante é aplicado com o propósito de prolongar a vida útil de alimentos que contenham óleos vegetais insaturados e proteínas de origem animal. Ele desempenha um papel crucial na preservação dos alimentos, garantindo que suas características sensoriais, como sabor, odor e cor, permaneçam inalteradas, mesmo na presença de ferro (ESKANDANI; HAMISHEHKAR & DOLATABADI, 2014).

Nesse intuito, busca-se utilizar tais métodos a fim de garantir um produto final de qualidade, sem comprometer as suas características sensoriais. No caso da *Scomberomorus cavalla*, popularmente conhecida como cavala-verdadeira, trata-se de um peixe pelágico de distribuição desde Massachusetts, no Estados Unidos da América, até Santa Catarina, no Brasil, e está restrito às águas costeiras mais próximas do oceano. A região Nordeste do Brasil liderou a produção de *S. cavalla* até 1984, com destaque para o Estado do Ceará, que contribuiu com 41% do total de pescado desembarcado, atrelado diretamente a sua importância econômica e grande valor atrativo para o consumo (SANTA BRÍGIDA *et al.*, 2007; ESCAMILLA-PÉREZ *et al.*, 2021).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do trabalho foi avaliar o tempo de prateleira e os parâmetros de qualidade de postas de cavala-verdadeira (*Scomberomorus cavalla*) aspergidas com solução filmogênica formulada a partir de gelatina, glicerol e terc-butil-hidroquinona armazenadas em refrigeração a uma temperatura média de 4 °C, por um período de 20 dias.

2.2 Objetivos Específicos

- 1) Realizar a extração da gelatina a partir da pele do atum (*Thunnus albacares*);
- 2) Da gelatina extraída, caracterizar e avaliar a composição centesimal;
- 3) Formular a solução filmogênica contendo gelatina, glicerol e o antioxidante terc-butil-hidroquinona e analisá-las quanto a sua ação antioxidante;
- 4) Realizar análises físico-químicas e microbiológicas para averiguar a qualidade do pescado aspergido com a solução filmogênica.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Gelatina

A origem da palavra gelatina, pode derivar do latim "*gelare*", que significa "congelar", ou do francês "*gélatine*", também originado do latim "*gelu*", uma das palavras para "gelo". A gelatina é considerada um biopolímero natural obtido pela hidrólise incompleta do colágeno, podendo ser usada como revestimento pois gera uma fina camada que recobre a superfície dos alimentos e pode ser consumida junto com eles, pois parte de seus ingredientes são naturais, sendo atóxicos (RODRIGUES *et al.*, 2020; YILDIRIM-YALÇIN; SADIKOĞLU; ŞEKER, 2021).

Ela é uma substância inodora, incolor e translúcida, de grande importância na indústria alimentícia, com características que visam prolongar o tempo de prateleira de diversos alimentos, conferindo propriedades especiais de espessamento, gelificação, emulsificação, formação de espuma, embalagem e agente formador de filme (LUO *et al.*, 2022).

Busca-se agregar valor aos subprodutos obtidos do pescado, assumindo a capacidade de formular filmes biodegradáveis, de baixo custo e com propriedades tecnológicas, como a gelatina obtida a partir de peles e ossos de peixe (DA SILVA *et al.*, 2024). Para obtenção da gelatina, realiza-se a hidrólise parcial e a desnaturação térmica do colágeno. Existem dois tipos de gelatina, tipo A, obtida por tratamento ácido (ponto isoelétrico - pH 7–9) de colágeno, e tipo B, obtida por tratamento alcalino (ponto isoelétrico - pH 4,7–5,4). Durante a produção da gelatina por hidrólise, as ligações intermoleculares e intramoleculares das fibras de colágeno são quebradas, e as características estruturais da gelatina dependem da distribuição do peso molecular, estrutura e composição de cada subunidade (COPPOLA *et al.*, 2021; THAKUR *et al.*, 2023).

A gelatina pode ser formada por várias cadeias polipeptídicas, cada uma com pesos moleculares diferentes, sendo α (~100 kDa), β (~200 kDa) e γ (~200 kDa). Essas cadeias são constituídas por prolina, glicina e 4-hidroxiprolina (DERKACH *et al.*, 2019). Devido às suas características físico-químicas, biocompatibilidade e disponibilidade, a gelatina possui ampla aplicação nas indústrias alimentícia, nutracêutica e de formulação de embalagens. A gelatina proveniente de diferentes subprodutos animais possui excelentes propriedades de barreira e mecânicas. A tripla

hélice, estrutura presente na proteína, proporciona força física, conferindo uma proteção contra o dano oxidativo (BOUGHRIBA *et al.*, 2020).

As embalagens formuladas para alimentos cria uma camada de proteção contra o dano oxidativo por vários aminoácidos que formam a estrutura da gelatina, resultando em embalagens com boas características de barreira contra a transferência de oxigênio e aroma (NINGRUM *et al.*, 2021). Além disso, a gelatina é uma alternativa promissora para a formação de filmes que revestem alimentos, visando preservar características como cor e aumentar o tempo de prateleira (JRIDI *et al.*, 2018).

Além disso, é possível empregar um revestimento à base de gelatina para preservar a qualidade da matéria-prima, prolongando sua vida útil e garantindo a segurança alimentar para os consumidores. Esse revestimento, derivado da gelatina, demonstra eficácia na melhoria da qualidade através da regulação da transferência de umidade, na redução dos processos oxidativos, na prevenção da perda das características sensoriais de sabor e odor, e no impedimento da proliferação de microrganismos patogênicos. Fontes proteicas, como a gelatina, extraída de subprodutos do pescado, oferecem benefícios adicionais, destacando-se pela biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade e habilidade na formação de revestimentos para produtos alimentícios (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH & MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016; VALA *et al.*, 2017).

Por fim, o atum (*Thunnus albacares*) é frequentemente escolhido para a extração da gelatina, por conta de suas características, sendo elas quantidade de resíduos e obtenção de subprodutos, como a sua pele, para obtenção dessa fonte proteica. A gelatina apresenta boa força de gel e viscosidade, contribuindo significativamente para a formulação de revestimentos em produtos alimentícios, inclusive em relação a outros tipos de pescado, garantindo a sua preservação para o aumento do tempo de prateleira (SALSABIELA *et al.*, 2022).

3.2 Antioxidantes como aditivos alimentares

3.2.1 Aditivos alimentares incorporados a gelatina

A utilização da gelatina como revestimento vem sendo muito utilizada com o intuito de garantir um aumento da vida útil do alimento. No entanto, a utilização de aditivos alimentares incorporados a essa gelatina pode acentuar as propriedades de

preservação para o alimento, garantindo a proteção dos alimentos contra fatores externos que possam danificar o alimento (ZHANG; HAN & ZHOU, 2023).

Em trabalho desenvolvido por Liu *et al.* (2024), avaliaram o efeito das interações entre materiais bioativos e componentes de biopolímeros, tais como ficocianina e compostos extraídos de *monascus* e cártamo, sendo eles incorporados em filmes de gelatina/quitosana. Tais resultados revelaram que houve um aumento da capacidade de formação dos filmes, possibilitando a formação de uma estrutura compacta com excelentes características de aparência e cor, evidenciando as propriedades mecânicas, de proteção para o alimento contra oxigênio e luz ultravioleta e com capacidade antioxidante, prevenindo ações de deterioração para o alimento.

A utilização de compostos fenólicos são bastante utilizados como agentes antimicrobianos e antioxidantes. A extração de nanopartículas e óleos essenciais a partir da cúrcuma, por exemplo, podem ser incrementados na gelatina, formulando um revestimento para o alimento, incluindo o próprio pescado, como em filés de *Schizothorax prenati* e do surimi (XIN *et al.*, 2020; SURENHIRAN *et al.*, 2022).

Em trabalho desenvolvido por Thakur *et al.* (2024), eles avaliaram o efeito do extrato hidroetanólico de cúrcuma aplicado em carne de frango. Os resultados expressaram dados positivos acerca de propriedades morfológicas, mecânicas, de barreira, ópticas, físicas, antioxidantes e antimicrobianas dos filmes utilizados. Sob essa perspectiva, assume-se a ideia de que a utilização de compostos fenólicos como aditivos alimentares promove um série de características positivas para a qualidade final do alimento, atuando na estabilização da formação dos filmes e no bloqueio de reações em cadeia de atividade antioxidante (DUAN *et al.*, 2022).

3.2.2 Terc-butil-hidroquinona (TBHQ)

A utilização de antioxidantes como aditivos em alimentos durante o beneficiamento pode prevenir ou diminuir o grau de oxidação lipídica, reduzindo a probabilidade de deterioração dos produtos alimentares, especialmente em função da presença natural de gordura nos tecidos musculares (KHEZERLOU *et al.*, 2022). Esses antioxidantes mantêm os valores nutricionais e prolongam a vida útil do alimento, assegurando, assim, a sua estabilidade química (RASHIDI *et al.*, 2016). Nesse contexto, destaca-se que a adição de antioxidantes é uma medida necessária para evitar a oxidação dos lipídios, pois estes têm a capacidade de quelar

eficientemente íons metálicos, capturar e neutralizar radicais livres, além de extinguir o oxigênio singlete e remover oxigênio (XUE *et al.*, 2023).

Recentemente, tem-se discutido a capacidade desses antioxidantes de reduzir a atividade do *Quorum Sensing* (QS), um mecanismo de comunicação bacteriana que envolve a produção e difusão de pequenas moléculas químicas. Essas moléculas podem moldar o comportamento bacteriano em resposta ao ambiente, regulando a densidade populacional e influenciando a expressão gênica especializada em processos fisiológicos, como a diferenciação celular, o fluxo de nutrientes, a bioluminescência, a indução de fatores de virulência em patógenos de plantas e animais, a biossíntese de antibióticos e a formação de biofilmes (SCHAUDER & BASSLER, 2001; RUMJANEK *et al.*, 2004; AMMOR *et al.*, 2008; SOLA *et al.*, 2012). A utilização de alguns antioxidantes com atividade inibitória do QS pode diminuir a proliferação de microrganismos patogênicos (KAST *et al.*, 2018; HABIBA *et al.*, 2019).

Entre os mais utilizados, destaca-se o terc-butil-hidroquinona (TBHQ), amplamente empregado como aditivo alimentar devido aos seus efeitos antimicrobianos. Trata-se de um composto aromático com fórmula molecular ($C_{10}H_{14}O_2$), nome IUPAC 2-(1,1-dimetiletil) – 1,4-benzenodiol, este é amplamente utilizado nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (GARCÍA & ORTIZ, 2000; NAJAFIAN & BABJI, 2012; DE SOUZA *et al.*, 2021).

Ademais, o TBHQ é um composto derivado da quebra de cadeia, resultante da reação de mistura de álcool t-butílico e hidroquinona, que é separada do meio reacional por meio de éter etílico. Devido à alta atividade dos grupos hidroxila (-OH) nos anéis aromáticos do TBHQ, o grupo hidrogênio é doado, oxidando os radicais livres e impedindo sua contínua oxidação. Por exemplo, a presença de lipídios pode melhorar as propriedades do TBHQ devido ao grau de saturação desses compostos (LIU *et al.*, 2013; XU XIAOLAN *et al.*, 2019).

O TBHQ atua neutralizando radicais livres, inibindo as reações de oxidação que podem intensificar o processo de deterioração no alimento (BALRAM *et al.*, 2022). Este antioxidante fenólico, é frequentemente utilizado em produtos como óleos vegetais e gorduras animais, pois conserva os alimentos sem comprometer suas propriedades organolépticas, como sabor, odor e cor. Sua eficácia decorre de características como estabilidade química em baixas temperaturas, disponibilidade e baixo custo, contribuindo para prolongar a vida útil (PU *et al.*, 2018; KHEZERLOU *et al.*, 2022).

Ele é um pó cristalino, fino, branco, com leve odor aromático, insolúvel em água (menos de 1% a 25 °C) e solúvel em solventes orgânicos como etanol, acetona e acetato de etila (ZHANG *et al.*, 2015). Entretanto, Guo *et al.* (2017) demonstraram a recuperação do TBHQ incorporado em membranas de gelatina por meio de polifenóis do chá (TPs), indicando a diluição completa do TBHQ em gelatina, glicerol e água. Esses dados sugerem que os grupos hidroxila do glicerol, por sua alta afinidade com as moléculas de água, podem melhorar a solubilidade em água, facilitando também a solubilidade do TBHQ nessa solução (NORDIN *et al.*, 2020).

Amiri *et al.* (2023) descreveram que o TBHQ exibiu boa atividade antioxidante, eliminando radicais livres e demonstrando efeitos sinérgicos na inibição da proliferação de microrganismos patogênicos, auxiliando na prevenção da deterioração do pescado.

O Comitê Misto de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS, ligado à Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e à Organização Mundial da Saúde (OMS), estabelece limites máximos aceitáveis de concentração para o TBHQ. Isso ocorre porque a exposição humana depende das gorduras consumidas que contêm o TBHQ, sendo então importante para as necessidades energéticas, tendo como objetivo atingir um consumo médio de até 1,3 mg/kg de peso corporal (GHARAVI; HAGGARTY & S EL-KADI, 2007). Em consideração, o TBHQ é Autorizado como aditivo alimentar em vários países, incluindo o Brasil, com um limite máximo aceitável de 200 mg/kg de alimento (KHEZERLOU *et al.*, 2022).

3.3 Espécies marinhas

3.3.1 Cavala-verdadeira

A cavala possui nome *Scomberomorus cavalla* (CUVIER, 1829), conhecido por "*King mackerel*", ou mais popularmente no Brasil por "cavala-verdadeira", ou simplesmente cavala, é um peixe teleósteo, da família Scombridae, com uma distribuição, em sua grande parte, no Atlântico Ocidental, desde o Canadá, passando por Massachusetts (EUA) até o litoral de Santa Catarina (BR), e em partes do Oceano Atlântico na região Centro-Leste (LUBBOCK & EDWARDS, 1981; CARVALHO FILHO, 1992; ROMERO, 2002).

Do ponto de vista comercial, a captura dessa espécie a nível internacional nos EUA e no Golfo do México, para comercialização no local, ocorre desde a década de 1880. Entretanto, o aumento significativo na captura desses animais resultou em uma situação de sobrepesca a partir da década de 1970. Em resposta a essa problemática, medidas governamentais foram adotadas a partir de 1983, visando reverter a sobrepesca e assegurar a recuperação dos níveis satisfatórios da população dessas espécies para garantir uma produção pesqueira sustentável (SANTA BRÍGIDA *et al.*, 2007).

Já no âmbito nacional, a região Nordeste do Brasil foi líder na produção de *S. cavalla* e *Scomberomorus brasiliensis* por muitos anos. O Estado do Ceará, em particular, destacou-se com cerca de 41% do total de pescado desembarcado na década de 1980 (FONTELES-FILHO, 1988). Na região Nordeste, a exploração de *S. cavalla* ocorre principalmente entre janeiro e abril, com frotas artesanais operando próximo à costa, entre 20 e 200 metros. Alguns dados indicam uma biomassa média anual de 12.742 toneladas, com um rendimento médio de 3.307 toneladas por ano, sugerindo que a exploração está próxima do limite máximo tolerável (LESSA *et al.*, 2004; NÓBREGA & LESSA, 2009).

O Projeto de Apoio Técnico-Científico ao Desenvolvimento da Pesca de Atuns e Afins no Brasil – PROTUNA, responsável por fornecer informações para o desenvolvimento sustentável da pesca de atuns e afins no Brasil, afirma que a estimativa quantitativa de estoques baseada apenas na leitura de relatórios não é possível. Portanto, não há informações disponíveis sobre estoques, embora seja provável que tais diagnósticos existam nas instituições de pesquisa coordenadoras do projeto, abrangendo espécies como albacorinha, bonito cachorro, bonito pintado, dourado, serra e, inclusive, a cavala (BRASIL, 2022).

A distribuição diária de *S. cavalla* está relacionada à abundância local e disponibilidade de presas, influenciadas diretamente pelas condições oceanográficas locais e regionais, como a presença de fitoplâncton, zooplâncton e ictioplâncton. A cavala, assim como outros membros da família do atum e outras espécies, são oportunistas. Além desses fatores, características batimétricas, como montes submarinos, dispositivos de agregação de peixes e condições ambientais como salinidade, cor, oxigênio dissolvido e turbidez, também desempenham um papel significativo na distribuição da espécie (WALL; MULLER-KARGER & ROFFER, 2009).

3.3.2 Atum-amarelo

O atum-amarelo, *Thunnus albacares*, é uma espécie marinha epipelágica da família Scombridae, que habita águas tropicais e subtropicais nos oceanos Pacífico, Atlântico e Índico. Ela é amplamente valorizada comercialmente, sendo uma das espécies mais procuradas nos oceanos do mundo (SCHAEFER & FULLER, 2022). Os atuns-amarelos são ovíparos e não apresentam dimorfismo sexual externo, sendo grandes reprodutores com desenvolvimento assíncrono dos ovócitos (KUMAR & GHOSH, 2022).

Além disso, o atum-amarelo realiza grandes migrações, cobrindo quase todas as águas do mundo, o que aumenta a atividade pesqueira sobre essa espécie e torna seu estoque vulnerável ao declínio (DAMAYANTI *et al.*, 2023). Eles desempenham um papel crucial como predadores de topo nas cadeias alimentares marinhas. Por essa perspectiva, a intensa atividade pesqueira pode acarretar um impacto direto na estabilidade dos ecossistemas oceânicos em caso de colapso (ABDUSSAMAD *et al.*, 2024).

Diante disso, ressalta-se a relevância comercial dessa espécie, uma vez que a carne do atum-amarelo é altamente demandada, sendo a segunda espécie de atum mais consumida globalmente e a quarta mais capturada na atividade pesqueira (LE-ALVARADO *et al.*, 2021; PATTIPEILOHY; MONIHARAPON; SUPIT, 2024). No entanto, a produção em larga escala resulta em um aumento do desperdício durante o processamento, gerando uma quantidade significativa de resíduos (GAROFALO *et al.*, 2023).

A partir desses resíduos, é viável obter compostos como colágeno e gelatina. Conforme destacado por Nurilmala *et al.* (2020), os compostos provenientes da pele do atum-amarelo são de elevada qualidade e constituem uma excelente fonte de peptídeos antioxidantes, possibilitando a utilização desses resíduos como produtos de valor agregado em revestimentos de alimentos.

3.4 Análises de qualidade do pescado

O pescado possui características que o tornam atrativo ao consumo devido à sua variedade de proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas e minerais, tornando-o uma opção saudável para a alimentação humana.

Além disso, é considerado de fácil digestão e possui baixo teor de colesterol (TALAB *et al.*, 2023).

No entanto, essas características tornam o pescado mais suscetível à deterioração, principalmente por causa da ação de microrganismos presentes na microbiota natural do pescado. Esses microrganismos intensificam a degradação de proteínas e a oxidação lipídica, reduzindo a vida útil do produto. A atividade de água também pode contribuir para a liberação de aminas biogênicas por ação de microrganismos e a presença de ácidos graxos insaturados (PRABHAKAR *et al.*, 2020).

Apesar desses desafios, em condições adequadas de conservação, por exemplo, no congelamento, é possível preservar tais características do pescado. No entanto, o congelamento pode afetar a qualidade da carne devido à formação de cristais de gelo, que danificam a integridade celular, das mitocôndrias e dos lisossomos durante a retirada de água desses meios (LIU *et al.*, 2024).

Diante do exposto, há uma crescente busca por novas estratégias de conservação e tecnologias. O resfriamento do pescado tem se destacado como uma alternativa, pois o armazenamento refrigerado pode prevenir efeitos adversos do congelamento e descongelamento, que impactam negativamente na qualidade da carne, resultando em alterações sensoriais indesejáveis, como cristalização, oxidação lipídica e perda de proteínas (LI *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2019). Recentemente, Liu, Kai & Yang (2023) demonstraram que filmes produzidos a partir da extração de gelatina e quitosana de peixe apresentaram boas características de conservação quando aplicados nos filés de pomfret dourado (*Trachinotus blochii*) durante o armazenamento refrigerado.

Assim, a utilização de metodologias alternativas que promoverão a qualidade final do pescado associado aos métodos de refrigeração tem sido difundida com o intuito de reduzir os efeitos adversos do congelamento e descongelamento (HAN *et al.*, 2024).

A qualidade final do pescado é influenciada por diversos fatores, como os métodos de captura e abate, o transporte e o armazenamento, quando não feitas de forma controlada, podem intensificar os efeitos de deterioração no produto (KIM *et al.*, 2021). Afim de assegurar um produto final de qualidade, faz-se necessário cumprir o trinômio: tempo, temperatura e higiene. O controle rigoroso da temperatura durante o transporte e a garantia de condições adequadas de armazenamento, minimiza os

efeitos causados pelo tempo até a chegada ao local de comercialização ou processamento do pescado (BITA; SHARIFIAN, 2024).

Uma forma de monitorar a qualidade do pescado se dá através da utilização de análises laboratoriais que avaliam a qualidade do produto. A degradação de proteínas, a oxidação lipídica e a formação de aminas biogênicas são processos que ocorrem no pescado após o abate, devido à ação de microrganismos. Portanto, são conduzidas análises de pH, quantificação de bases voláteis nitrogenadas e do ácido tiobarbitúrico, este último utilizado para determinar o valor de oxidação da gordura no pescado (AN *et al.*, 2023).

O aumento do pH no processo de abate de peixes ocorre devido à glicólise anaeróbia, que é estimulada pela diminuição das moléculas de oxigênio durante o abate. Isso leva à formação de ácido pirúvico e ácido lático, resultando em uma redução do pH muscular. Durante o rigor mortis pleno, o ácido lático acumulado causa enrijecimento muscular. Na fase de pós-rigor, após o relaxamento muscular inicia a autólise, processo das próprias enzimas do pescado que promove a liberação de compostos que promovem o desenvolvimento bacteriano. Isso gera compostos de baixo peso molecular, como trimetilamina e amônia, causando odor desagradável e elevação do pH, devido às aminas biogênicas presentes (GONÇALVES, 2011).

