



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

LANA OLIVEIRA LEITE

**FILMES E REVESTIMENTOS ANTIMICROBIANOS DE PROTEÍNAS
MIOFIBRILARES A PARTIR DE SUBPRODUTOS DE TILÁPIA (*Oreochromis
niloticus*) COM APLICAÇÃO EM POSTAS DE CAVALA (*Scomberomorus cavalla*)**

FORTALEZA

2018

LANA OLIVEIRA LEITE

FILMES E REVESTIMENTOS ANTIMICROBIANOS DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES
A PARTIR DE SUBPRODUTOS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) COM APLICAÇÃO
EM POSTAS DE CAVALA (*Scomberomorus cavalla*)

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiro e Engenharia de Pesca.

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

FORTALEZA

2018

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)

L1f Leite, Lana Oliveira.

Filmes e revestimentos antimicrobianos de proteínas miofibrilares a partir de subprodutos de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) com aplicação em postas de Cavala (*Scomberomorus cavalla*) / Lana Oliveira Leite. – 2018.

79 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós- Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2018.

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

1. Resíduo. 2. Pescado. 3. Proteínas miofibrilares. 4. Filmes. 5. Revestimentos antimicrobianos. I. Título.

CDD 630

LANA OLIVEIRA LEITE

FILMES E REVESTIMENTOS ANTIMICROBIANOS DE PROTEÍNAS MIOFIBRILARES
A PARTIR DE SUBPRODUTOS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) COM APLICAÇÃO
EM POSTAS DE CAVALA (*Scomberomorus cavalla*)

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiro e Engenharia de Pesca.

Aprovada em: 12/07/2018.

BANCA EXAMINADORA

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

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

Prof. Dr. Reynaldo Amorim Marinho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Fábiana Karine Andrade
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Rafael dos Santos Rocha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A minha família.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela saúde e pela força de concluir um trabalho de doutoramento.

Ao meu orientador Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza pela confiança, orientação, ensinamentos e principalmente por ter me aceitado e confiado em meu trabalho.

A minha orientadora e professora Regine Helena S. dos Fernandes Vieira que é responsável pela minha entrada na vida acadêmica desde graduação em Engenharia de Pesca até o ingresso no doutorado.

Ao professor Dr. André Luis Coelho da Silva que me ajudou desde o início com soluções para eu conseguir trabalhar com proteína.

Ao professor Dr. Reynaldo Amorim Marinho pela atenção, simpatia e brincadeiras deixando a vida acadêmica mais leve.

À professora Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes pela atenção, companheirismo nos trabalhos acadêmicos de mestrado e agora no meu doutorado.

À Dra. Fábيا Karine Andrade pela atenção e pela disponibilidade de participar nessa etapa.

Ao professor Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho por ter me recebido e me ajudado na Empresa Brasileira de Agropecuária (EMBRAPA) para fazer as análises.

Ao Rafael dos Santos Rocha pela dedicação na vida acadêmica, que cominou no surgimento de uma amizade inexplicável.

A Ana Irene Martins pela doação e por todos os ensinamentos, carrões, puxões de orelha, noites, dias, feriados, finais de semana, enfim esse trabalho é nosso. Obrigada por não me deixar desistir nunca.

A Jessyca Marinara pela paciência, pela ajuda árdua de uma vida laboratorial e sempre está disposta a ajudar a entender a metodologia e os conceitos.

A todos os colegas, do Laboratório de Tecnologia do Processamento de Pescado (LATEP), pela paciência e pelo apoio na flexibilização dos meus horários para que fosse possível a sequência deste trabalho.

Ao programa de pós-graduação em engenharia de pesca e seus colaboradores.

À UFC pela bela instituição quem quer faz.

Aos meus amigos feitos durante 14 anos de estrada “UFCeriana”.

Aos meus familiares e amigos, que sempre me deram apoio e acreditaram em meu potencial para enfrentar novos desafios.

À Maria Haidée Ribeiro de Oliveira e ao Francisco Tobias Saldanha, por tudo, pelo seu apoio, incentivo, estímulo e paciência nos vários momentos que deixei transparecer cansaço devido ao tempo dedicado à vida acadêmica e ao trabalho.

Também gostaria de fazer uma homenagem especial ao meu João Guilherme (JG), que é minha fonte de inspiração, mesmo não entendendo nada, dedico a ti este título.

RESUMO

Os resíduos do processamento, ainda, são um dos principais entraves nas indústrias pesqueiras devido aos desperdícios e ao impacto ambiental próximo às propriedades geradoras. Desta forma, diversas formas de reaproveitamento são pesquisadas com o objetivo de gerar novos produtos com diferentes aplicações a partir dos resíduos agroindustriais. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar filmes e revestimentos antimicrobianos de proteínas obtidas da carne mecanicamente separada (CMS). Para este fim, utilizaram-se proteínas miofibrilares de tilápia (*Oreochromis niloticus*), glicerol e ácido láctico. O perfil de aminoácidos da amostra de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo foi caracterizado e as maiores concentrações presentes são de ácido aspártico ($12,05 \pm 0,05\%$), ácido glutâmico ($12,18 \pm 0,04\%$), lisina ($10,42 \pm 0,04\%$) e prolina ($8,92 \pm 0,09\%$). Na obtenção dos filmes utilizou-se a técnica de *casting* onde foram realizados vários experimentos variando a composição da solução filmogênica em relação à quantidade de proteína (1%, 1,5% e 2%) e glicerol (0,0%, 0,1%, 0,2%). Os filmes foram caracterizados em relação à cor e opacidade, solubilidade em água, propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água (PVA). As soluções filmogênicas destes filmes foram utilizadas como revestimento proteico (RP) através da técnica *dipping* para avaliar a capacidade molhante ou de espalhamento (W_s) na superfície de postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) e o maior W_s foi o do revestimento de 1% de proteína e 0,1% de glicerol. A atividade antimicrobiana dos revestimentos, em relação à *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Salmonella Enteritidis* e *Vibrio parahaemolyticus*, foi verificada pelo método de difusão em poços. Todos os revestimentos desenvolveram atividade antimicrobiana em relação aos microrganismos avaliados. A solução filmogênica de 1% PB e 0,1% de glicerol foram utilizadas como revestimento através da técnica *dipping* para avaliar as mudanças ocorridas em postas de cavala (*Scomberomorus cavala*) frescas e congeladas a $-18 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 180 dias. Foram avaliadas características como perda de peso, congelamento e revestimento, pH, N-BVT, TBARS e crescimento microbiológico de bactérias psicotróficas a 7°C sendo que, em todos os tratamentos, onde a cavala foi revestida com as soluções proteicas os resultados foram melhores do que o tratamento controle e o tratamento de congelamento que é uma prática já permitida em legislação. Neste aspecto, as análises foram feitas nos tempos (T_0 , T_{30} , T_{60} , T_{90} , T_{120} , T_{150} e T_{180}), os tratamentos se dividiram em controle (C), congelamento (G) e revestimento proteico (RP) que continha em sua formulação 1 g de

proteína miofibrilar e 0,1 mL de glicerol, pois é a solução filmogênica a qual apresentou o melhor resultado em todas as características analisadas.

Palavras-chave: resíduos; Pescado; proteínas miofibrilares; filmes e revestimentos antimicrobianos.

ABSTRACT

Processing waste is also one of the main obstacles in the fishing industry due to waste and the environmental impact of generating properties. In this way, several forms of reutilization are researched with the objective of generating new products with different applications from agroindustry residues. The objective of this work was to develop and evaluate antimicrobial films and coatings of proteins obtained from mechanically separated meat (CMS). For this purpose, myofibrillar proteins of tilapia (*Oreochromis niloticus*), glycerol and lactic acid were used. The amino acid profile of the myofibrillar protein sample of Nile tilapia was characterized and the highest concentrations present are aspartic acid ($12.05 \pm 0.05\%$), glutamic acid ($12.18 \pm 0.04\%$), lysine ($10.42 \pm 0.04\%$) and proline ($8.92 \pm 0.09\%$). In order to obtain the films it was used the casting technique in which several experiments were carried out, varying the composition of the film-forming solution in relation to the amount of protein (1%, 1.5% and 2%) and glycerol (0.0% 0.1%, 0.2%). The films were characterized in terms of color and opacity, water solubility, mechanical properties and water vapor permeability (PVA). The filmogenic solutions of these films were used as protein coating (PR) by dipping technique to evaluate the wetting or scattering capacity (Ws) on the surface of mackerel (*Scaberulous cavalla*) and the highest Ws was the coating of 1% of protein and 0.1% glycerol. The antimicrobial activity of the coatings, in relation to *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positive*, *Salmonella Enteritis's* and *Vibrio pahaemolyticus*, was verified by the well diffusion method. The coatings at the minimum concentration of 1% (RP) were those that developed better antimicrobial activity in relation to the evaluated microorganisms. The film-forming solution of 1% PB and 0.1% glycerol was used as coating by dipping technique to evaluate changes in fresh and frozen mackerel (*Scaberulous cavala*) slates at -18 ± 3 ° C for 180 days. It was evaluated characteristics such as weight loss, glaciation and coating, pH, N-BVT, TBARS and microbiological growth of psychotropic bacteria at 7°C. In all treatments, where mackerel was coated with protein solutions, the results were better than the treatment control and the treatment of glaciation which is a practice already allowed in legislation. The treatments were divided into control (C), glacier (G) and protein coating (RP), which contained in its formulation 1 g of myofibrillar protein and 0.1 mL of glycerol, because it is the film-forming solution which presented the best result in all analyzed characteristics.

Keywords: waste; Fish; myofibrillar proteins; antimicrobial films and coatings.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Peixe cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>)	24
Figura 2 -	Fluxograma do processo para obtenção da proteína miofibrilar de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	26
Figura 3 -	Fluxograma do processo para obtenção dos filmes de proteína miofibrilar.....	29
Figura 4 -	Colorímetro digital (Konica Minolta CR400)	32
Figura 5 -	Sistema para padronização da escala de cor (Hunter)	32
Figura 6 -	Esquema da técnica em difusão em ágar (poços)	34
Figura 7 -	Esquema representativo das três tensões interfaciais da gota de um líquido na superfície sólida	36
Figura 8 -	Ilustração de revestimento das postas de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>)	39
Figura 9 -	Filmes elaborados com proteína miofibrilar e glicerol	49
Figura 10 -	Equação da reta e ajustes dos dados experimentais e o coeficiente de Pearson	57
Figura 11 -	Variação do coeficiente de adesão (W_a) dos revestimentos de proteína, em cavala, em função da percentagem e do tipo de plastizante (0; 0,1; 0,2%) de glicerol (m/v)	57
Figura 12 -	Variação do coeficiente de coesão (W_c) dos revestimentos de proteína, em cavala, em função da percentagem e do tipo de plastizante (0; 0,1; 0,2%) de glicerol (m/v)	59
Figura 13 -	Variação do coeficiente de espalhamento (W_s) dos revestimentos de proteína, em cavala, em função da percentagem e do tipo de plastizante (0; 0,1; 0,2%) de glicerol (m/v)	59
Figura 14 -	Fotos das placas da atividade antimicrobiana através do método de difusão em poço para concentrações de revestimento proteico (RP) de 1,0%, 1,5% e 2,0% e o glicerol (puro) para bactérias Gram positivas (<i>Staphylococcus aureus</i>) e Gram negativas (<i>Escherichia coli</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> e <i>Salmonella entérica</i>)	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento experimental dos tratamentos com diferentes concentrações protéicas e de glicerol para produção de filmes e revestimentos	30
Tabela 2 - Composição centesimal da CMS de tilápia e das proteínas miofibrilares ..	47
Tabela 3 - Perfil dos Aminoácidos presentes nas proteínas miofibrilares da tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) em comparação com as exigidas pela FAO.....	49
Tabela 4 - Valores de Permeabilidade do vapor da água (PVA), solubilidade e espessura dos filmes de proteínas miofibrilares (1,0%, 1,5% e 2,0%) com ou sem adição de glicerol nas concentrações de (0; 0,1; 0,2%)	52
Tabela 5 - Valores obtidos para deformação na ruptura, modo de elasticidade e tensão máxima dos filmes de proteínas miofibrilares (1,0%, 1,5% e 2,0%) com ou sem adição de glicerol nas concentrações de (0; 0,1; 0,2%)	55
Tabela 6 - Valores obtidos para luminosidade, a*, b* e opacidade dos filmes de proteínas miofibrilares (1,0%, 1,5% e 2,0%) com ou sem adição de glicerol nas concentrações de (0; 0,1; 0,2%)	57
Tabela 7 - Tensão superficial dos líquidos testados e suas componentes, à temperatura ambiente	59
Tabela 8 - Atividade antimicrobiana através do método de difusão em poço para as concentrações de revestimento proteico (RP) de 1,0%, 1,5% e 2,0% e o glicerol (puro) para bactérias Gram positivas (<i>Staphylococcus aureus</i>) e Gram negativas (<i>Escherichia coli</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> e <i>Salmonella entérica</i>)	62
Tabela 9 - Resultados referentes aos valores de perda de peso, glaciamento e revestimento em postas de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>) conservada por 180 dias à -18 °C	65
Tabela 10 - Resultados referente aos valores de pH em postas de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>) conservada por 180 dias à -18 °C	70

Tabela 11 - Resultados referentes aos valores de N-BVT das postas de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>) conservada por 180 dias à -18 °C	71
Tabela 12 - Resultados referentes aos valores de TBARS das postas de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>) conservada por 180 dias à -18 °C	72
Tabela 13 - Logaritmo da Média dos valores das Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) das bactérias psicrotróficas, em função do tempo de congelamento, encontradas no músculo da cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>) para o grupo controle, glaciamento e revestimento Proteico 1% com 0,1% de glicerol	74
Tabela 14 - Contagem de bactérias psicrotróficas (Log UFC/g) das postas de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>) conservada por 180 dias à -18°C	75

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Resíduos do processamento do pescado	17
2.2	Proteína do Pescado como um biopolímero	18
2.3	Proteínas miofibrilares	19
2.4	Filmes e revestimentos comestíveis e protéicos	20
2.5	Filmes e revestimentos antimicrobianos	23
2.6	Pescado Cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>)	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	Material Biológico	25
3.1.1	<i>Matéria prima para obtenção da proteína</i>	25
3.2	Preparação das proteínas miofibrilares a partir dos resíduos de pescado	25
3.3	Caracterização das proteínas miofibrilares	26
3.3.1	<i>Rendimento de proteínas miofibrilares: Carne Mecanicamente Separada (CMS)</i>	26
3.3.2	<i>Composição centesimal</i>	27
3.3.3	<i>Análises de aminoácidos das proteínas miofibrilares (Aminograma) ..</i>	27
3.4	Elaboração dos filmes	27
3.5	Caracterizações físicas dos filmes	29
3.5.1	<i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA)</i>	29
3.5.2	<i>Solubilidade em água</i>	30
3.5.3	<i>Caracterização mecânica dos filmes proteicos</i>	30
3.5.4	<i>Cor e opacidade dos filmes proteicos</i>	31
3.6	Avaliação da atividade antimicrobiana dos revestimentos proteicos .	33
3.6.1	<i>Bactérias Padrões</i>	33
3.6.2	<i>Preparo dos inóculos bacterianos</i>	33
3.7	Tensão Superficial dos revestimentos proteicos	35
3.8	Molhabilidade	36
3.9	Aplicação da solução filmogênica como revestimento proteico em postas de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>)	38

3.9.1	<i>Preparação da solução de revestimento proteico</i>	38
3.9.2	<i>Tratamentos do experimento de vida útil das postas de cavala revestidas</i>	38
3.9.3	<i>Aplicação do revestimento proteico e o glaciamento</i>	38
3.10	Análise da perda de peso, perda de revestimento e perda de glaciamento	39
3.10.1	<i>Perda de peso</i>	39
3.10.2	<i>Perda de revestimento</i>	40
3.10.3	<i>Perda de glaciamento</i>	40
3.11	Análise físico-química das postas de cavala	41
3.11.1	<i>Determinação do pH</i>	41
3.11.2	<i>Análise do nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT)</i>	41
3.11.3	<i>Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i>	42
3.12	Contagem Padrão em Placas de Psicotróficas	42
3.13	Análise estatística	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1	Rendimento de proteínas miofibrilares: Carne Mecanicamente Separada (CMS)	44
4.2	Composição centesimal da CMS e das proteínas miofibrilares	44
4.3	Perfil de aminoácidos das proteínas miofibrilares (Aminograma)	47
4.4	Obtenção e caracterização do filme	49
4.4.1	<i>Permeabilidades ao vapor de água (PVA), solubilidade e espessura</i>	50
4.4.2	<i>Caracterização mecânica dos filmes</i>	52
4.4.3	<i>Cor e Opacidade dos filmes proteicos</i>	54
4.5	Avaliação das soluções filmogênicas para revestimento em alimentos	56
4.5.1	<i>Tensão Superficial</i>	56
4.5.2	<i>Molhabilidade</i>	57
4.5.3	<i>Atividade Antimicrobiana</i>	59
4.6	Aplicação da solução filmogênica	62
4.6.1	<i>Determinação da perda de peso, perda de glaciamento e perda de revestimento em postas de cavala</i>	62
4.6.2	<i>Composição centesimal das postas de cavala (Scomberomorus</i>	

	<i>cavalla)</i>	63
4.6.3	<i>Determinação do pH das postas de cavala</i>	64
4.6.4	<i>Nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT)</i>	65
4.6.5	<i>Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i>	67
4.6.6	<i>Contagem de Bactérias Psicotróficas nas postas de cavala</i>	68
5	CONCLUSÕES	71
	REFERÊNCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

O simples descarte ou a falta de um destino certo dos resíduos da industrialização do pescado, hoje, é um dos principais entraves do setor para seu maior desenvolvimento. O aumento do volume de resíduos tem provocado sérios problemas ambientais, sendo que uma alternativa para minimizar este problema é o seu aproveitamento integral, através da recuperação de seus principais componentes, destacando-se a proteína do pescado (CHAMBÓ, *et al.*, 2017).

Com o objetivo principal de reduzir a poluição ambiental e problemas com a estabilidade do ecossistema, materiais ecológicos a partir de polímeros biodegradáveis têm recebido cada vez mais atenção. O desenvolvimento de embalagens de material biodegradáveis tem sido relatado como alternativa do uso de plásticos não biodegradáveis (SUPUT *et al.*, 2017).

Entre os biopolímeros naturais mais utilizados na obtenção de filmes, estão as proteínas, as quais apresentam algumas vantagens, por serem provenientes de fontes renováveis e capazes de formar uma matriz contínua e coesa (RAMOS , VALDÉS, BELTRÁN e GARRIGÓS, 2016).

Geralmente as metodologias das formulações para elaboração de filmes biodegradáveis a base de proteínas são constituídas pelos seguintes compostos: agente formador de filmes (proteína), plastificante (sorbitol ou glicerol), solvente e de ajustador de pH (SOUZA, 2010).

Os filmes biodegradáveis proteicos destinam-se a auxiliar a manutenção da qualidade e da vida útil dos alimentos, controlando a transferência de umidade, oxigênio, dióxido de carbono, entre outros. Contribuem para prolongar a vida de prateleira e para melhorar a qualidade de alimentos, tal como a função de “barreira de sacrifício”, proporcionando um obstáculo à transferência de massa, levando ingredientes alimentares, melhorando a integridade física e as características de manuseio do alimento.

As proteínas em geral possuem uma estrutura com 20 monômeros diferentes, o que confere uma ampla gama de propriedades funcionais, especialmente um potencial para ligações intermoleculares. Filmes e revestimento à base de proteínas podem formar ligações em posições diferentes e oferecem grande potencial para a formação de numerosas ligações (Ou *et al.*, 2005).

Os filmes e revestimentos à base de proteínas de pescado formam redes, apresentando boas propriedades mecânicas, como plasticidade e elasticidade, e boa barreira ao

oxigênio, porém, absorvem muita água, devido à hidrofília dos aminoácidos das moléculas de proteína (PAIVA *et al.*, 2006). As características dos filmes e revestimentos proteicos podem ser modificadas pela adição de plastificantes hidrofóbicos (ZAVAREZE *et al.*, 2012).

Os peixes são alimentos altamente perecíveis, que devido suas características físico-químicas estão susceptíveis a rápida degradação. Rico em água e uma microbiota natural, os peixes podem ser veículo das Doenças Transmitidas por Alimento (DTA's), causadas principalmente pelas bactérias não autóctones do pescado, tais como *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Salmonella Enteritidis* e *Vibrio parahaemolyticus* (RODRIGUES, FERRACIOLLI, LUIZ E NAVAL, 2017).

