



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AGROALIMENTAR

DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS
ANTIOXIDANTES E ANTIMICROBIANOS PARA
PRESERVAÇÃO DE CARNE BOVINA REFRIGERADA

Gilmar Freire da Costa
Bacharel em Agroindústria

BANANEIRAS-PB
MARÇO-2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AGROALIMENTAR

DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS
ANTIOXIDANTES E ANTIMICROBIANOS PARA
PRESERVAÇÃO DE CARNE BOVINA REFRIGERADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar, da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia Agroalimentar.

Gilmar Freire da Costa

Orientadora: Profa. Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro

BANANEIRAS-PB

MARÇO-2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

G487d Gilmar Freire da Costa.

Desenvolvimento de Filmes Biodegradáveis Antioxidantes e Antimicrobianos Para Preservação de Carne Bovina Refrigerada / Gilmar Freire da Costa. - Bananeiras, 2020.

113 f.: il.

Orientação: Profa Dra Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro.

Coorientação: Profa Dra Solange de Sousa, Prof Dr Bruno Ranieri Lins de Albuquerque Meireles.

Dissertação (Mestrado)-UFPB/CCHSA.

1. Compostos fenólicos, Filmes biodegradáveis. 2. Oxidação lipídica, Qualidade de carne. 3. Vida de prateleira. I. Profa Dra Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro. II. Título.

UFPB/BC

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS, SOCIAIS E AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
AGROALIMENTAR

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: Desenvolvimento de filmes biodegradáveis antioxidantes e antimicrobianos para preservação de carne bovina refrigerada

AUTOR: Gilmar Freire da Costa

ORIENTADOR. Profa. Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro

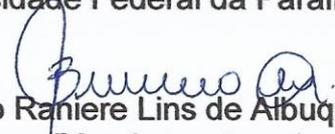
JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES


Profa. Dra. Angela (Maria) Tribuzy de Magalhães Cordeiro
(Presidente da banca)
Orientadora
Universidade Federal da Paraíba/UFPB


Profa. Dra. Solange de Sousa
(Membro interno)
Universidade Federal da Paraíba/UFPB


Prof. Dr. Bruno Ranieri Lins de Albuquerque Meireles
(Membro externo)
Universidade Federal de Campina Grande/UFCG

Bananeiras, PB
Março 2020

A meus pais, Luzia Freire da Costa e José Felix da Costa, por todo apoio que me proporcionaram durante essa jornada. A meus irmãos, Givanildo, Gilvânia, Ginaldo, Ginelson e Givanilson por todo apoio e amizade.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por me fortalecer todos os dias para ir a busca dos meus objetivos e superar todas as dificuldades durante esse percurso.

A Universidade Federal da Paraíba, Campus III por ter me dado à oportunidade de cursar a Graduação em Agroindústria e o Mestrado em Tecnologia Agroalimentar, instituição que sempre será uma das minhas casas a qual eu pude crescer pessoalmente e profissionalmente.

Ao Laboratório de Engenharia de Alimentos (LEA) da Universidade Federal de Campina Grande em especial ao professor Hugo pela ajuda na realização da análise do MEV correspondente ao meu experimento.

Ao Laboratório de combustíveis e materiais (LACOM) da Universidade Federal da Paraíba, Campus I pelo suporte dado na condução do meu experimento de mestrado.

Ao Laboratório de compostos de coordenação e química de superfície (LCCQS) da Universidade Federal da Paraíba, Campus I, especialmente ao servidor Victor Hugo pela realização de análises térmicas do meu material de trabalho no mestrado.

Ao Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Absorção Atômica da Universidade Federal da Paraíba, Campus III, especialmente aos servidores técnicos José e Valquíria pela ajuda na realização de algumas análises do meu experimento.

Ao Laboratório de Análises Físico-química de alimentos, da Universidade Federal da Paraíba, Campus III, especialmente aos servidores técnicos, Ricardo, Rafael e Carlos pelo apoio durante as análises do meu experimento.

Ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Química (LABQUIM) em especial aos Técnicos Jerônimo e Guilherme e o Professor Max Rocha por disponibilizar o Laboratório para realização de algumas análises das etapas iniciais do meu experimento.

Ao Laboratório de Desenvolvimento de Novos Produtos da Aquicultura, em especial ao servidor técnico Fabiano e ao funcionário Antônio Rosendo por disponibilizar o setor e pela ajuda no processo de extração do colágeno da pele de Tilapia.

A CAPES pela concessão da bolsa, responsável pela realização desta pesquisa.

Agradeço em especial aos meus pais Luzia Freire da Costa e José Felix da Costa que sempre me apoiaram na minha jornada. A meus irmãos, Givanildo, Gilvânia, Ginaldo, Ginelson, Givanilson que sempre me apoiaram nesta caminhada.

A minha orientadora, professora Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro que desempenhou um papel importante nesses dois anos de mestrado. Fico extremamente feliz por tê-la como orientadora e tenho a senhora como exemplo de profissional. Levarei por toda a vida os ensinamentos e conhecimentos que a senhora passou pra mim, que mim fez subir de nível profissional.

A minha Co-orientadora, professora Dra. Solange de Sousa que desde a graduação com trabalhos de iniciação científica e TCC vem-me orientando e passando conhecimentos e valores com a qual levarei pra o resto da minha vida.

Ao meu Co-orientador professor Dr. Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles, pela ajuda em algumas análises. Fico também extremamente feliz por tê-lo como Co-orientador, és um exemplo de profissional, ao qual almejo chegar e levarei por toda vida os conhecimentos e ensinamentos adquiridos através do senhor.

A Professora Dra. Cristiani Viégas que foi como um anjo que Deus enviou-me para me ajudar neste experimento em especial nas etapas de elaboração dos filmes, és uma excelente profissional além de ser uma pessoa fantástica com a qual passei a admirar.

A meus colegas de turma, Thamirys Lorrane, Edylayne Nobrega, João Vitor, Diógenes Gomes, Zayama Santana, Léo Gustavo, Cecylina Leite, Chimenes Darlan, Amanda, João Bosco e Monique com a qual passamos por momentos bons e difíceis durante essa caminhada de Pós-graduação.

Agradeço especialmente a Edilayne Nobrega pela ajuda em algumas análises da etapa final do experimento, uma pessoa fantástica com a qual admiro.

Agradeço a Erivane Silva pela ajuda e apoio na execução da análise de toxicidade dos meus extratos.

A meus amigos da Vila do Chaves em nome de Francivaldo de Sousa e ao casal Jorge e Jazy pelo convívio durante esse tempo na cidade de Solânea, Paraíba.