A quantidade de gordura nos peixes pode variar dependendo de vários fatores, como a espécie, a época do ano, a dieta, a parte do corpo avaliada, entre outros. Além disso, não há uma distribuição uniforme da gordura por todo o corpo (GONÇALVES, 2011). A oxidação ocorre na presença de oxigênio e é catalisada por luz, calor, fotossensibilizadores, metais e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Esses fatores acabam por intensificar a deterioração oxidativa dos lipídeos, resultando na formação de peróxidos que são voláteis e se decompõem principalmente em aldeídos e cetonas. Esses compostos, por sua vez, causam alterações em diversas propriedades, especialmente as sensoriais, no músculo do peixe (OLIVEIRA; IAHNKE, 2022).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O material biológico utilizado nessa pesquisa, sendo as espécies *Thunnus albacares* e *Scomberomorus cavalla*, foi registrado na plataforma SISGEN do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) com o código A44958A.

4.1 Extração da Gelatina

A gelatina foi extraída da pele do atum, *Thunnus albacares*, resíduo obtido de uma indústria de pescado em Fortaleza, no estado do Ceará. A metodologia adotada para realizar a extração desse polissacarídeos foi de acordo com o Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) com adaptações (FOGAÇA *et al.*, 2009).

Previamente, realizou-se o pré-tratamento das peles do atum. As peles foram então lavadas com água corrente e trituradas em pequenos pedaços de formato quadrangular, para serem então adicionadas em um banho de solução contendo água destilada e 0,5% de NaCl por um período de 15 minutos. Após esse primeiro banho, repetiu-se o mesmo processo por mais 15 minutos, possibilitando a completa limpeza de detritos que possam ter ficado aderidos a pele.

Após a finalização do pré-tratamento, as peles foram colocadas em uma solução de ácido acético 0,2 M por um período de 45 minutos, em seguida, elas foram neutralizadas utilizando uma solução de NaOH 1 M. Após a neutralização, foi realizada a hidrólise ácida e alcalina das peles trituradas do atum.

Na hidrólise alcalina, as peles foram colocadas em agitação constante por 45 minutos e em temperatura ambiente em uma solução contendo NaOH 0,2 N na proporção de 1:3 (pele/água), decorrido o período, elas foram então neutralizadas com H₂SO₄ 1 M até chegar ao valor de pH 7,00. As peles foram então pesadas novamente antes da hidrólise ácida. No tratamento ácido, as peles também foram colocadas em agitação constante por 45 minutos em temperatura ambiente contendo a solução H₂SO₄ 0,2 N na proporção de 1:3 (pele/água), e após este período, elas foram neutralizadas com NaOH 1 M até alcançarem a faixa de pH 7,00. Finalizada as etapas de hidrólise, que causou a quebra das moléculas de colágeno, iniciou-se o processo de extração.

Na etapa de extração, adicionou-se água destilada na proporção de 1:5 (pele/água), sob agitação constante por um período de 2h em banho maria a uma temperatura de 45 °C. Decorrido as duas horas, realizou-se a filtragem da mistura com uma malha de filtragem. O material obtido foi colocado em pequenas bandejas de alumínio para realizar a liofilização do material e obtenção da gelatina. Em seguida, a pele foi moída até formar pequenos e leves pedaços e guardados para posteriores análises.

4.1.1 Cálculo de rendimento de gelatina a partir da pele do atum

O rendimento final de gelatina, foi calculado a partir da pesagem inicial das peles do atum antes de realizar o pré-tratamento para a extração com elas úmidas e previamente trituradas. A pesagem final foi feita após a liofilização da gelatina, com o seu peso seco de acordo com as metodologias abordas por Alfaro (2008) e Souza Filho *et al.* (2012), segundo a Equação 1.

$$\text{Rendimento da Gelatina} = \frac{\text{Peso seco final da gelatina}}{\text{Peso umido da pele triturada}} \times 100 \quad (1)$$

4.2 Composição centesimal da gelatina

4.2.1 Proteínas

Foi feita a quantificação do teor de proteínas utilizando o método Micro Kjeldahl seguindo a metodologia de Pearson *et al.* (1973) a fim de determinar a quantidade do nitrogênio total da amostra que é convertido em proteína total, a partir do aquecimento da amostra com ácido sulfúrico para digestão até que o carbono e hidrogênio sejam oxidados, e assim o nitrogênio da proteína seja reduzido e transformado em sulfato de amônia.

No processo foi feito a pesagem de 0,2000 g da amostra sobre papel manteiga. Essa amostra foi então transferida para um tubo de Kjeldahl, onde se adicionou 2 g de catalisador e 4 mL de ácido sulfúrico concentrado. O próximo passo envolve a digestão controlada no bloco digestor de Kjeldahl, começando suavemente a 150 °C e aumentando para 350 °C até que a cor escura desapareça, indicando a

conclusão da digestão. Posteriormente, a mistura foi transferida para o destilador de Kjeldahl, onde o tubo foi lavado utilizando-se água destilada. A neutralização foi realizada com NaOH a 50% (aproximadamente 10 mL), observando o aparecimento da cor escura do óxido de cobre formado. A destilação com arraste de vapor foi executada, com o destilado sendo coletado em um Erlenmeyer contendo 10 mL de solução de H₃BO₃ a 2% e 3 gotas de um indicador misto (Verde de Bromocresol e Vermelho de Metila).

O monitoramento da destilação é crucial, e a parada foi efetuada após 20 minutos do início do desprendimento de amônia, indicado pela viragem do indicador ou quando um volume de 50 mL é atingido. Um teste adicional com fenolftaleína papel pode ser realizado. A última etapa consiste na titulação do destilado com HCl 0,02 N ou 0,04 N padronizado até a completa neutralização. A porcentagem de proteínas a partir do teor de nitrogênio é calculada partir da Equação 2.

$$\% \text{ Nitrogênio} = \frac{(\text{Volume}_{\text{HCl}} - \text{Volume}_{\text{Branco}}) \times 0,014 \times 0,04 \times f_{\text{HCl}}}{\text{Peso da amostra}} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ Proteína Total} = \% \text{ Nitrogênio} \times 6,25$$

4.2.2 Lipídios

A determinação dos lipídios totais foi realizada por meio da extração com solvente orgânico, a acetona, utilizando o Método de Soxhlet (1879) com modificações. Primeiramente, os tubos utilizados nesse processo foram enumerados e pesados individualmente. Após, uma quantidade de 3 g da amostra foi cuidadosamente pesada e acondicionada em cartuchos. Esses cartuchos, contendo a amostra, foram colocados no balão do extrator de Soxhlet. Em seguida foi realizada a adição de acetona nos tubos, seguida pela ativação do sistema de água do condensador e a ligação do aparelho.

Durante o período de 2 horas, a extração ocorreu a uma temperatura de 90 °C, com gotejamento por 30 minutos. Posteriormente, a acetona foi recuperada a uma temperatura de 150 °C. Após a conclusão do processo, os balões foram deixados em temperatura ambiente até esfriarem completamente e, em seguida, foram pesados

para determinar a quantidade de lipídios totais extraídos. Utilizou-se então a Equação 3 para realizar a quantificação do teor total de lipídios da gelatina.

$$\% \text{ Lipídeos} = \frac{\text{Peso do balão com gordura} - \text{Peso do balão vazio seco}}{\text{Peso da amostra}} \times 100 \quad (3)$$

4.2.3 Umidade

Para realizar a quantificação do teor de umidade da gelatina, utilizou-se o método gravimétrico, de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC) de Horwitz & Latimer (2000) com adaptações, no qual as amostras foram devidamente homogeneizadas e secas até atingirem um peso constante em estufa, mantendo uma temperatura entre 100 – 105 °C. Para isso, primeiro passo foi a preparação dos cadinhos de porcelana, os quais foram previamente limpos e colocados em estufa 24 h antes da análise de umidade. Esses cadinhos foram pesados secos e adicionou-se uma amostra de aproximadamente 3 g de gelatina, para que então fossem colocados na estufa, mantida a uma temperatura de 100 a 105 °C, por um período de 18 h.

Após esse período, os cadinhos foram transferidos para um dessecador, permitindo que esfriassem adequadamente para que fosse feita a pesagem novamente desse material após a saída da estufa. O teor de umidade das amostras de gelatina foi calculado utilizando a Equação 4.

$$\% U = \frac{P_{\text{cadinho com amostra}} - P_{\text{cadinho com amostras pós secagem}}}{P_{\text{cadinho com amostra}} - P_{\text{cadinho seco}}} \times 100 \quad (4)$$

4.2.4 Cinzas

O teor de cinzas em uma amostra é avaliado através da quantidade de minerais presentes. Utilizou-se o método gravimétrico, de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC) de Horwitz & Latimer (2000) com adaptações, no qual foram utilizados os mesmos cadinhos empregados na determinação da umidade. Esses cadinhos foram inseridos em um forno mufla, onde a temperatura é mantida a 550 °C. A amostra foi aquecida neste ambiente por um período de 4 horas.

Posteriormente, os cadinhos, agora contendo a amostra processada, foram transferidos do forno mufla para um dessecador no dia seguinte para que pudessem terminar de esfriar. Esperou-se até que todos estivessem completamente resfriados para proceder com a pesagem. Para determinar o teor de cinzas utilizou-se a Equação 5.

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{P_{\text{cadinho com cinzas}} - P_{\text{cadinho}}}{P_{\text{cadinho com amostra pós secagem}} - P_{\text{cadinho}}} \times 100 \quad (5)$$

4.3 Caracterização da gelatina

4.3.1 Determinação da força de gel

O teste de resistência da força de gel foi executado no laboratório de Laboratório de Tecnologia de Biomassa da EMBRAPA Agroindústria Tropical, utilizando um texturômetro, da marca Stable Micro System TA-XT2i. Um cilindro com diâmetro de 12,70 mm é utilizada para determinar a força necessária para que ele penetre até uma profundidade de 4 mm em gel de gelatina na concentração de 6,67%. A amostra foi congelada 24 h antes e permaneceu em temperatura ambiente por aproximadamente 1h antes da realização da análise. Foi seguido a metodologia descrita pelo Instituto de Fabricantes de Gelatina dos Estados Unidos (GMIA, 2013).

4.3.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise calorimétrica diferencial foi conduzida com o equipamento TA INSTRUMENT (Q20) em atmosfera de nitrogênio, mantendo uma vazão constante de 50 mL min⁻¹. Adicionou-se uma quantidade de 2,1 mg do pó da amostra foi submetida a um aquecimento a uma taxa de 10 °C min⁻¹, com uma variação da faixa de temperatura de 0 a 200 °C.

4.3.3 Análise de espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FT-IR)

A análise FT-IR foi conduzida empregando o método KBr, utilizando-se a amostra, seca e em pó, prensada em pequenos tamanhos na EMBRAPA

Agroindústria Tropical, utilizando-se um espectrofotômetro Varian (modelo FT-IR) com comprimento de onda na faixa de 500 a 4000 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} , conforme descrito por Muyonga *et al.* (2004) em metodologia aplicada também por Martins *et al.* (2018) com adaptações.

4.3.3 Análise de cor

As cores dos filmes foram analisadas utilizando um Colorímetro Digital (Konica Minolta Chroma metre CR-400). Este dispositivo foi utilizado para medir as coordenadas de cor dos filmes, conforme o sistema CIELab (L^* , a^* e b^*). O sensor de refletância da amostra foi empregado para avaliar diversos aspectos: luminosidade (L^*), tonalidades de vermelho (+ a^*) ou verde (- a^*), e tonalidades de amarelo (+ b^*) ou azul (- b^*). Dez medições foram realizadas em diferentes pontos e em amostras distintas, todas provenientes de uma mesma extração de gelatina.

4.4 Análises antioxidantes

4.4.1 Preparo das soluções filmogênicas

Foram preparadas quatro soluções filmogênicas para avaliar qual delas teria a melhor ação antioxidante. Para as quatro soluções utilizou-se uma concentração de 1% de gelatina, correspondente a 0,5 g, diluída em 50 mL de água destilada. A solução controle era constituída apenas por gelatina. As outras três correspondiam as concentrações diferentes do TBHQ, sendo elas de 0,01% (5 mg), 0,02% (10 mg) e 0,03% (15 mg).

4.4.2 Determinação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT)

Os compostos fenólicos totais (CFT) foram determinados pelo método de Singleton e Rossi Jr (1965), descrito por Ainsworth e Gillespie (2007) e Agbor, Vinson e Donnelly (2014). Alíquotas de 100 μL das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%, foram misturadas com 200 μL do Folin-Ciocalteu a 10% e 800 μL de carbonato de sódio a 7,5%. Depois de 2 h de incubação à temperatura ambiente, 200 μL da mistura reacional foram transferidos para

microplacas de poliestireno de 96 poços, e as absorbâncias monitoradas a 765 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340). Um branco foi preparado com 100 µL de MeOH a 95%, em substituição as amostras de gelatina, e os demais reagentes.

Os resultados dos teores de CFT das amostras de gelatina, foram apresentados como média \pm desvio padrão, e calculados com base na curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 e 200 µg/mL, e expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por mililitros (mL) de amostra de gelatina.

4.4.3 Determinação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF)

A quantificação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) foi baseada nos métodos de Ahn *et al.* (2007), Miguel *et al.* (2014) e Pekal e Pyrzynska (2014).

Em microplacas de poliestireno de 96 poços, a 100 µL das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%, foram adicionados 100 µL de cloreto de alumínio a 2% em etanol. Depois de 1 h de incubação à temperatura ambiente, as absorbâncias foram monitoradas em 425 nm em leitora Biochrom Asys UVM 340. Um branco foi preparado com 100 µL de MeOH a 95%, em substituição as amostras de gelatina.

Os resultados de TF das amostras foram apresentados como média \pm desvio padrão e expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (mg EQ) por mililitros (mL) da amostra, tendo em vista a curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 e 200 µg/mL.

4.4.4 Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

4.4.4.1 Capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

A capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi determinada de acordo com a metodologia de Blois (1958), descrita por Duan *et al.* (2006) e Kato *et al.* (2016), com algumas modificações.

Nos poços denominados amostra, foram adicionados, separadamente, 10 μL das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% e 190 μL da solução metanólica de DPPH (D9132, Sigma) a 78 μM . Nos poços denominados brancos da amostra foram colocados 10 μL das soluções de gelatina e 190 μL de metanol. Nos poços denominados controle negativo ou controle da amostra foram adicionados 190 μL da solução metanólica de DPPH a 78 μM e 10 μL de metanol.

O *L*-ácido ascórbico (A5960, Sigma), um flavonoide natural, foi utilizado como controle positivo, nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000 e 2.000 $\mu\text{g/mL}$, sendo tratado de forma idêntica às soluções de gelatina.

As microplacas de poliestireno de 96 poços denominados amostra, branco da amostra, controle negativo e controle positivo foram incubadas à temperatura ambiente por 30 min no escuro. Em seguida, as absorbâncias foram monitoradas a 517 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340). A capacidade de sequestro do radical DPPH das amostras de gelatina e controle positivo, expressa em porcentagem, foi calculada pela Equação 6, e apresentada como média \pm desvio padrão, em duas casas decimais.

$$DPPH (\%) = \frac{[Abs_{CONTROLE NEGATIVO} - (Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO})]}{Abs_{CONTROLE NEGATIVO}} \times 100\% \quad (6)$$

4.4.4.2 Poder de quelação de íons ferrosos (FIC)

A determinação do poder de quelação de íons ferrosos (FIC) foi baseada em Decker e Welch (1990) e descrita por Wang, Jónsdóttir e Ólafsdóttir (2009).

Nos tubos denominados amostra, contendo, separadamente, 100 μL das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%, foram adicionados 135 μL de água destilada, 5 μL de cloreto ferroso (FeCl_2) a 2 mM e 10 μL de ferrozina a 5 mM. Nos tubos denominados brancos da amostra, a ferrozina foi substituída por água destilada, enquanto nos tubos denominados controle negativo ou controle da amostra, o volume das soluções de gelatina foi substituído por água destilada.

Como controle positivo foi utilizado o sal dissódico etilenodiamino tetraacético (EDTA) ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – E5134, Sigma), nas concentrações 50, 100,

250, 500, 1.000 e 2.000 µg/mL, sendo tratado de forma idêntica às soluções de gelatina.

Todos os tubos (amostra, branco da amostra, controle negativo e controle positivo) foram incubados por 10 min à temperatura ambiente, e as absorvâncias monitoradas a 562 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340).

O poder de quelação de íons ferrosos (FIC) das soluções de gelatina e do controle positivo, expresso em porcentagem, foi calculado pela Equação 7, sendo apresentado como média ± desvio padrão, em duas casas decimais.

$$FIC (\%) = \frac{[Abs_{CONTROLE NEGATIVO} - (Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO})]}{Abs_{CONTROLE NEGATIVO}} \times 100\% \quad (7)$$

4.4.4.3 Poder de redução de íons férricos (FRAP)

O poder de redução de íons férricos (FRAP) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Khatua, Roy e Acharya (2013). Aos tubos contendo 100 µL das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% foram adicionados 250 µL de tampão fosfato a 0,2 M (pH 6,6) e 250 µL de ferricianeto de potássio a 1%. Os tubos foram incubados em banho-maria a 50 °C por 20 min, onde a reação se processou.

Após incubação e resfriamento dos tubos, a reação foi interrompida pela adição de 250 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 10%, sob vigorosa agitação. Os tubos foram centrifugados a 9.280 x g por 5 min. Em seguida, 250 µL da camada superior da mistura reacional foram retirados e transferidos para tubos limpos, aos quais foram adicionados 250 µL de água destilada e 50 µL de cloreto férrico (FeCl₃) a 0,1%. Os tubos foram agitados e, deles retiradas alíquotas de 200 µL, as quais foram transferidas para microplacas de poliestireno de 96 poços. As absorvâncias foram monitoradas a 700 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340).

Como controle positivo foi utilizado butil hidroxianisol (BHA, B1253, Sigma), nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000 e 2.000 µg/mL, sendo tratados de forma idêntica às soluções de gelatina. Os resultados do FRAP foram apresentados em três casas decimais, porque corresponderam às leituras das absorvâncias em 700 nm, geradas pela leitora utilizada neste trabalho (Biochrom Asys, modelo UVM 340).

Quanto maior a absorvância das soluções de gelatina e do controle positivo, maior o poder de redução de íons férricos (FRAP).

4.4.4.4 Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB)

A atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%, foi determinada em microplacas de poliestireno de 96 poços, usando-se o sistema β -caroteno e ácido linoleico (DUAN *et al.*, 2006).

Inicialmente, uma alíquota de 4 mL de uma solução de β -caroteno (C9750, Sigma), preparada em clorofórmio na concentração de 1 mg/mL, foi transferida para um balão contendo 40 mg de ácido linoleico (L1376, Sigma) e 400 mg de Tween 40 (P1504, Sigma). Em outro balão, foram colocados 4 mL de clorofórmio, 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween 40.

O clorofórmio foi evaporado de ambos os balões em rotaevaporador (Fisatom, modelo 802) sob pressão e, em seguida, 100 mL de água destilada saturada de oxigênio foram adicionados lentamente ao resíduo semissólido, sob vigorosa agitação por 1 min até a formação de uma emulsão estável. A primeira foi denominada emulsão com β -caroteno (EC β), e a segunda, emulsão sem β -caroteno (ES β), que foi utilizada no branco da amostra.

Nas microplacas foram preparados poços denominados amostra (50 μ L das soluções de gelatina + 200 μ L da EC β), branco da amostra (50 μ L das soluções de gelatina + 200 μ L da ES β) e controle negativo (50 μ L de MeOH + 200 μ L de EC β).

As microplacas foram deixadas sobre a bancada, à temperatura ambiente (20 a 23 °C), e as absorvâncias foram monitoradas a 470 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340) no tempo inicial (0 min) e em intervalos de 30 min, até completar 300 min (tempo final).

O L-ácido ascórbico (A5960, Sigma), nas concentrações de 50, 100, 250, 500, 1.000 e 2.000 μ g/mL foi utilizado como controle positivo, sendo tratado de forma idêntica às soluções de gelatina.

A atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), ou seja, a atividade de proteção sobre o β -caroteno, das soluções de gelatina e do controle positivo, foi calculada pela Equação 8 (DHONGADE; CHANDEWAR, 2013), e os

resultados, expressos em porcentagem, foram apresentados como média \pm desvio padrão, em duas casas decimais.

$$BCB (\%) = \left(\frac{Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO \text{ tempo final}}}{Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO \text{ tempo inicial}}} \right) \times 100\% \quad (8)$$

4.5 Aspersão da solução filomgênica nas postas de cavala-verdadeira

A espécie escolhida para realizar o teste com a gelatina extraída da pele do atum, foi a cavala-verdadeira, *Scomberomorus cavalla*, ela foi adquirida em um ponto local de comercialização da cidade de Fortaleza, com proximidade ao Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE) da Universidade Federal do Ceará, os espécimes estavam em um estado de frescor e foram abatidas no dia em que foram comercializadas. Elas foram acondicionadas previamente já cortadas em postas em uma caixa térmica com gelo em escamas até a chegada ao laboratório onde seriam preparadas para aspersão de solução contendo gelatina, glicerol e Terc-butil-hidroquinona (TBHQ).

Logo chegando ao laboratório foi realizada a preparação da solução para realizar a aspersão. A solução continha uma concentração de 1% de gelatina, 0,5% de glicerol e 0,03% de TBHQ em 2000 mL de água destilada previamente autoclavada. A solução permaneceu em agitação constante até a sua completa diluição próximo ao bico de Bunsen para garantir a total esterilidade da solução. Após o período ela foi colocada em capela de fluxo laminar (Pachane modelo Pa40) e submetida à esterilização em Luz ultravioleta por um período de 30 minutos.