As embalagens com ação antimicrobiana são uma forma de embalagem “ativa” que possuem a função de aumentar a vida útil dos alimentos e fornecer segurança ao consumidor. Elas possuem melhores funções que as embalagens biodegradáveis que somente reduzem e retardam a multiplicação de microrganismos patógenos e deteriorantes dos alimentos (OJAGH *et al.*, 2010).

Neste sentido, os resíduos de filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), composto por carcaças, as quais muitas vezes são descartadas de forma inadequada contribuindo, assim, para o desequilíbrio ambiental o qual representa um enorme desperdício de subprodutos que podem ter alto valor agregado. Devido às estas razões, este estudo tem como finalidade o aproveitamento destes resíduos na obtenção de um filme proteico que apresente atividade protetora e antimicrobiana.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resíduos do processamento do pescado

O maior entrave enfrentado pela indústria pesqueira é a produção de resíduos e o inadequado descarte que prejudica o meio ambiente. Os estudos indicam que os resíduos de pescado, em sua maioria, são depositados diretamente em lixos governamentais e aterros sanitários, entretanto esses locais não possuem uma política de biodegradação adequada. Essa forma de poluição é reportada principalmente em locais onde a aquicultura ou pesca são praticadas (COSTA, *et al.*, 2017).

O processamento de pescado gera uma quantidade expressiva de resíduos ricos em proteínas e em ácidos graxos de cadeia longa, entre os quais se destacam os insaturados da série ômega-3 (Amaral *et al.*, 2017). Os resíduos de pescado podem ser fontes de concentrados proteicos que podem ser utilizados na fabricação de filmes e revestimentos comestíveis para sua própria conservação.

Os resíduos do processamento, na indústria de pesca, podem alcançar cerca de 70% do peso inicial do peixe sendo considerada matéria prima de qualidade e de baixo valor comercial não utilizado na maioria dos casos, tornando-se dejetos que causam prejuízos ecológicos, sanitários e econômicos. Atualmente, os resíduos sólidos do beneficiamento de peixe são destinados principalmente à alimentação animal, também podem ser aproveitados para a produção de fertilizantes e produtos químicos, ou quando não são descartados ou enterrados, sem nenhuma finalidade, em aterros sanitários, gerando assim, um impacto ambiental (ARRUDA, *et al.*, 2007).

Entretanto, o setor pesqueiro devia estar engajado nas propostas de emissão zero de resíduos, e ainda, dispor de alternativas para o gerenciamento dos resíduos gerados, o que se tornaria um fator diferencial para as empresas de pescado, garantindo a diversificação da linha de produtos, o crescimento sustentável e a responsabilidade sócio-ambiental (BRUNO, *et al.*, 2013).

Em razão disso, os resíduos do processamento de pescado pode ser fonte de proteína para fabricação de soluções filmogênicas e elaboração de revestimentos comestíveis que se mostra como uma estratégia para aumentar a vida de útil dos alimentos. E uma das principais preocupações na produção de filmes é procurar fontes de materiais de fontes renováveis (Cortez-Veja *et al.*, 2013).

2.2 Proteína do Pescado como um biopolímero

As proteínas provenientes de pescado apresentam algumas propriedades vantajosas na elaboração de filmes, como habilidade para formar redes, plasticidade e elasticidade, além de apresentar uma boa barreira ao oxigênio. No entanto, sua barreira ao vapor de água é baixa em razão da sua natureza hidrofílica, devido essa característica, as propriedades de barreira e as mecânicas dos filmes à base deste polímero são comprometidas pela umidade. Entretanto, essa característica pode ser modificada pela adição de plastificantes e/ou aditivos (JANJARASSKUL, KROCHTA, 2010).

Existem três tipos de proteínas de pescado: sarcoplasmática, estromáticas e miofibrilar (DANGARAN *et al.*, 2009). As enzimas, a mioglobina e as proteínas citoplasmáticas são exemplos de proteínas sarcoplasmáticas. Proteínas do estroma incluem colágeno e elastina, enquanto proteínas miofibrilares incluem miosina, actina, tropomiosina e troponina. Proteínas do estroma e miofibrilar são usadas para fazer filmes comestíveis e revestimentos. Actina e miosina formam as principais frações das proteínas miofibrilares. A miosina é responsável por uma série de propriedades, como a gelificação, a retenção de água e a emulsificação (RAGHAVAN e KRISTINSSON, 2008).

Segundo Oetterer, 1996, as proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas são facilmente separadas, devido à característica de solubilidade em água, independente da força iônica, das proteínas sarcoplasmáticas que constituem cerca de 35% das proteínas totais do músculo. As proteínas miofibrilares são insolúveis em água, mas podem ser extraídas e solubilizadas por meio da variação de pH da solução.

Assim, as proteínas do músculo de peixe, quando solubilizadas pelo abaixamento do pH para 2,7, proporcionam soluções coloidais extremamente viscosas que podem ser usadas como solução filmogênica para a produção de revestimentos e filmes comestíveis (CUQ, *et al.*, 1995).

Como é relatado que a actina e a miosina, proteínas miofibrilares, são as principais responsáveis pela formação de filmes biodegradáveis, trabalhos ratificaram o potencial dessas proteínas que são consideradas promissoras (MONTERREY-QUINTERO & SOBRAL, 2000).

2.3 Proteínas miofibrilares

As proteínas miofibrilares são proteínas que em soluções salinas podem ser extraídas com solução de Cloreto de Potássio (KCl) a uma concentração igual ou superior a 0,5 M. A miosina e a actina, que constituem $\frac{3}{4}$ do total de proteínas miofibrilares, são as proteínas contráteis, responsáveis pela contração e relaxamento. Essas proteínas têm a capacidade de formar géis em diversas condições, em um processo que envolve desnaturação parcial seguida de agregação, devida a associações moleculares. Essas desnaturações podem ser feitas de vários modos um deles é a redução do potencial hidrogeniônico (pH) (VAZ, 2005).

As proteínas miofibrilares são proveniente principalmente dos produtos lavados, desidratado e moídos, com cerca de 75 % de proteínas, que podem apresentar ou não características sensoriais do pescado, dependendo do método de obtenção utilizado (MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL, 2000).

Os concentrados proteicos têm um elevado valor biológico, baixo custo e fácil conservação, além disso, possuem concentrações de proteínas superiores à do músculo de pescado, grande capacidade de hidratação, além de uma alta digestibilidade, se comparado a outras proteínas de mesmo valor comercial (VIDAL *et al.*, 2011).

O método de extração e concentração das proteínas miofibrilares do músculo de pescado está baseado na eliminação das proteínas sarcoplasmáticas, de gorduras, pigmentos e substâncias odoríferas, mediante uma série de lavagens da carne mecanicamente separada de pescado em água e soluções salinas (KUHN; SOARES, 2002).

As proteínas miofibrilares, têm sido concentradas e podem ser utilizadas como material formador de filmes biodegradáveis conforme diversos pesquisadores. CORTEZ-VEGA *et al.* (2012), trabalhando com a proteína proveniente de corvina (*Micropogonias furnieri*), realizaram três ciclos de lavagens na carne mecanicamente separada, utilizando em cada ciclo uma solução de lavagem na proporção de 1:4 (solução:carne), a 7°C por 10 minutos. Foi utilizado solução de NaHCO₃ a 0,5% para a primeira e segunda lavagens e solução de NaCl a 0,3% para a última. Depois de cada ciclo de lavagem, as amostras foram centrifugadas a 7°C e o sobrenadante que continha gordura e proteínas solúveis em água foram desprezadas.

REBOUÇAS *et al.* (2012), também trabalhou com proteínas miofibrilares proveniente da carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*),

com o tratamento com ácido fósforo 0,002% para desodorização e para deslipidificação o etanol na proporção de 2:1.

A carne mecanicamente separada (CMS) é a parte de músculo que antes era desperdiçada, pois ela ficava aderida entre as espinhas dos peixes. Com o desenvolvimento da máquina que separa a carne das espinhas, a CMS pode ser matéria prima de baixo custo para obtenção de proteínas miofibrilares (REBOUÇAS *et al.*, 2012).

2.4 Filmes e Revestimentos comestíveis e protéicos

Na prolongação da vida útil, as embalagens desempenham um papel decisivo na melhoria da vida de prateleira de alimentos, pois protegem o produto em relação ao ambiente externo e mantém sua qualidade durante o armazenamento. Além disso, o retardo da deterioração do produto, devido à embalagem, significa uma redução no desperdício de alimentos, o que implica num significativo benefício que deve ser considerado na cadeia de fornecimento de alimentos (GOMES *et al.*, 2016).

Atualmente, tem crescido a preocupação com os impactos ambientais provenientes das embalagens sintéticas, uma vez que estes constituem materiais não biodegradáveis. Nesse contexto, tem crescido o número de pesquisas sobre materiais facilmente degradáveis, que não agridam ao meio ambiente, com a finalidade de substituir gradativamente as embalagens plásticas (BALLESTER-COSTA *et al* 2016).

Os Filmes e revestimentos comestíveis são finas camadas contínuas de materiais comestíveis aplicadas em produtos alimentares que agem como barreira a elementos externos ajudando na conservação, pois reduzem a taxa de respiração, prolongam o tempo de validade, reduzem a perda de água e a carga microbiana superficial. Esses revestimentos são um tipo especial de embalagem e na indústria de alimentos apresentam algumas vantagens, tais como comestibilidade, aparência estética, biocompatibilidade com tecidos humanos, propriedades de barreira, sendo não-tóxico, não-poluente e de baixo custo (DILARRI *et al.*, 2016).

Esses tipos de embalagens, além de ter efeitos protetores, podem também atuar como transportadores de aditivos alimentares, incluindo antioxidantes, antimicrobianos, corantes e saborizantes, podem ainda, ser um indicador de deterioração quando associados a substâncias reveladoras, são as quais mudam de cor quando ocorre uma mudança no pH, de tal forma que o próprio consumidor possa avaliar as condições de consumo mediante indicações de alteração no alimento (ARHAM *et al.*, 2016) . Assim como resultados, a vida de prateleira dos alimentos poderá ser estendida, o risco do crescimento de patógenos em

superfícies de alimentos poderá ser reduzido e diminuirá o risco de intoxicação de pessoas por ingestão de alimentos inapropriados ao consumo humano (GALUS e KADZIŃSKA, 2016).

As características das embalagens em alimentos são de grande importância, pois a interação entre o produto e o vapor de água, o oxigênio e o dióxido de carbono pode interferir na qualidade e validade dos alimentos. A principal função dos filmes e revestimentos como embalagem para alimentos é o retardo da transferência de oxigênio, dióxido de carbono e umidade entre o alimento e o ambiente. Assim, a permeabilidade ao vapor de água e ao oxigênio deve ser a menor possível a fim de aumentar a vida útil do produto (LECETA, GUERRERO, CABA, 2013).

As propriedades de transporte mais relatadas em trabalhos e pesquisas são a permeabilidade a vapor de água, a permeabilidade ao oxigênio e a permeabilidade ao dióxido de carbono (VICENTE *et al.*, 2010). A permeabilidade de filmes e revestimento se define como o fluxo de difusão de um soluto através do filme, estando a difusão relacionada com a concentração do soluto nos dois lados do filme.

A permeabilidade ao vapor de água é a propriedade muito importante e determinante na escolha dos filmes ou revestimentos comestíveis, entretanto, propriedades hidrofílicas dos filmes e revestimentos são associadas a sua não escolha devido à relação direta entre a água e a deterioração dos alimentos. Ainda nesse contexto, a alta permeabilidade é uma das desvantagens, já que muitas vezes é necessário um controle da transferência de vapor de água. Assim, a baixa permeabilidade ao vapor de água pode ser benéfica em alguns casos, prevenindo a condensação do vapor de água, que pode ser uma possível origem da contaminação microbiana (PINHEIRO *et al.*, 2010).

A adição de plastificantes, tais como sorbitol e glicerol, nos filmes têm sido extensamente estudados nos últimos anos. Os plastificantes quando não são adicionados, ocorre microfissuras que aumentam a permeabilidade dos filmes, enquanto que, em outros casos, a sua adição leva ao aumento dos valores de permeabilidade a vapor de água devido à maior afinidade do sistema para atrair água, já que os plastificantes apresentam uma estrutura hidrofílica (CHINNAN & PARK, 1995).

Já a solubilidade dos filmes fornece informações sobre a sua integridade em sistemas aquosos e indica sua resistência à água. Além disso, quando verificado a solubilidade, que é uma característica importante se este for usado como embalagem, certifica-se que o filme é biodegradável. No entanto, em alguns casos, uma solubilidade moderada é desejada, por exemplo, em alimentos revestidos que necessitam de cozimento,

além da função de meio de transporte de antimicrobianos que é necessária sua liberação constante na superfície do alimento (ELSABEE & ABDOL, 2013).

Outra característica é a capacidade molhante dos revestimentos, que é determinado pela sua eficiência de espalhar-se uniformemente sobre o produto revestido e está ligada ao processo de revestimento que envolve o “molhamento” do produto. O estudo do comportamento de molhamento constitui um dos aspectos científicos mais importantes do processamento de materiais que apresentam a formação de fases líquidas em alta temperatura. A molhabilidade depende diretamente do balanço das energias interfaciais sólido-líquido-vapor do sistema e os principais conceitos teóricos envolvidos nestes estudos.

Luz, Ribeiro e Pandolfelli (2008) relatam que a molhabilidade pode ser estudada a partir de várias técnicas experimentais, sendo as mais conhecidas a elevação de um líquido em um capilar e o espalhamento de uma gota líquida sobre uma superfície sólida. Os métodos para caracterizar a molhabilidade são diversos e incluem algumas técnicas como a da gota sésil (sessile drop - SD), gota distribuída (dispensed drop - DP), gota transferida (transferred drop - TD), gota pendente (pendant drop - PD), máxima pressão da bolha (maximum bubble pressure - MBP), peso da gota (drop weight - DW), entre outras. Estas técnicas de medidas diversas introduzem uma considerável disparidade metodológica nas medidas de ângulo de contato e tensão superficial.

A da formulação das soluções de revestimentos a serem empregadas sobre a os produtos alimentícios é de grande relevância, pois a escolha da quantidade adequada é essencial para a durabilidade e manutenção dos revestimentos sobre os produtos alimentares. Desta forma, o estudo da capacidade molhante, bem como das propriedades de superfície dos produtos são de bastante importância para a correta aplicação destes revestimentos. A literatura reporta que “a eficiência dos revestimentos comestíveis depende principalmente do controle da capacidade molhante da solução usada” (CASARIEGO *et al.*, 2008).

A determinação da tensão superficial geralmente envolve a medição de ângulos de contato com vários líquidos de referência na superfície do alimento. A energia da superfície do sólido é então relacionada com a superfície das tensões dos líquidos e os ângulos de contato. Este método invoca uma estimativa da tensão de superfície, relatado e estudado Enredo Zisman (ZISMAN, 1964).

2.5 Filmes e revestimentos antimicrobianos

A ação antimicrobiana é o controle da contaminação microbiana, reduzindo a taxa de crescimento ou inativando os microrganismos no alimento, mantendo a qualidade e frescor sensorial e nutricional. Geralmente, a principal função do uso de agentes antimicrobianos em alimentos tem sido a de estender a vida útil e manter a qualidade de inativação de microrganismos deterioradores e patogênicos (DAVIDSON; HARRISON, 2002).

As doenças de origem alimentar causadas por agentes microbiológicos são um grande e crescente problema de saúde pública (BRASIL, 2001). A maioria dos países com sistemas de notificação de casos de doenças de origem alimentar têm demonstrado aumento significativo ao longo das últimas décadas na incidência de doenças causadas por microrganismos em alimentos, como *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 entre outros (WHO, 2008).

O aumento da demanda por produtos pouco processados e com “selo verde” que apresentam as garantias de inocuidade do que aqueles tratados por métodos tradicionais de conservação incentivam as pesquisas para estudar novas formas de garantir a segurança alimentar e aumentar a vida útil de produtos alimentícios protegidos com matérias biodegradáveis (FORTUNY; BELLOSO, 2003).

Podemos relatar também perdas econômicas enormes no setor alimentício, devido à contaminação microbiana, pois esses alimentos são descartados devido ao crescimento de bactérias, os deixando impróprio para o consumo (SAYARI *et al.*, 2016). Nos últimos anos, filmes e revestimentos antimicrobianos vêm recebendo consideráveis atenções devido a sua capacidade antimicrobiana frente a diferentes grupos de micro organismos, tais como bactérias, leveduras e fungos, sendo que as propriedades antibacterianas e antifúngicas são mais exigidas (YOUNES *et al.*, 2014).

As pesquisas nesta área são muitas e tendem a potencializar o efeito de antimicrobianos naturais com diferentes compostos. Estudos comprovaram a eficiência da nisina em combinação com um agente quelante sobre a *Listeria monocytogenes*, em alguns tipos de carnes processadas (HOTCHKISS, 1995; BRODY, 2001).

2.6 Pescado Cavala (*Scomberomorus cavalla*)

O pescado de forma geral é um alimento de alto valor e qualidade nutricional. Segundo o Riispoa 2017, ele determina que pescado seja compreendido para espécie de

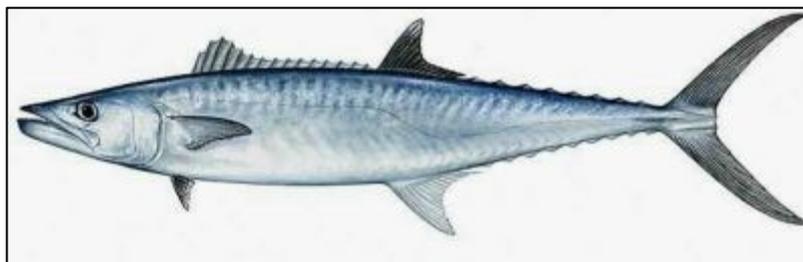
peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana.

A demanda mundial vem crescendo de forma acelerada em decorrência do aumento populacional e da busca por alimentos mais saudáveis. Segundo a “Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO”, o pescado destaca-se como importante fonte de alimento, pois uma porção de 150 g de peixe pode fornecer cerca de 50-60 por cento da exigência de proteína diária recomendada para um adulto (FAO, 2014).

O Brasil possui uma grande faixa de litoral com intensa atividade de pesca, e conta com grande variedade de organismos aquáticos importantes recursos pesqueiros com alto valor econômico. Uma das principais fontes de pescado marinho provenientes da pesca extrativa são peixes pertencentes à família *Scombridae*: albacora, atum, bonito, cavala, serra, entre outros, perfazendo um total de 13 espécies (BRASIL, 2011).

A espécie *Scomberomorus cavalla* (Cuvier, 1829), comumente conhecida como cavala, é uma espécie de peixe pelágico amplamente distribuído ao longo do Atlântico Ocidental. Em recente estudo verificou sua importância na pesca artesanal no Nordeste do Brasil, pois nos desembarques, essa espécie representa 8,6% do peso total registrado das capturas. Assim, a cavala se destaca por ser um recurso pesqueiro em potencial e por ser uma espécie pelágica e que vive principalmente sobre zona das plataformas continentais como reportada no Programa Avaliação do Potencial Sustentável de Recursos Vivos na Zona Econômica Exclusiva (REVIZEE).

Figura 1- Peixe cavala (*Scomberomorus cavalla*)



Fonte: www.fishbase.be/photos

Este trabalho teve com objetivo específico aplicar a solução filmogênica de 1% RP e 0,1% Glicerol, como revestimento em postas de cavala da família *Scombridae* e verificar a manutenção da segurança e da qualidade nutricional durante 180 dias de estocagem a -18°C.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório Tecnologia do Pescado (LATEPE), integrante do Departamento de Engenharia de Pesca, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará (Campus do Pici, Fortaleza, Ceará), com parceria da Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMPRAPA).

3.1 Material Biológico

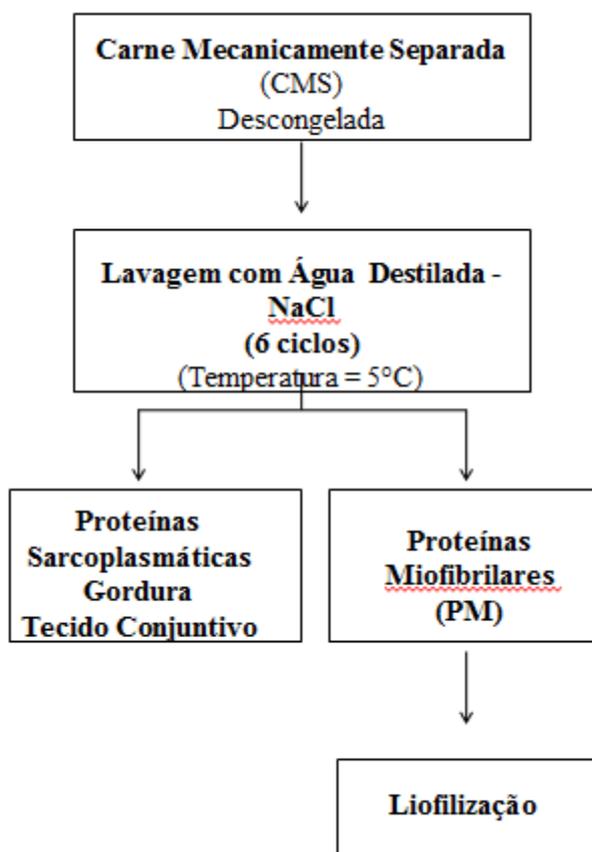
3.1.1 Matéria prima para a obtenção da proteína

Foi utilizada a carne mecanicamente separada (CMS) da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), proveniente de indústrias de processamento de pescado da cidade de Orós/CE, a qual foi transportada em caixa térmica com gelo para Unidade de processamento do Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE), da Universidade Federal do Ceará.