Agradeço ao secretário do Programa de pós-graduação em Tecnologia Agroalimentar (PPGTA), Girleno que sempre esteve disposto a sanar todas as duvidas de nós alunos.

Agradeço a todo o corpo docente do PPGTA que contribuíram para meu aprendizado nos nomes de Solange de Sousa, Leonardo Pascoal, Fábio Silva, George Beltrão, Angela Tribuzy, Roberto Germano, Gilsandro, Raunira, Sthelio Braga e Neila Lidiany. E a todos os envolvidos que de alguma forma contribuíram para que este momento chegasse.

Muito Obrigado!!

INFORMAÇÕES CURRÍCULARES DO AUTOR

Eu, Gilmar Freire da Costa, brasileiro, solteiro, Portador do RG: 3.908.526 SSS/PB, natural da cidade de Solânea e nascido em 24 de Março de 1993. Possuo formação em Agroindústria pela Universidade Federal da Paraíba - UFPB título obtido no ano de 2017, estudando a utilização de biopolímeros comestíveis a base de fécula de mandioca e amido de milho na conservação de queijo de coalho. Fui aluno pesquisador bolsista do CNPQ/UFPB no Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) tendo desenvolvido os projetos “Estudo da viabilidade do uso de biopolímeros comestíveis a base de fécula de mandioca e amido de milho na conservação de queijo de coalho” e “produtos cárneos formulados com teores reduzidos de sal com aplicação de substâncias bioativas como óleos essenciais de orégano (*Origanum Vulgare*) e alecrim (*Rosmarinus Oficinalis*)” no período de 2014- 2015 e 2015-2016. Possuo experiência na área de ciência e tecnologia de alimentos com ênfase em microbiologia de alimentos, físico-química de alimentos, tecnologia de leite e derivados, tecnologia de carnes e derivados e tecnologia de panificação. Investiga o uso de embalagens ativas, comestíveis e biodegradáveis com potencial para conservar alimentos. Estuda a composição química, atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais para o controle de micro-organismos deteriorantes e patogênicos de interesse em alimentos. Estuda também a aplicação de extratos e óleos essenciais com potencial antioxidante no controle de processos de oxidação lipídica em produtos cárneos.

Eu escolho subir e não cair; eu escolho viver e não morrer, hoje será o dia, e não amanhã ou na próxima semana, mais é aqui e agora. A crença vai mudar meu mundo; a história se lembrará de mim; eu nunca irei pra casa, não, sem dá tudo o que eu tenho; porque quem eu sou, eu sou um campeão; eu escolho continuar lutando. Eu estou chegando e vou conquistar o que ainda não foi conquistado, a derrota não será minha crença, eu vou acreditar no que os outros têm dúvida, quem sou eu, eu sou um campeão, eu sou imparável!

Nando Pinheiro!!

DESENVOLVIMENTO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS ANTIOXIDANTES E ANTIMICROBIANOS PARA PRESERVAÇÃO DE CARNE BOVINA REFRIGERADA

RESUMO GERAL: Objetivou-se desenvolver filmes biodegradáveis antioxidantes e antimicrobianos para preservação de carne bovina refrigerada. A execução da pesquisa foi dividida em quatro capítulos distintos: (Capítulo 1)- Considerações gerais; (Capítulo 2)-Desenvolvimento e caracterização dos extratos da folha de batata-doce e taioba; (Capítulo 3)-Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis á base de colágeno da pele de tilápia e fécula de mandioca. Já o (Capítulo 4)-tratou-se da aplicação de um filme á base de colágeno incorporado de extratos da folha de batata-doce e taioba em carne bovina armazenada sob-refrigeração a 4 °C. Os resultados mostraram que os dois extratos hidroalcóolicos apresentaram potencial antioxidante, indicando maior efetividade para o extrato da folha de batata-doce. Com relação à atividade antimicrobiana, apenas o extrato da folha de batata-doce mostrou atividade contra *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e *Salmonella Tiphymurium* (ATCC 14028). Ambos os extratos apresentaram uma dose letal (DL₅₀) inferior a 1000 µg/mL, apresentando uma toxicidade mediana para *Artemia salina* Leach. Com relação aos resultados da caracterização dos filmes foi observado que os tratamentos T1 e T4 melhoraram a resistência do filme à água (p <0,05). Os tratamentos T3, T4 e T5 proporcionaram maiores valores (p <0,05) de leveza (L *). As micrografias eletrônicas de varredura (MEV) mostraram uma estrutura mais ordenada, lisa e homogênea para o tratamento T1, o que resultou em maiores propriedades mecânicas (p <0,05) e maior estabilidade térmica. Já no capítulo 4, os principais resultados mostraram que a carne bovina intercalada em filmes de colágeno contendo 0,1% de extratos vegetais apresentaram as menores perdas de peso e cor. Esses filmes também reduziram a oxidação lipídica e a conversão de ferro heme em ferro não heme, além de apresentarem os menores acúmulos de metamioglobina. Desta forma, de acordo com os resultados obtidos para a caracterização dos extratos das folhas de batata doce e taioba, esses podem ser utilizados para o desenvolvimento de ingredientes bioativos com aplicações promissoras na área alimentícia e nutraceutica. Em relação à caracterização dos filmes, os tratamentos contendo o colágeno puro e as misturas contendo 4,5% de colágeno e 1,5% de fécula de mandioca foram considerados as formulações ideais, pois se alternaram nas melhores propriedades mecânicas, de barreira e térmicas. Com relação à aplicação do filme de colágeno contendo 0,1% dos extratos das folhas de batata-doce e taioba na carne bovina mostraram ser eficiente no controle de qualidade de carne bovina in natura refrigerada, em comparação ao tratamento controle (PVC).

Palavras – chave: Compostos fenólicos, Embalagens biodegradáveis, Oxidação lipídica, Qualidade da carne, Vida de prateleira.