Finalizada a solução, ela foi colocada em um borrifador para realizar a aspersão nas postas de cavala. Foram então feitos dois tratamentos diferentes, no primeiro houve o revestimento das postas, no qual foram colocadas individualmente em cima de uma grelha de aço inoxidável com aberturas, de modo que o líquido remanescente possa escorrer evitando assim o acúmulo da solução. No segundo tratamento, não houve o revestimento, elas foram apenas acondicionadas em embalagens plásticas servindo como tratamento controle. Em seguida, elas foram acondicionadas em embalagens plásticas previamente pesadas e etiquetadas para cada dia de avaliação da qualidade do pescado e armazenadas em um Conservador

Vertical SLIM Tripla Ação modelo VCET 284 C da marca FRICON a uma temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,8$ por 20 dias.

4.6 Avaliação da qualidade do pescado

As análises foram feitas a cada 3 dias, iniciando a partir do primeiro dia. Logo, ao total, foram realizadas 7 análises, no qual correspondiam aos dias 1 (análise 1), 4 (análise 2), 7 (análise 3), 10 (análise 4), 13 (análise 5), 16 (análise 6) e 20 (análise 7).

4.6.1 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (N-BVT)

Para a análise de N-BVT, seguiu-se a metodologia descrita por Fogaça *et al.* (2009) no Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), o procedimento foi realizado pesando 200 g da amostra, seguido pela maceração e adição de 400 mL de solução aquosa de ácido tricloroacético (TCA) a 7,5% (v/v). O homogeneizado resultante, juntamente com o líquido sobrenadante, é filtrado através de papel de filtro Whatman.

Na etapa posterior, adicionou-se 25 mL da amostra homogeneizada em um tubo de destilação, acrescido de 5 mL de solução aquosa de NaOH a 10% (p/v). Logo após, foi realizada a destilação a vapor, utilizando um destilador de nitrogênio da Tecnal Equipamentos Científicos modelo TE-036/1, coletando 40 mL do destilado em um béquer contendo 10 mL de solução aquosa de ácido bórico a 4% (v/v) e 0,04 mL de vermelho de metila + verde de bromocresol (indicador).

Recolheu-se o destilado até a cor da solução de ácido bórico passar de rosa para verde-alaranjado durante a destilação. Posteriormente, realiza-se a titulação com ácido sulfúrico (0,1 N) até a completa neutralização e o surgimento da coloração rosada. Os valores de N-BVT foram então calculados a partir do volume de ácido sulfúrico (0,1 N) utilizado na titulação, multiplicado por 16,8.

O resultado foi expresso em miligramas de nitrogênio por 100 g de amostra. Este método proporciona uma avaliação precisa dos compostos nitrogenados voláteis na amostra em estudo, sendo uma técnica relevante em análises laboratoriais para garantir a qualidade e segurança de produtos alimentícios. Utilizou-se a Equação 9.

$$\text{Valor de N – BVT} = \frac{n \times 16,8 \text{ mg nitrogênio}}{100 \text{ g do pescado}} \quad (9)$$

4.6.2 Nitrogênio da Trimetilamina (N-TMA)

A determinação da quantificação de nitrogênio da trimetilamina (N-TMA) segue o mesmo procedimento utilizado para o N-BVT, com uma única modificação, acrescentando 20 mL de formaldeído a 16% (v/v) nos 25 mL da amostra homogeneizada adicionadas em tubo de destilação. Após a destilação a vapor, o material destilado foi coletado em um béquer contendo solução aquosa de ácido bórico, e a titulação com ácido sulfúrico (0,1 N) até a completa neutralização e a observação da mudança de coloração para um tom rosada.

Essa adição de formaldeído desempenha um papel crucial, pois tem a finalidade de bloquear tanto as aminas primárias quanto as secundárias, permitindo a reação apenas com as aminas terciárias presentes na amostra. Esse bloqueio seletivo é essencial para garantir uma análise precisa e específica das aminas terciárias, como a trimetilamina, sem interferências de outras aminas. Utilizou-se a Equação 10 para quantificar o valor de N-TMA.

$$\text{Valor de N – TMA} = \frac{n \times 16,8 \text{ mg nitrogênio}}{100 \text{ g do pescado}} \quad (10)$$

4.6.3 Oxidação Lipídica (avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – SRATB)

A análise de oxidação lipídica foi feita seguindo metodologia descrita por Fogaça *et al.* (2009) no Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) com adaptações, a partir da pesagem de 10 g da amostra, que foi posteriormente macerada para facilitar a extração de componentes lipídicos. Em seguida, foram adicionados 50 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 7,5% à amostra macerada, promovendo a extração eficiente dos lipídios. A etapa subsequente envolve a filtragem da mistura em papel de filtro qualitativo, com o filtrado sendo coletado em um balão volumétrico de 50 mL.

Para a análise da oxidação, foram preparados tubos de cultura contendo 5 mL do filtrado, aos quais são adicionados 5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,02

M. Esses tubos foram agitados mecanicamente e replicados em triplicata. A calibração do espectrofotômetro foi realizada por meio de brancos, utilizando 5 mL da amostra filtrada e 5 mL de água destilada. Os tubos preparados foram então submetidos a um banho maria microprocessado modelo Q215M da Quimis Aparelhos Científicos fervente, aquecendo a 90 °C por 10 minutos para estimular a reação de oxidação.

Após esse processo, os tubos foram resfriados rapidamente em água com gelo, interrompendo a reação. A leitura dos tubos foi efetuada em um espectrofotômetro do modelo IL-592 da marca Kasuaki com um comprimento de onda de 532 nm, permitindo a avaliação da intensidade da cor gerada pela reação de oxidação. Essa abordagem rigorosa proporciona dados confiáveis e comparáveis, essenciais para compreender o grau de oxidação dos lipídios na amostra em análise. Para quantificação da oxidação, é essencial determinar uma equação utilizando uma curva padrão previamente estabelecida e aplica-la na Equação 11.

$$SRATB = \frac{ABS - 0,032 \text{ mg/Kg}}{0,0789} \quad (11)$$

4.6.4 Análise de pH

A análise de pH das amostras foi feita a partir da metodologia descrita por Fogaça *et al.* (2009) no Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) com adaptações. Iniciou-se com a pesagem precisa de 5 g, visando uma quantificação adequada dos componentes desejados. Posteriormente, a amostra foi submetida à maceração, utilizando um gral e pistilo para garantir a obtenção de uma textura homogênea. Com o intuito de promover a diluição da amostra macerada e facilitar a homogeneização, adicionou-se 50 mL de água destilada ao produto macerado.

O processo de homogeneização é essencial para assegurar a distribuição uniforme dos componentes na solução. Por último é feito a aferição do valor de pH das 9 amostras que foram preparadas, utilizando um medidor de pH calibrado, garantindo resultados precisos e confiáveis. Ao seguir esses passos, é possível obter uma preparação adequada da amostra para análises subsequentes, permitindo uma avaliação mais detalhada de suas propriedades químicas.

4.6.5 Análise microbiológica

Inicialmente, 25 g de músculo foram pesados e macerados, em seguida, homogeneizados em 225 mL de solução salina a 0,85% de NaCl, resultando em uma diluição de 10^{-1} . A partir dessa mistura, foi realizada uma nova diluição, retirando-se 1 mL e diluindo-o em 9 mL de solução salina 0,85%, correspondendo à diluição 10^{-2} . Esse padrão de diluição foi mantido até alcançar a diluição 10^{-5} . Os tubos de cada diluição do músculo foram homogeneizados com um agitador automático por aproximadamente cinco segundos (modelo QL-901).

Em seguida, foi retirada uma alíquota de 1 mL de cada diluição e adicionada em placas de Petri, em duplicata, contendo aproximadamente 15 mL de Agar Padrão para Contagem (PCA) (Merck, Alemanha), utilizando o método de incorporação em placas (*pour plate*). Após a inoculação, as placas foram deixadas em repouso por cerca de 20 minutos e então invertidas e colocadas em uma estufa de incubação do tipo DBO a 7 °C por até 10 dias para a contagem de bactérias psicrótróficas (modelo Q 315M26, QUIMIS, Brasil).

Foi determinado o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), para o cálculo da Contagem Padrão em Placas (CPP), selecionando as placas com crescimento entre 25 e 250 UFC. Os resultados foram expressos em UFC/g de músculo e os dados microbiológicos foram transformados em logaritmos do número de unidades formadoras de colônias como na Equação 12 (log UFC/g) (DOWNES & ITO, 2001).

$$\text{CPP} = \text{UFC} \times \text{inverso do fator de diluição} \quad (12)$$

4.7 Análise estatística

A análise estatística foi feita com base nos resultados obtidos a partir das análises de ambos os tratamentos utilizando-se o *software* Jamovi (R), versão 2.5.6, aplicando o teste de Shapiro-Wilk para testar a normalidade dos valores e o teste de Levene, para averiguar a homogeneidade dos dados. Em seguida, utilizou-se o *software* BioEstat 5.3, no qual os valores foram submetidos ao teste t de Student para verificar se houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os

tratamentos, e em caso de diferença foi utilizado análise de variância unifatorial ou teste de Tukey para averiguar as diferenças entre as amostras ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento da extração da gelatina a partir da pele do atum (*Thunnus albacares*)

O rendimento obtido a partir das extrações foi correspondente a 11,66%. Esse valor é relevante, pois há uma variabilidade das metodologias utilizadas na extração desse subproduto. Ningrum *et al.* (2020) realizou a extração utilizando-se a pele do atum (*T. albacares*) a partir do tratamento com ácido acético por um dia, seguido da neutralização com água e lavagem, e posterior desnaturação térmica em água destilada a uma temperatura entre 40 e 80 °C por várias horas, encontrando um rendimento de 6,29%.

Já Nurilmala *et al.* (2020), obteve a gelatina a partir da imersão da pele do atum (*T. albacares*) em uma solução de ácido cítrico por 12 horas, seguindo de uma lavagem com água destilada e extraída a 65 °C por 7 horas, seguida de filtração com pano de chita e algodão. O filtrado foi seco em um evaporador a vácuo a 60 °C por 50 minutos, obtendo-se um rendimento final de 19,97%.

O rendimento como já mencionado é fator condicionante a metodologia aplicada na extração da gelatina, pois isso reflete diretamente na importância desse método dentro da indústria de beneficiamento, uma vez que, um nível adequado de extração pode revelar a eficiência desse método e a sua real aplicação como base tecnológica para a formulação de novos alimentos (NINGRUM *et al.*, 2020; NURILMALA *et al.*, 2020).

Usando a pele de outros peixes, como a Tilápia do Nilo, por exemplo, obteve-se um percentual de 7,95%, segundo Asiamah *et al.* (2024). Da Silva *et al.* (2024) obteve o rendimento da extração de gelatina a partir de peles de pescada (*Cynoscion acoupa*) de 18,00%. Já Yu *et al.* (2024) avaliaram seis diferentes processos de extração de gelatina (método de salga a seco, salga úmida, ácido, de calor, de pepsina e de tripsina) a partir da pele do peixe cabeça de cobra e tubarão, no qual obtiveram valores que variaram entre 21,80% a 40,70%.

Tais resultados demonstram que diversos fatores, como as metodologias de obtenção da gelatina, os períodos de cultivo em diferentes estações e a espécie utilizada no processo de extração podem interferir no rendimento. Dessa forma, a excelência da gelatina está diretamente ligada às suas fontes e ao processo de

extração. O colágeno é parcialmente hidrolisado por meio de ácidos, bases ou enzimas para obter a gelatina, e além disso, a identificação e o rendimento da gelatina proveniente de peixes apresenta desafios devido à diversidade de espécies a fim de se ter um comparativo entre os valores obtidos (HASSAN *et al.*, 2023).

5.2 Composição Centesimal

Na Tabela 1 apresenta a análise de composição centesimal da gelatina obtida a partir da pele do atum. Os valores indicam uma presença significativa de teor de proteínas, sugerindo que se trata de um alimento com elevado conteúdo proteico, com um valor de 95,38%. Uma grande parte da ingestão proteica dos seres humanos provém de alimentos de origem animal. Dados destacam que uma ingestão inferior a 120 g pode não ser adequada para atingir o consumo ideal de proteínas para o corpo humano. Portanto, uma proporção de fornecimento de energia proteica inferior a 12,1% não é suficiente para atender às necessidades energéticas proteicas e das funções vitais do corpo humano (ZHENG *et al.*, 2024).

Tabela 1 – Composição centesimal da gelatina extraída a partir da pele do atum (*Thunnus Albacares*).

Composição centesimal			
Proteínas (%)	Umidade (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)
95,38 ± 0,38	5,59 ± 0,15	0,92 ± 0,10	0,41 ± 0,01

Fonte: Autor (2024).

Karayannakidis & Zotos (2015) encontraram os seguintes valores de composição centesimal para a gelatina extraída da pele do atum: umidade 11,21%, cinzas 1,35%, lipídios 0,04% e de proteínas 85,34%. Esses valores revelam fatores positivos quanto aos teores encontrados nesse trabalho em relação na extração da gelatina. O alto teor de umidade pode acarretar problemas, pois alimentos que apresentam um alto teor de água podem ser facilmente deteriorados pela ação de bactérias deteriorantes, que podem alterar a qualidade final do produto (HAUTRIVE, 2021).

Outro fator de comparação, associa-se a quantidade do teor de lipídios presente na amostra de gelatina. O teor de lipídios encontrado foi de 0,92%, esse valor corrobora com a ideia de que essa gelatina possa ser um alimento com um

tempo de prateleira maior, afinal, menores concentrações de lipídios são benéficas aos alimentos pois ocorre uma diminuição da oxidação. Assim, a oxidação lipídica pode acabar resultando também na oxidação das proteínas, pois as hidroxilas geradas durante o processo de oxidação capturam íons de hidrogênio das proteínas, desencadeando reações em cadeia de radicais livres. Conseqüentemente, a presença de lipídios oxidados e seus derivados pode levar à oxidação das cadeias laterais de aminoácidos nas proteínas alterando a composição e qualidade desse alimento (WANG *et al.*, 2024).

Por fim, destaca-se o teor de cinzas presentes, o valor encontrado corresponde a 0,41%, ou seja, em 100 g de alimentos o valor de cinzas corresponde a 0,41 g do alimento. De acordo com dados da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA) o valor máximo de cinzas aceitável em amostras de gelatina em pó deve ser de 0,64 g, corroborando que os valores encontrados estão de acordo (TBCA, 2024). Valores de cinzas acima do permitido em qualquer produto podem resultar em um déficit no valor nutricional final do alimento, o que, por conseguinte, pode acarretar uma insegurança do alimento. Visto que, as Tabelas de composição dos alimentos têm um papel essencial no monitoramento do controle de qualidade dos alimentos do ponto de vista nutricional e na análise da ingestão de nutrientes (MOREIRA *et al.*, 2021).

Em comparação a utilização de outras peles de peixes, Khushboo *et al.* (2023) obteve uma composição centesimal da gelatina extraída da pele da dourada japonesa (*Nemipterus japonicus*) com valores de umidade de 4,80%, cinzas de 2,56%, proteínas de 92,06% e lipídios de 0,13%. Em outra pesquisa de Renuka *et al.* (2019), a gelatina da pele do peixe jaqueta de couro unicórnio (*Aluterus monoceros*) extraída em três diferentes temperaturas de secagem em forno tinham em média 88% de proteína, 0,18–0,29% de gordura e 0,60–0,71% de cinzas, enquanto que a gelatina de pele da garoupa-de-bochecha-afiada (*Epinephelus diacanthus*) tinha 87% de proteína, 0,23–0,31% de gordura e 0,69–0,73 cinzas.

Em estudos mais recentes de gelatina extraída de pele de cangulo-de-láblio-preto ou peixe-porco-titã (*Balistoides viridescens*), a partir da influência de diferentes doses de MTGase na resistência do gel da gelatina extraída utilizando um analisador de textura, obteve-se valores de 7,4% de umidade, 0,2% de cinzas, 92,2% de proteínas e 0,2% de lipídeos, demonstrando significativamente que os valores são superiores a amostras de gelatina bovina, principalmente em relação ao teor de

umidade (10,8%) e proteínas (88,2%) (AHMAD *et al.*, 2024). Além disso, já que o principal componente da gelatina é a proteína, pesquisas demonstram que teor de proteína da gelatina de pele de frango extraída por OH ou método convencional pode variar entre 81,55% e 86,77%, reforçando ainda os dados que a gelatina obtida da pele do atum apresentam valor significativamente maior (IŞIK *et al.*, 2024).

Os valores encontrados nesse trabalho demonstraram um ponto positivo em relação a composição centesimal da gelatina extraída a partir da pele do atum (*T. albacares*). Foi possível obter valores superiores aos encontrados em outras amostras de gelatina extraída de diferentes peles de peixes mencionadas na literatura, demonstrando a eficiência da gelatina obtida a partir da pele do atum (*T. albacares*) quando comparada as demais gelatinas obtidas de outras fontes de proteína animal. O teor de proteínas foi especialmente elevado em comparação com as referências, indicando que a gelatina é consideravelmente rica em proteínas, sendo considerada um hidrocoloide com capacidade de fornecer proteína de fácil digestão e ser uma fonte de aminoácidos essenciais (YANG *et al.*, 2022).

5.3 Caracterização da gelatina

5.3.1 Força de gel

O resultado de força de gel obtido a partir da força que incide sobre o gel formulado até uma profundidade de 4 mm foi de 236,8 g \pm 24,7 g Bloom. Os valores mínimos e máximos encontrados foram respectivamente de 208,8 g Bloom e 292,2 g Bloom. A importância da força do gel está nas propriedades mecânicas e no seu papel protetor para alimentos. A elevação da temperatura pode induzir uma transição para um estado mais sólido, facilitando a interação hidrodinâmica entre as moléculas de gelatina. Isso possibilita a criação de películas gelatinosas mais resistentes e estáveis, fundamentais para a preservação de alimentos. Além disso, essa força é crucial nas indústrias de produtos de beleza e farmacêutica (ZHANG *et al.*, 2020; QIAO *et al.*, 2021).

Mafazah, Pranoto & Rohman (2018) em diferentes condições de tratamento de concentração alcalina (NaOH) combinada com vários tempos de tratamento na extração de gelatina da pele do atum (*Thunnus albacares*), o maior valor obtido foi de 291,73 g Bloom para força de gel, correspondente ao tratamento com concentração

de 0,01 M de NaOH por 12 h, enquanto o menor foi de enquanto o menor foi de 123,15 g Bloom no tratamento de 0,05 M de NaOH por 24 h. Esses valores expressam uma média aproximada de 207,44 g Bloom, além desse o trabalho traz outros valores um pouco acima dessa média.

Dessa forma, pode-se salientar que o valor de 236,6 g Bloom representa uma média satisfatória em comparação ao trabalho que avaliou a força de gel da gelatina extraída da pele do atum. Isso revela uma importância significativa em relação aos métodos de extração, visto que, a extração utilizada nesse trabalho consistia em um tratamento ácido e alcalino em comparação ao que utilizou apenas o tratamento alcalino, além é claro do tempo e temperatura para realizar a extração, em um período de 2 h à uma temperatura de 45 °C, em contrapartida do outro trabalho que utilizou um tempo de 18h a temperatura ambiente de 25 °C. Esses fatores podem estar diretamente ligados A remoção da proteína de colágeno durante o pré-tratamento, utilizando NaOH, é crucial para o processo de extração da gelatina e pode influenciar significativamente a resistência do gel formado pela gelatina obtida (MAFAZAH; PRANOTO & ROHMAN, 2018).

Sisa *et al.* (2024) avaliaram a qualidade da gelatina extraída a partir da pele do *Thunnus albacares* obtendo-se uma força de gel aproximada de 160,0 g Bloom. Enquanto Valcarcel *et al.* (2021), utilizaram a pele de outros peixes e obtiveram os valores de força de gel para o robalo (*Dicentrarchus labrax*), dourada (*Sparus aurata*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) de 181,0, 229,5 e 95,0 g Bloom, respectivamente. Yu *et al.* (2024) utilizando diferentes métodos de extração de gelatina (salga seca, salga úmida, tripsina, pepsina, ácido e calor) obtiveram os maiores valores de força de gel a extração pelo calor a partir da pele do peixe cabeça de cobra e tubarão de 312,12 g Bloom e 320,28, respectivamente.

Dessa forma, podemos afirmar que na produção da gelatina a partir de fontes com alto teor de colágeno, ocorre a conversão desse colágeno em gelatina por meio do tratamento térmico, sendo importante evitar o uso de altas temperaturas para não prejudicar a qualidade final da gelatina e não haver desnaturação proteica. Além disso, a força do gel, associada ao valor de *bloom* (g Bloom), é determinada por interações complexas entre os aminoácidos e os iminoácidos, sendo eles ácidos carboxílicos que contêm um grupo imino, chamados também de aminoácidos secundários, e agregados de peso molecular elevado que resultam em géis de gelatina mais robustos e estáveis. Nesse intuito, infere-se que quanto maior o valor

de *bloom* da gelatina, maior será sua capacidade de formular filmes e revestimentos mais resistentes, proporcionando uma barreira de proteção para o alimento (IŞIK *et al.*, 2024).

5.3.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Os valores de calorimetria diferenciada de varredura (DSC) avaliam o nível de desnaturação das ligações proteicas da gelatina pela transição térmica. Essa análise ocorre a partir do aumento da temperatura de transição vítrea (T_g) a partir da gravimetria, sendo ela, a temperatura, necessária para que ocorra a perda de matéria pelo fluxo de calor, afetando a estabilidade aos géis formulados a partir da gelatina com um aumento de temperatura necessário para que haja o rompimento das interações entre as cadeias (FLORY & GARRETT, 1958). Além disso, a determinação dessa temperatura é essencial para compreender as propriedades de um material (MUKHERJEE & ROSOLEN, 2013).