3.2 Preparação das proteínas miofibrilares a partir dos resíduos de pescado

Para obtenção das proteínas miofibrilares adaptou-se o método utilizado por MONTERREY-QUINTERO; SOBRAL (2000). A carne mecanicamente separada foi obtida após evisceração e filetagem, passando por um separador de ossos e espinhas. A polpa obtida foi lavada em seis ciclos, utilizando em cada ciclo de uma solução de lavagem na proporção de 2:1 (solução:pasta), a 5°C, durante 10 minutos. Em cada ciclo de lavagem, a temperatura baixa era mantida com gelo. Uma solução de água destilada a 0,85% NaCl foi utilizada para primeira, segunda e terceira lavagem e as demais uma solução de NaCl a 0,1% foi utilizada. O sobrenadante contendo a gordura e proteína solúvel foi desprezado. A pasta final foi peneirada através de uma peneira de metal de malha de 1 mm para remover o tecido conjuntivo e então, congelada a -18°C por 24 horas em freezer e posteriormente foi desidratada em liofilizador (Liotop, L108, Brasil) por 96 horas obtendo-se a proteína miofibrilar liofilizada utilizada como base para obtenção dos filmes e revestimentos. A Figura 2 apresenta o fluxograma do processo para obtenção das proteínas miofibrilares.

Figura 2 - Fluxograma do processo para obtenção da proteína miofibrilar de tilápia (*Oreochromis niloticus*).



Fonte: Autor.

3.3 Caracterização das proteínas miofibrilares

3.3.1 Rendimento de proteínas miofibrilares: Carne Mecanicamente Separada (CMS)

Foi determinado o rendimento para cada 100g de CMS quanto de percentual de proteínas miofibrilares rendia. O rendimento da extração foi calculado através da equação 1 e expresso em g de proteína/100g de subproduto (ARNESEN e GILDBERG, 2006; BENJAKUL, 2010; BINSI, 2009; BORAN e REGENSTEIN, 2009).

3.3.2 Composição centesimal

Foi determinada a composição centesimal das proteínas miofibrilares, segundo a metodologia oficial da AOAC *Association of Official Analytical Chemists* (2005). O conteúdo de umidade das proteínas miofibrilares foi determinado de acordo com o método gravimétrico em estufa à 100°C; o teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl, sendo o teor de proteína bruta obtido, através da multiplicação pelo fator 6,25; o conteúdo de lipídios foi obtido pelo método de Soxhlet e cinzas, por método gravimétrico em mufla a 500°C. As determinações foram realizadas em triplicata.

3.3.3 Eletroforese de aminoácidos das proteínas miofibrilares (Aminograma)

A análise de aminoácidos das proteínas miofibrilares foi realizada no sistema Biochrom 20 (Pharmacia-LKB). Primeiramente as proteínas miofibrilares liofilizadas (2 mg) foi hidrolisada com 2 mL de HCl 6 N contendo fenol 1% (m:v). A hidrólise foi realizada em ampolas de vidro, seladas sob atmosfera de nitrogênio e mantidas em estufa à 110 °C por 24 horas. Após a hidrólise, as ampolas foram abertas e o HCl juntamente com o fenol foram eliminados, sob pressão reduzida, na presença de NaOH 1 M. Em seguida, os resíduos hidrolizados foram lavados (5 vezes) com água ultrapura (milliQ) e seco sob pressão reduzida na presença de pentóxido de fósforo. Após a secagem, as amostras foram redissolvidas em solução tampão estéril de citrato de sódio 0,1 M pH 2,2 e submetidas a análise de aminoácidos.

3.4 Elaboração do filme

Para a obtenção dos filmes de proteína miofibrilar, após realização de testes preliminares, foi utilizada a metodologia descrita por Monterrey-Quintero (2000) com adaptações. Realizou-se um planejamento experimental fracionário de 3 tratamentos de percentual de PM (1,0%, 1,5% e 2,0%) e dentro dos menos tratamentos, 3 variações de percentual de glicerol (0,0%, 0,1% e 0,2%), totalizando 9 tratamentos. O detalhamento experimental dos tratamentos e suas nomenclaturas são apresentados pela Tabela 1.

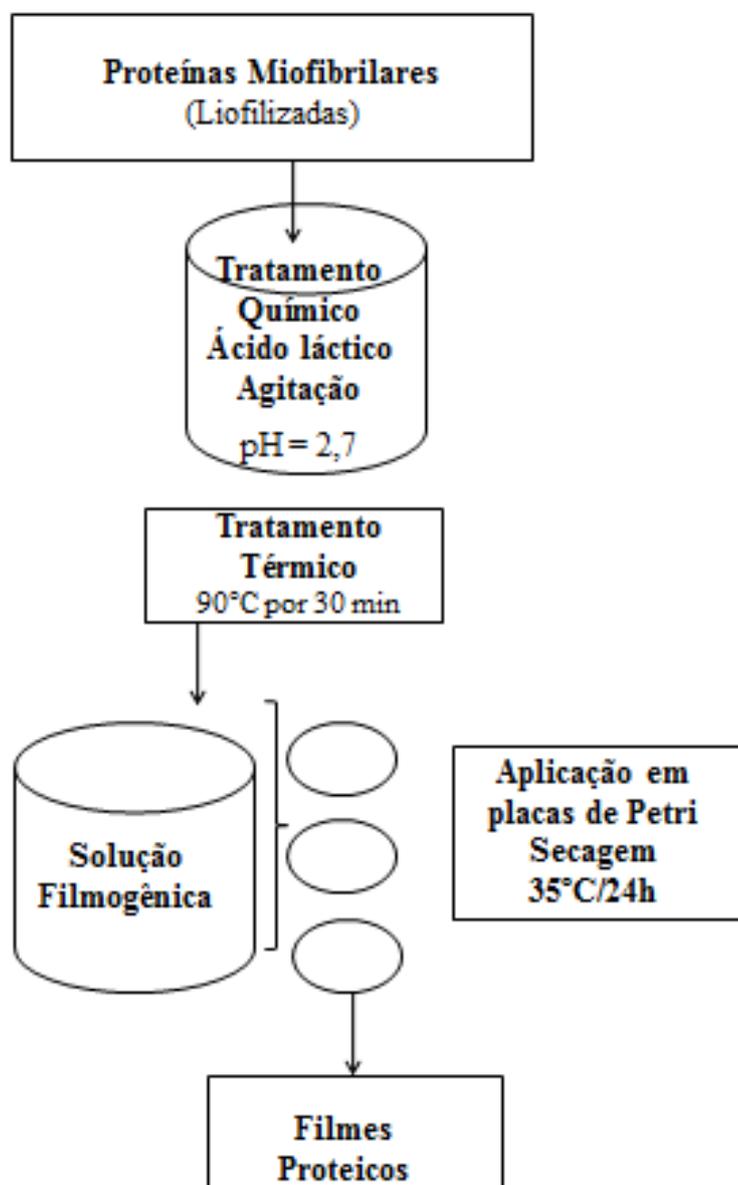
Tabela 1 – Delineamento experimental dos tratamentos com diferentes concentrações protéicas e de glicerol para produção de filmes e revestimentos.

Tratamentos	0% glicerol	0,1% glicerol	0,2% glicerol
1% Proteína Miofibrilar	T ₁	T ₄	T ₇
1,5% Proteína Miofibrilar	T ₂	T ₅	T ₈
2% Proteína Miofibrilar	T ₃	T ₆	T ₉

Onde: T= Tratamentos que variam o percentual de PM e plastizante.

Os filmes proteicos foram obtidos pela técnica de casting conforme metodologia citada por SOUZA *et al.* (2010), sendo que inicialmente a proteína miofibrilar (PM) foi dispersa em água destilada de pH= 2,7 (ajuste com ácido láctico) em um béquer. A dispersão aquosa foi mantida com agitação suave e constante por 30 minutos através de um agitador eixo-hélice (IKA, modelo RW 20DZM.n), sendo a temperatura controlada em 90°C por uma manta aquecedora, para hidratação da PR. Anteriormente à hidratação, ajustou-se o pH da dispersão para 2,7 com adição de ácido láctico PA - C₃H₆O₃ utilizando pHmetro de bancada (KASVI, modelo 200) mantendo-se agitação constante da solução aquosa. Em seguida, adicionou-se o glicerol (Vetec, Química) previamente separado, mantendo-se o pH em 2,7 com agitação constante e a temperatura da solução filmogênica em 90°C durante 30 minutos. Na sequência, a solução filmogênica foi espalhada (28 mL) em placas de Petri, as quais foram colocadas em estufa com circulação de ar (QUIMIS, modelo 314D 242) a 35°C por 12 horas. Após a secagem, os filmes foram armazenados por 48 horas em dessecadores mantidos a 25 ± 2°C e umidade relativa de 10 ± 2%, controlada usando solução saturada de sílica em gel, até o início das análises. A Figura 3 representa as etapas envolvidas no processo para obtenção dos filmes de proteína miofibrilares (PM).

Figura 3 - Fluxograma do processo para obtenção dos filmes de proteína miofibrilares.



Fonte: Autor.

3.5 Caracterizações físicas dos filmes

3.5.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A medição da permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada por gravimetria baseada no método ASTM E96-92 (Guillard, Broyart, Bonazzi, Guilbert & Gontard, 2003; McHugh, Avena-Bustillos & Krochta, 1993). Os filmes foram selados no topo da célula contendo 50 mL de água destilada (100% UR, 2337 Pa, pressão de vapor de água 20

°C), sendo colocados em um dessecador a 25 °C a 10% de UR cotendo sílica. A mediação foi determinada através da perda da transferência da água do interior da célula para a sílica presente no dessecador. As células foram pesadas em intervalos de 2 horas durante 8 horas. Condições de pressão de água em estado estacionário e uniforme foram assumidas, mantendo a circulação de ar constante fora da célula de teste usando um ventilador em miniatura dentro do dessecador. A inclinação da curva que representa a perda de peso em função do tempo foi obtida por regressão linear. A medida (PVA) dos filmes foi determinada conforme equação 1:

$$PVA = \frac{(TTVA \times L)}{\Delta P}$$

Eq. (1)

Onde, TTVA é a taxa de transmissão de vapor de água (g x m⁻²h⁻¹) medida através do filme (calculado a partir da inclinação da curva dividida pela área do filme), L é a espessura média do filme (m) e ΔP é a diferença de pressão parcial de vapor da água (atm) nos dois lados do filme. Para cada tipo de filme foram realizadas três repetições. A espessura de cada amostra foi medida utilizando-se um micrômetro digital (Digimess, São Paulo, Brasil), em dez diferentes posições de cada amostra avaliada.

3.5.2 Solubilidade em água

A solubilidade em água foi determinada pela porcentagem da matéria seca do filme após 24 h de imersão em água destilada (GONTARD, GUILBERT, CUQ, 1992). Onde a matéria seca inicial dos filmes foi determinada por secagem de discos com 2 cm de diâmetro a 100 °C em forno a vácuo, durante 24 h. Outros discos serão cortados, pesados e imersos em 50 mL de água destilada, com agitação periódica, por 24 h a 25 °C. Após esse período, os filmes serão retirados e secos (100 °C por 24 h) para quantificação da matéria seca final. A solubilidade foi definida pela diferença entre a matéria seca inicial e final em relação à matéria seca inicial (três repetições para cada amostra).

3.5.3 Caracterização mecânica dos filmes proteicos

Foram realizados ensaios de tração para caracterização mecânica dos filmes proteicos (Deformação na ruptura (%), Modo de elasticidade (MPa) e Tensão máxima (MPa), no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da EMBRAPA Agroindústria Tropical, Fortaleza - CE. Os corpos de prova utilizados para os ensaios mecânicos foram cortados por uma prensa

estampadora pneumática marca CEAST, cuja pressão de operação utilizada foi 7 bar. Antes da realização dos testes, os filmes proteicos foram acondicionados em um dessecador contendo nitrato de magnésio hexahidratado ($Mg(NO_3)_2 \times 6H_2O$) para mantê-los em um ambiente com umidade relativa e temperatura em torno, respectivamente, de $50 \pm 5\%$ e $24 \pm 2^\circ C$, por no mínimo 40 horas. Nos ensaios de tração, os corpos de prova com comprimento de 61,92 mm e largura de 12,37 mm foram afixados por meio de garras acopladas a uma travessa móvel da Máquina Universal de Ensaio, seguindo as orientações da ASTM-D-882-91 (1991). A taxa de deformação de tração é controlada pelo mecanismo de direcionamento, enquanto a tensão de tração sustentada pela amostra é registrada pela célula de carga, ambos acoplados à travessa fixa. O equipamento utilizado para análise foi o EMIC (Máquina Universal de Ensaio, modelo DL-3000), com uma célula de carga de 100 N.

A velocidade de tracionamento utilizada foi de 50 mm/min, sendo a distância inicial entre as garras de 30 mm. A tensão força máxima na ruptura foi expressa em MPa e calculada dividindo a força máxima (N) necessária para romper o corpo de prova pela área inicial transversal (m^2) da amostra. A deformação na ruptura foi calculada como sendo a razão entre o comprimento final no ponto de ruptura da amostra pelo comprimento inicial da amostra (30 mm) e expressa em porcentagem. Os ensaios foram realizados cinco vezes para cada amostra.

3.5.4 Cor e opacidade dos filmes proteicos

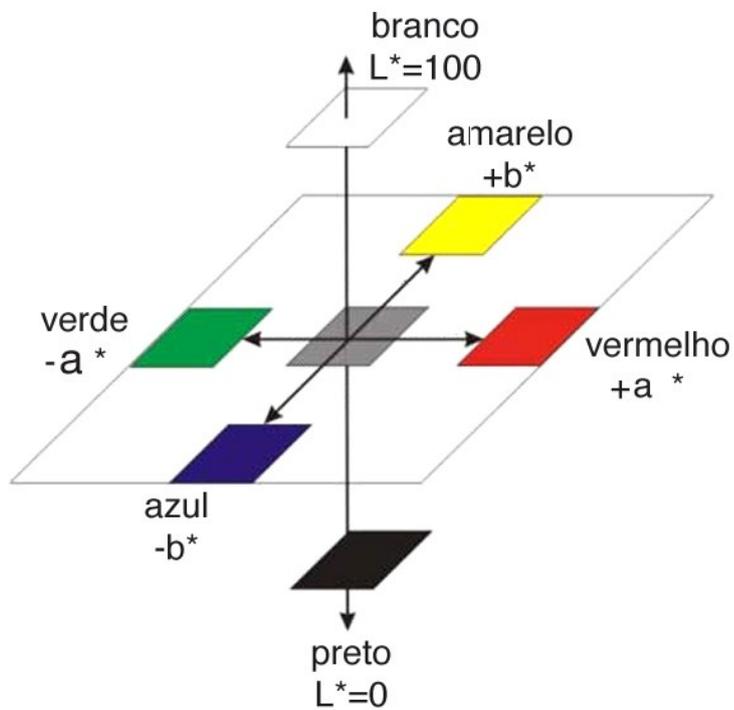
A cor e opacidade foram realizados no Laboratório de Tecnologia da Biomassa da EMBRAPA Agroindústria Tropical, Fortaleza - CE. A cor dos filmes foi determinada com um Colorímetro digital (Konica Minolta CR400) representado na figura 4, utilizando uma escala L^* , a^* , b^* do sistema CIELab, desenvolvido por Hunter (1975). Onde L^* a^* b^* em que L^* varia de preto a branco (0 a 100), a^* varia do verde ao vermelho (-60 a +60) e b^* varia de azul a amarelo (-60 a +60) representado na figura 5. Nove repetições foram realizadas para cada amostra de filme.

Figura 4 – Colorímetro digital (Konica Minolta CR400).



Fonte: Autor.

Figura 5 - Sistema para padronização da escala de cor (Hunter).



Fonte: Hunterlab.

A opacidade dos filmes proteicos foi determinada usando um medidor de cor e de acordo com a escala de cores Hunterlab. Seguindo este método, a opacidade (Y) foi calculada como a razão entre a opacidade de cada amostra sobre o padrão preto (Yb) e a opacidade de cada amostra no padrão branco (Yw). Nove repetições de cada amostra de filme foram determinados aleatoriamente para Yb e Yw e a média deles foi usada para os cálculos. Os resultados foram expressos em porcentagem, conforme a equação 2 (CERQUEIRA *et al.*, 2010).

$$\text{Opacidade (Y\%)} = \frac{Y_b}{Y_w} \times 100 \quad \text{Eq.(2)}$$

3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana dos revestimentos proteicos

3.6.1 Bactérias Padrões

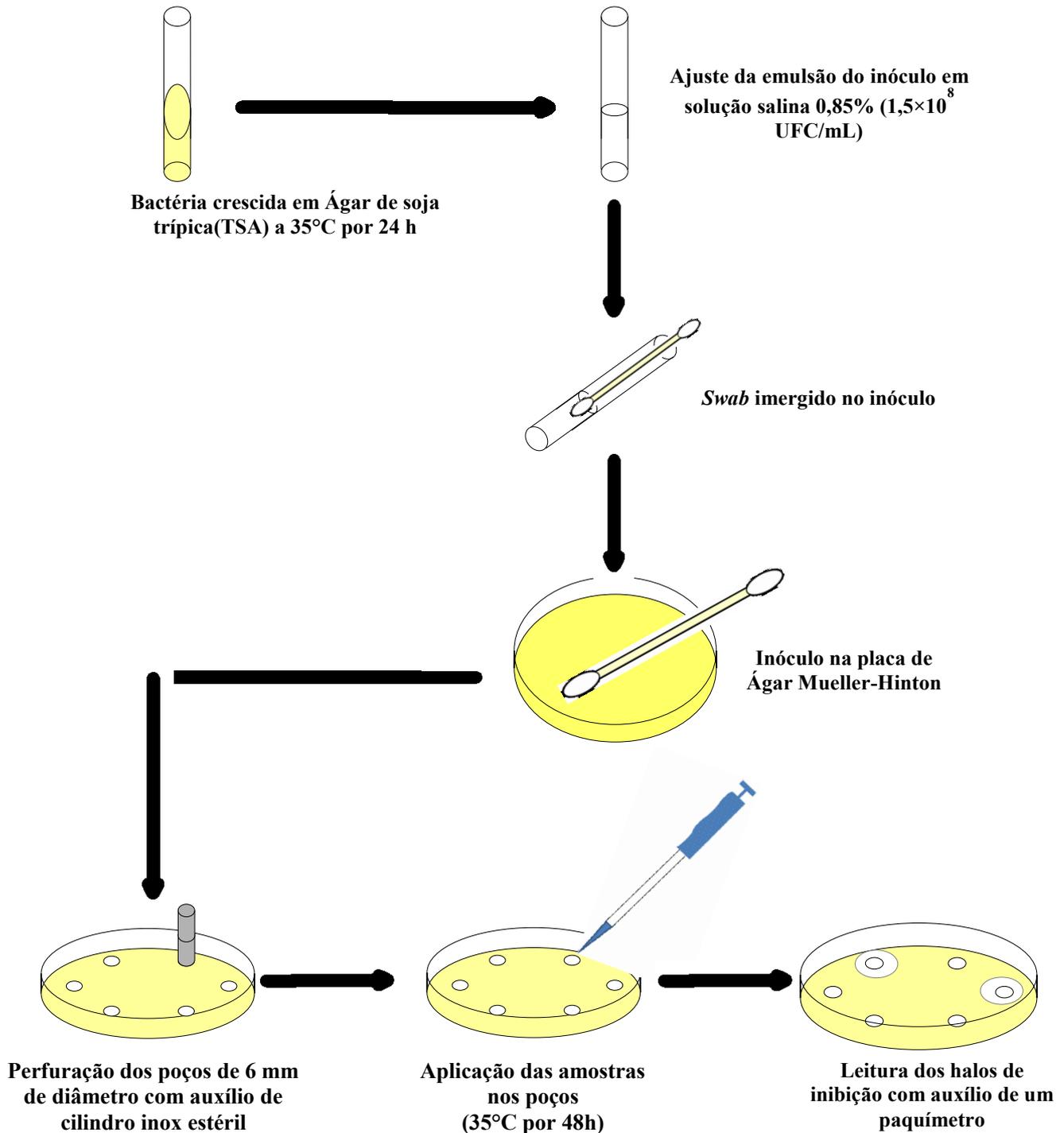
A avaliação da atividade antimicrobiana dos revestimentos proteicos (1,0%, 1,5%, 2,0%) foi realizada frente a quatro cepas padrões: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 e *Vibrio parahaemolyticus* IOC 18950. As cepas foram crescidas em ágar de soja trípitca (TSA) e, para o caso específico de *Vibrio parahaemolyticus*, foi adicionado 1% (p/v) de NaCl na composição do TSA. As cepas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 24 h.