DEVELOPMENT OF BIODEGRADABLE FILMS ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL FOR PRESERVATION OF REFRIGERATED BOVINE MEAT

GENERAL ABSTRACT: The objective was to develop biodegradable antioxidant and antimicrobial films for the preservation of refrigerated beef. The execution of the research was divided into four distinct chapters: (Chapter 1)-General considerations; (Chapter 2)-Development and characterization of sweet potato and taioba leaf extracts; (Chapter 3)-Development and characterization of biodegradable films based on collagen from the skin of tilapia and cassava starch. (Chapter 4)-Was about the use of a collagen film based on extracts of sweet potato and taioba leaf in beef stored under refrigeration. The results showed that the two hydroalcoholic extracts had antioxidant potential, indicating greater effectiveness for the sweet potato leaf extract. Regarding antimicrobial activity, only the sweet potato leaf extract showed activity against *Bacillus cereus* (ATCC 11778) and *Salmonella Tiphymurium* (ATCC 14028). Both extracts showed a lethal dose (LD₅₀) of less than 1000 µg / mL, showing to be toxic to *Artemia salina* Leach. Regarding the results of the characterization of the films, it was observed that the T1 and T4 treatments improved the film's resistance to water (p <0.05). The T3, T4 and T5 treatments provided higher values (p <0.05) of lightness (L*). Scanning electron micrographs (SEM) showed a more orderly, smooth and homogeneous structure for the T1 treatment, which resulted in greater mechanical properties (p <0.05) and greater thermal stability. Regarding the results of the physical-chemical analysis of beef, the main results showed that beef stored in packages containing 0.1% of plant extracts showed the lowest weight and color losses. The films containing extract also reduced lipid oxidation and the conversion of heme iron to non-heme iron, in addition to having the smallest accumulations of metmyoglobin. In this way, the data obtained for the characterization of sweet potato and taioba leaf extracts can be used for the development of bioactive ingredients with promising applications in the food area. For the characterization of the films, in general, the T1 and T4 treatments were considered the ideal formulations, as they alternated in the best mechanical, barrier and thermal properties. Regarding the application of the collagen film containing 0.1% of the extracts of sweet potato and taioba leaves in beef, they proved to be efficient in the quality control of chilled fresh beef, in comparison to the control treatment (PVC).

Keywords: Phenolic compounds, Biodegradable packaging, Lipid oxidation, Meat quality, Shelf life.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASTM – American Society For Testing and Materials

ATCC – American Type Culture Collection

TBARS – Acido – 2 - Tiobarbitúrico

BHI – Caldo Brain Heart infusion

CP – Controle padrão

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

CFT – Conteúdo de fenólicos totais

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência

CIM – Concentração inibitória mínima

CMH – Caldo Mueller Hinton

DL – Dose letal

DPPH – 2,2 Difenil – 1 – Picril – Hidrazil

DMSO – Dimetilsulfóxido

EFT – Extrato da folha de taioba

EAG – Equivalente de ácido gálico

EFBD – Extrato da folha de batata doce

LDPE – Polietileno de baixa densidade

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

ND – Não detectado

NaCO₃ – Carbonato de Sódio

PANC's – Plantas Alimentícias não Convencionais

PVA – Permeabilidade ao vapor de água

RT – Resistência à tração

TPTZ – 2,4,6 – tri 2-piridil – se – triazina

TCA – Acido tricloro acético

TGA – Termogravimetria

UFC – Unidade Formadora de Colônias

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 3

Figura 1: Micrografias eletrônicas de varredura da superfície do filme de colágeno, amido de mandioca e suas misturas.....72

Figura 2: Espectroscopia vibracional por transformada de Fourier (Ftir) na faixa do infravermelho médio.....73

CAPITULO 4

Figura 1: Perda de peso (%) em carne bovina armazenada em filmes com e sem extratos vegetais.....91

Figura 2: Mudanças nos valores de pH em amostras de carne bovina durante 8 dias de armazenamento refrigerado (4 °C).....92

Figura 3: Alterações na oxidação lipídica (valores de TBARS, mg MDA/kg de carne) em amostras de carne bovina durante 8 dias de armazenamento refrigerado (4 °C).....96

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos das folhas de batata-doce e taioba..... | 45 |
| Tabela 2: Concentração (mg/100 g extract) dos compostos fenólicos presents nos extratos das folhas de batata-doce e taioba..... | 46 |
| Tabela 3: Atividade antimicrobiana de extratos das folhas de batata-doce e taioba..... | 49 |
| Tabela 4: Atividade citotóxica e índice de seletividade de extratos das folhas de batata-doce e taioba..... | 51 |

CAPITULO 3

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Planejamento experimental para a composição de filme (%) de colágeno, fécula de mandioca e suas misturas..... | 63 |
| Tabela 2: Espessura e propriedades mecânicas de filmes de colágeno, fécula de mandioca e suas misturas..... | 66 |
| Tabela 3: Solubilidade em água, controle de umidade e permeabilidade ao vapor de água de filmes de colágeno, fécula de mandioca e suas misturas..... | 68 |
| Tabela 4: Parâmetros de cor de filmes baseados em colágeno da pele de Tilapia, fécula de mandioca e suas misturas..... | 70 |
| Tabela 5: Perfil térmico de filmes biodegradáveis..... | 71 |

CAPITULO 4

| | |
|---|----|
| Tabela 1: Espessura, Permeabilidade ao vapor de água, resistência a tração e porcentagem de alongamento de filmes de colágeno contendo extratos vegetais..... | 88 |
| Tabela 2: Mudanças nas características de cor em amostras de carne durante 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento refrigerado..... | 94 |
| Tabela 3: Mudanças na porcentagem de metamioglobina e teor de ferro heme em amostras de carne durante o armazenamento refrigerado..... | 98 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO 1- Considerações Gerais | 19 |
| 1 - INTRODUÇÃO | 19 |
| 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 21 |
| 2.1. Carne bovina | 21 |
| 2.2. Parâmetros de qualidade da carne bovina | 22 |
| 2.2.1. Cor..... | 22 |
| 2.2.2. Estabilidade oxidativa..... | 22 |
| 2.2.3. Presença de micro-organismos em carne bovina | 23 |
| 2.3. Filmes poliméricos como embalagens alimentícias..... | 24 |
| 2.3.1. Blendas poliméricas para produção de filmes..... | 25 |
| 2.3.2. Colágeno..... | 26 |
| 2.3.3. Fécula de mandioca | 27 |
| 2.4. Plastificantes..... | 28 |
| 2.5. Extratos vegetais como antioxidantes e antimicrobianos naturais..... | 28 |
| REFERÊNCIAS | 30 |
| CAPITULO 2: EXTRATOS DE FOLHAS DE BATATA-DOCE (<i>Ipomoea batatas</i>) E TAIOBA (<i>Xanthosoma sagittifolium</i>): NOVAS FONTES DE BIOADITIVOS PARA APLICAÇÃO EM TECNOLOGIA ALIMENTAR | 38 |
| 1. INTRODUÇÃO | 39 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 41 |
| 2.1. Reagentes..... | 41 |
| 2.2. Coleta das plantas | 41 |
| 2.3. Preparação do extrato | 41 |
| 2.4. Conteúdo de fenólicos totais | 42 |
| 2.5. Identificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC)..... | 42 |
| 2.6. Método de captura de radical livre em (1, 1-Difenil-2-picril-hidrazil-DPPH) | 43 |
| 2.7. Atividade antimicrobiana | 43 |
| 2.8. Avaliação da atividade citotóxica | 44 |
| 2.9. Análise estatística..... | 44 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 44 |
| 3.1. Conteúdo fenólico total e atividade antioxidante..... | 45 |
| 3.2. Composição fitoquímica de extratos | 46 |
| 3.3. Atividade antimicrobiana | 48 |