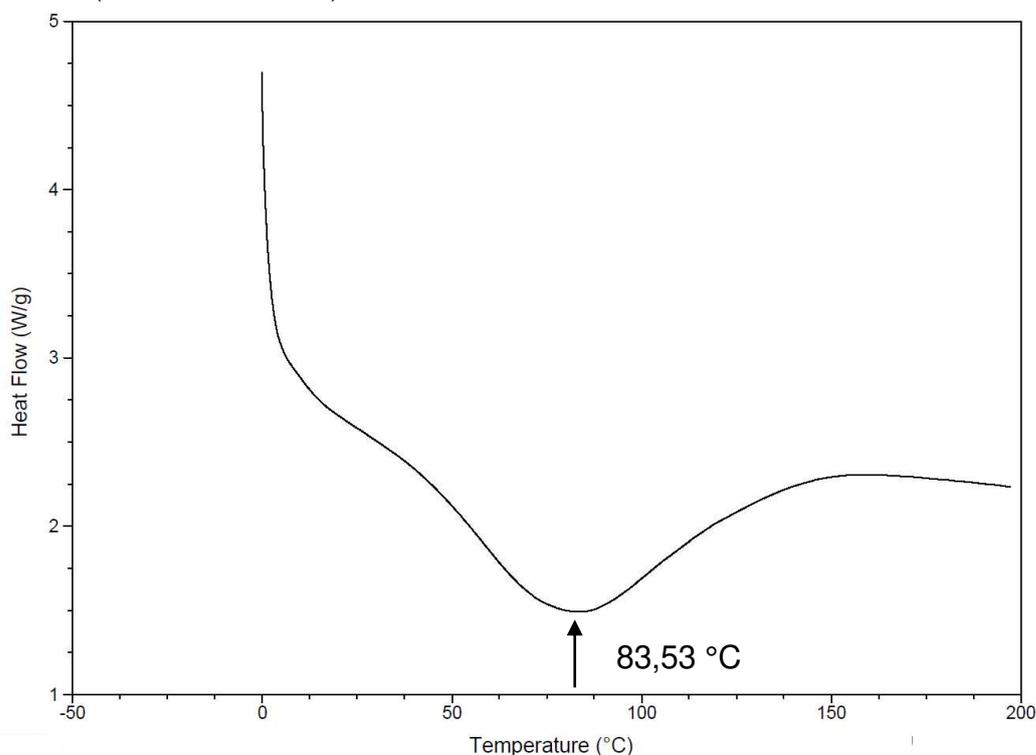
Os dados obtidos do DSC, demonstram que houve um único ponto endotérmico, o que ocorreu a uma temperatura de aproximadamente 83,53 °C (Gráfico 1). Em trabalho publicado por Rahman, Al-Saidi & Guizani (2008) eles compararam valores obtidos de DSC de três diferentes amostras de gelatina, de origem animal, sendo elas bovina, suína e incluindo a de atum (*T. albacares*), e houve uma diferença entre os resultados, visto que não uma compatibilidade com os dados de T_g obtidos por eles em relação a gelatina do atum, mas houve uma certa semelhança com da gelatina de origem bovina e suína, pois apresentaram uma temperatura que variou entre 49 e 79 °C.

Yesiltas *et al.* (2022) obtiveram valores da análise de DSC para quatro diferentes amostras de gelatina (da pele de peixe de água fria, da pele de *Pollachius virens* em dois diferentes pré-tratamentos e gelatina comercial da Byco™ M) com uma variação de T_g entre 77 e 96 °C para todas as amostras. Enquanto que Da Silva *et al.* (2022) encontraram um valor de T_g de 69,4 °C para gelatina extraída da pele de jundiá (*Rhamdia quelen*).

Tais fatores corroboram com a premissa de que essa variação nos valores de T_g pode ser atribuída à utilização de diferentes métodos de extração de gelatina de diferentes resíduos. Além disso, esses picos sugerem alterações na estrutura das moléculas de proteínas das amostras, indicando que quanto maior for esse valor,

maior é a resistência dessa gelatina a manter a sua composição natural sem afetar a sua estabilidade e composição química, com conteúdo de prolina e aminoácidos hidroxiprolina que venham a constituir a estrutura molecular (DA SILVA *et al.*, 2022; YESILTAS *et al.*, 2022).

Gráfico 1 – Curva de Calorimetria diferencial de varredura (DSC) da gelatina extraída a partir da pele de atum (*Thunnus albacares*).



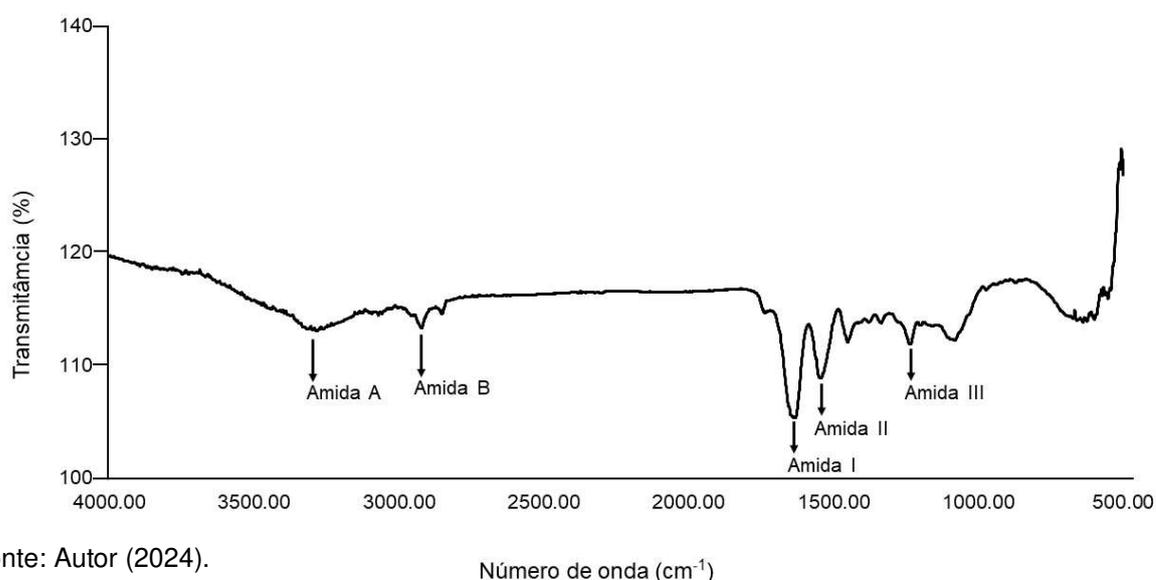
Fonte: Autor (2024).

5.3.3 Análise de espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FT-IR)

A análise de espectroscopia infravermelha transformada de Fourier (FT-IR) diz respeito ao modo vibracional do comprimento da ligação que varia durante uma oscilação de tensão, alterando a estrutura, exigindo mais energia. Dessa forma, de acordo com o Gráfico 2, na faixa de número de onda de 3286 a 3314 cm^{-1} , está o espectro da amida A, correspondente à absorção do alongamento N–H associado a ligações de hidrogênio, enquanto na faixa de 2923 a 2946 cm^{-1} encontra-se o espectro da amida B, relacionada à tensão CH (SUTRISNO *et al.*, 2021; RACHMAN; SANTOSO & SUSENO, 2023).

Adicionalmente, os espectros na faixa de 1638 a 1712 cm^{-1} , correspondente a amida I, estão ligados às vibrações de alongamento C=O, com ligação de hidrogênio associada ao COO, em relação a faixa de 1543 a 1587 cm^{-1} , que corresponde a amida II, está associado a flexão da ligação N–H e alongamento das ligações C–N e C=H e por fim, nas faixas de 1237 e 1272 cm^{-1} , correspondente a amida III, está ligado ao alongamento da ligação C–N e flexão de N–H (SUTRISNO *et al.*, 2021; RACHMAN; SANTOSO & SUSENO, 2023).

Gráfico 2 – Espectros vibracionais no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) da gelatina extraída a partir da pele de atum (*Thunnus albacares*).



Fonte: Autor (2024).

Número de onda (cm^{-1})

Em estudos que avaliaram a caracterização de filmes comestíveis de gelatina feitos a partir da pele de atum (*Thunnus albacares*), obtiveram-se valores de FT-IR muito próximos entre as amostras, em relação ao número de onda para amida A, amida B e amida I, justificando um comportamento semelhante entre as gelatinas obtidas a partir da pele do atum (SUTRISNO *et al.*, 2021).

Em um estudo que utilizou seis técnicas de extração (salga a seco, salga úmida, tripsina, pepsina, ácido e calor) de gelatina das peles de peixe cabeça-de-cobra e tubarão para examinar os efeitos de vários métodos de extração nas características estruturais, composicionais e funcionais da gelatina de pele de peixe. Com isso, conclui-se que os espectros referentes ao número de onda da gelatina

extraída da pele do atum são semelhantes aos encontrados em gelatinas obtidas de pele de outras espécies de peixes (YU *et al.*, 2024).

Observou-se também um pico de absorção da Amida A na faixa correspondente a 3286 a 3314 cm^{-1} , indicando uma frequência mais baixa devido ao alongamento das ligações de hidrogênio formadas pelo grupo N-H. Por fim, destaca-se as vibrações de alongamento das ligações C=O, que estão associadas à intensidade do pico de absorção da banda Amida I, que é o pico que apresenta maior sensibilidade a alterações na estrutura secundária da gelatina, e que interfere diretamente como um indicador do estado de consistência da gelatina extraída (Bl *et al.*, 2019; SORUSHANOVA *et al.*, 2019; DERKACH R. *et al.*, 2022; YU *et al.*, 2024).

5.3.4 Análise de cor

Os dados obtidos de coloração da gelatina extraída a partir da pele do atum podem ser observados na Tabela 2. Esses valores estão análogos aos valores de L^* e a^* encontrado por Sutrisno *et al.* (2021), com valores de $64,20 \pm 11,24$ e $1,56 \pm 1,26$, respectivamente, para filmes elaborados a partir da gelatina extraída da pele do atum (*T. albacares*), justificando certa semelhança entre as amostras de gelatina extraídas da mesma espécie.

Tabela 2 – Valores de L^* , a^* e b^* da amostra de gelatina extraída da pele de atum (*Thunnus albacares*).

Valores de cor		
L^*	a^*	b^*
$61,26 \pm 7,85$	$1,23 \pm 0,59$	$10,40 \pm 2,48$

Fonte: Autor (2024).

Ademais, Kuepethkaew *et al.* (2023), avaliaram a gelatina extraída a partir da pele de outros peixes, tais como o peixe-lagarto e dourada, em várias temperaturas e épocas, obtendo-se valores médios de L^* igual a 63,55 e 65,73, e a^* -2,19 e -1,87, respectivamente, do peixe-lagarto e dourada. Os valores correspondentes a luminosidade (L^*) e a coloração vermelho e verde (a^*) apresentam uma semelhança entre os dados obtidos.

Já em relação ao valor de b^* encontrado de $10,40 \pm 2,48$, apresentou uma diferença quando comparado aos dados encontrados por Sutrisno *et al.* (2021) que foi

de $4,58 \pm 1,91$. Assim como, os dados obtidos por Kuepethkaew *et al.* (2023) obtiveram valores médios de diferentes extrações feitas em várias temperaturas e períodos, para b^* de $5,39 \pm 2,10$ para peixe-largarto e $8,29 \pm 3,25$ para a dourada. A presença de pigmentos de coloração amarelada na pele do atum se deve ao pigmento natural da da pele do atum, reforçando a variação em relação aos valores de b^* , levando ainda em consideração o tempo de extração, a temperatura e o período do ano, já que, pode haver diferenças na estrutura química dos pigmentos naturais que podem sofrer alteração por conta desses fatores (SUTRISNO *et al.*, 2021; CHOU *et al.*, 2023).

Com essa premissa, reforça-se a ideia de que a determinação dos pontos de cor é fundamental para a utilização da gelatina como agente conservante em alimentos. Assim, um valor ligeiramente mais alto de b^* reforça a ideia de uma maior presença de compostos amarelados, os quais estão associados aos aminoácidos livres. Estes, por sua vez, podem ser liberados pela ação enzimática e reagir com a carbonila, um grupo funcional composto por uma ligação dupla entre carbono e oxigênio. Tal processo pode resultar na formação de grupos aminas, os quais podem influenciar as características de cor da gelatina e interferir na sua percepção sensorial (DA SILVA *et al.*, 2022).

5.4 Avaliação antioxidante da solução filmogênica

5.4.1 Quantificação dos teores de CFT e TF nas soluções de gelatina

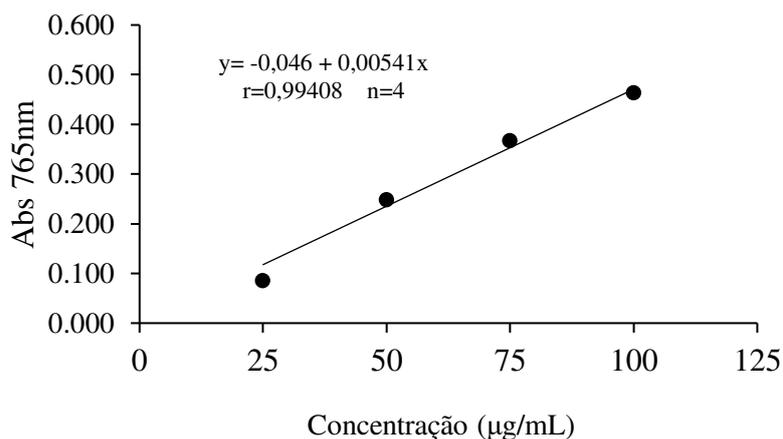
As quantificações dos compostos fenólicos totais (CFT) nas soluções de gelatina foram feitas com base na curva padrão do ácido gálico, preparada nas concentrações de 25 a 200 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 3). Entretanto a equação da reta ($y = a + bx$) foi calculada entre 25 e 100 $\mu\text{g/mL}$, faixa em que a linearidade entre as variáveis foi mantida (GRÁFICO 3).

Tabela 3 – Valores de absorvância, monitorada em 765 nm (média \pm desvio padrão), de acordo com as concentrações da solução de ácido gálico (G7384, Sigma), variando de 25 a 200 $\mu\text{g/mL}$.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorvância em 765 nm ($\bar{x} \pm s$)
25	0,104 \pm 0,210
50	0,234 \pm 0,006
75	0,366 \pm 0,030
100	0,480 \pm 0,025
125	0,856 \pm 0,031
150	0,871 \pm 0,034
175	1,413 \pm 0,031
200	1,433 \pm 0,029

Fonte: Autor (2024).

Gráfico 3 – Curva padrão de ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 100 $\mu\text{g/mL}$, usada para quantificar os teores de compostos fenólicos totais (CFT) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.



Fonte: Autor (2024).

A existência de correlação estatisticamente significativa entre os valores de absorvância em 765 nm e a concentração da solução de ácido gálico até 100 $\mu\text{g/mL}$ permitiu o estabelecimento da regressão linear ($y = -0,046 + 0,00541x$) com $r = 0,99408$ ($p < 0,0001$), obtida para quatro pares de dados. Essa regressão foi usada para a quantificação dos teores de CFT nas soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% (Tabela 4).

Tabela 4 – Teores dos compostos fenólicos totais (CFT), expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por mililitros (mL) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.

Identificação	CFT (mg EAG/mL)
Gelatina	0
Gelatina + 0,01% TBHQ	30,622 ^a ± 0,585
Gelatina + 0,02% TBHQ	62,138 ^b ± 0,440
Gelatina + 0,03% TBHQ	120,240 ^c ± 0,131

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

Os dados da Tabela 4, revelam que a amostra de gelatina isolada não apresenta teores de compostos fenólicos totais, por ser basicamente um produto proteico como demonstrou a análise de composição centesimal da gelatina, no qual mais de 95% de sua composição era de proteína. No entanto, a presença do TBHQ aumentou o teor de CFT, por ser um composto fenólico, no qual esse valor aumentou de forma proporcional com o aumento da concentração. Logo a gelatina contendo 0,03% TBHQ, teve valores melhores em comparação aos demais. Isso ocorre, pois, compostos fenólicos podem se ligar à força hidrofóbica da gelatina e promover a ação do revestimento (POUNGCHAWANWONG *et al.*, 2020).

De acordo com Wu *et al.* (2024), que avaliaram os efeitos da reticulação de proteína-polifenol nas propriedades físico-químicas e emulsificantes de três tipos de gelatinas, utilizando dois tipos de polifenóis o ácido tânico (TA) e o ácido cafeico (CA). Os Autores obtiveram valores que variaram de 0,0300 e 0,0380 mmol/g para gelatina reticulada com TA, e 0,219 e 0,336 mmol/g para gelatina reticulada com CA. Tais resultados requerem ainda mais estudos conclusivos sobre sua ação de estabilização da emulsão de conjugados de gelatina reticulados com polifenóis.

Ademais, um outro estudo avaliou a formulação de filmes a partir da mistura de polímeros de amido de mandioca/gelatina com a adição de antioxidantes, sendo um dele um antioxidante natural, a quercetina e um sintético, o TBHQ. Os resultados obtidos nesse trabalho, demonstram que em três diferentes quantidades de TBHQ utilizadas, sendo elas de 0,05, 0,10 e 0,20 g, variou entre 1 e 4 mg EAG/g da amostra, demonstrando eficácia como filmes biodegradáveis ativos em produtos alimentícios

com o potencial de diminuir as reações de oxidação (TONGDEESOONTORN *et al.*, 2021).

Em relação as quantificações dos flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) nas soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% foram feitas com base na curva padrão de quercetina, preparada nas concentrações de 10 a 200 µg/mL (Tabela 5).

Tabela 5 – Valores de absorvância, monitorada em 425 nm (média ± desvio padrão), de acordo com as concentrações da solução de quercetina (33795-1, Aldrich), variando de 10 a 200 µg/mL.

Concentração (µg/mL)	Absorbância em 425 nm ($\bar{x} \pm s$)
10	0,095 ± 0,010
25	0,290 ± 0,005
50	0,763 ± 0,030
75	1,187 ± 0,044
100	1,499 ± 0,060
125	1,736 ± 0,030
150	1,845 ± 0,025
175	2,293 ± 0,028
200	2,357 ± 0,012

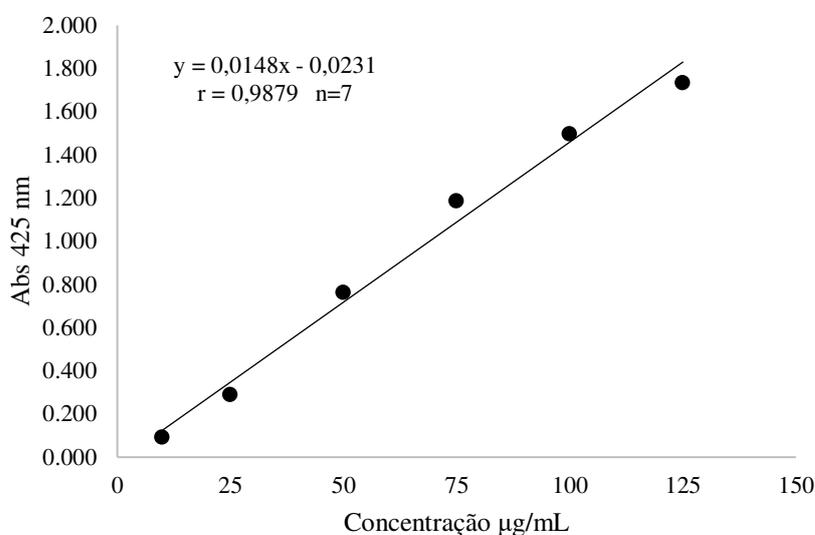
Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

A existência de correlação estatisticamente significativa entre os valores de absorvância em 425 nm e a concentração da solução de quercetina até 150 µg/mL permitiu o estabelecimento da regressão linear ($y = -0,0504 + 0,0132x$) com $r = 0,9939$ ($p < 0,0001$), obtida para sete pares de dados (GRÁFICO 4).

Essa curva padrão foi usada para a quantificação de TF nas soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% (Tabela 6).

Gráfico 4 – Curva padrão de quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 10 a 250 µg/mL, usada para quantificar os teores de flavonoides (TF) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.



Fonte: Autor (2024).

Tabela 6 – Teores de flavonoides (TF), expressos em mg de equivalentes de quercetina (EQ) por mililitros (mL) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.

Identificação	TF (mg EQ/mL)
Gelatina	0
Gelatina + 0,01% TBHQ	4,1138 ^a ± 0,063
Gelatina + 0,02% TBHQ	4,5111 ^a ± 0,517
Gelatina + 0,03% TBHQ	3,7959 ^a ± 0,322

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

De acordo com El-Hadary & Taha (2020), que avaliaram o efeito da substituição do extrato metanólico da casca da romã como um antioxidante natural (em diferentes níveis de concentração: 100, 200, 400 e 600 ppm) em comparação com o antioxidante sintético, o TBHQ (200 ppm). Os valores obtidos revelaram um conteúdo total de flavonoides a partir da extração metanólica foi de 13,95 mg EQ/kg de extrato. De acordo com os próprios autores, tanto os óleos comestíveis suplementados com o extrato metanólico da casca de romã e o TBHQ apresentaram

boa atividade antioxidante, como foi possível observar a partir valores obtidos pela solução filmogênica (Tabela 6), no qual foram maiores quando comparados a solução da quercentina utilizada como controle positivo (Tabela 5).

5.4.2 Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

Os resultados da atividade de sequestro do radical DPPH do controle positivo, ácido ascórbico (Tabela 7, Gráfico 5) e das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% (Tabela 8, Gráfico 6), estão apresentados a seguir.

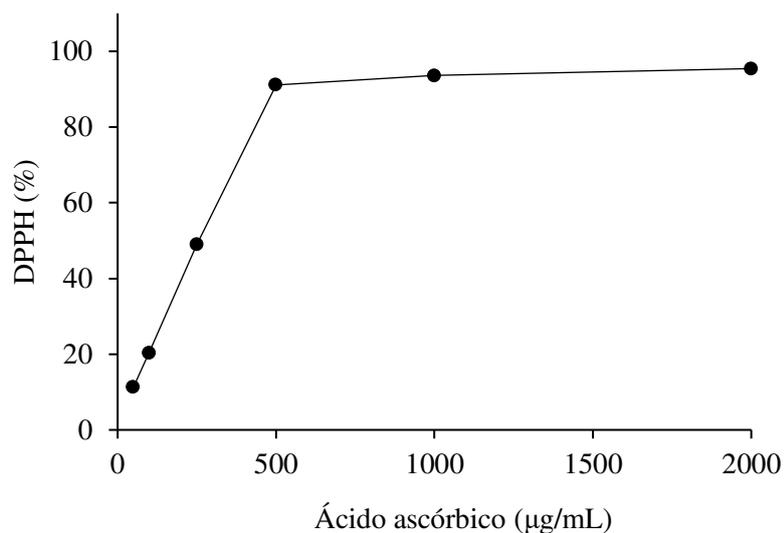
Tabela 7 – Capacidade de sequestro do radical DPPH do controle positivo (ácido ascórbico) e da concentração efetiva que induz metade do efeito máximo (EC_{50}).