3.6.2 Preparo dos inóculos bacterianos

Das culturas crescidas em TSA a 35 °C por 24 h, foi retirada uma porção do inóculo e homogeneizada em 9 mL de solução salina 0,85% de cloreto de sódio (p/v) para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* e 9 mL de solução salina 1,0% de cloreto de sódio (p/v) para *Vibrio parahaemolyticus* (Vetec) até se obter uma turvação equivalente à turbidez 0,5 na escala de McFarland. A absorbância foi aferida em espectrofotômetro (Micronal), sendo considerado o intervalo entre 0,08 e 0,10 em um comprimento de onda de 625 nm. A turbidez óptica comparável à solução padrão 0,5 de McFarland equivale a uma suspensão contendo, aproximadamente, 1×10^8 unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC / mL) (CLSI, 2013). Cada bactéria-teste, com concentração do inóculo ajustada, foi inoculada, em duplicata, em placas contendo ágar Mueller-Hinton sem adição de NaCl para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* e com adição de 1% de NaCl (p/v) para *Vibrio parahaemolyticus*, com auxílio de um swab de algodão estéril (CLSI, 2013). Em cada placa com o meio de cultura

inoculado com a bactéria-teste, foram perfurados quatro poços de 6 mm de diâmetro com o auxílio de um perfurador inox esterilizado (BALOUIRI *et al*, 2016). Nos poços foi adicionada uma alíquota de 50 μ L dos revestimentos proteicos nas concentrações de 1,0%, 1,5% e 2,0% e, no quarto poço, o mesmo volume de plastizante glicerol representado na figura 6.

Figura 6 – Esquema da técnica em difusão em ágar (poços).



Após estes procedimentos, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 48h. Após o período de incubação, cada placa foi avaliada e medida todos os halos presentes na atividade antimicrobiana dos revestimentos proteicos. A presença de um halo transparente ao redor dos poços confirmou o resultado qualitativo positivo da ação antimicrobiana dos revestimentos proteicos.

3.7 Tensão Superficial dos Revestimentos proteicos

A tensão superficial dos revestimentos em postas de pescado foi determinada de acordo com o método de Zisman (1964), em sistemas que apresentam uma tensão superficial inferior a 100 mNm⁻¹, superfície de baixa energia, o ângulo de contato formado por uma gota do líquido sobre uma superfície sólida foi uma função linear da tensão superficial do líquido, γ_{LV} , onde a fase V é o ar saturado com o vapor do líquido, L). Esta metodologia é aplicada apenas para superfícies de baixa energia. Logo, esta é necessária para determinar a energia de superfície de fatias de pescado.

Para um líquido puro, se as interações polares e dispersivas são conhecidas, e se teta (θ) é o ângulo de contato entre este líquido e um sólido, a interação pode ser descrita em termos do trabalho reversível de adesão, W_a , conforme:

$$W_a = W_a^d + W_a^p \leftrightarrow W_a = 2 \times (\sqrt{\gamma_s^d \times \gamma_L^d} + \sqrt{\gamma_s^p \times \gamma_L^p}) \quad \text{Eq. (3)}$$

onde γ_s^p e γ_s^d são as contribuições polares e dispersivas do sólido a ser estudado.

Reorganizando a Eq. (3), obtém-se

$$\frac{1 + \cos \theta}{2} \times \frac{\gamma_L}{\sqrt{\gamma_L^d}} = \sqrt{\gamma_s^p} \times \sqrt{\frac{\gamma_L^p}{\gamma_L^d}} + \sqrt{\gamma_s^d} \quad \text{Eq. (4)}$$

A determinação do ângulo de pelo menos três compostos puros: formamida, tolueno e água ultra pura, sobre a superfície de postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) combinada com os respectivos valores dos componentes polar e dispersivo, irá permitir o

cálculo tanto da variável independente, $\left(\sqrt{\frac{\gamma_L^p}{\gamma_L^d}} \right)$, quanto da variável dependente, $\left(\frac{1 + \cos \theta}{2} \times \frac{\gamma_L}{\sqrt{\gamma_L^d}} \right)$, da Eq. (4).

A estimativa da tensão superficial crítica (γ_C) é realizada por extrapolação a partir do gráfico de Zisman (1964). Os gráficos de Zisman apresentam o objetivo de caracterizar a molhabilidade de superfícies de baixa energia. O gráfico de Zisman (1964) é obtido traçando o cosseno do ângulo de contato de líquidos puros sobre a superfície sólida a ser estudada contra a tensão de superfície de uma mesma série de líquidos. A interceptação destas curvas com o $\cos \theta = 1$ é conhecida como a tensão superficial crítica (γ_C). A tensão de superfície crítica é um ponto imaginário do valor γ_{SV} e é frequentemente utilizado para descrever a capacidade de umedecimento de uma superfície. Ela representa o valor de um líquido γ_{LV} acima da qual a molhabilidade deste líquido em uma superfície sólida é completa. A tensão superficial crítica é definida como

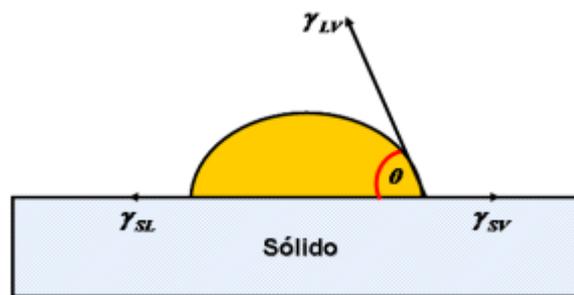
$$\gamma_C = \lim \gamma_{LV} \text{ onde } \theta \rightarrow 0 \quad \text{Eq. (5)}$$

3.8 Molhabilidade dos revestimentos proteicos

A molhabilidade foi avaliada pela determinação dos valores do coeficiente de espalhamento (W_S) e dos trabalhos de adesão (W_a) e coesão (W_c). As forças de adesão promovem o espalhamento do líquido na superfície sólida e as forças coesivas promovem a contração do fluido. O comportamento molhante das soluções depende principalmente do equilíbrio destas forças. A tensão superficial da solução de revestimento foi medida pelo método da gota pendente utilizando a aproximação de Laplace-Young (SONG e SPRINGER, 1996).

O ângulo de contato (θ) de uma gota de líquido na superfície sólida é definido pelo equilíbrio mecânico da gota sob a ação de três tensões interfaciais: sólido-vapor (γ_{SV}), sólido-líquido (γ_{SL}) e líquido-vapor (γ_{LV}). A Figura 7 ilustra o esquema representativo das tensões interfaciais da gota de um líquido na superfície sólida.

Figura 7 – Esquema representativo das três tensões interfaciais da gota de um líquido na superfície sólida.



Fonte: ALCÂNTARA, 2015.

O coeficiente de equilíbrio de espalhamento (W_s) é definido pela Eq. 6 (RULON e ROBERT, 1993) e apenas poderá ser negativo ou zero.

$$W_s = W_a - W_c = \gamma_{SV} - \gamma_{LV} - \gamma_{SL} \quad \text{Eq. (6)}$$

onde W_a e W_c são os trabalhos de adesão e coesão, definidos pelas Equações. (5) e (6), respectivamente,

$$W_a = \gamma_{LV} + \gamma_{SV} - \gamma_{SL} \quad \text{Eq. (7)}$$

$$W_c = 2 \times \gamma_{LV} \quad \text{Eq. (8)}$$

O ângulo de contato (θ) e a tensão superficial líquido-vapor (γ_{LV}) foram medidos por um medidor de ângulo de contato GBX Instrumentation Scientific acoplado a uma câmera Pixelink Nikon com sistema de análise de imagens, operado em atmosfera e a temperatura ambiente. As amostras de revestimento foram colocadas em uma seringa de 500 μL (Hamilton, Estados Unidos) com uma agulha de 0,75 mm de diâmetro. O ângulo de

contato dos filés de pescado foi medido pelo método da gota séssil (KWOK e NEWMANN, 1999). As medições foram realizadas em menos de 30 s. Dez repetições de medidas de tensão superficial e ângulo de contato foram obtidos a $20,0 \pm 0,5$ °C.

3.9 Aplicação da solução filmogênica como revestimento proteico em postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*)

3.9.1 Preparo da solução de revestimento proteico

Foi preparada a solução de revestimento proteico, sendo solução a 1% (PM), com aplicação de com 0,1% (v/v) de glicerol. As proteínas miofibrilares foram dissolvidas em solução de água com pH=2,7 ajustada com ácido láctico e esterilizada, sob agitação em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos, posteriormente foi adicionado o glicerol sob agitação por mais 30 minutos. Após a completa diluição, a solução foi acondicionada em uma capela de fluxo laminar (Pachane modelo Pa40) e submetida à esterilização em Luz Ultravioleta por 30 minutos.

3.9.2 Tratamentos do experimento de vida útil das postas de cavala revestidas

Ao todo, foram elaborados 3 tratamentos: in natura, congelamento e revestido de PM para as postas de cavala congeladas, com uma análise no dia inicial (T_0) até um período de 180 dias (T_{180}). A cada 30 dias de estocagem estas postas eram avaliadas novamente, conforme demonstrado a seguir:

- Controle (C) - posta de cavala in natura mantida sobre congelamento.
- Congelamento (G) – posta de cavala congelada com congelamento.
- Revestimento Proteico (RP) - posto de cavala congeladas e revestidas de revestimento proteico 1% com 0,1% de glicerol.

Para a perda de peso, perda de congelamento e perda revestimento proteico foram separados sete posta de cavala para cada análise. Em todas as análises físico-químicas para cada posta foi analisada em triplicata, totalizado 9 repetições por tratamento a cada 30 dias. Para as análises microbiológicas foi realizada pela técnica de Pour Plate para três postas por tratamento.

3.9.3 Aplicação do revestimento proteico e o congelamento

As postas de cavala foram submetidas à aplicação da solução de revestimento por imersão. O método consistiu na imersão das postas congelada na solução de revestimento a

5°C, após aplicação foi feita uma drenagem em peneira de malha de aço inoxidável por 20 segundos e em seguida, cada posta de aproximadamente 120 g, foram acondicionadas em bandeja de isopor, envolvidas em papel filme e etiquetadas. Para o glaciamento as postas foram submetidas a imersão em água estéril a 2 °C por 20 segundos, após aplicação foi feita uma drenagem em peneira de malha de aço inoxidável por 20 segundos e em seguida, as postas de aproximadamente 120 g cada, foram acondicionadas em bandeja de isopor, envolvidas em papel filme e etiquetadas, ilustrado pela figura 8. Posteriormente aplicação da solução de revestimento e do glaciamento as postas foram armazenadas em refrigerador (Brastemp Frost Free) a temperatura $-18,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ durante 180 dias.

Figura 8 – Ilustração de revestimento das postas de cavala (*Scomberomorus cavala*).



Fonte:Autor.

3.10 Análise perda de peso, perda revestimento e perda de glaciamento

A perda de peso, perda de revestimento e perda de glaciamento das amostras foi determinada de acordo com Soares *et al.*, (2015).

3.10.1 Perda de peso

Para a determinação perda de peso foi separada setes postas de cavala não revestidas, sendo que as postas foram pesadas antes de serem congeladas (W_1) e depois que foram congeladas (W_2) durante os 180 dias de análises. O cálculo para perda de peso esta de acordo com a equação abaixo:

$$\textit{Perda de peso} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} (\%)$$

Eq. (9)

3.10.2 *Perda de revestimento*

Para a determinação perda de revestimento foi separada setes postas de cavala e foram revestidas a 5 °C, primeiro foi determinado a taxa de absorção do revestimento com a pesagem depois do revestimento (W_3) e após serem congeladas (W_4) de acordo com a fórmula abaixo:

$$\textit{Taxa de revestimento} = \frac{W_4 - W_3}{W_4} (\%)$$

Eq. (10)

Para a determinação da perda de revestimento foram realizados as pesagem das postas revestidas (W_5) por cada 30 dias de acordo com a fórmula:

$$\textit{Perda de revestimento} = \frac{W_5 - W_4}{W_4 - W_3} (\%)$$

Eq.(11)

3.10.3 *Perda de glaciamento*

Para a determinação perda de glaciamento foi separada setes postas de cavala e foram glaciadas a 5 °C, primeiro foi determinado a taxa de absorção do glaciamento com a pesagem depois do procedimento (W_6) e após serem congeladas (W_7) de acordo com a fórmula abaixo:

$$\textit{Taxa de glaciamento} = \frac{W_7 - W_6}{W_7} (\%)$$

Eq. (12)

Para a determinação da perda de glaciamento foram realizadas as pesagem das postas revestidas (W_8) por cada 30 dias de acordo com a fórmula:

$$\text{Perda de glaciamento} = \frac{W_8 - W_7}{W_7 - W_6} (\%)$$

Eq.(13)

3.11 Análise físico-química das postas de cavala

3.11.1 Determinação do pH

O potencial hidrogeniônico foi medido com auxílio de pHmetro digital (Kasvi modelo K39-1014B) a partir da homogeneização de 10 g da posta de cavala foi macerada com 100 mL de água destilada por 30 segundos de acordo com a metodologia citada nas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

3.11.2 Análise do nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT)

Para a preparação do extrato foram pesados em balança analítica (Ohaus) 10 g das postas de cavala previamente trituradas em multiprocessador (Arno) e adicionados 90 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 7,5% (v/v), ficando em repouso por 5 minutos. Posteriormente, homogenizado foi filtrado em papel de filtro para obtenção do extrato.

No tubo de destilação foram adicionados 25 mL do extrato filtrado com 5 mL de hidróxido de sódio 10% (p/v). Utilizou-se, ainda, ácido bórico 4% (p/v) com 0,04 mL de indicador misto (vermelho de metila e verde de bromocresol) no erlenmeyer para a destilação. O BVT-N foi medido de acordo com a metodologia, com modificações, de Malle e Tao (MALLE e POUMEYROL, 1989) A destilação foi realizada no destilador de Nitrogênio (TECNAL modelo TE-036/1) até obter o volume total de 50 mL de solução no erlenmeyer. As quantidades de BVT-N foram calculadas a partir do volume de ácido sulfúrico 0,05 M utilizado para a titulação. Os valores foram expressos em mg de N-BVT/100 g de posta de cavala e calculado através da (Equação 14) a seguir:

$$\text{N-BVT} = (14 \text{ g/mol} \times a \times b \times 300) / 25 \text{ mL}$$

Eq. (14)

Onde:

a = mL de ácido sulfúrico gasto na titulação

b = normalidade do ácido sulfúrico (0,1)

3.11.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A oxidação de lípidos das amostras foi realizada por medição de substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como descrito por Vyncke (1970). Para a preparação do extrato foram pesados em balança analítica (Ohaus) 10 g da posta de cavala e homogeneizado em 50 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 7,5% (v/v), ficando em repouso por 5 minutos. Posteriormente homogeneizado foi filtrado em papel de filtro para obtenção do extrato. Foram adicionado 5 mL da solução do extrato com 5 mL do ácido tiobarbitúrico a 0,02 M, sendo homogeneizados com auxílio de um agitador de tubos (Vortex modelo QL-901). Para o branco utilizou-se 5 mL ácido tiobarbitúrico e 5 mL de água destilada. Em seguida os tubos foram acondicionados em banho maria (Banho maria microproce SSADO, modelo 0215M2, Quimis) a 90° C por 10 minutos e posteriormente resfriado em água com gelo para o desenvolvimento de uma coloração rosa.

Para encontrar o valor de TBARS em mg de malonaldeído equivalentes /kg músculo da posta de cavala utilizou-se a curva padrão a partir de 1,1,3,3- tetraetoxipropano (TEP). A evolução da oxidação da gordura foi acompanhada pela alteração da concentração de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico.

3.12 Contagem Padrão em Placas de Psicotróficas

A quantificação de bactérias psicotróficas seguiu as recomendações da American Public Health Association (APHA), na sua quarta edição do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (DOWNES; ITO, 2001). Foram macerados 25 g de músculo e homogeneizados em 225 mL de solução salina a 0,85% de NaCl, correspondendo à diluição de 10^{-1} . Deste homogenato, foi retirada uma alíquota de 1 mL e diluída em 9 mL de solução salina 0,85%, correspondendo à diluição 10^{-2} , e assim sucessivamente até a diluição 10^{-5} .

A técnica utilizada para o preparo das placas foi o de Pour-plate. Os tubos de cada diluição, com as postas de cavala, foram homogeneizados com auxílio de um agitador de tubos (Vortex modelo QL-901). De cada diluição foi retirada uma alíquota de 1 mL e inoculada em placas de Petri, em duplicata, na qual foram colocados 15 mL de Agar Padrão para Contagem (PCA) pela técnica de pour plate (SWANSON, PETRAN, HANLIN, 2001). As placas para contagem de bacterias psicotróficas foram invertidas e incubadas a temperatura de 7°C por 10 dias em Estufa de incubação do tipo DBO (QUIMIS modelo Q 315M26).

3.13 Análise estatística

Os resultados foram avaliados usando a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. A análise estatística foi realizada utilizando o software STATISTICA 7.0 (versão 10, STATISTICA Statsoft Inc., US).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento de proteínas miofibrilares: Carne Mecanicamente Separada (CMS)

O percentual de rendimento do processo de obtenção de proteínas miofibrilares foi de 18,70%. As sucessivas lavagens da CMS retiraram gordura, sangue, mineral e proteínas sarcoplasmáticas, permanecendo uma concentração considerável das proteínas miofibrilares e o peneiramento retirou, também, o tecido conjuntivo. Vidal *et al.* (2011) obtiveram rendimento de resíduo de 18,34% ao trabalhar com concentrado proteico de tilápia submetidos a vários ciclos de lavagens de água e H₃PO₄ (0,05%) para alcançar o ponto isoelétrico da proteína miofibrilar (pH ± 5). Pereira (2015), também, através de sucessivas lavagens centrifugação e filtração obteve um rendimento de 16,8% de proteínas miofibrilares de subprodutos de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*). Desta forma, pode-se considerar o rendimento da proteína miofibrilar obtida foi satisfatório, tendo se situado entre os valores médios observados na literatura.

As lavagens podem remover as proteínas de baixo peso molecular tal como as proteínas sarcoplasmáticas, levando ao aumento da concentração de proteínas miofibrilares que desempenham um papel importante na formação de uma forte rede de película filmogênica (HAMAGUCHI, *et al.*, 2007) . Segundo, Hemung e Chin (2013) proteínas sarcoplasmáticas são solúveis em água ou em soluções de baixa força iônica.

Zavareze *et al.* (2012) afirma que proteínas miofibrilares são normalmente insolúveis em água, mas podem ser solubilizadas quando o pH da solução é ácido. Essas proteínas, que são completamente estendidas, apresentam cadeias de polipeptídeos fortemente associadas entre si, em estruturas paralelas. Por esta razão, essas proteínas são capazes de formar uma matriz contínua (Cuq *et al.*, 1995; Monterrey-Quintero & Sobral, 2000).

A principal importância da lavagem consiste na remoção das proteínas solúveis em água, resultando no aumento da concentração de proteína miofibrilar (actomiosina), o que melhora a força de gel e a elasticidade (BELIBAGLI *et al.*, 2003).

4.2 Composição centesimal da CMS e das proteínas miofibrilares

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados referentes à composição centesimal da carne mecanicamente separada de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e das proteínas miofibrilares obtidas.

Tabela 2 – Composição centesimal da CMS de tilápia e das proteínas miofibrilares.

Componente	CMS (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Proteínas Miofibrilares
Umidade	75,90±0,12*	1,53
Proteínas	12,92±0,16*	87,33±0,77*
Cinzas	0,96±0,021*	9,46±0,26*
Lipídios	9,80±0,29*	1,68±0,57*
Carboidratos	0,64±0,05	0,21±0,09

*São ± os desvios padrões dos resultados.