| | |
|--|-----------|
| 3.4. Atividade citotóxica | 50 |
| 4. CONCLUSÕES | 52 |
| REFERÊNCIAS | 52 |
| CAPITULO 3: PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A PARTIR DE COLÁGENO, FÉCULA DE MANDIOCA E SUAS MISTURAS PARA USO POTENCIAL COMO EMBALAGEM DE ALIMENTOS | 59 |
| 1. INTRODUÇÃO | 60 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 62 |
| 2.1. Matérias-primas e reagentes químicos | 62 |
| 2.2. Extração de colágeno | 62 |
| 2.3. Planejamento experimental e preparação dos filmes | 62 |
| 2.4. Caracterização dos filmes | 63 |
| 2.4.1. Espessura e propriedades mecânicas | 63 |
| 2.4.2. Conteúdo de umidade (CU) | 63 |
| 2.4.3. Solubilidade em água | 64 |
| 2.4.5. Permeabilidade ao vapor de água – WVP | 64 |
| 2.4.6. Cor | 65 |
| 2.4.7. Análise Termogravimétrica – TGA | 65 |
| 2.4.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) | 65 |
| 2.4.9. Espectroscopia vibracional por transformada de Fourier (FTIR) | 65 |
| 2.5. Análise estatística | 65 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 66 |
| 3.1. Espessura e propriedades mecânicas | 66 |
| 3.2. Solubilidade em água, conteúdo de umidade (CU) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) | 67 |
| 3.3. Cor | 69 |
| 3.4. Propriedades térmicas | 70 |
| 3.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) | 71 |
| 3.6. Espectroscopia vibracional por transformada de Fourier (FTIR) | 72 |
| 4. CONCLUSÕES | 74 |
| REFERÊNCIAS | 75 |
| CAPITULO IV: FILME ATIVO À BASE DE COLÁGENO E EXTRATOS DAS FOLHAS DE BATATA-DOCE E TAIOBA: APLICAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DA CARNE BOVINA IN NATURA | 81 |
| 1. INTRODUÇÃO | 82 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 83 |
| 2.1. Material e produtos químicos | 83 |
| 2.2. Extração de extratos de batata-doce e folhas de taioba | 83 |

| | |
|---|------------|
| 2.3. Extração de colágeno da tilápia | 84 |
| 2.4. Preparando os filmes..... | 84 |
| 2.5. Aplicação de filmes ativos à carne bovina | 85 |
| 2.6. Caracterização de filmes..... | 85 |
| 2.6.1. Espessura e propriedades mecânicas | 85 |
| 2.6.2. Permeabilidade ao vapor de água | 85 |
| 2.7. Caracterização da carne | 86 |
| 2.7.1. Perda de peso..... | 86 |
| 2.7.2. Medição de cor..... | 86 |
| 2.7.3. Medição de pH | 86 |
| 2.7.4. Oxidação lipídica | 87 |
| 2.7.5. Teor de metamioglobina..... | 87 |
| 2.7.6. Teor de ferro heme..... | 87 |
| 2.8. Análise estatística..... | 88 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 88 |
| 3.1. Espessura, Propriedades mecânicas e Permeabilidade ao vapor de água (PVA) | 88 |
| 3.4. Perda de peso (Pp) | 90 |
| 3.5. pH..... | 92 |
| 3.6. Mudanças de cor | 93 |
| 3.7. Oxidação lipídica | 95 |
| 3.8. Mudanças na porcentagem de metamioglobina e teor de ferro heme | 97 |
| 4. CONCLUSÃO | 100 |
| REFERÊNCIAS | 100 |
| APÊNDICE..... | 107 |

CAPÍTULO 1- Considerações Gerais

1 - INTRODUÇÃO

A carne bovina está entre os alimentos mais consumidos nos últimos anos, onde uma projeção feita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento mostrou que no período de 2017/2018 a 2027/2028 a carne bovina apresentará um crescimento no consumo de aproximadamente 1,5% ao ano para os próximos dez anos (Mapa, 2018). É fato que em Junho de 2019, o Brasil exportou 524,9 mil toneladas entre carnes bovinas, suínas e de frango, o que representou uma alta de 71,4% frente ao valor registrado no mesmo período de 2018 (306,2 mil toneladas) (Formigoni, 2019).

Este aumento no consumo e nas exportações da carne bovina justifica-se por sua composição química ser rica em proteína, contendo aminoácidos essenciais, elevados teores de gordura, excelente fonte de zinco e ferro, além das vitaminas B2, B3, B6 e B12. Essa riqueza nutricional conceitua a carne bovina como um dos alimentos mais completos, sendo essencial sua presença na mesa do consumidor (Pires et al., 2006). Ao mesmo tempo em que a carne bovina apresenta essas características, a mesma possui elevada atividade de água e pH ótimo para o crescimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, bem como alterações químicas, no âmbito da oxidação lipídica e proteica. Esses fatores fazem com que este tipo de alimento seja consumido rapidamente, quando armazenada em temperatura de refrigeração (Coombs et al., 2017).

A Instrução Normativa nº 16, de 23 de Maio de 2017, estabelece para carnes resfriadas até 4° C, um período de 3 (três dias) de vida útil. Assim, torna-se imprescindível buscar alternativas que possam contribuir para mudar este cenário, garantindo maior vida de prateleira a carne, quando se aplica a refrigeração. Como modelos tecnológicos para proteção de alimentos, as embalagens sintéticas são as mais utilizadas no acondicionamento de carnes, cuja finalidade é proteger a estrutura física do produto e garantir a qualidade microbiológica. Entretanto, seu uso possui algumas desvantagens, uma vez que esse tipo de embalagem, após ser descartada, prejudica o meio ambiente. Por estes motivos, vem sendo pesquisadas embalagens biodegradáveis, que são fomentadas com a produção de filmes utilizando diversos materiais encontrados facilmente na natureza, a base de proteínas, polissacarídeos, lipídeos ou combinações destes (Costa et al., 2018).