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH (%)
	Ácido ascórbico
50	30,595 ^a \pm 3,999
100	66,633 ^b \pm 0,457
250	92,324 ^c \pm 3,614
500	93,532 ^c \pm 1,756
1.000	93,638 ^c \pm 1,065
2.000	95,437 ^d \pm 0,930
EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	75,037

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

Gráfico 5 – Capacidade de sequestro do radical DPPH do controle positivo (ácido ascórbico).



Fonte: Autor (2024).

Tabela 8 – Capacidade de sequestro do radical DPPH das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.

Identificação	DPPH (%)
Gelatina	0
Gelatina + 0,01% TBHQ	13,742 ^a ± 2,354
Gelatina + 0,02% TBHQ	55,507 ^b ± 4,234
Gelatina + 0,03% TBHQ	66,675 ^c ± 0,473

Fonte: Autor (2024).

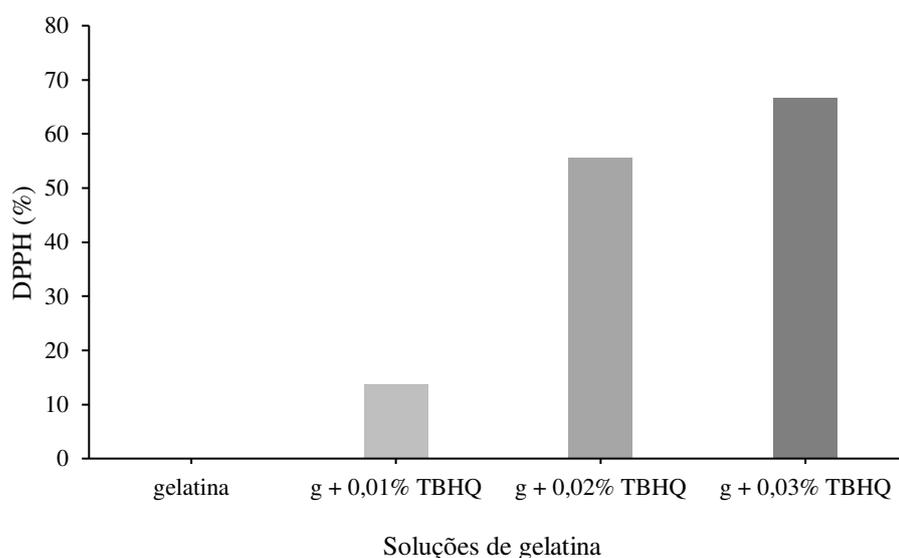
Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

Os dados da Tabela 8 revelam que a amostra de gelatina sem o TBHQ não apresentou atividade com capacidade do sequestro do radical DPPH, em contrapartida, a presença do antioxidante aumentou essa atividade com o aumento das concentrações, tendo que a concentração de 0,03% de TBHQ obteve a melhor atividade. Em estudos de Abreu Pereira *et al.* (2024), avaliaram uma nova técnica, a blow-spinning, como rota para obtenção de nanofibras de gel de pele de tilápia contendo curcumina como reticulante e antioxidante, e com potencial para serem investigadas em aplicações biomédicas. Os resultados obtidos variaram entre 24,31% e 89,11% de capacidade de sequestro do radical DPPH.

Em outro estudo, avaliaram a formação de filmes contendo gelatina de peixe, nanofibras de celulose TEMPO-oxidada (TCNFs), galato de epigalocatequina (EGCG) e carvacrol (CAR), aplicadas em filés de robalo. O EGCG é um tipo de catequina, um fitonutriente da família dos polifenóis que tem ação com antioxidante, enquanto o carvacrol é um monoterpene fenólico, constituído por hidrocarbonetos, esses compostos variaram as concentrações para a formulação da solução filmogênica. Os valores da capacidade de sequestro do radical DPPH tiveram uma variação entre 1,20 e 92,60%, tendo em vista que o EGCG, que atua como antioxidante, utilizando a concentração de 20 mg, teve um resultado de 79,61%, e o TBHQ, com uma concentração de 15 mg, teve um valor de 66,67% (SONG *et al.*, 2023).

É perceptível a ação do TBHQ como um bom agente antioxidante em relação a atividade de sequestro do radical DPPH, como consta no gráfico 4. Isso demonstra a eficácia desse agente antioxidante devido a capacidade de aceitar hidrogênio, eliminando radicais livres durante a autooxidação do alimento e evitando a formação de hidroperóxidos, que são os produtos iniciais da peroxidação lipídica, que podem se decompor e resultar na formação de produtos mais reativos e tóxicos (MOREIRA *et al.*, 2024).

Gráfico 6 – Capacidade de sequestro do radical DPPH das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.



Fonte: Autor (2024).

Já em relação aos resultados do poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo, EDTA, acompanhados dos valores de EC_{50} (Tabela 9, Gráfico 7) e das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% (Tabela 8, Gráfico 8), estão apresentados a seguir.

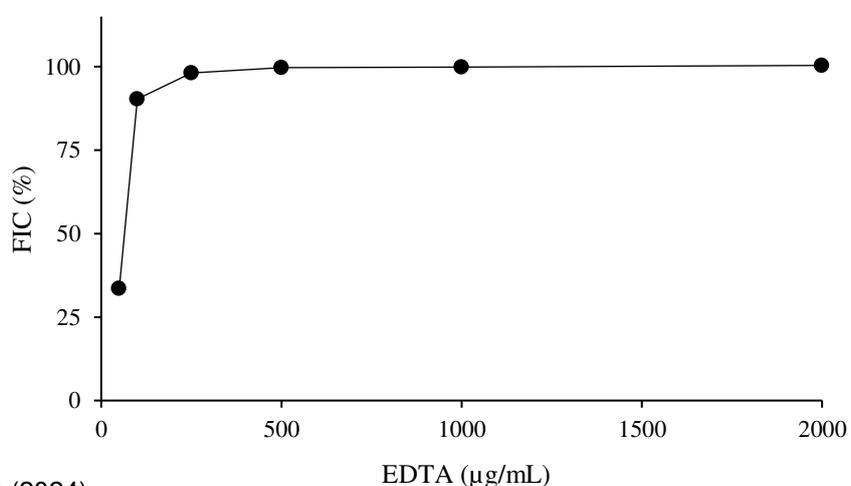
Tabela 9 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA) e da concentração efetiva que induz metade do efeito máximo (EC_{50}).

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	FIC (%)
	EDTA
50	33,524 ^a \pm 4,388
100	90,267 ^b \pm 1,703
250	98,045 ^c \pm 1,829
500	99,729 ^c \pm 0,220
1.000	99,829 ^c \pm 0,233
2.000	100,371 ^c \pm 0,244
EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	55,391

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

Gráfico 7 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).



Fonte: Autor (2024).

Assim, os valores observados na Tabela 10, corresponde ao poder de quelação dos íons ferrosos, demonstrando maior eficiência para a solução de 0,03% de concentração de TBHQ. Dessa forma, em estudos de He *et al.* (2021) que avaliaram o efeito ultrassônico na estrutura do colágeno, na correlação entre as alterações estruturais e a sua hidrólise enzimática. Verificou-se que a amostra controle do colágeno extraído teve um valor de um pouco mais de 30%, semelhante ao valor do solução filmogênica de gelatina obtida a partir da pele do atum, que foi de 30,87% de quelação de íons ferrosos.

Tabela 10 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.

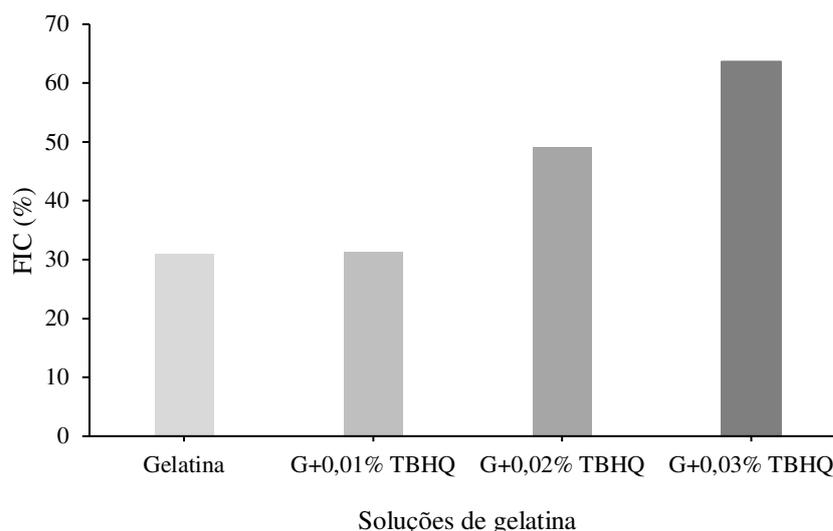
Identificação	FIC (%)
Gelatina	30,867 ^a ± 2,816
Gelatina + 0,01% TBHQ	31,240 ^a ± 2,411
Gelatina + 0,02% TBHQ	49,040 ^b ± 2,711
Gelatina + 0,03% TBHQ	63,640 ^c ± 3,537

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

Em outros estudos, foram extraídos hidrolisados de gelatina produzidos durante e após a extração da gelatina, avaliando as características e atividades antioxidantes de hidrolisados de pele de robalo. Os dados dessa pesquisa revelaram que houve uma variação entre 20 e 60% de ação quelante dos íons ferrosos, variando as concentrações desse hidrolisado. Em relação a solução filmogênica contendo o TBHQ, principalmente o de concentração 0,03% demonstrou-se mais eficaz, corroborando com a ideia de que o antioxidante pode atuar eliminando íons metálicos pró-oxidativos (SAE-LEAW *et al.*, 2016).

Gráfico 8 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.



Fonte: Autor (2024).

Tem-se então, os resultados do poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo, BHA (Tabela 11, Gráfico 9) e das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% (Tabela 12, Gráfico 10).

Apesar da linearidade entre a concentração de BHA (até 500 µg/mL) e a leitura da absorvância em 700 nm, os valores de EC₅₀ não foram calculados, tendo em vista que os resultados do FRAP correspondem às leituras das absorvâncias em 700 nm.

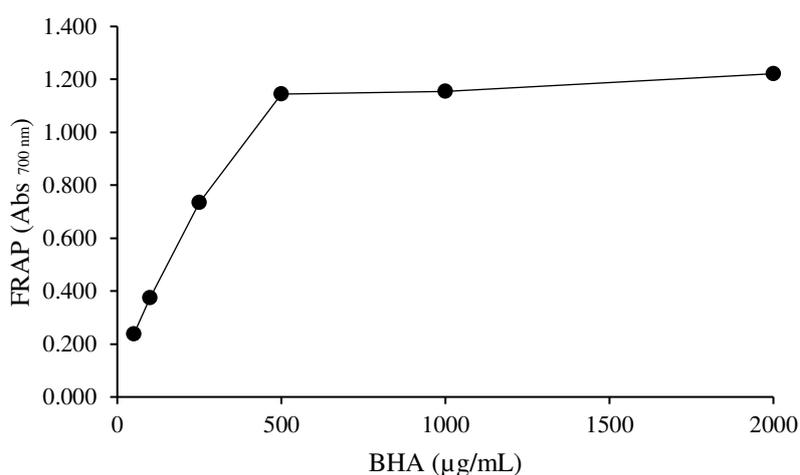
Tabela 11 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, do controle positivo butil hidroxianisol (BHA).

Concentração (µg/mL)	FRAP (Abs 700 nm)
	BHA
50	0,237 ^a ± 0,027
100	0,373 ^a ± 0,011
250	0,735 ^a ± 0,020
500	1,145 ^b ± 0,011
1.000	1,155 ^b ± 0,011
2.000	1,222 ^b ± 0,032

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

Gráfico 9 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, do controle positivo butil hidroxianisol (BHA).



Fonte: Autor (2024).

Tabela 12 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.

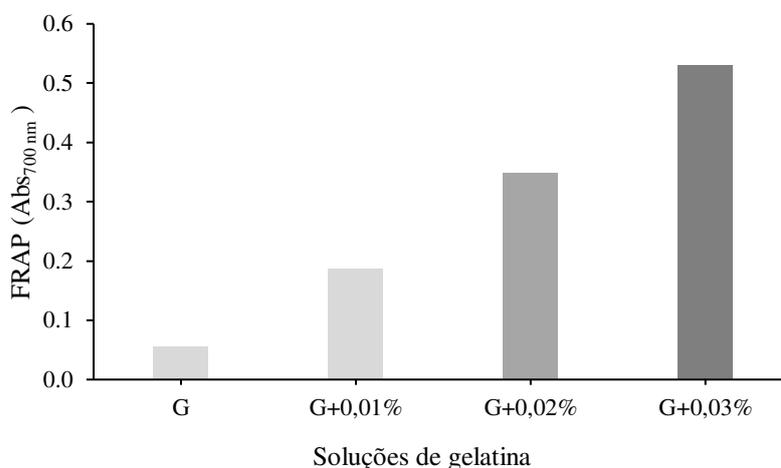
Identificação	FRAP (Abs _{700 nm})
Gelatina	0,055 ^a ± 0,004
Gelatina + 0,01% TBHQ	0,186 ^b ± 0,015
Gelatina + 0,02% TBHQ	0,349 ^c ± 0,018
Gelatina + 0,03% TBHQ	0,531 ^d ± 0,011

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

A partir de um estudo feito a partir da extração de gelatina de águas-vivas (*Acromitus flagellates*) e gelatina de pele suína como um material biodegradável formador de filme, utilizando diferentes métodos de extração (água quente e microondas). Nesse contexto, os Autores obtiveram valores que variaram entre 147,70 e 271,19 $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O/g}$ para as amostras, exemplificando que quanto maior for esse valor, maior é a capacidade do poder de redução de íons férricos (FRAP). Tais resultados demonstram que a extração da gelatina a partir de água quente ou levemente aquecida possui melhor ação antioxidante em relação ao poder de redução de íons férricos (RANASINGHE *et al.*, 2024).

Gráfico 10 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.



Fonte: Autor (2024).

Ademais, outros estudos averiguaram as propriedades de filmes à base de gelatina incorporados com pigmentos vegetais em termos de propriedades físico-químicas, conteúdo de antocianinas e curcuminoides. Os resultados para os filmes incorporados com curcuminas, um exemplo de polifenol, para os valores da análise de antioxidante para o FRAP variou entre 64,56 a 80,87 $\mu\text{mol FeSO}_4/100\text{g}$. Esses valores evidenciam que a utilização da gelatina com um composto de polifenol com ação antioxidante, aprimora a ação do revestimento em comparação a apenas o filme contendo gelatina (AOWPITAYA & SASANATAYART, 2024).

Um experimento buscou avaliar as propriedades químicas e sensoriais do filé de truta revestidos com gelatina contendo nanopartículas lipídicas sólidas de óleo essencial de hortelã-pimenta, carregadas com PEO durante o armazenamento refrigerado. Os dados obtidos mostraram que o revestimento de gelatina e PEO apresentaram maior atividade antioxidante, equivalente a 27,06 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{ml}$. Tais resultados evidenciam que a ação antioxidante das amostras apresentou uma notável atividade antioxidante, corroborando com o fato de que a adição de outros compostos a gelatina pode aprimorar as ações dos revestimentos (SAFAEIAN LAEIN *et al.*, 2024).

Por fim, os resultados da atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do controle positivo, ácido ascórbico (Tabela 13, Gráfico 11) acompanhados dos valores de EC_{50} , e das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ

nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03% (Tabela 14, Gráfico 12), estão apresentados a seguir.

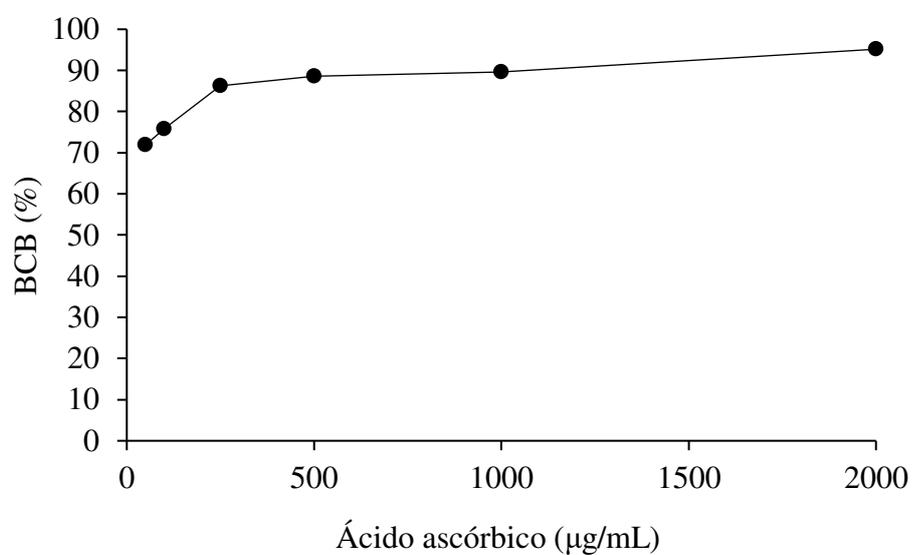
Tabela 13 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico).

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	BCB (%)
	Ácido ascórbico
50	71,899 ^a \pm 1,247
100	75,818 ^b \pm 0,355
250	86,326 ^c \pm 0,852
500	88,591 ^d \pm 1,753
1.000	89,572 ^e \pm 1,172
2.000	95,165 ^f \pm 1,472
EC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	34,770

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

Gráfico 11 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico).



Fonte: Autor (2024).

Tabela 14 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.

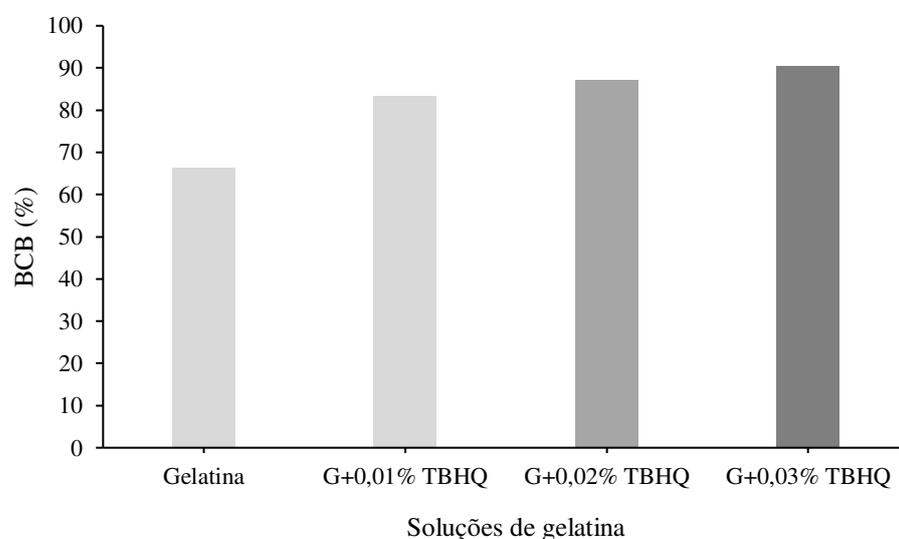
Identificação	BCB (%)
Gelatina	66,292 ^a \pm 2,111
Gelatina + 0,01% TBHQ	83,360 ^b \pm 3,752
Gelatina + 0,02% TBHQ	87,226 ^b \pm 5,644
Gelatina + 0,03% TBHQ	90,321 ^b \pm 6,028

Fonte: Autor (2024).

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Nas linhas, letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$ e letras minúsculas iguais, $p > 0,05$.

De acordo com a Tabela 14, é possível evidenciar que os valores para atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), da gelatina isolada e com as diferentes concentrações de TBHQ apresentaram diferença estatisticamente significativa. No entanto, entre as três concentrações do antioxidante os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre os valores, com uma ação comprovada de até 90,32% de inibição, na concentração de 0,03% de TBHQ (Gráfico 12).

Gráfico 12 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) das soluções de gelatina e gelatina + TBHQ nas concentrações de 0,01; 0,02 e 0,03%.



Fonte: Autor (2024).

Em estudos de Razavi & Kenari (2021), que realizaram extração de compostos bioativos de folhas e raízes de *Fumaria parviflora* com aplicação na extensão da vida útil do óleo de girassol, como uma alternativa para antioxidantes como o TBHQ, obtiveram valores para BCB que variaram entre 20 e 40%, aproximadamente, utilizando concentrações entre 100 e 2000 mg/mL contendo o antioxidante abordado nesse estudo. No entanto, segundo os próprios Autores, utilizando-se os 100 ppm do antioxidante sintético, o TBHQ, como uma estipulação do valor máximo, obtiveram maior atividade antioxidante em todos os métodos, incluindo o BCB. Por esse fator, destaca-se que quantidades adequadas do antioxidante, que não comprometam a saúde humana, pode promover liberação de compostos fenólicos com ação preventiva contra oxidação do alimento, mantendo aspectos sensoriais.