O valor proteico de 12,92% na CMS e 87,33% de proteínas miofibrilares encontrado neste trabalho indica que o processo de extração de proteínas miofibrilares utilizado foi realizado de maneira adequada.

Os valores reportados por Monterrey-Quintero & Sobral (2000) referem-se ao preparo e caracterização de proteínas miofibrilares liofilizadas de tilápia-do-nilo para elaboração de filmes, encontrando valores para proteínas, lipídeos e cinzas de 93,22%, 2,4% e 1,69, respectivamente. García e Sobral (2005) encontraram uma quantidade de proteína igual a 80% para proteínas miofibrilares liofilizadas de tilápia-do-nilo.

Oetterer (2006), pesquisando o perfil proteico de resíduos de processamento de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para fabricação de silagem, obteve valores similares a este trabalho de 12, 85% e 59,27% fresco e extrato proteico, respectivamente. Os resultados indicam a utilização potencial dos resíduos de processamento da Tilápia-do-Nilo, como fonte protéica.

Neste trabalho os valores obtidos para os componentes centesimais, com relação aos teores de proteínas e lipídios foram inferiores e o teor de cinzas foi superior ao encontrado por MELLO *et al.* (2010), que em surimi de tilápia, obtiveram valores de 92,11% para proteína, 1,70% para lipídios e de 6,18% para cinzas.

Assim como neste trabalho, Rebouças, Rodrigues, Castro e Vieira (2012), estudando a carne mecanicamente separada e o concentrado protéico de peixe obtiveram resultados semelhantes, respectivamente, para os seguintes percentuais umidade (77,24 e 4,85%), proteína (17,48 e 85,16%), lipídios (4,46 e 8,20%) e cinzas (1,02 e 2,45%).

4.3 Perfil de aminoácidos das proteínas miofibrilares (Aminograma)

Os resultados para determinação do perfil de aminoácidos totais presentes na proteína miofibrilar liofilizada da tilápia (*Oreochromis niloticus*) estão descritos na Tabela 3 em comparação com as quantidades exigidas de aminoácidos essenciais pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO).

Tabela 3 – Perfil dos Aminoácidos presentes nas proteínas miofibrilares da tilápia (*Oreochromis niloticus*) em comparação com as exigidas pela FAO.

Aminoácidos	gAminoácido/100g Proteína**	Padrão da FAO
Alanina	5,32 ± 0,12	
Ácido glutâmico	12,18 ± 0,04	
Ácido aspártico	12,05 ± 0,05	
Serina	4,43 ± 0,06	
Glicina	4,38 ± 0,10	
Histidina**	2,63 ± 0,07	
Arginina**	2,74 ± 0,05	
Treonina**	4,69 ± 0,08	4,00
Tirosina	3,42 ± 0,03	2,00
Triptofano*	-	1,00
Valina**	6,37 ± 0,12	5,00
Metionina**	3,17 ± 0,03	3,50
Cisteína	0,70 ± 0,02	
Isoleucina**	5,93 ± 0,06	4,00
Leucina**	8,41 ± 0,01	7,00
Fenilalanina**	4,2 ± 0,06	4,00
Lisina**	10,42 ± 0,04	5,50
Prolina	8,92 ± 0,09	

*Não determinado. **Aminoácidos Essenciais.

O resultado para o perfil de aminoácidos encontrados nas proteínas miofibrilares é satisfatório, pois ocorreu a presença de todos os aminoácidos essenciais Histidina, Arginina, Treonina, Valina, Metionina, Isoleucina, Leucina, Fenilalanina, e Lisina em níveis

satisfatórios e maiores que a determinação da FAO. Exceto o Triptofano que é perdido e não foi quantificado.

As maiores concentrações presentes são de ácido glutâmico (12,18%), ácido aspártico (12,05%), lisina (12,42%) e prolina (8,92%). Observa-se uma concentração muito baixa de cisteína (0,70%), o que implica uma baixa densidade de ligações dissulfeto (-S-S-). A ausência de asparagina e de glutamina deve-se à sua degradação durante a hidrólise ácida a que foi submetida à amostra para a análise, evidenciada pela presença de ácido clorídrico (6N).

Quando se compara a composição de aminoácidos da amostra de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo obtida nesta pesquisa, com os resultados de aminoácidos essenciais, apresentados por Monterrey-Quintero e Sobral (2000), para concentrado proteico (concentrado de proteínas miofibrilares somente de músculo) à base de músculo de tilápia, são observados valores muito próximos, sem exceção. Porém, nesta pesquisa se foi utilizada CMS, essa relação determina que nos resíduos de processamento ainda estejam presentes quantidades satisfatórias de proteína.

Chalamaiah *et al.*, (2012) afirma que aminoácidos são essenciais para síntese de uma grande variedade de proteínas com funções importantes, incluindo transportadores de oxigênio, vitaminas, CO₂, enzimas e proteínas estruturais. O perfil de aminoácidos dos alimentos tem um papel importante em várias atividades fisiológicas do corpo humano e afeta, direta ou indiretamente na manutenção da boa saúde.

Segundo Rebouças, Rodrigues, Castro e Vieira (2012), os principais aminoácidos essenciais encontrados em organismos aquáticos são a arginina, leucina e lisina. Neste estudo, também foram observados, além destes, todos os aminoácidos essenciais.

De acordo com Silva *et al.*, (2010) os aminoácidos aspartato, glutamato, lisina e leucina são conhecidos por desempenharem um papel-chave no processo de cicatrização de feridas. Os principais aminoácidos são ácido glutâmico, ácido aspártico e lisina por serem considerados componentes importantes em processos de cura, pois qualquer deficiência nesses componentes essenciais vai dificultar o processo de recuperação. Os aminoácidos de cadeias ramificadas (ACR) são relevantes para a manutenção da proteína corporal além de ser fonte de nitrogênio para a síntese de alanina e glutamina. O papel fundamental dos ACR – especialmente a leucina – é na regulação de processos anabólicos, apresentam potenciais efeitos terapêuticos; favorece o processo de cicatrização; melhorar o balanço proteico muscular em indivíduos idosos; e propiciar efeitos benéficos no tratamento de patologias hepáticas e renais.

Arruda *et al.*, (2006) estudando a silagem proveniente de resíduos de processamento de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) determinou o potencial desse material, rico em proteínas e lipídios, ele é muito importante, pois não só diminui custos e melhora a eficiência da produção, como também, minimiza os problemas de poluição ambiental, gerados pela falta de um destino adequado para esse material. Considerando os resultados deste trabalho e dos demais, logo, entende-se que as proteínas miofibrilares são ricas em aminoácidos em sua composição e estrutura.

4.4 Obtenção e caracterização do filme

As proteínas miofibrilares apresentaram ótima apresentação e forma, ou seja, sem nenhuma característica de aglomeração, podendo ser manipuladas de forma fácil, apresentando uma coloração aproximando do branco. Os filmes elaborados com as proteínas miofibrilares de tilápia (*Oreochromis niloticus*) mostraram-se flexíveis e facilmente manipuláveis, com bom aspecto visual. A figura 9 mostra os filmes elaborados a partir de proteínas miofibrilares e plastificantes.

Figura 9 - Filmes elaborados com proteína miofibrilar e glicerol.



Fonte: Autor.

Observou-se durante a produção, que os filmes são bastante flexíveis, este fato pôde ser observado na sua remoção das placas de acrílico, porém quanto maior a quantidade

de proteína nos tratamentos menor o perigo de ruptura. Também, foi observado que com a adição do plastizante (GLICEROL), ocorreram alterações nas propriedades dos filmes que sofreram alguma adição devido aos tratamentos em relação ao grupo controle.

O glicerol possui caráter hidrofílico devido à presença de grupos hidroxila na cadeia, possibilitando uma maior interação. Apesar dos plastificantes serem bons aditivos para os filmes, pois melhoram a flexibilidade do filme e facilitam seu manuseio, a sua utilização deve ser analisada, devido ao fato de alterar as propriedades de barreira, como permeabilidade aos vapores de água e solubilidade (SOUZA *et al.*, 2010).

A elaboração de filmes e revestimentos comestíveis a partir de proteínas miofibrilares tem sido amplamente relatada em estudos, pois as proteínas provenientes de pescados possuem inúmeras vantagens, tais como, habilidade para formar redes, plasticidade e elasticidade, além de apresentar uma boa barreira ao oxigênio (HAMAGUCHI; WUYIN; TANAKA, 2007; PASCHOALICK; GARCIA; HABITANTE, 2002, ZAVAREZE, *et al.*, 2012).

4.4.1 Permeabilidades ao vapor de água (PVA) e solubilidade

A Tabela 4 mostra os resultados obtidos para a permeabilidade aos vapores de água, solubilidade e espessura determinados para cada uma das formulações de filmes produzidas com proteínas miofibrilares e plastificantes, os testes foram feitos em triplicata.

Tabela 4 – Valores de Permeabilidade do vapor da água (PVA), solubilidade e espessura dos filmes de proteínas miofibrilares (1,0%, 1,5% e 2,0%) com ou sem adição de glicerol nas concentrações de (0; 0,1; 0,2%).

Concentração dos Filmes (%)	Permeabilidade ao vapor de água - PVA (g/m.dia.atm)	Solubilidade %	Espessura (mm)
1%PM 0,0%G	0,61±0,49 ^a	17,09±0,32 ^a	0,089 ^a
1%PM 0,1%G	0,66±0,27 ^a	17,93±0,24 ^a	0,096 ^a
1%PM 0,2%G	0,71±0,73 ^a	17,98±0,13 ^a	0,098 ^a
1,5%PM 0,0%G	0,86±0,96 ^{ab}	18,09±0,32 ^{ab}	0,103 ^{bc}
1,5%PM 0,1%G	0,87±0,82 ^{ab}	18,13±0,39 ^b	0,100 ^b

1,5%PM 0,2%G	0,90±0,22 ^{bcd}	19,27±0,23 ^b	0,111 ^{bc}
2%PM 0,0%G	0,93±0,12 ^{bcd}	20,09±0,25 ^c	0,105 ^{bc}
2%PM 0,1%G	0,94±0,24 ^{bcd}	21,03±0,14 ^c	0,109 ^{bc}
2%PM 0,2%G	1,04±0,53 ^{de}	22,27±0,09 ^c	0,112 ^{bc}

PM= Proteínas miofibrilares e G= Glicerol. As médias mais o desvio padrão com letras distintas possui diferença estatisticamente significativa entre si pelo teste de Tukey (ANOVA $p < 0,05$).

Os valores encontrados para permeabilidade ao vapor de água dos filmes proteicos variaram de 0,61 a 1,04 g.mm /kPa.dia.m², ocorrendo diferença significativa entre os valores dos experimentos.

O acréscimo de 0,5% de proteína miofibrilar na elaboração dos filmes de 1,5% para 2,0% possibilitou identificar uma relação direta entre concentração de proteína e PVA. Com o aumento da taxa de proteína, maior era a permeabilidade ao vapor de água para os filmes de 1,5% e 2,0 % de proteínas miofibrilares. Quando analisado o nível glicerol para os filmes proteicos produzidos observou-se uma influência na permeabilidade ao vapor de água. Para as formulações de 1%, 1,5% e 2,0% de proteína com o aumento na adição de 0,1% para 0,2% de glicerol houve um aumento na PVA com uma diferença estatística significativa ($p < 0,5$). Na concentração menor do glicerol 0,1% não afeta tanto a perda de vapor para os filmes de 1,5% e 2,0% de proteínas miofibrilares.

Conforme Rivero *et al.* (2016), ressalta a utilização de glicerol na permeabilidade ao vapor de água dos filmes, pois aumenta com o incremento da quantidade de proteína, estando diretamente relacionada com o número de grupos polares (grupos laterais dos aminoácidos polares) disponíveis nas cadeias proteicas (-OH, -COOH e -NH₂), o que foi verificado neste trabalho ao aumentar a quantidade de proteína com acréscimos de 0,5% na formulação dos filmes proteicos.

O caráter hidrofílico do glicerol reduz as forças intermoleculares por cadeia polimérica facilitando a migração de moléculas de vapor de água e, portanto, resultar em maiores valores de permeabilidade para os filmes produzidos com uma maior concentração de PM e plastizante.

O aumento na permeabilidade do vapor de água com a adição de crescente de glicerol para filmes de proteínas miofibrilares de tilápia do nilo, já foi relatado no estudo feito por Sobral *et al.*, (2005), com proteínas miofibrilares de tilápia do Nilo com concentração de 15% e 65% de glicerol, houve uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nas duas

concentrações de glicerol. O glicerol aumenta a perda de água dos filmes de 1,0% e 2,0% de proteína, assim o plastificante tem efeito sobre a permeabilidade do vapor de água.

Em filmes de proteínas solúveis de surimi de pescado Bourtoom (2008), obtiveram para permeabilidade ao vapor de água, valores superiores ao deste trabalho, que variaram de 30,41 para 79,96 g.mm / kPa.dia.m² e consideraram este valor elevado a mudanças na estrutura da rede proteica.

Zavareze *et al.*, (2012) estudando diferentes concentrações de proteínas miofibrilares de corvina (*Micropogonias furnieri*) 3%, 4% e 5% observaram o aumento na permeabilidade ao vapor de água com o acréscimo de proteínas miofibrilares de corvina. Eles determinam que a permeabilidade ao vapor de água dos filmes aumenta com quantidades crescentes de proteína, estando diretamente relacionada com o número de grupos polares (grupos laterais dos aminoácidos polares) disponíveis nas cadeias proteicas (-OH, -COOH e -NH₂).

Os valores encontrados para solubilidade dos filmes proteicos variaram de 17,09% a 22,27%, ocorrendo diferença significativa entre os valores dos experimentos. Ao analisar a solubilidade dos filmes de 1,0%, 1,5% e 2,0% com o aumento crescente no valor de proteína e do glicerol houve um aumento na perda do material, conseguindo manter um maior percentual do polímero quanto maior a concentração do glicerol com uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em todas as concentrações estudadas.

A solubilidade dos filmes à base de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nylo foi verificada por Monterrey-Quintero; Sobral (2000), obtendo valores inferiores a este trabalho, que variaram de 12,3 a 19,5%, sendo este menor valor atribuído à utilização de frações proteicas de alto peso molecular.

Segundo Zavareze *et al.* (2012) a solubilidade dos filmes depende dos componentes de sua estrutura. Proteínas com alta massa molecular são geralmente insolúveis ou pouco solúveis em água. A Solubilidade de filmes reportados por eles variou de 27-28% ao trabalharem com proteína miofibrilar de corvina (*Micropogonias furnieri*).

4.4.2 Caracterização mecânica dos filmes

A Tabela 5 mostra os resultados obtidos para deformação na ruptura, modo de elasticidade e tensão máxima determinados para cada uma das formulações de filmes produzidas com proteínas miofibrilares e plastificantes. Com a finalidade de embalagens, os filmes devem possuir propriedades mecânicas de resistência que garantam a integridade do

material que irá ser protegido. A resistência à tração é a tensão máxima que o filme pode ser submetido e a alongação é a capacidade do filme em esticar (KHALIL *et al.*, 2017). Os valores de deformação na ruptura na Tabela 4, variaram entre 0,81 MPa e 177,14 MPa, ocorrendo diferença significativa entre os valores dos experimentos. Com relação à elasticidade os valores variaram de 29,13 % a 874,39%, ocorrendo diferença significativa entre os valores dos experimentos. E a tensão máxima variou de 13,61 MPa a 4,40 MPa, ocorrendo diferença significativa entre os valores dos experimentos.

Tabela 5 – Valores obtidos para deformação na ruptura, modo de elasticidade e tensão máxima dos filmes de proteínas miofibrilares (1,0%, 1,5% e 2,0%) com ou sem adição de glicerol nas concentrações de (0; 0,1; 0,2%).

Concentração dos Filmes (%)	Deformação na ruptura (MPa)	Modo de Elasticidade(MPa)	Tensão Máxima (MPa)
1%PM 0,0%G	77,45±0,44 ^a	86,18±0,13 ^a	10,86±0,99 ^a
1%PM 0,1%G	177,14±0,23 ^b	29,13 ±0,09 ^a	4,64±0,89 ^b
1%PM 0,2%G	155,11±0,78 ^b	28,19±0,44 ^a	4,40 ±0,23 ^b
1,5%PM 0,0%G	1,68±0,13 ^c	874,39±0,58 ^b	12,01±0,76 ^{ace}
1,5%PM 0,1%G	47,37 ±0,69 ^d	377,7±0,28 ^c	7,44 ±0,77 ^d
1,5%PM 0,2%G	163,69±0,59 ^{be}	33,83 ±0,53 ^d	4,94 ±0,23 ^{bd}
2%PM 0,0%G	0,81±0,78 ^{fc}	600,09±0,24 ^e	6,91±0,55 ^d
2%PM 0,1%G	6,12 ±0,77 ^{fc}	434,84±0,23 ^f	10,20±1,66 ^{ae}
2%PM 0,2%G	1,51±0,29 ^{fc}	105,51 ±1,03 ^g	13,61±0,93 ^{acef}

PM= Proteínas miofibrilares e G= Glicerol. As médias mais o desvio padrão com letras distintas possui diferença estatisticamente significativa entre si pelo teste de Tukey (ANOVA p<0,05).

Para a deformação na ruptura (DR), observou-se um aumento para os filmes proteicos de 1,0% com adição dos três níveis de glicerol testados, quanto maior concentração do glicerol melhor era a capacidade de alongamento para os filmes estudados. O mesmo se observou quando analisado os filmes de 1,5%. Embora, os filmes de 2,0% de PM para o aumento deformação na ruptura com adição crescente do glicerol, não apresentou um crescimento contínuo. Para determinar o módulo de elasticidade (E) e tensão máxima dos filmes proteicos, observou-se um decréscimo em relação à concentração de glicerol (%) para todos os tratamentos estudados apresentando diferença estatística entre os menos.

O glicerol tem como principal finalidade melhorar a flexibilidade e estrutura do polímero, pois é conhecido que os plastificantes são matérias de baixo peso molecular, e essa característica facilita a interação do plastificante com os polímeros, devido à ocupação dos espaços intermoleculares da cadeia do polímero o que causa a redução das forças secundárias entre eles (JARAMILHO *et al.*, 2016).

A utilização de plastificante é necessária para reduzir a fragilidade e para melhorar a capacidade de trabalho do filme ao reduzir as interações intermoleculares entre as cadeias adjacentes do biopolímero, o que resulta em um aumento da mobilidade destas cadeias e conseqüentemente, em películas flexíveis. Como consequência, a um nível macroscópico, os filmes apresentam uma redução na resistência mecânica e um aumento na permeabilidade ao vapor de água e na elasticidade (SOBRAL *et al.*, 2005).

Várias são as estratégias para melhorar as propriedades mecânicas dos filmes comestíveis, a principal delas é a adição de plastificante (GIANNAKAS *et al.*, 2016). As proteínas miofibrilares formam filmes quebradiços e com baixa resistência mecânica, assim é necessário à adição de um plastificante para melhorar essas propriedades e permitir a sua utilização na produção de filmes para embalagens (FIORI *et al.*, 2014).

4.4.3 Cor e Opacidade dos filmes proteicos

Neste estudo a opacidade dos filmes proteicos variou de 300,96% a 273,07% conforme demonstrado na Tabela 6 que ilustra os resultados obtidos para Luminosidade (L), a^* e b^* para cada uma das formulações de filmes produzidas com proteínas miofibrilares e plastificantes.

As concentrações diferentes dos filmes proteicos com as combinações de glicerol apresentaram uma variação de $85,64 \pm 0,12$ a $95,45 \pm 1,34$ para os valores de luminosidade. Os filmes proteicos de 2,0% apresentaram maiores valores de luminosidade quando comparados aos filmes de 1,0% e 1,5% de PM, existindo uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre eles. Os filmes de 1,0% e 1,5% de proteína miofibrilares possuem valores de luminosidade menores e diferentes estatisticamente, com isso protegem, de forma diferente, os alimentos contra a luz e a sua penetração. O aumento na concentração do glicerol não proporcionou uma diferença estatística entre os dois primeiros tratamentos.

Os filmes opacos dificultam a transmissão de luz, o que pode ser uma característica desejada, quando a luz é um fator de deterioração do produto embalado. No entanto, a transparência é uma característica importante em algumas aplicações, como em

embalagens de alimentos (FURTADO, 2013). Neste estudo observou-se uma maior opacidade nos filmes proteicos de maior concentração de proteína aos filmes de menores concentrações, provavelmente pela coloração característica das proteínas miofibrilares.