Sabe-se que durante o processamento da tilápia (*Oreochromis niloticus*) uma

quantidade significativa de resíduos orgânicos é gerada. Dentre estes rejeitos, segundo Gomez et al. (2011), a pele pode ser utilizada para a extração de colágeno, subproduto cuja composição química é basicamente constituída de proteínas que possuem boas características para formar filmes biodegradáveis. Semelhante a estas características, o estudo de Souza (2016) evidenciou que o uso da gelatina a partir da pele de tilápia possui alto potencial para a produção de filmes biodegradáveis, apresentando boa homogeneidade e manipulação. Além disso, este mesmo estudo enfatiza que os resultados encontrados no trabalho podem ser utilizados em estudos futuros que visem melhorias das propriedades mecânicas dos filmes, assim como sua utilização para conservar alimentos.

Outros materiais estudados para formulação de filmes biodegradáveis são os polissacarídeos, com destaque, a fécula de mandioca, amplamente utilizada como matéria-prima em pesquisas (Chiumarelli; Hubinger, 2012; Garcia et al, 2010), por formar películas transparentes, que melhoram a aparência dos alimentos, fornecendo bom aspecto e brilho, tornando os mesmos mais atrativos. Além de ser uma matéria-prima encontrada abundantemente na natureza, possui caráter renovável e apresenta baixo custo (Mohr et al., 2015).

Os vegetais apresentam uma grande variedade de compostos químicos, sendo os de ordem secundária responsáveis pela formação de diversos compostos bioativos muito utilizados na medicina popular há centenas de anos e atualmente na indústria farmacêutica, para a produção de fármacos, bem como pela indústria de alimentos. Outras atividades importantes encontradas principalmente nos extratos vegetais são as propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antifúngicas, onde os terpenoides e os compostos fenólicos são os principais precursores destas atividades (Oliveira et al., 2016). Um exemplo de vegetais que possuem compostos bioativos são as folhas da batata-doce (*Ipomoea batatas*) e taioba (*Xanthosoma sagittifolium*), com ações multifacetadas, incluindo atividade antioxidante e antimicrobiana, entre eles destacam-se as antocianinas e os compostos fenólicos, e são superiores a outros produtos hortícolas comerciais (PARK et al., 2014). Com base no exposto, justifica-se a realização desta pesquisa direcionada ao estudo do potencial do colágeno da pele de tilápia, fécula de mandioca e combinações destes como matérias-primas para a elaboração de embalagens ativas, adicionados de extratos da folha de batata-doce e taioba, que proporcionem o aumento da vida útil da carne bovina refrigerada.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Carne bovina

A demanda por carne como fonte de proteína está aumentando em toda a esfera global, e isso faz com que este alimento esteja entre os mais procurados pelos consumidores. O Brasil é o maior exportador de proteína animal do mundo, e segundo a associação brasileira das indústrias exportadoras de carnes, o volume exportado de carne bovina cresceu 9,2% de Janeiro a Setembro de 2019 e que, em 2020 a produção nacional de carne suprirá 44,5% das exportações de carne bovina, 48% de carne de frango e 14% de carne suína. Estas estimativas indicam que o Brasil pode manter o primeiro lugar no âmbito de maior exportador mundial de carnes (Abiec, 2019).

A carne bovina é importante não só para a população consumidora deste alimento, mas ela possui elevada participação no Produto Interno Bruto (PIB) e nas exportações, com representação significativa no agronegócio brasileiro, gerando emprego, renda e promovendo o crescimento do país (Farias, 2016). Este crescimento está atrelado à produção e contínuo desenvolvimento, além de vantagens como as condições climáticas favoráveis e a criação de gado de corte em regime de pastagem, resultando em um baixo custo de produção. Quando a pastagem atende as exigências nutricionais dos animais, favorecem esse patamar de crescimento.

As estimativas de aumento da produção no setor de carne bovina apontada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para o ano de 2020, revela ao mesmo tempo um aumento da preocupação com a qualidade do produto que chega a casa do consumidor, tendo em vista que a carne in natura é bastante susceptível a alterações de ordem física, química, bioquímica e microbiológica, devido às suas características intrínsecas, como composição nutricional, que sofre alterações dando origem a metabólitos indesejáveis, além de elevada atividade de água e pH próximo da neutralidade (Silva, 2017). Desta forma, ocorre principalmente degradação nas moléculas de proteínas e lipídeos provocados por enzimas hidrolíticas endógenas e ainda por outras substâncias produzidas por micro-organismos (Mesquita et al., 2014). Estes fatores, eventualmente, além de afetarem negativamente outros parâmetros qualitativos da carne, afetam também a qualidade visual. Este é o primeiro parâmetro qualitativo que reflete diretamente a aceitação ou rejeição do produto pelo consumidor. A cor da carne bovina apresenta uma tonalidade para o vermelho intenso, entretanto nem sempre irá apresentar essas características, uma vez que diversas ações influenciam

mudanças de cor como o próprio armazenamento, alterações microbianas, reflectância da luz, que ajuda acelerar o processo de oxidação. Tudo isso contribui consideravelmente para a rejeição deste produto no mercado (Paseti et al., 2016).

2.2. Parâmetros de qualidade da carne bovina

2.2.1. Cor

As medidas de cor instrumentais em carne bovina são especificamente apropriadas para inferir o nível qualitativo do produto, e tem sido aplicada para detectar alterações relativas na cor do alimento, onde as mudanças nas características colorimétricas são visualizadas em pouco tempo de armazenamento, e estas alterações estão eventualmente associadas com os níveis de pH, carga microbiana, estabilidade oxidativa e uma série de outros parâmetros que agem para diminuir o tempo de vida útil de carnes in natura (Holman et al., 2018).

Durante o armazenamento prolongado, a estrutura bioquímica da carne certamente sofre mudanças que podem afetar a cor, contribuindo para a perda de qualidade visual. Dentro desses aspectos bioquímicos, processos oxidativos na mioglobina podem ocorrer ao longo do armazenamento refrigerado em condições anaeróbias, devido à formação da desoximioglobina, que mediante a presença de oxigênio forma a oximioglobina, que em ambiente aeróbio conduz o aumento oxidativo da mioglobina em metamioglobina, contribuindo para a cor castanha da carne (Combs et al., 2017).

A partir disso fica evidenciado que, quando a carne é colocada em temperaturas de refrigeração até 4 °C, porém exposta a altos níveis de oxigênio, a sua vida útil torna-se limitada, não ultrapassando três dias. No decorrer deste período, se não houver ação microbiana, seguramente haverá a conversão do pigmento oximioglobina em metamioglobina, devido à perda dos sistemas redutores da carne, ocasionando sua descoloração e, conseqüentemente, isso irá refletir diretamente na comercialização do alimento no mercado (Choe et al., 2016).