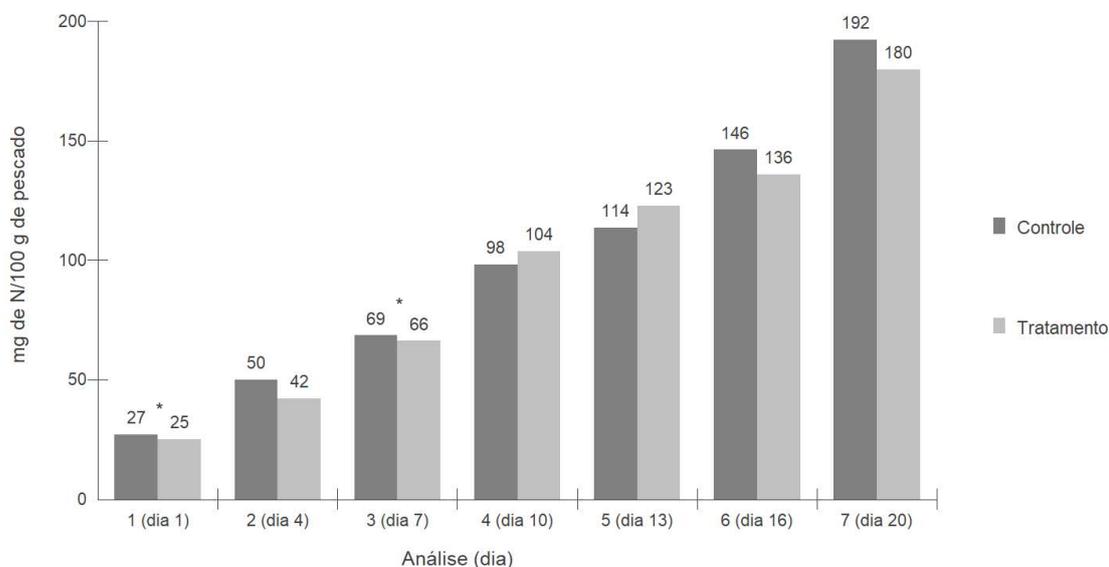
5.5 Avaliação da qualidade do pescado

5.5.1 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (N-BVT)

As médias dos valores de N-BVT expressos em mg de N em 100 g de músculo do pescado, trazem dados importantes acerca do comparativo entre o controle e o tratamento com gelatina e antioxidante. Em todas as análises houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras de ambos os grupos. De acordo com Prabhakar *et al.* (2020), há uma convenção geral entre alguns Autores quanto ao valor máximo aceitável de N-BVT, que corresponde a 30 mg de N/100 g de pescado, revelando que ao longo das sete análises esses valores ultrapassaram os recomendados já a partir da análise 2 (Gráfico 13).

Damasceno (2016) avaliou o efeito de revestimentos bioativos à base de quitosana sobre a extensão da vida útil e segurança da cavala (*Scomberomorus cavalla*) refrigerada. Ao final do vigésimo primeiro dia o grupo controle, que não teve nenhum revestimento, apresentou um valor de 96,73 mg de N/100 g de pescado, enquanto que os demais grupos com revestimento tiveram valores que variaram entre 37,66 e 56,52 mg de N/100 g de pescado.

Gráfico 13 – Valores correspondentes a determinação do teor de nitrogênio presentes nas amostras de *Scomberomorus cavalla* dos grupos controle e tratamento para a quantificação das bases voláteis totais.



Fonte: Autor (2024).

Os símbolos indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos naquela análise de acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em comparação ao estudo de Latief *et al.* (2023) que avaliou a eficácia de revestimentos comestíveis, formulados com solução de amido, glicerol e óleo de citronela, aplicadas em filés de atum armazenados sob refrigeração em temperaturas de 4 °C. Os valores para N-BVT ao final do décimo oitavo dia de experimento, foi de 124,88 para o grupo que não foi aplicado o revestimento comestível e de 76,72 mg de N/100 g do pescado para o grupo que foi aplicado o revestimento. Comprovando que pescados da família Scombridae apresentam valores elevados de bases voláteis produzidas em armazenamentos em uma temperatura média de 4 °C (LATIEF *et al.*, 2023).

Os resultados obtidos demonstram que houve um aumento relativo dos valores do grupo tratamento em comparação ao controle nas análises 4 e 5, isso pode ser evidenciado por conta das condições de refrigeração do pescado, já que a presença de microrganismos responsáveis pela deterioração desse alimento produzem compostos voláteis até mesmo em condições sob refrigeração (PRABHAKAR; SRIVASTAV; PATHAK, 2019).

No entanto, nas demais análises, percebeu-se o valor de N-BVT maior no grupo controle do que no tratamento, exceto nas análises 4 e 5, mesmo após a quinta análise, o valor do grupo tratamento cresceu de forma menos acentuada quando comparado ao grupo controle. Isso pode ser justificado pois a formulação de revestimentos a base de gelatina possui uma boa ação antimicrobiana, reduzindo a ação de microrganismos que possam acentuar a produção dessas bases voláteis, o que diminuiu conseqüentemente o crescimento desses valores no tratamento contendo gelatina e o antioxidante TBHQ (DONG *et al.*, 2023).

Em estudo de Ali *et al.* (2024), avaliaram a formação de filmes preparados a partir de gelatina, alginato de sódio e nanofibrilas de celulose aplicadas na carne de salmão e avaliadas por 48h em temperatura ambiente de aproximadamente 25 °C. No segundo dia de análise, os valores de N-BVT chegaram a 32,27 mg/100 g, ultrapassando o limite considerado aceitável. Ainda assim, levando em consideração as condições da amostra, esses valores revelam a deterioração sofrida pelo pescado, que mesmo com a utilização de revestimento, tem ação intrínseca devido as características naturais do próprio pescado, por conta da ação da atividade bacteriana e das enzimas, que aumentam o índice de bases voláteis e causam o gosto e odor desagradável (SEIFIPASHA; KAZEMEINI, 2024).

Em outro estudo, foi avaliado o efeito de um revestimento constituído por gelatina de peixe enriquecido com extrato de semente de agrião, um composto fenólico, tal qual o TBHQ, aplicado em filé de tubarão *Smooth-Hound (Mustelus mustelus)* refrigerado por até 6 dias. Os resultados demonstraram que no sexto dia de análise, os valores de N-BVT foram de 29,48 mg N/100 g para as amostras do grupo controle e de 16,02 mg N/100 g nas amostras com gelatina e o composto fenólico. A diferença dos valores observados em ambos os estudos podem ser justificados pelo tipo de peixe, concentração dos compostos bioativos usados no revestimento, e principalmente, as condições de armazenamento (SALEM *et al.*, 2024).

5.5.2 Nitrogênio da Trimetilamina (N-TMA)

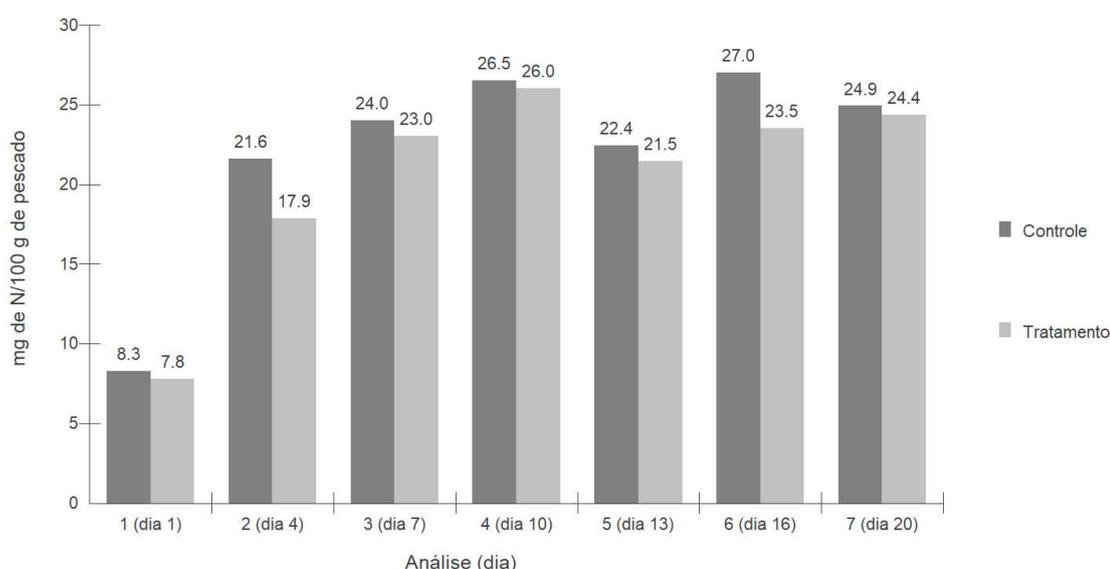
Como é possível perceber no Gráfico 14, a quantificação do teor de nitrogênio livre de aminas terciárias, que são compostos orgânicos nitrogenados derivados da amônia, aumentou em comparação a primeira análise, e se manteve equilibrado nas demais análises, excetuando-se apenas as análises 2 e 6, que

apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparada as demais análises (Tabela 15). Quando comparados os dados, percebe-se uma equivalência nas análises de número 1, 3, 4, 5 e 7, afinal elas não tiveram diferença estatística entre si (PRABHAKAR *et al.*, 2020).

A definição de valores aceitáveis de N-TMA pode variar a depender de algumas literaturas, como em Kostaki *et al.* (2009), definiram para pescado embalado valores de até 30 mg N/100 g de pescado e Connell (1995), para todos os peixes, de até 15 mg N/100 g de pescado.

Nessa perspectiva, peixes armazenados refrigerados podem sofrer diversas interferências na sua qualidade, tais como a espécie, a composição do peixe, a própria temperatura do armazenamento, assim como a duração, o ambiental local e a embalagem, com isso, pesquisas recentes afirmam que o nível de N-TMA deve ser menor que 35 mg N/ 100 g, para que o peixe possa ainda ser considerado apto para o consumo humano, levando em conta outras análises, corroborando com a ideia de que as postas de cavala-verdadeira (*S. cavalla*) revestidas com gelatina, glicerol e TBHQ não ultrapassaram os valores de referência mesmo ao final do vigésimo dia de análise (PRABHAKAR *et al.*, 2020).

Gráfico 14 – Valores correspondentes a determinação ao teor de nitrogênio da trimetilamina presentes nas amostras de *Scomberomorus cavalla* dos grupos controle e tratamento para a quantificação das aminas terciárias.



Fonte: Autor (2024).

Tabela 15 – Valores correspondentes a determinação ao teor de nitrogênio da trimetilamina presentes nas amostras de *Scomberomorus cavalla* dos grupos controle e tratamento para a quantificação das aminas terciárias.

Análises	Controle	Tratamento
1	8,28 ± 0,04 ^a	7,80 ± 0,04 ^a
2	21,60 ± 0,09 ^b	17,88 ± 0,02 ^c
3	24,00 ± 0,05 ^{bd}	23,04 ± 0,03 ^{bd}
4	26,52 ± 0,04 ^{de}	26,04 ± 0,10 ^{de}
5	22,44 ± 0,06 ^{bdf}	21,48 ± 0,10 ^{bdf}
6	27,00 ± 0,17 ^{deg}	23,52 ± 0,07 ^{deh}
7	24,92 ± 0,03 ^{dehi}	24,36 ± 0,01 ^{dehi}

Fonte: Autor (2024)

De acordo com Damasceno (2016) que utilizou revestimentos bioativos à base de quitosana para averiguar a vida útil e a segurança da cavala (*S. cavalla*) a uma temperatura de 4 °C obteve valores de N-TMA ao final do vigésimo primeiro dia para o grupo controle de 6,25 mg de N/100 g de pescado e os demais revestimentos tiveram uma média bem próxima, entre 3,10 e 3,88 mg de N/100 g de pescado.

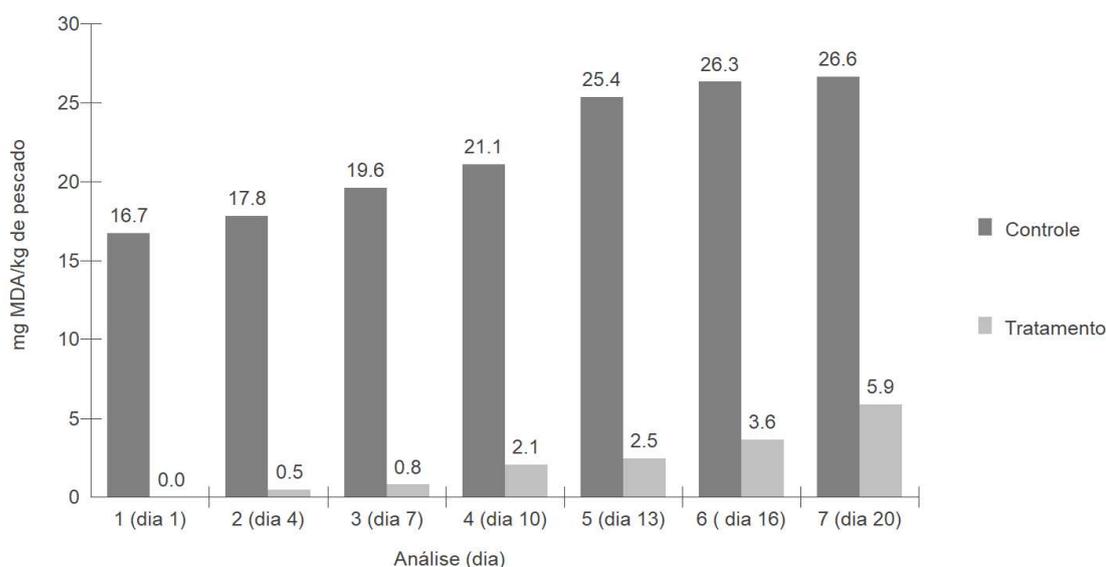
Zhao *et al.* (2021) em estudos recentes, avaliaram o efeito da gelatina de peixe impregnada a vácuo (FG), extrato de semente de uva (GSE) e os revestimentos combinados em filés de tilápia durante o armazenamento usando ressonância magnética nuclear (RMN). Os resultados para N-TMA demonstraram que ao final do décimo segundo dia de análise para os tratamentos controle e gelatina de peixe foi de 20,02 e 19,74 mg N/ 100 g, respectivamente. Esses valores de TMA podem estar associados a formação da trimetilamina a partir do rompimento de compostos como colina, betaína e carnitina (ZHAO *et al.*, 2021).

5.5.3 Oxidação Lipídica (Avaliação das substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico – SRATB)

Os valores obtidos a partir da quantificação de compostos reativos ao ácido tiobarbitúrico para identificação do teor oxidativo dos lipídios presentes nas amostras demonstrou que em todas as análises houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras do grupo controle e tratamento (Gráfico 15). Assim, a utilização do

TBHQ, um composto antioxidante que tem como funcionalidade a redução do processo de oxidação de lipídios presentes na própria musculatura, possibilitou uma diminuição dos valores de oxidação das amostras que continham gelatina e o antioxidante, reduzindo o grau de oxidação dos lipídeos. Ademais, tais fatores devem ser levados em consideração quanto a embalagem utilizada, visto que, ela atua como uma barreira de proteção evitando processos de deterioração (DA SILVA *et al.*, 2024).

Gráfico 15 – Valores correspondentes a avaliação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico presentes nas amostras de *Scomberomorus cavalla* dos grupos controle e tratamento para a quantificação do teor de oxidação lipídica quantificado pelo teor de malonaldeído (MDA).



Fonte: Autor (2024)

De acordo com Xiong *et al.* (2021), tem-se que o limite aceitável do teor substâncias reativas ao TBA é de até 1 mg/kg de pescado. Os dados obtidos revelam as amostras contendo o antioxidante, permaneceram abaixo do limite aceitável até a análise 3, enquanto que na análise 1, o grupo controle já ultrapassou o limite, confirmando que o uso do TBHQ consegue diminuir o teor de oxidação lipídica nas amostras de cavala por até aproximadamente 7 dias (MA *et al.*, 2024).

Em relação aos valores de SRATB, Damasceno (2016) obteve valores para *S. cavalla* revestidas com bioativos à base de quitosana e armazenadas em refrigeração à 4 °C por 21 dias igual a 1,82 mg MDA/kg de pescado para o grupo controle sem o revestimento e uma variação entre 2,76 e 4,13 mg MDA/kg de pescado

para o grupo contendo os revestimentos formulados à base de quitosana, ácido ascórbico e óleo essencial.

Além disso, Vala *et al.* (2017) avaliou a qualidade filés de atum (*Thunnus obesus*) revestidos com solução filmogênica formulada contendo gelatina da pele do atum, extrato de algas (*Codium spp.* e *Fucus vesiculosus*) e glicerol. Os valores correspondente a SRATB para o grupo controle foi de 6,32 mg MDA/kg de pescado e para os grupos com o revestimento variou entre 4,20 e 6,23 mg MDA/kg de pescado.

Em recente trabalho de Safaeian Laein *et al.* (2024), foram avaliadas as propriedades químicas e sensoriais do filé de truta durante o armazenamento a frio revestidas com gelatina e nanopartículas lipídicas sólidas carregadas de óleo essencial de hortelã-pimenta (PEO-SLN). Com relação aos valores da avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB), nos dias 12 os valores foram correspondentes as amostras controle e revestidas com gelatina + PEO-SLN foram, respectivamente, de 3,19 e 2,43.

Considerando tais valores, pode-se afirmar que existe um fator chave para a diferença entre os valores de oxidação em ambas as amostras contendo gelatina, nesse caso, o antioxidante TBHQ, que ajudou a barrar as ações de oxidação significativamente, demonstrando a diferença nos valores obtidos, mesmo ao final do último dia de análise (SAFAEIAN LAEIN *et al.*, 2024).

Além disso, Wu *et al.* (2023) utilizaram um revestimento a base de gelatina incorporada com cinamaldeído e seu complexo de inclusão sulfobutil éter- β -ciclodextrina aplicadas em filés de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) e refrigerados a uma temperatura de 4 °C. Os valores obtidos no grupo controle e contendo gelatina foram de 1,27 e 1,16 mg de MDA/kg de pescado no dia 15, respectivamente.

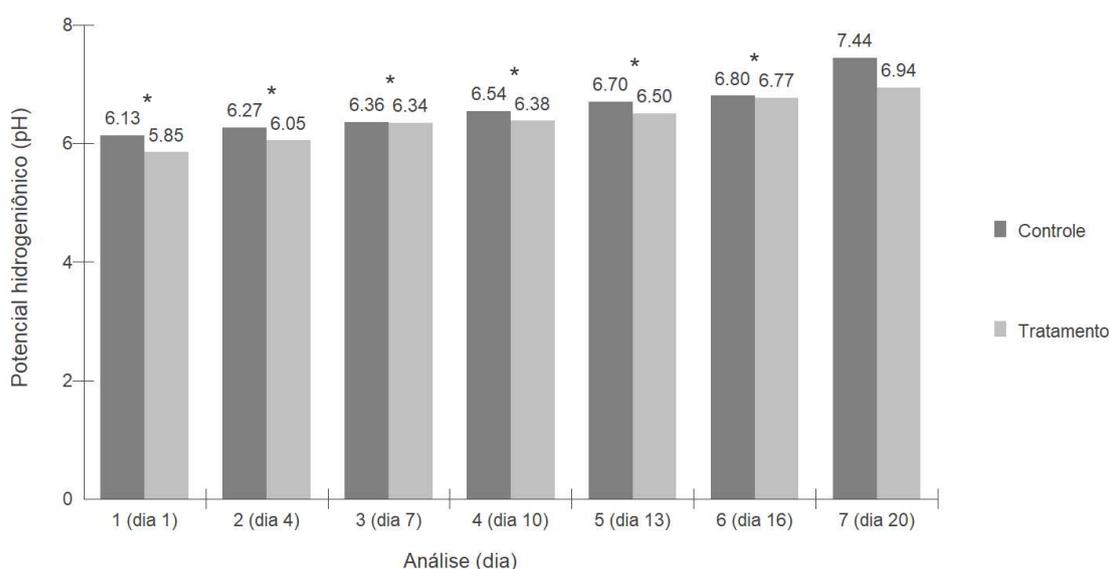
Ademais, outros estudos trataram da utilização de compostos fenólicos, como o extrato de semente de agrião, adicionado a gelatina para o revestimento em filé de tubarão *Smooth-Hound* refrigerado, os valores de oxidação ao final do experimento no sexto dia alcançou aproximadamente o valor de 1 mg de MDA/kg de pescado, comparado ao grupo controle, que passou de 3 mg de MDA/kg de pescado, revelando que a utilização de compostos fenólicos pode ajudar na conservação do pescado, levando em consideração diversos fatores, incluindo os compostos bioativos usados no revestimento (SALEM *et al.*, 2024).

5.5.4 Análise de pH

Com relação as análises de pH, pode-se perceber que com o decorrer das análises, os valores foram aumentando gradativamente, afinal, há uma redução inicial do valor do pH a partir da formação do ácido lático no músculo do pescado. Conseqüentemente é cessada a glicólise, gerando um aumento do pH, demonstrando o processo natural da formação de bases voláteis, como amônia e aminas biogênicas, que vão aumentar o valor de pH, favorecendo a proliferação de microrganismos deteriorantes (PRABHAKAR *et al.*, 2020; WU *et al.*, 2023).

Como é possível observar com os valores do Gráfico 16, nas análises 3, 4, 5 e 6 não houve diferença estatisticamente significativa, no entanto, nas demais houve diferença, mostrando que a gelatina conseguiu manter valores de pH abaixo do que o considerado ideal para o pescado fresco na faixa de até 7, mesmo ao final da última análise (ROMRUEN *et al.*, 2024).

Gráfico 16 – Valores correspondentes aos valores de pH das amostras de *Scomberomorus cavalla* dos grupos controle e tratamento.



Fonte: Autor (2024).

Os símbolos indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos naquela análise de acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$).

De acordo com Damasceno (2016), que avaliou o efeito de revestimentos bioativos à base de quitosana sobre a vida útil e a segurança da cavala (*S. cavalla*)

refrigerada, encontrou valores de pH para o grupo controle 7,64 enquanto que para os grupos que continham os revestimentos o pH foi abaixo de 7,00 ao final vigésimo primeiro dia de análise.

Assim como, Latief *et al.* (2023) utilizou revestimentos comestíveis como embalagens ativas aplicadas em filés de atum refrigerados, e encontrou ao final do décimo oitavo dia de análise valores de pH de 8,41 para o grupo que não foi revestido e valores que variaram entre 7,74 e 8,11 para as amostras dos grupos que foram revestidas com solução de amido enriquecida com glicerol e óleo de citronela.