A cor dos filmes é de extrema importância para embalagens, pois essas propriedades podem propiciar uma boa atividade óptica no controle da incidência de luz, mas, ao mesmo tempo, tem que assegurar uma transparência ao produto para que o consumidor visualize o alimento com suas características inalteradas (COSTA *et al.*, 2017). Já a adição de glicerol não interferiu nos valores de luminosidade nas concentrações de 1% e 2% de PM dos filmes.

Tabela 6 - Valores obtidos para luminosidade, a*, b* e opacidade dos filmes de proteínas miofibrilares (1,0%, 1,5% e 2,0%) com ou sem adição de glicerol nas concentrações de (0; 0,1; 0,2%).

Concentração dos				
Filmes (%)	L*	a*	b*	Opacidade%
1%PM 0,0%G	85,64±0,12 ^a	1,57±0,45 ^a	0,31±0,34 ^a	273,07±0,64 ^a
1%PM 0,1%G	85,44±0,19 ^a	1,24±0,23 ^b	0,30±0,44 ^a	273,18±0,38 ^a
1%PM 0,2%G	86,09±0,67 ^a	1,57±0,32 ^{ac}	0,31±0,34 ^a	275,40±0,54 ^a
1,5%PM 0,0%G	88,45±0,55 ^b	1,74±0,34 ^{acd}	0,35±0,67 ^a	284,65±0,22 ^a
1,5%PM 0,1%G	88,45±0,44 ^b	1,74±0,45 ^{de}	0,35±0,12 ^a	284,65±0,56 ^a
1,5%PM 0,2%G	88,42±0,33 ^b	1,76±0,34 ^{def}	0,29±0,18 ^a	283,23±0,22 ^a
2%PM 0,0%G	90,67±0,89 ^c	1,90±0,67 ^{defg}	-1,33±0,98 ^b	300,46±0,94 ^b
2%PM 0,1%G	95,45±1,34 ^d	1,89±0,56 ^{defg}	-1,33±1,04 ^b	296,01±1,04 ^b
2%PM 0,2%G	90,67±1,34 ^{ce}	1,90±0,45 ^{defg}	-1,33±1,04 ^b	296,01±0,97 ^b

L= luminosidade, a=coordenada vermelho/verde (-) e b*= coordenada amarelo/azul (-).

Para valores de a* (eixo verde – vermelho), para os filmes de 1,0% de PM houve diferença estatística (p<0,05) em relação aos filmes de 1,5% e 2,0%. Esses valores positivos indicam uma predominância maior para cor vermelha.

O aumento na concentração do glicerol não proporcionou uma diferença para os valores de a* para os filmes de 2,0% de PM estudados, embora tenham ocorrido valores de b* negativos que indicam a predominância da cor azulada.

A similaridade de comportamento e a proximidade dos valores de a^* e b^* com o trabalho desenvolvido por Sobral *et al.*, (2004) com proteínas do músculo de tilápia (*Oreochromis niloticus*) permitem sugerir que os filmes apresentaram coloração branca à amarelada.

Os valores de opacidade praticamente não diferem entre si, sendo observado maior valor de opacidade para os filmes de 2,0 % de PM com valor de 300,46 quando comparado às todos os filmes estudados. Salgado, (2015) reportaram que a opacidade do filmes de proteína é influenciada através de suas características devido à cor opaca e densa, ela determina a brancura (W) dos filmes. Quanto maior a opacidade dos filmes, menor a quantidade de luz que atravessa o filme funcionando como uma barreira para controlar a incidência de luz para os produtos alimentares.

4.5 Avaliação das soluções filmogênicas para revestimento em alimentos

4.5.1 Tensão Superficial

Conforme já foi referenciado anteriormente, o método de Zisman é aplicável apenas em superfícies de baixa energia, pelo que foi necessário determinar a tensão superficial do pescado cavala para garantir a aplicabilidade deste método.

Determinou-se do ângulo de contato, de três compostos (H₂O, Tolueno e Formamida) cujas tensões superficiais são conhecidas, tabela 7. Assim, foi possível obter o valor da tensão superficial da cavala.

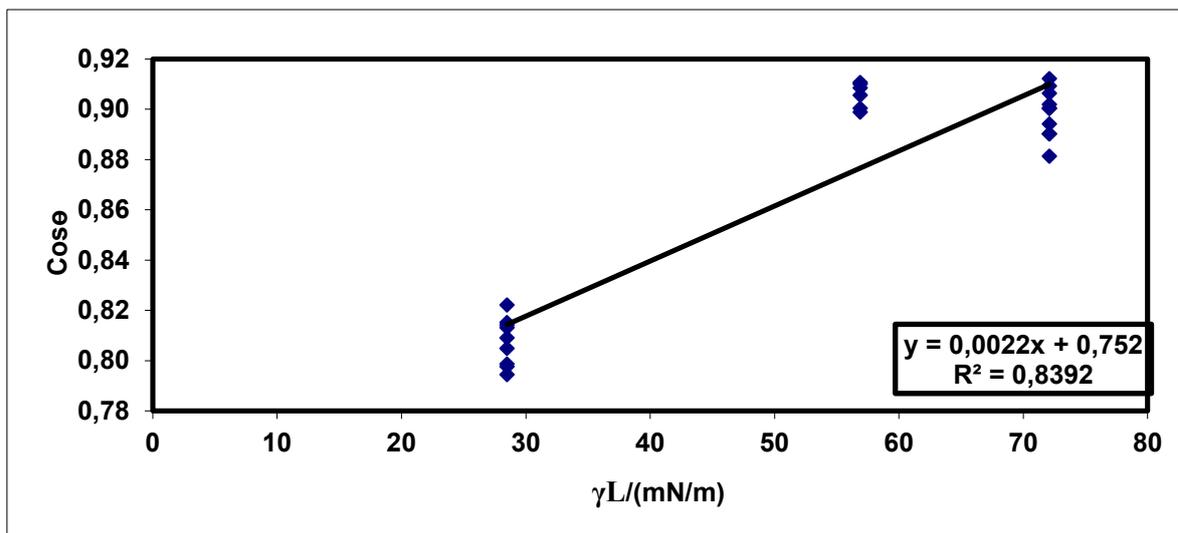
Na determinação do ângulo de contato dos líquidos estudados foram medidos vinte determinações para cada líquido, com a finalidade da obtenção de resultados fidedignos, mas para interpretação dos dados foram escolhidos dez dos dados mais uniformes.

Tabela 7 – Tensão superficial dos líquidos testados e suas componentes, à temperatura ambiente.

Composto	γ_L (mN/m)	γ_L^d (mN/m)	γ_L^p (mN/m)
Água	72,10	19,90	52,20
Tolueno	28,50	27,18	1,32
Formamida	56,90	23,50	33,40

O ajuste dos dados experimentais a uma reta determina um coeficiente de correlação elevado, isso indica que existe uma forte associação linear positiva entre a variável independente e a variável dependente, pode ser observada na Figura 10.

Figura 10 – Equação da reta e ajustes dos dados experimentais e o coeficiente de Pearson.

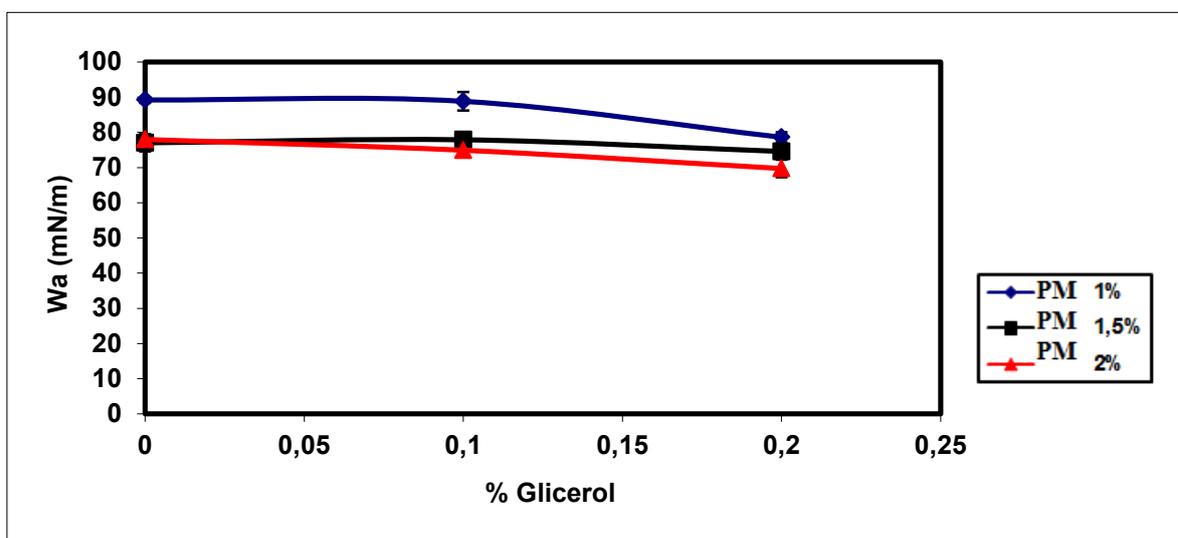


4.5.2 Molhabilidade dos revestimentos de proteínas miofibrilares em postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*)

A eficiência dos revestimentos edíveis depende principalmente da capacidade molhante da solução formadora do revestimento, afetando nas características finais de espessura do revestimento (PARK, 1999). As formulações de revestimentos edíveis deverão ter a capacidade de espalhar-se uniformemente na superfície do alimento. Após a secagem, os revestimentos deverão ter uma adesão, coesão e durabilidade adequada (KROCHTA E MULDER-JOHNSTON, 1997).

Na figura 11, pode ser observado e analisado que com o aumento na concentração de glicerol, de zero para 0,1% (m/v), o coeficiente de adesão (W_a) sofre um pequeno acréscimo, mantendo-se muito sensível ao novo incremento de glicerol. Contudo, quando o plastizante é novamente adicionado, verifica-se um decréscimo do coeficiente de adesão na passagem de 0,1 para 0,2% (m/v) de glicerol.

Figura 11 – Variação do coeficiente de adesão (W_a) dos revestimentos de proteína, em cavala, em função da percentagem e do tipo de plastizante (0; 0,1; 0,2%) de glicerol (m/v).



Na figura 11, também pode ser observado e analisado a variação do coeficiente de coesão, os dados determinam a força de contração dos revestimentos sobre a posta de cavala. Pode notar que à medida que o plastificante (glicerol) é incorporado no filme as forças de contração diminuem.

A determinação da capacidade molhante se dá pelo cálculo do coeficiente de espalhamento. O valor do coeficiente de espalhamento (W_s) é obtido pela subtração do trabalho de adesão (W_a) menos o trabalho de coesão (W_c). Na figura 13, também pode ser observado e analisado a variação do coeficiente de espalhabilidade.

Espera-se que o espalhamento do revestimento seja uniforme, o gráfico determina a variação do coeficiente de espalhabilidade que se mostra distinta para os tratamentos com diferentes percentagens de proteínas miofibrilares, entretanto mostra o mesmo comportamento à medida que se acrescenta o plastificante.

Quanto mais próximo de zero for o coeficiente de espalhamento, maior a capacidade da solução filmogênica de revestir o pescado. Por esse motivo, a escolha da solução proteica com o nível de glicerol empregado foi determinada com o valor que mais se aproximou de zero. De acordo com dados obtidos para as soluções de proteínas miofibrilares optou-se pela solução de 1% de PM e 0,1% de glicerol.

A concentração do revestimento proteico acima escolhida foi utilizada para o revestimento das postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) durante 180 dias para análise de vida de prateleira.

Figura 12 – Variação do coeficiente de coesão (W_c) dos revestimentos de proteína, em cavala, em função da percentagem e do tipo de plastizante (0; 0,1; 0,2%) de glicerol (m/v).

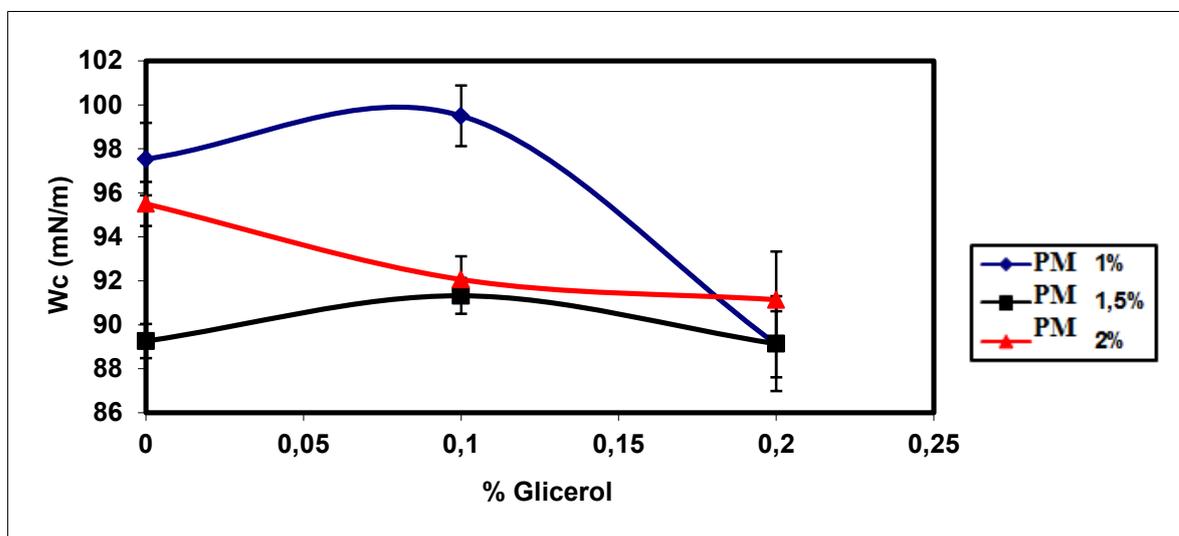
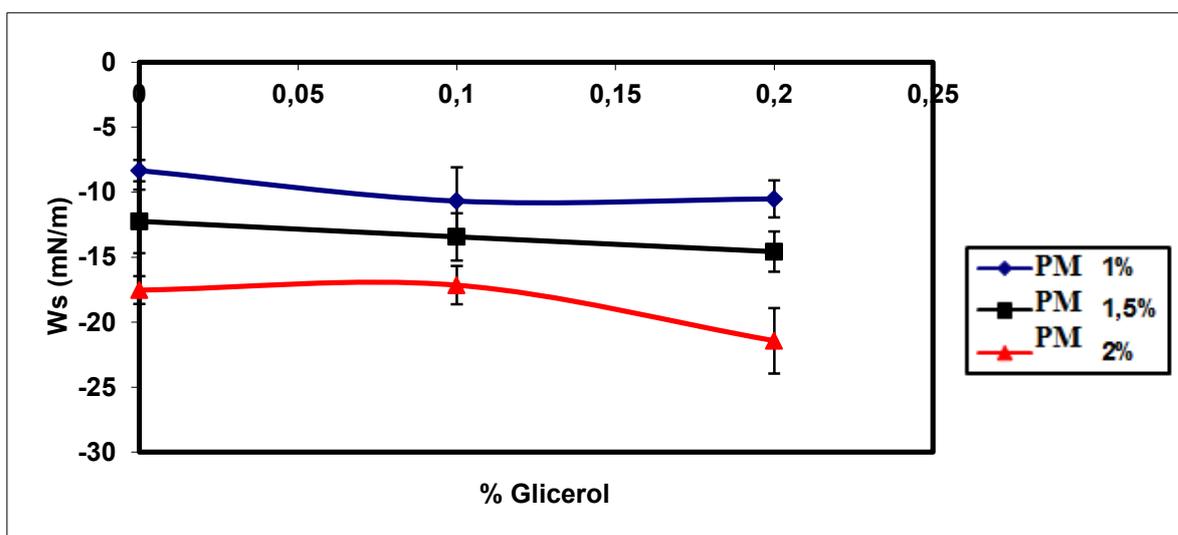


Figura 13 – Variação do coeficiente de espalhamento (W_s) dos revestimentos de proteína, em cavala, em função da percentagem e do tipo de plastizante (0; 0,1; 0,2%) de glicerol (m/v).



4.5.3 Atividade Antimicrobiana

Atualmente, os estudos além de procurar materiais para embalagem e revestimento dos alimentos, eles, também, se concentram na busca por produtos que asseguram a qualidade microbiológica durante a vida de prateleira dos alimentos.

Na tabela 8 estão dispostas as quantificações do halo de inibição para cepas-padrão. A formação de um halo transparente, como pode ser visualizada na figura 14 indica

resultado positivo, ou seja, ação antimicrobiana das soluções filmogênicas de proteína miofibrilar.

Tabela 8. Atividade antimicrobiana através do método de difusão em poço para as concentrações de revestimento proteico (RP) de 1,0%, 1,5% e 2,0% e o glicerol (puro) para bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram negativas (*Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella entérica*).

CONCENTRAÇÃO	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	*Nã o ocor reu form ação de halo. Os valor es não apre
	ATCC - 25922	ATCC - 25923	ATCC - 13076	IOC - 18950	
	Halo de Inibição (mm)				
RP 1%	29,64± 1,96	34,45±2,54	30,29±0,95	26,74±2,01	
RP 1,5%	29,07±1,92	33,63±2,75	29,98±0,70	23,20±1,32	
RP 2%	28,39±0,91	32,50±2,18	29,14±0,80	23,12±2,15	
GLICEROL	*	*	*	*	

sentaram diferença estatística significativa entre si pelo teste de Tukey (ANOVA p<0,05).

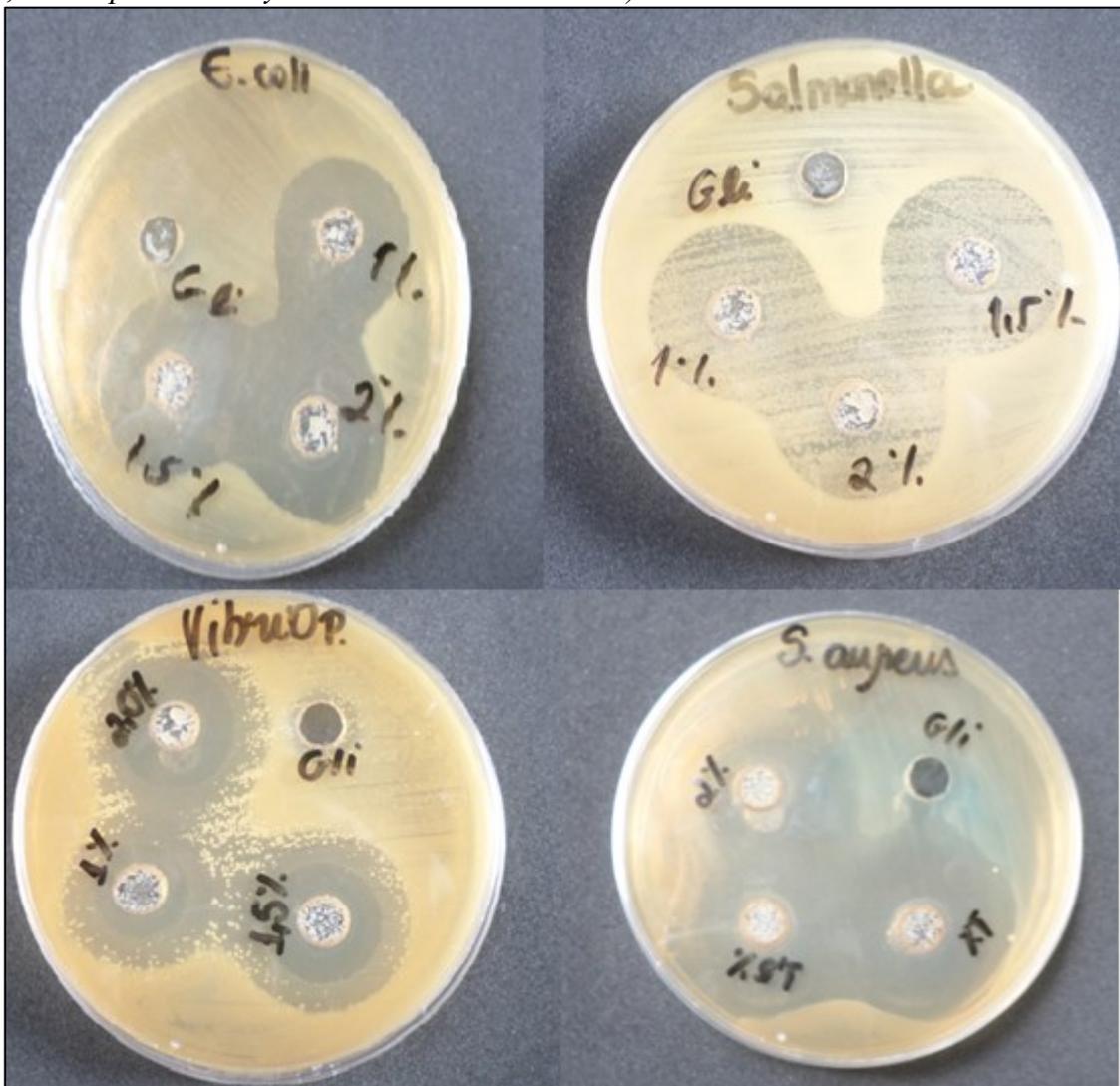
Para as cepas da bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* pode-se verificar que houve uma redução no diâmetro com o aumento na concentração de proteína miofibrilar. O mesmo perfil foi encontrado para cepas de *Salmonella* e *Vibrio parahaemolyticus*, com uma formação de zona de inibição um pouco menor do que a encontrada por cepas de *Staphylococcus aureus*.