2.2.2. Estabilidade oxidativa

A oxidação dos lipídeos origina produtos prejudiciais, afetando o sabor, cor e os componentes nutricionais inerentes à composição química das carnes, sendo que esses efeitos se dão devido à geração de compostos voláteis associados a sabores indesejáveis, bem como a menor disponibilidade de ácidos graxos desejáveis (Cheng, 2016). O

mecanismo de oxidação pode ser induzido por potenciais iniciadores como espécies reativas de oxigênio derivadas de lipídeos e subprodutos oxidados da oximioglobina, enquanto que radicais formados a partir de lipídeos e proteínas podem acelerar ainda mais a oxidação de maneira eventualmente igual (Fruet et al., 2018).

A oxidação lipídica é causada por complexas reações de oxidação, hidrólise, polimerização, pirólise, dentre outras, sofridas pelos ácidos graxos insaturados, que resulta na formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos, tornando os alimentos impróprios para o consumo. O dano oxidativo compromete, ainda, a biodisponibilidade de vitaminas, proteínas e pigmentos, reduzindo o valor nutricional de uma ampla variedade de produtos alimentícios, em específico carne, onde o fator oxidação ocorre com ligeira facilidade e rapidez, refletindo em perdas econômicas e desordens na saúde humana (Pouzo et al., 2016).

A forma mais comum de deterioração química da carne é a oxidação dos lipídeos, podendo ser desencadeada por íons metálicos com facilidade para doar elétrons, que levam ao aumento da taxa de formação de compostos secundários como aldeídos, acetonas, ésteres, álcoois e hidrocarbonetos de cadeia curta, que propiciam efeitos negativos sobre a qualidade sensorial da carne e produtos cárneos (Karakaya et al., 2011; Shah et al., 2014). Segundo Montgomery et al. (2003), as maiores causas da descoloração e da rancidez oxidativa na carne vermelha são a oxidação da mioglobina e a autooxidação da gordura. Existem várias formas tecnológicas de impedir o avanço rápido dos processos oxidativos como a redução da temperatura de armazenamento, remoção de oxigênio, inibir a ação das enzimas produzidas por micro-organismos como também a inserção de antioxidantes sintéticos. Porém, este último está sendo associado ao aparecimento de malefícios à saúde, o que permite estudos com antioxidantes naturais como os extratos, que possuem compostos secundários de ação comprovada no controle oxidativo de alimentos, podendo ser aplicados diretamente ou imobilizados em outro material, potencializando o seu efeito protetivo.

2.2.3. Presença de micro-organismos em carne bovina

Uma variedade de alimentos está envolvida frequentemente em surtos de doenças, bem como em toxinfecções alimentares. Dentre estes, a carne é considerada um dos que mais tem contribuído para a ocorrência desses fatos. As características intrínsecas, principalmente pH e atividade de água, são favoráveis ao crescimento de micro-organismos, destacando também a elevada quantidade de proteínas, minerais e

vitaminas, o que torna a carne um excelente substrato para o desenvolvimento de várias espécies de bactérias deteriorantes e patogênicas (Ren et al., 2018).

As principais etapas de contaminação microbiana de carnes são durante o processamento, transporte, armazenamento e vendas (Yang et al., 2018). A prevalência de bactérias patogênicas como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* é constantemente encontrada em carnes, em que as condições principalmente de estocagem não são satisfatórias. Ma et al. (2017) destacaram que entre 1.050 surtos de doenças veiculadas por alimentos em escolas chinesas durante 2003-2015, carnes e derivados estão entre os principais alimentos promovedores desses casos.

As condições de comercialização e exposição em temperaturas inadequadas também fornecem meios para os micro-organismos patogênicos agirem, sendo os principais responsáveis pelos problemas de saúde pública, que podem provocar desde distúrbios fisiológicos leves até casos mais graves, onde o indivíduo pode até vir a óbito (Silva et al., 2016; Chien et al., 2017). Outro grupo de micro-organismos que é muito comum em superfície de carnes são os deteriorantes, que devido à produção de determinadas enzimas, atacam principalmente as proteínas e os lipídeos, caracterizando o aparecimento de odores e sabores desagradáveis, diminuindo assim a validade comercial do alimento. Dentre os micro-organismos deteriorantes colonizadores em carnes destacam-se os Gram-negativos como *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Flavobacterium*, que crescem na superfície do alimento e os Gram-positivos como *Lactobacillus*, que predominam no seu interior. A deterioração da carne é um evento complexo, pode causar alterações físicas, químicas ou sensoriais, isto é, alterações na cor, odor, textura, sabor, como consequência da atividade metabólica dos micro-organismos presentes e tornar o produto impróprio para consumo humano (Casaburi et al., 2015).

2.3. Filmes poliméricos como embalagens alimentícias

A proteção do alimento é a principal função da embalagem, desde o momento da fabricação até chegar ao consumidor. Assim, o desenvolvimento de um sistema de embalagem para carne bovina in natura deve prioritariamente relacionar quais atributos de qualidade devem ser conservados. A embalagem tem sua importância, haja vista que seu uso minimiza todos os efeitos deteriorantes da carne, protegendo o alimento de danos biológicos, químicos e físicos (Panseri et al., 2018).

A cadeia de distribuição de alimentos vem apresentando grandes mudanças que tem estimulado indústrias e pesquisadores a concentrar seus esforços no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis (Battisti, 2016). Os maiores desafios enfrentados estão em prolongar a durabilidade do produto embalado e manter suas características desejáveis para o consumo, bem como sua qualidade nutricional e segurança microbiológica. Estes sistemas de embalagem ainda precisam atender as demandas urgentes de sustentabilidade, a fim de minimizar os impactos ambientais causados pelo uso acentuado de matérias-primas não renováveis como as embalagens de origem sintética (Battisti et al., 2017).

A produção de embalagens com base em polímeros naturais tem chamado à atenção nos últimos anos, devido a sua capacidade de renovação e biodegradabilidade e a revelação de resultados promissores na conservação de alimentos (Zhang et al., 2019). Além disso, são adicionados compostos com ações antioxidantes e antimicrobianos no material da embalagem potencializando o efeito de proteção ao alimento, uma vez que se tem uma interação da embalagem ativa com o alimento embalado (Barbosa et al., 2014; Realini; Marcos, 2014).