De acordo com Safaeian Laein *et al.* (2024), que a partir de um estudo avaliaram o efeito revestimento com gelatina e nanopartículas lipídicas sólidas carregadas com óleo essencial de hortelã-pimenta em filés de truta durante o armazenamento refrigerado, encontraram valores de pH que variou entre 6,17 e 6,93 para o grupo controle e 6,13 e 6,68 para o grupo contendo gelatina e o óleo essencial, ao longo de 12 dias de análise.

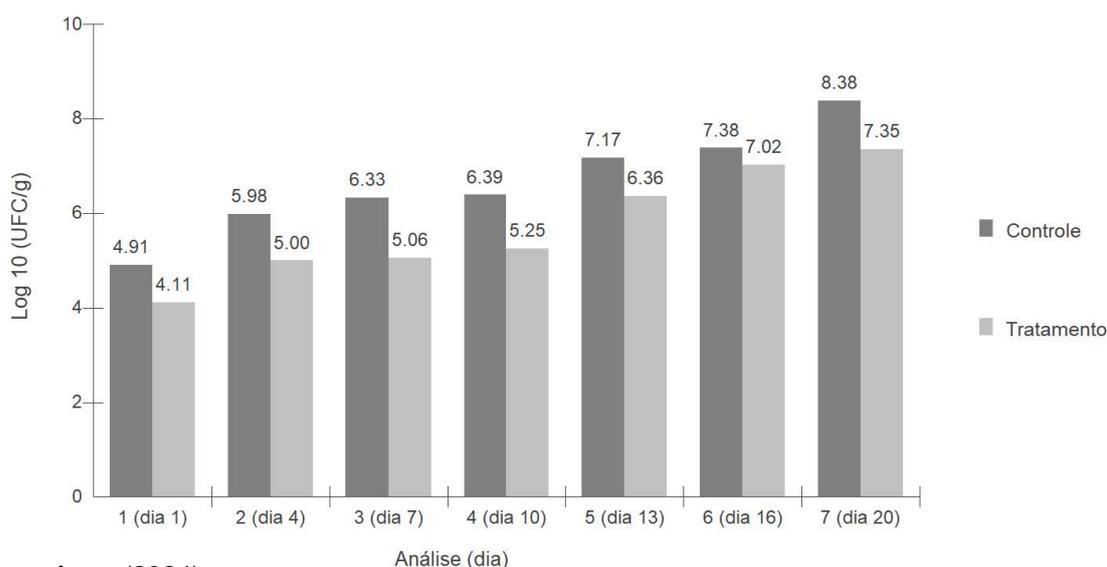
Em comparação aos dados do Gráfico 4, pode-se perceber que entre as análises 4 e 5, correspondente ao período de 12 dias, os valores do grupo tratamento está abaixo, justificando a ideia de que a utilização da gelatina juntamente com o antioxidante TBHQ atuam diretamente na conservação da qualidade, auxiliando na manutenção de algumas propriedades, como é o caso do pH (SAFAEIAN LAEIN *et al.* 2024)

Além disso, outros estudos que desenvolveram revestimento de filmes a base de gelatina de peixes eletrofiados enriquecida com etil lauroil arginato (LAE), um surfactante catiônico, para aplicação em filés de corvina amarela refrigerados, obtiveram uma variação de pH para as amostras do grupo contendo só gelatina, entre aproximadamente 6,95 e 7,35 ao final do décimo dia de análise, enquanto que as amostras contendo a gelatina e o surfactante variou entre 6,95 e 7,15 (DONG *et al.*, 2023). Dessa forma, esses resultados demonstram mais uma vez que a utilização do TBHQ diminuiu o aumento dos valores de pH, mesmo ao final da última análise, correspondente ao dia 19, percebe-se um valor abaixo ao encontrado por Dong *et al.* (2023).

5.5.5 Análise microbiológica

Os dados obtidos a partir da avaliação do pescado quanto a quantificação de unidades formadoras de colônia (UFC) de bactérias psicotróficas, que são aquelas que causam a deterioração do pescado e possuem faixa de crescimento nas faixas de temperatura entre 0 e 7 °C podem ser descritas no Gráfico 17. É possível evidenciar que com o decorrer das análises, houve um aumento de UFC, deixando claro que o tratamento, contendo gelatina e o antioxidante agiu efetivamente na redução da atividade de bactérias psicotróficas, fazendo com que ainda na análise 5, esses valores estivessem abaixo ao estipulado pela a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos, no qual não deve ultrapassar 7,0 log UFC/g, ao contrário do grupo controle no qual esse valor já ultrapassou o limite na análise 5 (ICMSF, 1986).

Gráfico 17 – Valores correspondentes a contagem padrão de placas de bactérias psicotróficas das amostras de *Scomberomorus cavalla* dos grupos controle e tratamento para a quantificação do número de unidades formadoras de colônias.



Fonte: Autor (2024).

Levando-se em consideração o estudo de Damasceno (2016), que avaliou a qualidade de cavala-verdadeira (*S. cavalla*) revestidas com bioativos à base de quitosana e estocadas por 21 dias a 4°C, em relação à contagem das bactérias heterotróficas, obteve-se valores que variaram entre 5,47 e 8,50 log UFC/g.

De acordo com Wu *et al.* (2023), que empregaram um revestimento à base de gelatina da pele da carpa prateada contendo cinamaldeído e seu complexo de inclusão com sulfobutil éter- β -ciclodextrina, aplicado em filés de carpa capim refrigerados a 4 °C, as amostras contendo apenas a gelatina atingiram um valor de aproximadamente 7 log UFC/g ao final do décimo quinto dia de análise.

Quando comparado aos valores extraídos do Gráfico 17, percebe-se que entre as análises de número 5 e 6, correspondente aos dias 13 e 16 de análise, a contagem de bactérias nesses dias foi entre 6,36 e 7,02 log UFC/g, indicando que o decorrer dos dias, o revestimento feito a base da gelatina da pele do atum juntamente com o TBHQ cria uma barreira de proteção contra os microrganismos deteriorantes (WU *et al.*, 2023).

Em outros estudos, Tkaczewska *et al.* (2023), avaliaram o efeito de revestimentos feito a partir da gelatina obtida da pele da carpa enriquecida com ervas secas ao extrato aplicado em filés de carpa, ao final do experimento no décimo segundo dia, as amostras contendo apenas gelatina e outras duas, com gelatina e adição de tomilho e alecrim, em ambas o valor aproximado da contagem de bactérias foi de 9 log UFC/g, quando comparado a utilização da gelatina e o TBHQ o valor ao final do décimo nono dia foi 7,35 log UFC/g.

Esses dados reforçam ainda mais a premissa da utilização da gelatina a base da pele do atum enriquecida com o TBHQ, cria uma barreira de proteção contra a ação de bactérias evitando assim o processo de deterioração do pescado (MA *et al.*, 2024). Ademais, salienta-se que dependendo das condições do próprio pescado e do armazenamento desse produto, pode interferir de forma direta na qualidade final desse produto, o que se evidencia quando se observa os resultados quanto ao rápido crescimento de bactérias psicrotólicas que refletiu diretamente nos valores de N-BVT e pH (PRABHAKAR *et al.*, 2020; DA SILVA *et al.*, 2024).

5.5.6 Análise de cor das amostras

Os valores correspondentes a cor das amostras de cavala dos grupos controle e tratamento são descritas na Tabela abaixo com os valores de L*, a* e b*. Os valores de L* dizem respeito a luminosidade da amostra, os de a* representam a quantificação de compostos de coloração vermelha (valores positivos) e verde (valores negativos) e de b*, amarela (valores positivos) e azul (valores negativos).

Tabela 16 – Valores correspondentes de cor (L^* , a^* e b^*) das amostras de *Scomberomorus cavalla* dos grupos controle e tratamento.

	Controle		Tratamento	
	Análise 1	Análise 7	Análise 1	Análise 7
L^*	30.86±3.70 ^a	48.58±2.84 ^b	50.18±4.33 ^{bc}	55.04±4.39 ^{cd}
a^*	-1.09±0.94 ^a	2.12±0.79 ^a	-1.00±0.82 ^b	3.96±0.91 ^c
b^*	-1.26±1.01 ^a	6.02±1.58 ^b	4.96±1.04 ^b	8.83±1.38 ^c

Fonte: Autor (2024).

As letras minúsculas iguais em cada linha representam que não há diferença estatisticamente significativa entre os valores de acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com os valores expressos na Tabela 16, pode-se perceber que os valores de L^* e b^* , para ambas as amostras dos grupos controle e tratamento, tiveram um aumento em relação as análises, esses aumentos podem ser evidenciados por conta do fator de umidade durante a refrigeração do pescado, resultando em um valor de L^* mais claro, por conta da luminosidade, associada a produção de compostos que promovem esse relativo brilho, por conta das condições de armazenamento e refrigeração, ocasionando a liberação do muco. Enquanto que em relação as amostras do grupo tratamento, essa luminosidade pode ser associada a utilização da gelatina da pele do atum, que agiu como uma proteção evitando um menor aumento, quanto as amostras do grupo controle (GAO *et al.*, 2020; IVANOVA *et al.*, 2021; HASHIMOTO & YAMASHITA, 2023).

Assim como, reações entre os grupos amino livres e os grupos carbonila do pescado vão promover o escurecimento desse alimento produzindo compostos de tons amarelados que vão aumentar os valores de b^* , tornando a carne do pescado um pouco mais escurecida com o decorrer das análises. Além disso, assume-se a ideia de que ocorra naturalmente a desnaturação proteica, desencadeando oxidação em níveis reduzidos e degradação do β -caroteno intrínsecos do pescado, evidenciando que o valores de b^* das amostras do grupo tratamento tiveram um valor maior do que as do grupo controle por conta do revestimento com a gelatina (GAO *et al.*, 2020; YOU *et al.*, 2024).

De acordo com Damasceno (2016), os valores de cor, para as amostras de cavala-verdadeira aspergidas bioativos à base de quitosana, ao final do vigésimo dia de análise teve uma variação de L^* entre 48,42 e 54,34, de a^* 6,06 e 11,91 e b^* 9,69

e 10,41. Evidencia-se que os valores de L^* e b^* foram bem próximos aos valores encontrados para as postas de cavala que foram revestidas com gelatina e TBHQ.

Em estudos elaborados por Salem *et al.* (2024), extraíram gelatina a partir da pele de peixe enriquecida com extrato de agrião aplicada em filé de tubarão *Smooth-Hound* refrigerado, e obtiveram valores de L^* , a^* e b^* ao final do sexto dia de análise para as amostras, respectivamente, de 60,45, 2,13 e 10,12, no qual apenas o valor de a^* demonstrou ser menor em relação aos encontrados nas amostras contendo gelatina da pele de atum enriquecida com TBHQ, diferentemente dos valores de L^* e b^* que tiveram valores bem próximos.

6 CONCLUSÃO

O rendimento da gelatina obtida a partir da pele do atum-amarelo (*Thunnus albacares*) por hidrólise ácida e alcalina foi satisfatório, destacando-se por seu alto teor proteico. A caracterização da gelatina mostrou que ela é eficiente para a formulação de filmes e revestimentos, apresentando boa força de gel e resistência a altas temperaturas. Além disso, a coloração amarelada do material foi atribuída à presença de pigmentos e aminoácidos livres presentes na pele do próprio atum.

Em termos de atividade antioxidante, a gelatina com adição de TBHQ mostrou que concentrações maiores de TBHQ aumentaram essa atividade, exceto em um caso específico. A solução filmogênica com gelatina, glicerol e 0,03% de TBHQ demonstrou ser a melhor opção para o revestimento, mantendo níveis de nitrogênio da trimetilamina e pH dentro dos padrões recomendados.

À luz dessas considerações, evidencia-se que a utilização do TBHQ, como um antioxidante sintético incorporado a gelatina obtida da pele do atum (*T. albacares*), promoveu de forma efetiva a redução do grau de oxidação lipídica, no entanto, devido as outras análises realizadas, o pescado não teve seu tempo de prateleira estendido por mais tempo. Dessa forma, a utilização de embalagens totalmente fechadas e vedadas para evitar contato direto do pescado com o local do armazenamento em refrigeração seja uma forma alternativa de melhorar o tempo de prateleira desse pescado diminuindo o processo de deterioração e aumentando a sua vida útil.

REFERÊNCIAS

ABDUSSAMAD, E. M. *et al.* Population characteristics unravel occurrence of distinct stocks of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) population in the Indian seas. **Indian Journal of Fisheries**, v. 71, n. 1, p. 144-149, 2024.

ABREU PEREIRA, Vanessa de *et al.* Blow Spinning Technique for Antioxidant Biocuratives from Gelatin–Curcumin-Based Nanofibers. **Fibers and Polymers**, p. 1-19, 2024.

AHMAD, Mehraj *et al.* Molecular characterisation, gelation kinetics and rheological enhancement of ultrasonically extracted triggerfish skin gelatine. **Journal of Molecular Structure**, v. 1296, p. 136931, 2024.

ALFARO, Alexandre da Trindade. Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*). **Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil**, 2008.

ALI, Md Sadek *et al.* Fabrication of smart film based on fish gelatin incorporating phycoerythrin and cellulose nanofibrils to monitor fish freshness. **Food Bioscience**, v. 59, p. 104111, 2024.

AMIRI, Roonak *et al.* The fabrication of films based on polymer and containing nanoclay, sodium diacetate, and tert-butyl hydroquinone for packaging rainbow trout. **Journal of Food Science**, v. 88, n. 5, p. 2090-2103, 2023.

AMMOR, Mohammed Salim; MICHAELIDIS, Christos; NYCHAS, George-John E. Insights into the role of quorum sensing in food spoilage. **Journal of food protection**, v. 71, n. 7, p. 1510-1525, 2008.

AN, Yueqi *et al.* Quality changes and shelf-life prediction of pre-processed snakehead fish fillet seasoned by yeast extract: Affected by packaging method and storage temperature. **Food Chemistry Advances**, v. 3, p. 100418, 2023.

AOWPITAYA, Tatpicha; SASANATAYART, Rungarun. Properties of Gelatin-based Films Incorporated with Anthocyanins and Curcuminoids and Stability of Antioxidant Activity during In Vitro Digestion. **CURRENT APPLIED SCIENCE AND TECHNOLOGY**, p. e0259441-e0259441, 2024.

ASIAMA, Ebenezer *et al.* Effect of seasonal variation and farming systems on the properties of Nile tilapia gelatin extracted from scales. **Heliyon**, v. 10, n. 2, 2024.

BALRAM, Deepak *et al.* A sensitive and economical electrochemical platform for detection of food additive tert-butylhydroquinone based on porous Co₃O₄ nanorods embellished chemically oxidized carbon black. **Food Control**, v. 136, p. 108844, 2022.

BI, Chunhuan *et al.* Effect of extraction methods on the preparation of electrospun/electrosprayed microstructures of tilapia skin collagen. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 128, n. 2, p. 234-240, 2019.

BITA, Seraj; SHARIFIAN, Salim. Assessment of biogenic amines in commercial tuna fish: Influence of species, capture method, and processing on quality and safety. **Food Chemistry**, v. 435, p. 137576, 2024.

BOUGHRIBA, Soumaya *et al.* Thermal, mechanical and microstructural characterization and antioxidant potential of *Rhinobatos cemiculus* gelatin films supplemented by titanium dioxide doped silver nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 103, p. 105695, 2020.

CARVALHO FILHO, Alfredo. **Peixes: costa brasileira**. Editora Marca D'Agua, 1992.

CHOU, Ming-Yu *et al.* Characterization and antibacterial properties of fish skin gelatin/guava leaf extract bio-composited films incorporated with catechin. **LWT**, v. 178, p. 114568, 2023.

CONNELL, Des W. Prediction of bioconcentration and related lethal and sublethal effects with aquatic organisms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 31, n. 4-12, p. 201-205, 1995.

COPPOLA, Daniela *et al.* Fish waste: From problem to valuable resource. **Marine drugs**, v. 19, n. 2, p. 116, 2021.

DA SILVA, Ana Caroline Pereira *et al.* A new edible coating of fish gelatin incorporated into açai oil to increase the post-harvest shelf life of tomatoes. **Food Chemistry**, v. 438, p. 138047, 2024.

DA SILVA, André Felipe F. *et al.* Sulfur-functionalized graphene obtained by a non-thermal plasma process for simultaneous electrochemical determination of tert-butylhydroquinone and bisphenol A. **Materials Research Bulletin**, v. 177, p. 112875, 2024.

DA SILVA, Camila Giacomelli *et al.* Gelatin extracted from jundiá skin (*Rhamdia quelen*): An alternative to the discarded by-product. **Food Research International**, v. 161, p. 111829, 2022.

DAMASCENO, Geísa Almeida. Efeito de revestimentos bioativos à base de quitosana sobre a vida útil e segurança da cavala (*Scomberomorus cavalla*) refrigerada. 2016.

DAMAYANTI, Ayu A. *et al.* The biological characteristics of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the Indian Ocean, south of Nusa Tenggara (FMA 573), Indonesia. **Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation**, v. 16, n. 5, p. 2419-2433, 2023.

DE SOUZA, Dayenne Alexsa Araujo *et al.* Avaliação do potencial de misturas de antioxidantes naturais e sintético na estabilidade oxidativa de biodiesel. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 11782-11799, 2021.

DERKACH, Svetlana R. *et al.* Characterization of fish gelatin obtained from Atlantic cod skin using enzymatic treatment. **Polymers**, v. 14, n. 4, p. 751, 2022.

DERKACH, Svetlana R. *et al.* Tailoring cod gelatin structure and physical properties with acid and alkaline extraction. **Polymers**, v. 11, n. 10, p. 1724, 2019.

DONG, Qingfeng *et al.* Development of electrospun fish gelatin film containing lauroyl arginate ethyl and its application in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) preservation. **Food Control**, v. 153, p. 109959, 2023.

DOWNES, F. P.; ITO, H. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington: American Public. **Health Association (APHA)**, 2001.

DUAN, Anbang *et al.* Preparation, physicochemical and application evaluation of raspberry anthocyanin and curcumin based on chitosan/starch/gelatin film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 220, p. 147-158, 2022.

EL-HADARY, Abdalla E.; TAHA, Mohamed. Pomegranate peel methanolic-extract improves the shelf-life of edible-oils under accelerated oxidation conditions. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 4, p. 1798-1811, 2020.

ESCAMILLA-PÉREZ, B. E. *et al.* Cultural importance of marine resources subject to fishing exploitation in coastal communities of Southwest Gulf of Mexico. **Ocean & Coastal Management**, v. 208, p. 105605, 2021.

ESKANDANI, Morteza; HAMISHEHKAR, Hamed; DOLATABADI, Jafar Ezzati Nazhad. Cytotoxicity and DNA damage properties of tert-butylhydroquinone (TBHQ) food additive. **Food chemistry**, v. 153, p. 315-320, 2014.

FAO. 2024. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2024** – Blue Transformation in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>

FERGUSON, Amber R. *et al.* Feeding performance of king mackerel, *Scomberomorus cavalla*. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 323, n. 7, p. 399-413, 2015.

FIRESTONE, David *et al.* Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. **(No Title)**, 1989.

FLORY, Paul J.; GARRETT, Robert R. Phase transitions in collagen and gelatin Systems1. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, n. 18, p. 4836-4845, 1958.

FOGAÇA, FH dos S. *et al.* **Métodos para análise de pescados**. 1. ed. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2009.

FONTELES-FILHO, A. A. *et al.* Sinopse de informações sobre a cavala, *Scomberomorus cavalla* (Cuvier) e a serra, *Scomberomorus brasiliensis* Collette, RUSSO & ZAVALA-CAMIN (Pisces: Scombridae), no Estado do Ceará, Brasil. **Arq. Ciên. Mar**, v. 27, p. 21-48, 1988.

GAO, Pei *et al.* Effects of three carp species on texture, color, and aroma properties of Suan yu, a Chinese traditional fermented fish. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 4, p. e14403, 2020.

GARCÍA, Carlos Diego; ORTIZ, Patricia Inés. BHA and TBHQ quantification in cosmetic samples. **Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis**, v. 12, n. 13, p. 1074-1076, 2000.

GAROFALO, Silvia Fraterrigo *et al.* From tuna viscera to added-value products: A circular approach for fish-waste recovery by green enzymatic hydrolysis. **Food and Bioproducts Processing**, v. 137, p. 155-167, 2023.

GHARAVI, Negar; HAGGARTY, Susan; S EL-KADI, Ayman O. Chemoprotective and carcinogenic effects of tert-butylhydroquinone and its metabolites. **Current drug metabolism**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2007.

GONÇALVES, Alex Augusto. Ciência, tecnologia, inovação e legislação. **São Paulo: Atheneu**, 2011.

GUO, Yafang *et al.* Regeneration of tert-butylhydroquinone by tea polyphenols. **Food Research International**, v. 95, p. 1-8, 2017.

HABIBA, Umme *et al.* Microbiological profiling of food additives and evaluation of their antibacterial efficacy. **Stamford Journal of Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 23-26, 2019.

HAN, Zhong *et al.* Extending the freshness of tilapia surimi with pulsed electric field modified pea protein isolate-EGCG complex. **Food Hydrocolloids**, v. 151, p. 109826, 2024.

HASHIMOTO, Kanako; YAMASHITA, Michiaki. Comparison of Muscle Color and Total Selenium Concentrations Between Spotted Mackerel *Scomber australasicus* and Pacific Mackerel *S. japonicus*. **Marine Biotechnology**, v. 25, n. 5, p. 652-656, 2023.

HASSAN, Mahjabeen *et al.* Methods for detection and quantification of gelatin from different sources. **Food Chemistry**, p. 137970, 2023.

HAUTRIVE, Tiffany Prokopp. **Ciência e tecnologia de alimentos**. Editora Insular, 2021.

HE, Long *et al.* Ultrasonication promotes extraction of antioxidant peptides from oxhide gelatin by modifying collagen molecule structure. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 78, p. 105738, 2021.

HORWITZ, William; LATIMER, G. W. Association of official analytical chemists.(2010). **Official methods of analysis of AOAC international**, 2000.