Já para as cepas de *Escherichia coli*, houve um crescimento na formação da zona de inibição depois ocorreu um decréscimo com a redução na concentração das soluções filmogênicas de proteínas miofibrilares. Embora, não houve diferença estatística entre a ação antimicrobiana dos filmes proteicos em diferentes concentrações de PM.

O experimento controle negativo, figura 14, foi feito com o plastizante e continha somente glicerol na sua formulação, Neste caso podemos dizer que os filmes proteicos nestas concentrações apresentaram atividade antimicrobiana em relação aos microrganismos avaliados, validando sua capacidade bactericida e bacteriostática em relação às bactérias padrões.

A atividade antimicrobiana cresce com o aumento no número do grupo amino presente nas moléculas devido ao aumento a carga positiva do polímero (MOHY ELDIN, 2012). Zavareze *et al.*, (2012) determina que o pH de solubilização das proteínas miofibrilares que se encontra em pH ácidos (2-7), o que pode, também influenciar na ação antimicrobiana.

Figura 14 - Fotos das placas da atividade antimicrobiana através do método de difusão em poço para as concentrações de revestimento proteico (RP) de 1,0%, 1,5% e 2,0% e o glicerol (puro) para bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram negativas (*Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella* entérica).



Lu *et al.* (2011), relataram o poder antimicrobiano do ácido láctico, classificado como um ácido fraco, ácidos orgânicos na forma indissociável, que é difundido rápido e livremente através da membrana celular das bactérias causando acidificação do citoplasma.

4.6 Aplicação da solução filmogênica

4.6.1 Determinação da perda de peso de glaciamento e revestimento em postas de cavala

A perda de peso ou de água constituinte é um dos indicadores físicos mais importantes para avaliar a qualidade do peixe, devido à alteração na textura, na aparência e no sabor. O “dripping” é o processo da perda de água constituinte, além de outros componentes, tais como proteínas solúveis (GORMLEY, 2013).

Os resultados referentes às análises de perda de peso, glaciamento e revestimento nas postas de cavala com e sem revestimento no decorrer do tempo analisado de 180 dias estão demonstrados na tabela 9.

De acordo com os valores expressos na Tabela 9, verificamos um aumento na perda de massa das postas de cavala durante o período de armazenamento em todos os tratamentos, sendo esta perda significativa no decorrer dos 180 dias para todos os tratamentos com e sem revestimento. Embora, não ocorreu diferença estatística entre as perdas.

Tabela 9. Resultados referentes aos valores média \pm (desvio padrão) de perda de peso, glaciamento e revestimento em postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) conservada por 180 dias à -18 °C.

**Não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para a perda de glaciamento, o primeiro dia foi observado uma perda de glaciamento de

TEMPO	Perda (%)			%
	CONTROLE*	GLACIAMENTO**	REVESTIMENTO**	
T 0	0,73 \pm 0,99	2,56 \pm 0,52	1,84 \pm 0,54	2,56
T 30	1,00 \pm 1,37	5,85 \pm 0,64	3,40 \pm 0,87	% e
T 60	1,50 \pm 1,69	8,44 \pm 0,82	6,88 \pm 0,23	essa
T 90	1,86 \pm 1,63	9,91 \pm 0,65	8,38 \pm 0,98	perda
T 120	2,44 \pm 1,96	12,16 \pm 0,97	10,57 \pm 1,53	torno
T 150	2,81 \pm 2,16	15,73 \pm 0,53	12,01 \pm 1,22	u-se
T 180	3,39 \pm 2,26	18,84 \pm 0,52	14,45 \pm 0,52	cresc
				ente
				até

os 180 dias de análise, mas foi possível verificar uma perda de peso significativa ($p < 0,05$) a partir do T0. Já a perda de revestimento inicial foi menor de 1,84%, mas também apresentou diferença estatisticamente significativa.

PIZATO *et al.* (2013), ao estudarem o efeito de revestimentos com diferentes polissacarídeos em pêssegos minimamente processados e armazenados refrigerados por 12

dias, verificaram um aumento da perda de massa no decorrer dos dias, obtendo no final 7,6% para a menor perda de massa nos pêssegos revestidos contra 34,1% para os sem revestimento, sendo que a adição do revestimento provocou o mesmo efeito na perda de massa encontrado neste trabalho. A redução da perda de massa é devida à presença do revestimento, que atua como agente sacrificante, ou seja, a desidratação do revestimento (ação de sacrifício) ocorre antes que a do produto revestido, o que pode ter corrido neste trabalho.

Soares *et al.*, (2015), afirmaram que a baixa perda de peso dos filés de salmão pode ser explicada devido ao controle efetivo da temperatura de armazenamento. A perda de peso por conta da desidratação sofrida pelo os alimentos é dependente do tipo de freezer onde estes alimentos são armazenados. No presente trabalho a perda de peso foi crescente no período em que as postas de cavalla (*Scomberomorus cavalla*) permaneceram em armazenamentos. Ao final do experimento (180 dias) pode-se verificar uma perda de peso aproximadamente de 3% do peso inicial das postas de cavala congeladas.

4.6.2 Composição centesimal das postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*)

A composição química das postas de cavala dos tratamentos controle, glaciamento e revestimento proteico durante 180 dias de estocagem está representada na Tabela 10. A composição química (umidade, proteínas, cinzas, lipídios e carboidratos) das postas de cavala apresentou pequena variação, não apresentando diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A umidade como esperado apresentou alto teor de umidade, em torno de 78% para todos os tratamentos. A cavala é conhecida como um peixe gordo capaz de proporcionar à dieta um maior conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados como o ômega-3. Mas em nosso estudo o teor de lipídios apresentou baixos valores, variando de 1,55 a 2,01%. Em relação as proteínas todos os tratamentos apresentaram valores acima de 18%. Em virtude dos resultados encontrados as postas de cavala analisadas apresentam excelente qualidade nutricional e podem ser classificadas na categoria A, que representam peixes com baixo teor de lipídios (menor que 5 %) e alto teor de proteína de 15 a 20 % (STANSBY; OLCOTT, 1967),

Tabela 10 – Composição centesimal (média \pm desvio padrão) das postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) conservadas por 180 dias à -18 °C.

%	Controle	Glaciamento	Revestimento
Umidade	78,27±0,62	78,42±0,65	78,75±0,60
Proteínas	18,19±0,50	18,28±0,53	18,31±0,39
Cinzas	1,06±0,33	1,27±0,46	1,11±0,17
Lipídios	2,01± 0,51	1,63±0,39	1,55±0,42
Carboidratos	0,47±0,13	0,40±0,17	0,27±0,20

pH			
TEMPO	CONTROLE	GLACIAMENTO	REVESTIMENTO
T 0	7,00±0,12 ^{aA}	6,95±0,22 ^{aB}	6,62±0,12 ^{aB}
T 30	7,00±0,52 ^{abA}	6,96±0,34 ^{aB}	6,53±0,21 ^{aB}
T 60	6,99±0,23 ^{bcA}	6,96±0,76 ^{aB}	6,61±0,13 ^{aB}
T 90	6,91±0,5 ^{bdA}	6,99±0,12 ^{aB}	6,55±0,46 ^{aB}
T 120	6,86±0,44 ^{deA}	6,94±0,24 ^{aB}	6,38±0,12 ^{aB}

O

pesca
do é
de
extre
ma
impo

rtância na dieta alimentar por sua riqueza de nutrientes, alto teor protéico, lipídios de excelente qualidade e baixo teor de colesterol (DURAN *et al.*,2017).

4.6.3 Determinação do pH das postas de cavala

O pH é um parâmetro físico-químico muito utilizado na avaliação de pescados na indicação do índice de frescor. O RIISPOA (2017), determina um pH do músculo de peixe de 6,5.

Os valores de pH das postas de cavala controle, com glaciamento e com revestimentos, no decorrer do tempo estão demonstrados na Tabela 10.

Tabela 10. Resultados referente aos valores de pH em postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) conservada por 180 dias à -18 °C.

T 150	6,99±0,99 ^{efA}	6,92±0,38 ^{aB}	6,38±0,24 ^{aB}	*Médi
T 180	7,00±0,09 ^{efgA}	6,77±0,12 ^{abC}	6,21±0,76 ^{abD}	a ±

desvio padrão . Letras minúsculas diferentes na mesma linha e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

N-BVT (mgN/100g)

P

odem

os

observar pela Tabela 9 para o tratamento controle, um aumento nos valores de pH das postas de cavala com o decorrer do período de armazenamento, apresentando diferença significativa entre os tratamentos a partir do segundo dia. Foi verificada uma menor variação do pH nas postas que receberam revestimento e glaciamento do que no controle (TC) o qual apresentou o maior valor de pH (7) ao final dos 180 dias de armazenamento. O revestimento no T180 apresentou o menor resultado de todos os tratamentos, 6,21, ao final do período de análise, diferenciando-se significativamente dos demais tratamentos.

O pescado é considerado adequado para o consumo de acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), quando o pH da carne é inferior a 7,0 (BRASIL, 2017). Neste contexto, todos os tratamento obteve esse valor de pH considerado aceitável para o consumo humano, exceto no tratamento controle que apresentou pH maior que 7, nos tempos 0, 30 e 180 dias.

A elevação no valor do pH pode ser atribuída a elevação de compostos alcalinos como amônia, a partir de bactéria ou ainda, pelo aumento das N-BVT resultante da decomposição de compostos nitrogenados por enzimáticas endógenas e/ou microrganismos, o que foi verificado neste trabalho com o aumento da N-BVT. De acordo com Vieira (2004), a medida do pH não deve ser utilizada individualmente como índice de frescor, pois pode induzir a falsa avaliação. No entanto, seus valores geralmente acompanham, paralelamente, análises químicas, microbiológicas e sensoriais, concordando com o que foi realizado neste estudo através de análises químicas e microbiológicas nos peixes.

4.6.4 Nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT)

Os valores de N-BVT das postas de cavala, durante o período de armazenagem podem ser verificados através da Tabela 11.

Tabela 11. Resultados referentes aos valores de N-BVT das postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) conservadas por 180 dias à -18 °C.

TEMPO	CONTROLE	GLACIAMENTO	REVESTIMENTO	*Médi
T 0	7,90±0,09 ^{aA}	7,93±0,24 ^{aA}	7,32±0,23 ^{aB}	a ±
T 30	9,09±0,12 ^{bA}	8,92±0,25 ^{bA}	7,82±0,12 ^{abB}	desvio
T 60	9,22±0,32 ^{bcA}	9,17±0,12 ^{bcA}	8,66±0,11 ^{cA}	padrão
T 90	9,50±0,52 ^{bcA}	9,52±0,10 ^{cdA}	8,85±0,37 ^{cdAB}	.
T 120	9,87±0,12 ^{bcA}	10,08±0,04 ^{bcdA}	9,17±0,10 ^{dB}	Letras
T 150	10,25±0,32 ^{dA}	10,60±0,23 ^{adA}	9,69±0,27 ^{deB}	minús
T 180	11,29±0,21 ^{eA}	11,18±0,25 ^{eA}	10,02±0,18 ^{efB}	culas

diferentes na mesma linha e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os valores de N-BVT aumentaram nas postas de cavala armazenados congeladas durante o período analisado, apresentando diferença significativa a partir do segundo dia em todos os tratamentos (Tabela 11). O controle que não recebeu revestimento foi o que apresentou o maior valor no final do período ($11,29 \pm 0,21$ mgN/100g). Entre os tratamentos que receberam revestimento o foram os que apresentaram os menores aumentos nos valores de N-BVT, entretanto também apresentou diferença significativa dentro do tratamento. As diferenças entre as amostras do revestimento proteico diferiu da maioria das amostras dos outro dois tratamentos com o glaciamento e o controle.

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), o máximo aceitável de Bases Voláteis Totais (BVT) para o pescado ser considerado fresco é de 30mg de nitrogênio por 100g de carne (BRASIL, 2017). Neste sentido, todos os tratamentos estavam no limite do valor de N-BVT considerado aceitável para o consumo humano.

O N-BVT é um parâmetro que quantifica os compostos constituídos por amônia e aminas primárias, secundárias e terciárias, sendo amplamente utilizado como um indicador de deterioração dos tecidos muscular, sendo que a qualidade e tempo de armazenamento de pescados podem diminuir devido à ação de enzimas durante a fase posterior de armazenagem, originando um odor forte, que muitas vezes está relacionada à quebra de proteínas e a produção de materiais voláteis nitrogenadas, concordando com o que foi verificado neste estudo em relação a diminuição do tempo de armazenagem nas carpas prateadas sem revestimento (FAN *et al.*, 2009).

Efeito de revestimentos à base de quitosana sobre a vida de prateleira de salmão (*Salmo solar*) armazenado a 0°C por 18 dias foi estudado por Souza (2010), onde o mesmo também verificou um aumento no valor de N-BVT no decorrer dos dias, sendo superior nos filés que não foram revestidos com quitosana.

4.6.5 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Os valores de TBARS das postas de cavala, durante o período de armazenagem podem ser verificados através da Tabela 12.

Tabela 12. Resultados referentes aos valores de TBARS das postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) conservada por 180 dias à -18 °C.

*Média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha e letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Conforme os valores de TBARS observados na Tabela 12, ocorreu um aumento depois decréscimo dos valores em todos os tratamentos do tempo zero ao tempo 180, provavelmente devido à instabilidade das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

TBARS (mg de malonaldeído/kg)				legisl ação brasil eira não exige limit e
TEMPO	CONTROLE	GLACIAMENTO	REVESTIMENTO	
T 0	1,56±0,07 ^{aA}	0,16±0,09 ^{aB}	0,53±0,09 ^{aB}	
T 30	2,05±0,13 ^{aA}	0,41±0,45 ^{aB}	0,71±0,09 ^{bB}	
T 60	1,28±0,46 ^{aA}	1,55±0,17 ^{bB}	0,88±0,09 ^{bB}	
T 90	1,34±0,24 ^{aA}	0,89±0,21 ^{aE}	0,41±0,09 ^{aB}	
T 120	0,69±0,12 ^{bA}	0,69±0,22 ^{aAD}	0,40±0,09 ^{aCD}	
T 150	1,24±0,13 ^{aA}	0,75±0,19 ^{aAD}	0,75±0,09 ^{bD}	
T 180	1,33±0,12 ^{aA}	0,78±0,07 ^{aD}	0,60±0,09 ^{bCD}	

estabelecido para TBARS e conforme citado por SANTOS *et al.* (2013), o produto pode ser considerado em bom estado, apresentando valores abaixo de 3,0 mgMA/kg de amostra, sendo os limites de oxidação lipídica para o consumo é de 7 a 8 mgMA/kg no alimento. Neste contexto os resultados encontrados de TBARS (Tabela 12), para todos os tratamentos, os resultados ficaram dentro dos valores considerados aceitáveis dentro do período avaliado, mantendo o frescor das postas de cavala.

O TBARS é amplamente utilizado e mede o nível de compostos que são responsáveis pelos sabores e odores indesejáveis, causados por reações sofridas pelos ácidos graxos insaturados que provocam a deterioração dos alimentos tornando-os impróprios para o consumo, sendo importante durante os últimos estágios da oxidação lipídica, sendo que neste estudo ocorreu um aumento nos valores de TBARS porém não chegando a deteriorar o pescado (FERREIRA, 2014).

A oxidação é uma causa importante na deterioração da qualidade de pescado congelado de origem marinha, pois o músculo do peixe torna-se susceptível a oxidação durante o período em que permanece congelado devido à abundância de ácidos graxos poli-insaturados presentes na carne do pescado (OJAGH *et al.*, 2014).

4.6.6 Contagem de Bactérias Psicotróficas nas postas de cavala revestidas

O crescimento dos microrganismos psicotróficas foi avaliado durante o período de armazenagem das postas de cavala, revestidas ou não e glaciadas, conforme demonstrado na tabela 13.

Tabela 14 – Logaritmo da Média dos valores das Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g) das bactérias psicotróficas, em função do tempo de congelamento, encontradas no músculo da cavala (*Scomberomorus cavalla*) para o grupo controle, glaciamento e revestimento Proteico 1% com 0,1% de glicerol.

Tempo (Dias)	Tratamento	Músculo (UFC/g)
T0	Controle	4,02
	Glaciamento	3,63
	Revestimento Proteico	2,07
T30	Controle	3,35
	Glaciamento	2,57
	Revestimento Proteico	1,86
T60	Controle	3,22
	Glaciamento	3,66
	Revestimento Proteico	1,64
T90	Controle	4,44
	Glaciamento	3,47
	Revestimento Proteico	1,47
T120	Controle	3,96
	Glaciamento	3,92
	Revestimento Proteico	2,07
T150	Controle	3,66
	Glaciamento	3,65
	Revestimento Proteico	2,25
T180	Controle	3,97
	Glaciamento	3,76
	Revestimento Proteico	2,17

As médias dos logarítimos decimais das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de bactérias psicrotróficas oriundas do músculo das postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) teve uma variação expressa em logaritmo do número de bactérias psicrotróficas foi de 1,47 a 4,44. O limite estabelecido para microrganismos psicrotróficas em pescado cru é de 107 UFC/g segundo a ICMSF (1986). Assim, nenhuma das variações de contagem excedeu esse limite durante os 180 dias de estocagem.

As contagens bacterianas de psicrotróficas representa a fases lag log e estacionária, se mostrando crescentes no início em todos os tratamentos e depois durante os dias de estocagem, tem um leve decréscimo seguida da estabilidade. Porém o tratamento com o revestimento proteico apresentou crescimento abaixo dos outros dois tratamentos. Tal fato pode ser explicado pela capacidade antimicrobiana do revestimento.

Micro-organismos psicrotróficos são os psicrotolerantes que crescem à 0°C, mas com ótimo crescimento à 25°C. As bactérias psicrotróficas são encontradas em alimentos refrigerados entre 0° a 7°C, mas seu crescimento visível é visto a 7°C durante 7 a 10 dias, embora esta temperatura não seja a ótima de crescimento (HAYES, 1993).

As baixas temperaturas, embora seja um elemento físico bacteriostático, podem ser consideradas condições desfavoráveis para o desenvolvimento bacteriano, entretanto pode ocorrer um médio crescimento de bactérias psicrotróficas e psicrófilas, alterando a qualidade do pescado por ação desses micro-organismos e de suas toxinas. Assim, bactérias podem diminuir a vida de prateleira desses produtos e serem fatores de risco ao consumidor (GHALY *et al.*, 2010).

Apesar de possuírem uma faixa de crescimento distinta dos demais grupos, os psicrotróficos são considerados subgrupo dos mesófilos. O grupo é constituído principalmente por bactérias deteriorantes, mas também, por algumas bactérias patogênicas, tais como, *Aeromonas hydrophila*, algumas cepas de *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* tipo E, B e F e *Listeria* spp. (COUSIN, *et al.*, 2001).

Durante o armazenamento em temperaturas baixas, esse grupo tende a ser dominante, entretanto inicialmente ela não expressa um grande crescimento, somente a partir da 1ª a 2ª semana seu crescimento aumenta progressivamente. O grau de frescor do pescado é medido a partir desses micro-organismos que apresentam correlação significativamente negativa, ou seja, quanto maior a contagem bacteriana dos psicrotróficos menor o grau de frescor do pescado.

Os microrganismos psicrotróficos são os principais deterioradores do pescado refrigerado, essas bactérias não são inibidas pelo efeito da baixa temperatura,

consequentemente diminuem a vida útil do mesmo. A contagem bacteriana de psicotróficos é associada à atividade proteolítica na deterioração do pescado refrigerado, tendo em vista que o grupo dessas bactérias está em uma condição mais favorável ao desenvolvimento do que o grupo dos estritamente mesófilas (LAZARIN *et al.*, 2011).

O grau de frescor do pescado é medido a partir desses micro-organismos que apresentam correlação significativamente negativa, ou seja, quanto maior a contagem bacteriana dos psicotróficos menor o grau de frescor do pescado (FONTES *et al.*, 2017).