2.3.1. Blendas poliméricas para produção de filmes

Blendas poliméricas são misturas de dois ou mais componentes que interagem entre si por meio de ligações secundárias como as forças de Van der Waals, ligações dipolo–dipolo e ligações de hidrogênio. A mistura desses materiais podem possibilitar algumas vantagens em relação aos polímeros puros, como melhorias nas propriedades mecânicas e térmicas. Diversas matérias-primas encontradas na natureza são formadoras de compostos filmogênicos, destacando-se as proteínas, os lipídeos e os polissacarídeos. Todos possuem excelentes características para formação de filmes que, além de serem biodegradáveis, são de baixo custo (Viègas, 2016).

No entanto a utilização de filmes biodegradáveis com a finalidade de substituir completamente às embalagens convencionais ainda é limitada, devido ao seu baixo desempenho quanto as suas propriedades mecânicas e de barreira. Uma alternativa é a mistura de proteínas e amido, uma vez que o estabelecimento de fortes interações entre esses dois componentes fornecem ao filme uma estrutura mais resistente, proporcionando melhores propriedades físicas, químicas e mecânicas ao material da embalagem (Romani et al, 2018).

Os principais materiais utilizados para a produção de filmes a base de proteínas

são o glutém, as proteínas do soro de leite, a gelatina e o colágeno, apresentando boa capacidade para formação de películas, transparentes e flexíveis, que podem contribuir para aumentar a vida útil dos alimentos (Alves et al., 2011). Já os polissacarídeos mais empregados na produção de filmes são a celulose, quitosana e o amido. Os filmes a base de polissacarídeos, normalmente, são transparentes e oferecem moderada barreira ao oxigênio e dióxido de carbono, sendo bastante compatíveis com outros materiais, possuem alta permeabilidade ao vapor de água e alta solubilidade em água, além de baixas propriedades mecânicas como a resistência a tração e ponto de quebra (Khoshgozaran et al., 2012). Essas características evidenciam estudos frequentes utilizando misturas desses componentes, procurando solucionar as deficiências ainda existentes.

2.3.2. Colágeno

O colágeno é a proteína mais abundante; representa quase 30% do total de proteínas do corpo do animal. O uso do colágeno como biomaterial está passando por um processo de renascimento, buscando aplicações práticas devido a sua biocompatibilidade, baixa antigenicidade, alta biodegradabilidade e boas propriedades mecânicas. Existem pelo menos 27 tipos diferentes de colágeno, e entre estes o colágeno tipo I é o mais utilizado como biomaterial no desenvolvimento de construções e engenharias de tecidos e sistemas de curativos (Tamilmozhi et al., 2013).

Atualmente, as principais fontes de colágeno tipo I são provenientes dos bovinos e suínos. No entanto, devido o surgimento de surtos de doenças como encefalopatia espongiforme bovina e febre aftosa, o uso do colágeno advindo dessas fontes estão bem limitados, além disso, o colágeno bovino não pode ser consumido pelos povos Sikhs e Hindus, enquanto o colágeno suíno não pode ser consumido por mulçumanos e judeus uma vez que estes, especialmente os bovinos, são considerados sagrados nestas regiões (Pati et al., 2010).

Entre as alternativas de colágeno, os peixes fornecem a melhor fonte desta matéria-prima, devido a sua alta disponibilidade, não possui riscos de transmissão de doenças e possibilita maior produção de colágeno. Até o momento, há poucas informações sobre o uso do colágeno da pele de peixe, com exceção das espécies comercialmente importantes que tem sido relatada. Portanto, surge a ideia de utilizá-lo para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis. Essa matéria-prima é promissora haja vista que o material a base de colágeno pode refletir boas características ao filme,

promovendo em especial à luminosidade, o que de fato é de extrema importância, sendo que filmes biodegradáveis com alta luminosidade se assemelham a filmes plásticos, bastante utilizados para embalar alimentos (Nakashima et al., 2016).

A pele obtida do processo de filetagem da tilápia geralmente descartada possui potencial para o aproveitamento de aproximadamente 35% de proteínas, onde 34% são proteínas fibrosas na qual se enquadra o colágeno, principal proteína estrutural do reino animal. O colágeno é um produto altamente proteico, caracterizado pelos altos teores de glicina, prolina e hidroxiprolina, que são biopeptídios que tornam este produto promissor, a fim de que sejam diversificadas as formas de aplicação em sistemas alimentícios (Chen et al., 2016). Com a busca por novas alternativas para conservar os alimentos, aproveitar estes resíduos que eventualmente são desperdiçados pela agroindústria de processamento do pescado e usá-lo no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis pode ser uma alternativa viável, além de que este tipo de embalagem pode tornar-se um substituto aos plásticos sintéticos.

2.3.3. Fécula de mandioca

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de mandioca (*Manihot esculenta*) e a relevância econômica dessa cultura vem crescendo nos últimos anos, decorrente principalmente dos processos que procuram agregar valor ao seu beneficiamento, como por exemplo, sua utilização na elaboração de produtos biodegradáveis (Rocha et al., 2014). A fécula de mandioca é um polissacarídeo biodegradável, renovável e atóxica, selecionada como um dos biopolímeros mais estudados para elaborar filmes poliméricos. Por formar películas transparentes, são eficientes barreiras à perda de água, proporcionam bom aspecto e brilho intenso, tornando os alimentos comercialmente atrativos. Outra característica que faz desse produto ser considerado uma alternativa viável é a abundância e o baixo custo (Kokoszka et al., 2010). A produção, caracterização e aplicação de filmes à base de fécula de mandioca têm sido reportadas na literatura, com resultados muito positivos e promissores para aplicações em diversas variedades de alimentos (Souza et al., 2014; Seligra et al., 2016; Tumwesigye et al., 2016; Piñeros et al., 2017).

Apesar das conveniências apresentadas, segundo Kim et al. (2014), a utilização da fécula como única matéria-prima para a confecção de filmes e revestimentos apresenta algumas desvantagens, como: baixa resistência à umidade e variação das propriedades mecânicas sob diferentes condições de umidade durante o armazenamento.

No intuito de superar essas deficiências, a combinação deste com biopolímeros proteicos, bem como a incorporação de plastificantes são alternativas a serem estudadas, onde os mais utilizados são o glicerol e o sorbitol.

2.4. Plastificantes

O plastificante é uma molécula pequena, de baixa volatilidade e de natureza química similar a do polímero usado na constituição do filme. Bons plastificantes utilizados estão entre o glicerol, sorbitol e a sacarose que são materiais que interagem com as cadeias do filme por meio das pontes de hidrogênio (Daudt et al., 2015).