IŞIK, Çiğdem *et al.* Gelatin extraction from chicken skin by conventional and Ohmic heating methods and comparison with commercial halal gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 150, p. 109694, 2024.

IVANOVA, Lada *et al.* Fish skin and gill mucus: a source of metabolites for non-invasive health monitoring and research. **Metabolites**, v. 12, n. 1, p. 28, 2021.

JRIDI, Mourad *et al.* Effects of active gelatin coated with henna (*L. inermis*) extract on beef meat quality during chilled storage. **Food Control**, v. 84, p. 238-245, 2018.

KARAYANNAKIDIS, Panayotis D.; ZOTOS, Anastasios. Physicochemical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin and its modification by the addition of various coenhancers. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 5, p. 530-538, 2015.

KAST, Christina *et al.* Chemical fingerprinting identifies *Echium vulgare*, *Eupatorium cannabinum* and *Senecio* spp. as plant species mainly responsible for pyrrolizidine alkaloids in bee-collected pollen. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 35, n. 2, p. 316-327, 2018.

KHEZERLOU, Arezou *et al.* Alarming impact of the excessive use of tert-butylhydroquinone in food products: A narrative review. **Toxicology Reports**, v. 9, p. 1066-1075, 2022.

KHUSHBOO *et al.* Optimization of single-step gelatin extraction from pink perch (*Nemipterus japonicus*) skin and bone obtained from surimi industry using a green solvent. **Journal of Food Science**, v. 88, n. 12, p. 5044-5062, 2023.

KIM, Yang-Su *et al.* Effects of various pre-treatment and cooking on the levels of biogenic amines in Korean and Norwegian mackerel. **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2190, 2021.

KOSTAKI, Maria *et al.* Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. **Food microbiology**, v. 26, n. 5, p. 475-482, 2009.

KRASAE, K.; WORAWATTANAMATEEKUL, W.; HINSUI, J. Effects of peptide fractions and amino acids on antioxidant properties of autolyzed tuna viscera protein hydrolysate. **Food Res**, v. 7, p. 156-163, 2023.

KUEPETHKAEW, Sakonwat *et al.* Characteristics of gelatin from lizardfish (*Saurida micropectoralis*) and threadfin bream (*Nemipterus hexodon*) skins as influenced by extraction conditions. **Journal of Food Science and Technology**, v. 60, n. 11, p. 2813-2824, 2023.

KUMAR, Mamidi Satish; GHOSH, Shubhadeep. Reproductive Dynamics of Yellowfin Tuna, *Thunnus albacares* (Bonnaterre 1788) Exploited from Western Bay of Bengal. **Thalassas: An International Journal of Marine Sciences**, v. 38, n. 2, p. 1003-1012, 2022.

LATIEF, Rindam *et al.* Intelligent and Active Packaging System Application in Evaluating and Maintaining the Tuna (*Thunnus Sp.*) Fillets' Quality at Cold Temperature. **Current Research in Nutrition and Food Science Journal**, v. 11, n. 2, p. 627-640, 2023.

LE-ALVARADO, Meliza *et al.* Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) foraging habitat and trophic position in the Gulf of Mexico based on intrinsic isotope tracers. **PLoS one**, v. 16, n. 2, p. e0246082, 2021.

LESSA, Rosangela P. *et al.* Dinâmica de populações e avaliação de estoques dos recursos pesqueiros da região nordeste. **Ministério do Meio Ambiente, Recife**, 2004.

LI, Yan *et al.* Assessment of bacterial contributions to the biochemical changes of chill-stored blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fillets: Protein degradation and volatile organic compounds accumulation. **Food Microbiology**, v. 91, p. 103495, 2020.

LIU, C. *et al.* Comparison on antioxidant activity of TBHQ to oils and fats with different saturation degrees. **J. Henan Univ. Technol.(Nat. Sci. Ed.)**, v. 2, p. 5, 2013.

LIU, Sitong *et al.* Enhanced barrier and antioxidant properties of gelatin films by structural-colored bioactive materials for food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 150, p. 109744, 2024.

LIU, Yi; KAI, Yi; YANG, Hongshun. Biodegradable fish gelatin/chitosan-based active films alter chill-stored golden pomfret (*Trachinotus blochii*) metabolites mainly through modulating four metabolic pathways. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 36, p. 101046, 2023.

LIU, Yueyue *et al.* Evidence of myofibrillar protein oxidation and degradation induced by exudates during the thawing process of bighead carp fillets. **Food Chemistry**, v. 434, p. 137396, 2024.

LORENZO, José Manuel *et al.* Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. **Food Research International**, v. 106, p. 1095-1104, 2018.

LUBBOCK, Roger; EDWARDS, A. The fishes of Saint Paul's rocks. **Journal of Fish Biology**, v. 18, n. 2, p. 135-157, 1981.

LUO, Qingying *et al.* Gelatin-based composite films and their application in food packaging: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 313, p. 110762, 2022.

MA, Ping *et al.* Synergistic rosemary extract with TBHQ and citric acid improves oxidative stability and shelf life of peanut. **Journal of Food Science**, v. 89, n. 6, p. 3591-3602, 2024.

MACHADO, Thais Moron *et al.* Economia circular e resíduo de pescado. **Brazilian Journal of Environmental Sciences (RBCIAMB)**, v. 55, n. 4, p. 525-535, 2020.

MAFAZAH, E. M.; PRANOTO, Y.; ROHMAN, A. Extracting of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) fish skin gelatin as influenced by alkaline concentration and extraction times. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2018. p. 012047.

MAGTAAN, Jordan K.; FITZPATRICK, Brian; MURPHY, Ronan. Elucidating the biological activity of fish-derived collagen and gelatine hydrolysates using animal cell culture-a review. **Current Pharmaceutical Design**, v. 27, n. 11, p. 1365-1381, 2021.

MCCLEMENTS, David Julian; DECKER, Eric. Interfacial antioxidants: A review of natural and synthetic emulsifiers and coemulsifiers that can inhibit lipid oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 1, p. 20-35, 2018.

MOREIRA, Daniele Buraen *et al.* Determinação do teor de cinzas em alimentos e sua relação com a saúde. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 10, p. 3041-3053, 2021.

MOREIRA, Kelly Costa Cabral Salazar Ramos *et al.* Antioxidative capacity evaluation of imine compounds as metal ions chelators and free radical scavengers in biodiesel. **Biofuels**, v. 15, n. 4, p. 461-470, 2024.

MUKHERJEE, Indraneil; ROSOLEN, MaryAnn. Thermal transitions of gelatin evaluated using DSC sample pans of various seal integrities. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 114, p. 1161-1166, 2013.

NAJAFIAN, L.; BABJI, A. S. A review of fish-derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their production, assessment, and applications. **Peptides**, v. 33, n. 1, p. 178-185, 2012.

NINGRUM, A. *et al.* Characteristic of yellow tuna skin (*Thunnus albacares*) gelatin enriched with cinnamon (*cinnamomum zeylanicum*) and roselle (*hibiscus sabdariffa*) powder. **Food Research**, v. 4, n. 6, p. 2082-2088, 2020.

NINGRUM, Andriati *et al.* Characterization of Tuna Skin Gelatin Edible Films with Various Plasticizers-Essential Oils and Their Effect on Beef Appearance. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 9, p. e15701, 2021.

NÓBREGA, Marcelo Francisco de; LESSA, Rosangela Paula. Age and growth of the king mackerel (*Scomberomorus cavalla*) off the Northeastern Coast of Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 57, p. 273-285, 2009.

NORDIN, Norhazirah *et al.* Effects of glycerol and thymol on physical, mechanical, and thermal properties of corn starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 106, p. 105884, 2020.

NURILMALA, Mala *et al.* Characterization and antioxidant activity of collagen, gelatin, and the derived peptides from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin. **Marine drugs**, v. 18, n. 2, p. 98, 2020.

OLIVEIRA, Aline; IAHNKE, Silva. Principais aspectos de deterioração da qualidade de pescado e relação com a Legislação Brasileira: uma breve revisão. **Editora Científica Digital eBooks**, p. 62-77, 2022.

PAHOFF, Stephen *et al.* Effect of gelatin source and photoinitiator type on chondrocyte redifferentiation in gelatin methacryloyl-based tissue-engineered cartilage constructs. **Journal of materials chemistry B**, v. 7, n. 10, p. 1761-1772, 2019.

PATTIPEILOHY, F.; MONIHARAPON, T.; SUPIT, L. S. Effectiveness of washing with atung (*Parinarium glaberimum* Hassk) solution on quantity and quality of dark meat yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) surimi. **International Food Research Journal**, v. 31, n. 1, 2024.

PEARSON, David *et al.* **Laboratory techniques in food analysis**. London: Butterworths, 1973.

POUNGCHAWANWONG, Supanooch *et al.* Interaction effect of phenolic compounds on Alaska Pollock skin gelatin and associated changes. **LWT**, v. 133, p. 110018, 2020.

PRABHAKAR, Pramod K. *et al.* A comprehensive review on freshness of fish and assessment: Analytical methods and recent innovations. **Food research international**, v. 133, p. 109157, 2020.

PRABHAKAR, Pramod K.; SRIVASTAV, Prem P.; PATHAK, Sant S. Kinetics of total volatile basic nitrogen and trimethylamine formation in stored rohu (*Labeo rohita*) fish. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 28, n. 5, p. 452-464, 2019.

PU, Hongyu *et al.* Characterization and antioxidant activity of the complexes of tertiary butylhydroquinone with β -cyclodextrin and its derivatives. **Food chemistry**, v. 260, p. 183-192, 2018.

QIAO, Congde *et al.* Influence of salts in the Hofmeister series on the physical gelation behavior of gelatin in aqueous solutions. **Food Hydrocolloids**, v. 110, p. 106150, 2021.

RACHMAN, Sitti Hardiyanti; SANTOSO, Joko; SUSENO, Sugeng Heri. Antioxidant Activity and Potential Bioactive Peptides from Skin Protein Hydrolysate of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*). **Scientific Journal of Fisheries & Marine/Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan**, v. 15, n. 2, 2023.

RAHMAN, Mohammad Shafiur; AL-SAIDI, Ghalib Said; GUIZANI, Nejb. Thermal characterisation of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 472-481, 2008.

RANASINGHE, R. A. S. N. *et al.* Characterization of biodegradable films prepared from gelatin extracted from jellyfish *Acromitus flagellates* using hot water extraction and microwave-assisted extraction. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 44, p. 101315, 2024.

RASHIDI, Ladan *et al.* Rapid method for extracting and quantifying synthetic antioxidants in all edible fats and oils. **Food Analytical Methods**, v. 9, p. 2682-2690, 2016.

RAZAVI, Razie; KENARI, Reza Esmaeilzadeh. Antioxidant evaluation of *Fumaria parviflora* L. extract loaded nanocapsules obtained by green extraction methods in oxidative stability of sunflower oil. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 3, p. 2448-2457, 2021.

RENUKA, Vijayakumar *et al.* Characterization of gelatin obtained from unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) and reef cod (*Epinephelus diacanthus*) skins. **Lwt**, v. 116, p. 108586, 2019.

RIGUETO, Cesar Vinicius Tonicilli *et al.* Gelatin-based polymeric films for applications in food packaging: an overview of advances, challenges, and perspectives. **Ciência Rural**, v. 53, p. e20210679, 2022.

RIGUETO, Cesar Vinicus Tonicilli *et al.* Production and environmental applications of gelatin-based composite adsorbents for contaminants removal: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, p. 2465-2486, 2021.

RODRIGUES, Murilo Álisson Vigilato *et al.* Chitosan and gelatin materials incorporated with phenolic extracts of grape seed and jabuticaba peel: Rheological, physicochemical, antioxidant, antimicrobial and barrier properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 769-779, 2020.

ROMERO, P. An etymological dictionary of taxonomy. **Madrid, unpublished**, 2002.

ROMRUEN, Orapan *et al.* Smart bilayer film: Quality monitoring for freshness of fish and minced pork delights. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 44, p. 101299, 2024.

RUMJANEK, Norma Gouvêa; FONSECA, MCC da; XAVIER, G. R. Quorum sensing em sistemas agrícolas. **Revista Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 33, p. 35-50, 2004.

SAE-LEAW, Thanasak *et al.* Antioxidant activities and selected characteristics of gelatin hydrolysates from seabass (*Lates calcarifer*) skin as affected by production processes. **Journal of food science and technology**, v. 53, p. 197-208, 2016.

SAFAEIAN LAEIN, Sara *et al.* Improving quality of trout fillet using gelatin coating- contain peppermint essential oil loaded solid lipid nanoparticles (PEO-SLN). **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 18, n. 1, p. 345-356, 2024.

SALEM, Ali *et al.* Enhancing the Quality of Refrigerated Smooth-Hound Shark Fillet with a Fish Gelatin Coating Enriched with Garden Cress Extract. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 33, n. 3, p. 247-262, 2024.

SALSABIELA, Salwa *et al.* Development of Edible Coating from Gelatin Composites with the Addition of Black Tea Extract (*Camellia sinensis*) on Minimally Processed Watermelon (*Citrullus lanatus*). **Polymers**, v. 14, n. 13, p. 2628, 2022.

SANTA BRÍGIDA, Erikson Luiz *et al.* Population analysis of *Scomberomorus cavalla* (Cuvier, 1829)(Perciformes, Scombridae) from the Northern and Northeastern coast of Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, p. 919-924, 2007.

SCHAEFER, Kurt M.; FULLER, Daniel W. Spatiotemporal variability in the reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern Pacific Ocean. **Fisheries Research**, v. 248, p. 106225, 2022.

SCHAUDER, Stephan; BASSLER, Bonnie L. The languages of bacteria. **Genes & development**, v. 15, n. 12, p. 1468-1480, 2001.

SEIFIPASHA, Anahita; KAZEMEINI, Hamidreza. Investigate the effect of gelatin film containing probiotics of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus rhamnosus* on the survival of *Staphylococcus aureus* and physicochemical properties of rainbow trout fillet. **Journal of food science and technology (Iran)**, v. 21, n. 148, p. 62-78, 2024.

SEKARINA, A. S. *et al.* Effects of edible coatings of chitosan-fish skin gelatine containing black tea extract on quality of minimally processed papaya during refrigerated storage. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 5, p. 100287, 2023.

SHAHIDI, Fereidoon *et al.* Utilization of marine by-products for the recovery of value-added products. **Journal of Food Bioactives**, v. 6, 2019.

SILVA, E. S. *et al.* Conservação de alimentos pelo uso de aditivos: uma revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 37, n. 2, p. 18-29, 2019.

SISA, Alisson *et al.* Valorization of Yellowfin Tuna Tails: From Proteolytic Enzyme Production to Gelatin and Antioxidant Hydrolysate Extraction. **Foods**, v. 13, n. 13, p. 2034, 2024.

SOLA, Marília Cristina *et al.* Mecanismos de quorum sensing e sua relevância na microbiologia de alimentos. **Enciclopédia biosfera**, v. 8, n. 14, 2012.

SONG, Gaojie *et al.* Emulsifier free fish gelatin based films with excellent antioxidative and antibacterial activity: Preparation, characterization and application in coating preservation of fish fillets. **Journal of Food Engineering**, v. 343, p. 111362, 2023.

SORUSHANOVA, Anna *et al.* The collagen suprafamily: from biosynthesis to advanced biomaterial development. **Advanced materials**, v. 31, n. 1, p. 1801651, 2019.

SOUZA FILHO, M. *et al.* Obtenção e caracterização de gelatina de pele de tilápia. 2012.

SOXHLET, F. The weight analytic determination of milk fat. **Polytechnisches Journal**, v. 232, p. 461-465, 1879.

SURENTHIRAN, Duraiarasan *et al.* Fabrication of chitosan-based food packaging film impregnated with turmeric essential oil (TEO)-loaded magnetic-silica nanocomposites for surimi preservation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 203, p. 650-660, 2022.

SUTRISNO, Endro *et al.* Characterization of tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin edible film incorporated with clove and ginger essential oils and different surfactants. 2021.

TALAB, Abdelrahman S. *et al.* Effect of chitosan nanoparticles on the quality properties of fish burger. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, v. 27, n. 5, p. 303-320, 2023.

TAVASSOLI-KAFRANI, Elham; SHEKARCHIZADEH, Hajar; MASOUDPOUR-BEHABADI, Mahdieh. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate polymers**, v. 137, p. 360-374, 2016.

TERRELL, Casey. **What Is TBHQ, and What Does It Do in Our Food?** 2021. Disponível em: <https://foodinsight.org/what-is-tbhq/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

THAKUR, Rahul *et al.* Characteristics and application of animal byproduct-based films and coatings in the packaging of food products. **Trends in Food Science & Technology**, p. 104143, 2023.

THAKUR, Rahul *et al.* Gelatin/chitosan-lactate/curcuma hydroethanolic extract-based antimicrobial films: Preparation, characterization, and application on chicken meat. **Food Hydrocolloids**, v. 154, p. 110075, 2024.

TKACZEWSKA, Joanna *et al.* Edible coatings based on a furcellaran and gelatin extract with herb addition as an active packaging for carp fillets. **Food and Bioprocess Technology**, v. 16, n. 5, p. 1009-1021, 2023.

TONGDEESOONTORN, Wirongrong *et al.* Antioxidant films from cassava starch/gelatin biocomposite fortified with quercetin and TBHQ and their applications in food models. **Polymers**, v. 13, n. 7, p. 1117, 2021.

VALA, Milene *et al.* Effect of tuna skin gelatin-based coating enriched with seaweed extracts on the quality of tuna fillets during storage at 4 C. **International Journal of Food Studies**, v. 6, n. 2, 2017.

VALCARCEL, Jesus *et al.* Extraction and characterization of gelatin from skin by-products of seabream, seabass and rainbow trout reared in aquaculture. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, p. 12104, 2021.

VARONA, Elisa *et al.* Antioxidant peptides from alternative sources reduce lipid oxidation in 5% fish oil-in-water emulsions (pH 4) and fish oil-enriched mayonnaise. **Food Chemistry**, v. 426, p. 136498, 2023.

WALL, Carrie C.; MULLER-KARGER, FRANK E.; ROFFER, Mitchell A. Linkages between environmental conditions and recreational king mackerel (*Scomberomorus cavalla*) catch off west-central Florida. **Fisheries Oceanography**, v. 18, n. 3, p. 185-199, 2009.

WANG, Yuxin *et al.* Effects of distinct lipid phases and packaging on alleviating the quality deterioration of surimi gels during frozen storage. **Food Bioscience**, v. 58, p. 103678, 2024.

WANGKHEIRAKPAM, M. R. *et al.* Fish waste utilization with reference to fish protein hydrolysate-A review. **Fish. Technol**, v. 56, n. 3, p. 169-178, 2019.

WU, Jiulin *et al.* Fish gelatin films incorporated with cinnamaldehyde and its sulfobutyl ether- β -cyclodextrin inclusion complex and their application in fish preservation. **Food chemistry**, v. 418, p. 135871, 2023.

WU, Wenjuan *et al.* Effects of polyphenol and gelatin types on the physicochemical properties and emulsion stabilization of polyphenol-crosslinked gelatin conjugates. **Food Chemistry: X**, v. 22, p. 101250, 2024.

XIN, Songlin *et al.* Preparation of chitosan/curcumin nanoparticles based zein and potato starch composite films for *Schizothorax prenati* fillet preservation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 211-221, 2020.

XIONG, Yun *et al.* Incorporation of salmon bone gelatine with chitosan, gallic acid and clove oil as edible coating for the cold storage of fresh salmon fillet. **Food Control**, v. 125, p. 107994, 2021.

XIAOLAN, Xu *et al.* Transformation of TBHQ in lard and soybean oils during room temperature storage. 2019.

XUE, Zhiyong *et al.* Synthesis of lipoic acid ferulate and evaluation of its ability to preserve fish oil from oxidation during accelerated storage. **Food Chemistry: X**, v. 19, p. 100802, 2023.

YANG, Fang *et al.* Differential roles of ice crystal, endogenous proteolytic activities and oxidation in softening of obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*) fillets during frozen storage. **Food Chemistry**, v. 278, p. 452-459, 2019.

YANG, Huijuan *et al.* Repurposing fish waste into gelatin as a potential alternative for mammalian sources: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 2, p. 942-963, 2022.

YESILTAS, Betül *et al.* Gelatin from Saithe (*Pollachius virens*) Skin: Biochemical Characterization and Oxidative Stability in O/W Emulsions. **Marine Drugs**, v. 20, n. 12, p. 739, 2022.

YILDIRIM-YALÇIN, Meral; SADIKOĞLU, Hasan; ŞEKER, Mahmut. Characterization of edible film based on grape juice and cross-linked maize starch and its effects on the storage quality of chicken breast fillets. **Lwt**, v. 142, p. 111012, 2021.

YOU, Shuyi *et al.* Quality properties of fish ball with abalone and its relationship with sensory properties. **Food Chemistry: X**, v. 21, p. 101146, 2024.

YU, Ermeng *et al.* Gelatin from specific freshwater and saltwater fish extracted using six different methods: Component interactions, structural characteristics, and functional properties. **LWT**, v. 191, p. 115656, 2024.

ZHANG, Aihua; HAN, Ye; ZHOU, Zhijiang. Characterization of citric acid crosslinked chitosan/gelatin composite film with enterocin CHQS and red cabbage pigment. **Food Hydrocolloids**, v. 135, p. 108144, 2023.

ZHANG, Ting *et al.* Effect of extraction methods on the structural characteristics, functional properties, and emulsion stabilization ability of Tilapia skin gelatins. **Food Chemistry**, v. 328, p. 127114, 2020.

ZHANG, Yang *et al.* Solubility of 2, 5-Di-tert-butylhydroquinone and process design for its purification using crystallization. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 60, n. 7, p. 1968-1974, 2015.

ZHAO, Xue *et al.* Effect of vacuum impregnated fish gelatin and grape seed extract on moisture state, microbiota composition, and quality of chilled seabass fillets. **Food Chemistry**, v. 354, p. 129581, 2021.

ZHENG, Yan *et al.* A community-based cross-sectional study of dietary composition and associated factors among tuberculosis patients in China. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 2676, 2024.