5 CONCLUSÕES

Foi possível recuperar as proteínas miofibrilares de tilapia do nilo (*Oreochromis niloticus*) através do processo de lavagem (1 CMS : 2 solução), obtendo-se na proteína recuperada um elevado conteúdo proteico em base seca, e dessa matéria foi possível elaborar filmes e soluções filmogênicas de proteínas miofibrilares em diferentes concentrações (1,0%, 1,5% e 2,0%) de proteínas e (0,0%, 0,1% e 0,2%) de glicerol.

O filme de 1% de PM e 0,1% de glicerol obteve-se resultados melhores em relação capacidade molhante, ângulo de contato, propriedades mecânicas, opacidade, na solubilidade e na permeabilidade ao vapor de água.

Foi possível obter filmes e revestimentos antimicrobianos pelas técnicas de casting e imersão, respectivamente. Todas as soluções filmogênicas apresentaram atividade antimicrobiana em relação à *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Salmonella Enteritidis*.

A aplicação de revestimentos em postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) armazenados e congeladas por 180 dias a -18°C melhorou a conservação, estabilidade e diminuiu a ação microbiana no decorrer do período analisado.

O revestimento antimicrobiano que continha em sua composição de 1,0 % de proteína miofibrilar e 0,1% de glicerol foi eficaz na manutenção e no aumento da vida de prateleira de postas de cavala congeladas.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, Lyndervan de Oliveira. **Avaliação de propriedades de superfície de revestimentos aplicados a filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e camarão (*Litopenaeus vannamei*)**. 2015. 119 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, Fortaleza, 2015. Orientação: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza.
- AMARAL, Y. N. V.; MARANO, D.; SILVA, L. M. L.; GUIMARÃES, A. C. L. D.; MOREIRA, M. E. L. **Are There Changes in the Fatty Acid Profile of Breast Milk with Supplementation of Omega-3 Sources? A Systematic Review**. Revista brasileira de ginecologia e obstetría. v. 39, n. 3, 2017.
- ARRHAM, R.; MULYATI, M. T.; METUSALACH, M.; SALENGKE, S. Physical and mechanical properties of agar based edible film with glycerol plasticizer.
- ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 3, p. 697–700, 2006.
- ARRUDA, L. F. BORGHESI, R.; BRUM, A.; REGITANO D'ARCE, M.; OETTERER, M. Nutritional aspects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) silage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p.749-756, 2006.
- ARRUDA, L. F.; BORGHESI, R.; OETTERER, M. Use of Fish Waste as Silage - A Review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.50, n. 5, p. 879-886, 2007.
- BALLESTER-COSTA, C.; SENDRA, E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; VIUDA-MARTOS, M. Evaluation of the antibacterial and antioxidant activities of chitosan edible films incorporated with organic essential oils obtained from four *Thymus* species. **Journal of Food Science and Technology**. v. 53, p.3374-3379. 2016.
- BELIBAGLI, K.B., SPEERS, R.A., PAULSON, A.T. Thermophysical properties of silver hake and mackerel surimi at cooking temperatures. **Journal of Food Engineering**, v.60(4), p.439-448, 2003.
- BENJAKUL, S. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*). **Journal of the science of food and agriculture**, v. 90, n. 1, p. 132– 8, 15, 2010.
- BINSI, P. K. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 1, p. 132–145, jan. 2009.
- BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Optimization of gelatin extraction from silver carp skin. **Journal of food science**, v. 74, n. 8, p. E432–41, out. 2009.
- BOURTOOM, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Research Day in Food**, v.15, p. 237-248, 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA - MPA. Disponível em: http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes_e_Estatisticas/Boletim%20Estat%20C3%ADstico%20MPA%202010.pdf. Acesso em: 12 de janeiro de 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2001a. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos**, 2001.

BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA - **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Brasília/DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017.

BRUNO, F. H. S.; SALES, R. O.; OLIVEIRA, A. L. T.; FREITAS, J. B. S. F. Avaliação da composição mineral do adubo orgânico produzido a partir de resíduos de pescados e vegetais no desenvolvimento da cultura da cebolinha (*Allium schoenoprasum*). **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 07, n. 2, p. 106-125, 2013.

CARDOSO, A. S.; EL-DEIR, S. G.; CUNHA, M. C. C. **Bases da sustentabilidade para atividade de piscicultura no semiárido de Pernambuco**. Interações, Campo Grande, MS, v. 17, n. 4, p. 645-653, out./dez. 2016.

CASARIEGO, A.; SOUZA, B. W. S.; VICENTE, A.; TEIXEIRA, J. A.; CRUZ, C.; DÍAZ, R.. Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1452-1459, 2008.

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

CHAMBÓ, A. P. S.; SOUZA, M. L. R.; OLIVEIRA, E. R. N.; MIKCHA, J. M. G.; MARQUES, D. R.; MAISTROVICZ, F. C.; VISENTAINER, J. V.; GOES, E. S. R. Roll enriched with Nile tilapia meal: sensory, nutritional, technological and microbiological characteristics. **Food Science and Technology**. In press. Epub Oct 26, 2017.

CHINNAN, M. S. & PARK, H. J. Effect of plasticizer level and temperature edible filmson water vapor transmission of cellulose-based. **Journal of Food Process Engineering**. v. 18, p. 417-429, 1995.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement**. M100-S23. CLSI: Wayne, v. 33, n.1, p. 20, 2013.

CORTEZ-VEJA, W. R.; BAGATINI, D. C.; SOUZA, J. T. A.; PRENTICE, C. Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: Avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira. **Brazilian Journal of Food technology**. Campinas, v. 16, n. 2, p. 90-98, abr./jun. 2013.

COSTA, A. F. S.; ALMEIDA, F. C. G.; VINHAS, G. M.; SARUBBO, L. A. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using corn steep liquor as nutrient sources. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2027, 2017.

COUSIN, M. A.. Psychrotrophic microorganisms. In: APHA (American Public Health Association). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4. ed. Washington, cap.13, p.159-166, 2001.

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. **Journal of Food Science**, v.60, p.1369-1374, 1995.

CUQ, B.; AYMARD, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. **Journal of Food Science**, v.60, p.1369-1374, 1995.

DANGARAN, K.; TOMASULA, P. M.; QI, P. Structure and function of protein-based edible films and coatings. In: EMBUSCADO, M. E.; KERRY C.; HUBER, K. C. (Eds.). **Edible Films and Coatings for Food Applications**. New York: Springer, p. 25-26, 2009.

DAVIDSON, P. M.; HARRISON, M. A. Resistance and adaptation to food antimicrobials, sanitizers, and other process controls. **Food Technology**, v. 56, n. 11, p. 69-78, 2002.

DILARRI, G.; MENDES, C. R.; MARTINS, A. O. Síntese de biofilmes de quitosana reticulados com tripolifosfato atuando como gente quelante na fixação de nanopartículas de prata. **Ciência & Engenharia**. v. 25, p. 97-103, 2016.

DOWNES, M. P.; ITO, K. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4th ed., Washington: Ed. APHA, p. 676, 2001.

DURAN, N. M., MACIEL, E. S. GALVÃO, J. A., SILVA, L. K. S., SONATI, J. G., OETTERER, M. Availability and consumption of fish as convenience food – correlation between market value and nutritional parameters. **Food Science Technology**, v.37, p. 65-69, 2017.

OETTERER, M. Availability and consumption of fish as convenience food – correlation between market value and nutritional parameters. **Food Science Technology**, v.37, p. 65-69, 2017.

ELSABEE, M. Z., ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. **Materials Science and Engineering**. v. 33, p. 1819-1841, 2013.

FAN, W, SUN, J., CHEN, Y., JIANQIUB, YANZHANGC, YUANLONGCHI, Efeitos do revestimento de quitosana na qualidade e vida útil da carpa prateada durante armazenamento congelado. **Food Chemistry**, v.15, p.66-70, 2009.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/012/i0765pt/i0765pt09.pdf>. Acesso em: 12 de fevereiro de. 2015.

FERREIRA, E. M.; LOPES, I. S.; PERREIRA, D. M.; RODRIGUES L. C.; COSTA, F. N. Qualidade microbiológico do peixe serra (*scromberomus brasilienses*) e do gelo

utilizado na sua conservação. **Arquivo do Instituto Biológico**. v. 81, n.1, p. 49-54, 2014.

FIORI, A. P. S. M.; GABIRABA, V. P.; PRAXEDES, A. P. P.; NUNES, M. R. S.; BALLIANO, T. L.; SILVA, R. C.; TONHOLO, J.; RIBEIRO, A. S. Preparação e Caracterização de Nanocompósitos Poliméricos Baseados em Quitosana e Argilo Minerais. **Polímeros**. v.24, p. 228-235, 2014.

FORTUNY, R. C. S.; BELLOSO, M.O. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 9, p. 5774-5779, 2003.

FURTADO, R. F.; RIBEIRO, F. W. M.; MARIANO, A. C. M.; ALVES, C. R.; BASTOS, M. S. R.; COSTA, J. M. C. Modificação química de goma de cajueiro: novas características e potencialidades de aplicações. **Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical**, 2013.

GALUS, S.; KADZINSKA, J. Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. **Food Hydrocolloids**, Warsaw, v. 52, p. 78-86, 2016.

GARCÍA, F. T.; SOBRAL, P. J. A. Effect of the thermal treatment of the filmogenic solution on the mechanical properties, color and opacity of films based on muscle protein of two varieties of Tilapia. **LWT- Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 289-296, 2005.

GHALY, A.E., DAVE, D., BUDGE, S., BROOKS, M., S. Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review. **American Journal of Applied Sciences**, v.7, p.859-877, 2010.

GIANNAKAS, A, VLACHA, M., SALMA, C., LEONTIO, A., KATAPODIS, P., STAMATIS, H., BARKOULA, N., LADAVOS, A. Preparação, caracterização, propriedades mecânicas, de barreira e antimicrobianas de nanocompósitos de quitosana/PVOH/argila. **Polímeros de Carboidratos**. v.140, p.408-415, 2016.

Glycerol in Chitosan Films. **Food Biophysics**. v. 11, p. 117-217, 2016.

GOMES, L. P.; SOUZA, H. K.S.; CAMPIÑA, J. M.; ANDRADE, C. T.; PASCHOALIN, V. M. F.; SILVA, A. P.; GONÇALVES, M. P. Tweaking the mechanical and structural properties of colloidal chitosans by sonication. **Food Hydrocolloids**. v. 56, p.29-40, 2016.

GONTARD, N., GUILBERT, S., & CUQ, J.-L. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, p.190-199, 1992.

GORMLEY, R. UCD Institute of food and health, university college dublin, belfield. **In: Fish as a functional food: some issues and outcomes**, 2013.

GUILLARD, V., BROYART, B., BONAZZI, C., GUILBERT, S. AND GONTARD, N. Preventing moisture transfer in a composite food using edible films: Experimental and mathematical study. **Journal . Food Science**, v.68, p.2267-2277, 2003.

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

HEMUNG, B. AND CHIN, K. B. Effects of fish sarcoplasmic proteins on the properties of myofibrillar protein gels mediated by microbial transglutaminase. **LWT. Food Science. Technology**. 53, 184-190, 2013.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) Microorganisms, **In: Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications**, Foods 2, 1986.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz - Métodos Físicos e Químicos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008.

JANJARASSKUL, T., KROCHTA, J. M. Edible Packaging Materials. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 415-448, 2010.

JARAMILLO, C. M.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch

KHALIL, A. M., HASSAN, M. L. DISTRITO, A. A. Novos filmes nanofibrilados de celulose/polivinilpirrolidona/nanopartículas de prata com propriedades de condutividade elétrica. **Polímeros de carboidratos**. v.157, p. 503-511, 2017.

KROCHTA, J. E MULDER-JOHNSTON, C. - Edible and biodegradable polymer films. **Tecnologia Alimentar**,v.51, 1997.

KUHN, C. R.; SOARES, G. J. D. Proteases e inibidores no processo de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, n. 1, p. 5-11, 2002.

KWOK, D. Y.; NEWMAN, A. W. Contact angle measurement and contact angle interpretation. **Advances in Colloid and interface Science**, vol. 81, n. 3, p. 167-249.

LANZARIN,E.S., ALMEIDA FILHO, RITTER,D. O., MELLO, C. A.,. CORRÊA, G.S.S., IGNÁCIO, C.M.S. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrotóxicos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma* LECETA, I., GUERRERO, P., CABA, K. Functional properties of chitosan-based films. **Carbohydrate Polymers**, v.93, p. 339-346, 2013.

LU,H. J, BREIDT,F., ILENYS, M., PE REZ-DIAZ, M. I., OSBORNE, J. A. Antimicrobial Effects of Weak Acids on the Survival of *Escherichia coli* O157:H7 under Anaerobic Conditions. **Journal of Food Protection**, v. 74, n. 6, p.893–898, 2011.

LUZ, A. P.; RIBEIRO, S.; PANDOLFELLI, V.C. Artigo revisão: uso da molhabilidade na investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. **Cerâmica**, v.54, n.330, São Paulo, 2008.

MALLE, P. AND POUMEYROL, M. 1989. A new chemical criterium for the quality control of fish: Trimethylamine /Total Volatile Basic Nitrogen (%). **Journal of Food Protection** v. 52, p. 419-423, 1989.

MCHUGH, T. H. AND KROCHTA, J. M. Dispersed phase particle-size effects on water-vapor permeability of whey-protein beeswax edible emulsion films. **J. Food Processing Preservation**, v.18, p.173–188, 1994.

MELLO, S. C. R. P, FREITAS, M. Q, CLEMENTE, S. C, FRANCO, R. M, NOGUEIRA, E. B., PINTO, M. D. R. S. Caracterização química e bacteriológica de polpa e surimi obtidos do espinhaço residual da filetagem de tilápia. **Tecnologia de Alimentos Ciência Rural**. v.40(3), 2010.

MOHY ELDIN, M.S.; SOLIMAN, E.A.; HASHEM, A.I.; TAMER, T.M. Biopolymer Modifications for biomedical applications. **In: Infrared Spectroscopy – Life and Biomedical Sciences**, p.367, 2012.

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

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

OETTERER, M. Capítulo 3: Proteínas do pescado: processamento com intervenção na fração protéica. In: OETTERER, M.; REGITANO D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**.p. 99- 134, 2006.

OETTERER, M. **Proteínas de Pescado**. Piracicaba: ESALQ; USP, 1996.

OJAGH, S. M., REZAEI, M., RAZAVI, S. H., & HOSSEINI, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**, 120(1), 193–198, 2010.

OU, S.; WANG, Y.; TANG, S.; HUANG, C.; JACKSON, M. G. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 70, n. 2, p. 205-210, 2005.

PAIVA, L. B.; GUIMARÃES, T. R.; MORALES, A. R. Propriedades Mecânicas de Nanocompósitos de Polipropileno (PP) e Montmorilonita Organofílica. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 16, nº 2, p. 136-140, 2006.

PARK, H. - *Development of advanced edible coatings for fruits*. **Trends in Food Science and Technology**. v. 10, p. 254-260, 1999.

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

PEREIRA, Marcelo Gomes **Efeito da suplementação com leucina no processo de regeneração muscular esquelética**. 2015. 114 f. Tese (doutorado) Programa de PósGraduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2015. Orientação: Profa. Dra. Elen Haruka Miyabara.

- PINHEIRO, A. C.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S; MARTINS, J. . Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. **Boletim de Biotecnologia**, v. 85, n. 18, p. 18-28, 2010.
- PIZATO, S.; CORTEZ-VEGA, W. R.; DE SOUZA, J. T. A.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; BORGES, C. D. Effects of different edible coatings in physical, chemical and microbiological characteristics of minimally processed peaches (*Prunus persica* (L.) Batsch). **Journal of Food Safety**, v.33, n.1, p.30-39, 2013.
- RAGHAVAN, S.; KRISTINSSON, H. G. Conformational and rheological changes in catfish myosin during alkali-induced unfolding and refolding. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 1, p. 385-398, 2008.
- RAMOS, M.; VALDÉS, A.; BELTRÁN, A.; GARRIGÓS, M. C. Gelatin-Based Films and Coatings for Food Packaging Application. **Coatings**. v.41, n.6, 2016.
- REBOUÇAS, M. C.; RODRIGUES, M. C. P.; CASTRO, R. J. S.; VIEIRA, J. M. M. Caracterização do concentrado proteico de peixe obtido a partir dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 697-704, abr. 2012.
- RIVERO, S.; DAMONTE, L.; GARCIA, M. A.; PINOTTI. An Insight into the Role of Glycerol in Chitosan Films. **Food Biophysics**. v. 11, p. 117-217, 2016.
- RODRIGUES, L. M.; FERRACIOLLI, V. D.; LUIZ, D. B.; NAVAL, L. P. Potential for reuse of effluent from fish-processing industries. **Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**. v. 12 n. 5., 2017.
- SAYARI, N., ASSAAD, S., ABDELMALEK, B. E., ABDALLAH, S., ELLOUZ-AABOUNI, S., BOUGATEF, A., BALTI, R. Quitina e quitosana dos subprodutos do lagostim: atividades antimicrobianas e antiproliferativas. **Biological Macromolecules**, v. 87, p. 163-171, 2016.
- SILVA, J.A.; BEDOR, D.C.G.; SOUSA, C.E.M.; SANTANA, D.P.; EGITO, E.S.T. Desenvolvimento e validação de método analítico para a quantificação de diclofenaco de dietilamônio em pele humana por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v. 31, n.1, p. 41- 46, 2010.
- SOARES, N. M. F.; OLIVEIRA M. S. G.; VICENTE, A. A. Effects of glazing and chitosan-based coating application on frozen salmon preservation during six-month storage in industrial freezing chambers. **LWT – Food Science and Technology**. v. 61, p. 524-531, 2015.
- SOBRAL, P. J. A., GARCÍA, F., HABITANTE, A. M., MONTERREY-QUINTERO, E. S. Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e de proteínas do músculo de tilápia-do-nilo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.39, n.3, p.255-262, 2004.
- SOBRAL, P. J. A.; SANTOS, J. S.; GARCIA, F. T. Effect of protein and plasticizer concentrations in film forming solutions on physical properties of edible films based on muscle proteins of a Thai Tilapia. **Journal of Food Engineering** , v.70 p.93–100, 2005.

- SONG, B., and SPRINGER, J., J. **Colloid Interface Science**. V. 184, p. 77 (1996).
- SOUZA, B.W.S. *et al.* Effect of Chitosan-Based Coatings on the Shelf Life of Salmon (*Salmo salar*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 11456-11462, 2010.
- STANSBY, M.E.; OLCOTT, H.S. Composición del pescado. **In: Tecnología de la Industria Pesquera**. (Ed. J. Stansby, M.E.; Dassow), p. 391–402, 1967.
- SUPUT, D.; LAZIĆ, V.; POPOVIĆ, S.; HROMIS, N.; BULUT, S. BIOPOLYMER Films synthesis and characterisation sinteza i karakterizacija biopolimernih filmova. **Journal on Processing and Energy in Agriculture**. v.21, 2017.
- SWANSON, K.M.J.; PETRAN, R.L.; HANLIN, J.H. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (eds). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association (APHA), p. 53-62, 2001.
- VAZ, S. K. **Elaboração e caracterização de lingüiça fresca “tipo toscana” de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 113f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2005.
- VICENTE, A. A. *et al.* Improved hydrocolloid-based edible coatings/films systems for food applications. **Polysaccharides: Development, Properties and Applications**. Ed. Ashutosh Tiwari, 2010.
- VIDAL, J. M. A.; RODRIGUES, M. C. P.; ZAPATA, J. F. F.; VIEIRA, J. M. M. Protein concentrate from the residues left after filleting Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): physical-chemical characterization and sensory acceptance. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 1, p. 92-99, 2011.
- VIEIRA, R.H.S. F. Normas e padrões microbiológicos para o pescado. **In. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Livraria Varela, p.203-210, 2004.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Foodborne disease outbreaks : guidelines for investigation and control. Switzerland, 145 p., 2008.
- YOUNES, I.; HAJJI, S.; RINAUDO, M. CHAABOUNI, M. JELLOULI, K.; MONCEF, N. Optimization of proteins and minerals removal from Srimp shells to produce highly acetylated chitin. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 84, p. 246-253, 2016.
- ZAVAREZE, E. R. **Aplicação de hidrolisado proteico com peptídeos bioativos nanoencapsulados em filmes elaborados a partir de proteínas de pescado**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande-FURG, 104 p., 2012.
- ZISMAN, W. A. Contact angle, wettability and adhesion. In: Fowkers, F.M. (Ed.), **Advances in Chemistry**, vol. 43. ACS, Whashington, DC, pp.1-51, 1964.