A adição de um plastificante é necessária para superar as fragilidades dos filmes que se apresentam quebradiços devido às extensivas forças intermoleculares. Os plastificantes reduzem essas forças, suavizam a rigidez da estrutura do filme e aumentam a mobilidade entre as cadeias biopoliméricas, melhorando as propriedades mecânicas dos filmes (Hanani et al., 2014).

Os plastificantes geralmente reduzem as temperaturas de transição vítrea e de fusão, além disso, afetam as propriedades mecânicas e físicas sem alterar a natureza química das macromoléculas. A atuação dos plastificantes nos polímeros envolve a neutralização, ou redução das forças intermoleculares que além de miscível com o polímero, o plastificante deve ser compatível e permanecer no sistema, implicando em similaridade de forças intermoleculares dos dois componentes (Almasi; Ghanbarzadeh; Entezami, 2010).

2.5. Extratos vegetais como antioxidantes e antimicrobianos naturais

Os extratos são substâncias extraídas a partir de flores, frutos, folhas, raízes e outras partes das plantas por diferentes métodos. Devido à riqueza e complexidade de seus componentes químicos, abrangem diversas propriedades farmacológicas. Os componentes podem atuar isoladamente ou juntos, promovendo efeito sinérgico, uma vez que recombinaem entre si, podendo ser mais ativo do que o uso isolado (Botrel et al., 2010). Na natureza, os compostos bioativos presentes nos extratos desempenham um papel importante na proteção das plantas, como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também contra os herbívoros (Montes et al., 2014).

Plantas alimentícias não convencionais conhecidas como PANC's são plantas comestíveis encontradas na natureza, porém esquecidas pela maior parte da população como alimento. Dentre as principais Panc's tem-se o ora- pró-nobis, beldroegão,

bertalha bem como a taioba e a batata-doce. Essas plantas apresentam potenciais características nutricionais sendo carreadoras de diversas vitaminas dentre elas a vitamina C (Fuhr, 2016). As folhas da batata-doce (*Ipomoea batatas*) possuem compostos que conferem propriedades antimicrobianas, bem como uma grande quantidade de flavonoides, antocianinas e β -caroteno conferindo a essa planta potencial antioxidante. A taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) é uma planta que possui diversas propriedades funcionais como atividade antioxidante, riqueza em compostos fenólicos e nutricionais (Pereira; Fonseca, 2018).

A este respeito, Boscolo e Valle (2008) em seu estudo com plantas medicinais também mencionaram as folhas e raízes tuberosas de batata-doce como tendo atividade antimicrobiana, sendo popularmente utilizada no tratamento de cicatrizações. Já Islam (2007) mostrou em seu trabalho sobre algumas variedades de batata-doce, que a água extraída das folhas suprimiu o crescimento de bactérias causadoras de intoxicação alimentar como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Echerichia coli* patogênica. Trabalhos realizados por Islam (2009) tem demonstrado que os compostos fenólicos encontrados nas folhas de batata-doce, são substâncias ativas possuidoras de múltiplas atividades biológica, incluindo forte atividade antioxidante o que torna clara a necessidade de aproveitar as folhas deste material para transformação em uma gama de produtos de interesse humano, originando novas cadeias de valores de práticas agroenergéticas, já que estas partes da planta são simplesmente descartadas ou servidas como ração para os animais.

Com relação à folha da taioba foi revelada em estudos divulgado por Oliveira et al. (2012), Amagloh et al. (2017) e Araújo et al. (2019) que apesar de ser uma planta que apresenta vários benefícios para a saúde, a mesma não mostrou eficiência antimicrobiana. Porém, esta planta, especialmente suas folhas podem ser usadas para fins alimentícios, pois sua composição química é rica em proteínas, magnésio, cálcio, ferro, zinco e vitamina C, além de que possui alta taxa de compostos fenólicos e flavonoides e, conseqüentemente, elevada capacidade antioxidante. Apesar de estas demonstrarem tais características, são escassos registros na literatura científica demonstrando o seu uso em alimentos, como antimicrobiano e antioxidante, gerando com isso a necessidade de estudá-las, uma vez que elas surgem como potenciais fornecedores de compostos bioativos que possuem propriedades capazes de conter o avanço de bactérias contaminantes em alimentos e alterações químicas como a oxidação lipídica.

REFERÊNCIAS

ABIEC. Perfil da pecuária no Brasil. Associação brasileira de indústria exportadora de carne bovina, 2019. Disponível em: <http://abiec.siteoficial.ns/images/upload/sumário-pt-010217.pdf/>. Acessado em: 09 de outubro de 2019.

Alves, P. M., Carvalho, R. A., Moraes, I. C., Luciano, C. G., Bittante, A. M. Q., Sobral, P. J. Development of films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol) cross linked with glutaraldehyde. **Food hydrocolloids**, v. 25, p. 1751-1757, 2011.

Amagloh, F. K., Atuna, R. A., McBride, R., Carey, E. E & Christides, T. Nutrient and total polyphenol contents of dark green leafy vegetables, and estimation of their iron bioaccessibility using the in vitro digestion/caco-2 cell model. **Foods**, 6, 7, 54-66, 2017.

Araújo, S. S., Araújo, P. S., Giunco, A. J., Silva, S. M., Argandoña, E. J. S. Bromatology, food chemistry and antioxidant activity of *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, 31, 3, 188-195, 2019.

Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Entezami, A. A. Physicochemical properties of starch-CMC-nanoclay biodegradable films. **International Journal of Biological Biological Macromolecules**, v. 46, n. 1, p. 1-5, 2010.

Battisti, R. **Desenvolvimento de folha celulósica com revestimento biodegradável e ações antimicrobiana e antioxidante para uso como embalagem ativa em carne bovina fresca**, Universidade Federal da Paraíba, Santa Catarina, Brasil, 2016.

Boscolo, O. H., Valle, L. S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia**, 63, 2, 263-277, 2008.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2016). **Exportação**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/exportação>. Acesso em: 17 de agosto, 2019.

Battisti, R., Fronza, N., Júnior, Á. V., Silveira, S. M., Damas, M. S. P., Quadri, M. G. N. Gelatin-coated paper with antimicrobial and antioxidant effect for beef packaging.

Food Packaging and Shelf Life, v. 11, p. 115-124, 2017.

Barbosa P. L., Angulo, I., Lagarón, J., Paseiro L. P., CRUZ, J. Development of new active packaging films containing bioactive nanocomposites. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, 2014.

Botrel, D. A., Soares, N. F. F., Espitia, P. J. P., Sousa, S., Renhe, I. R. T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**, v. 57, p. 283-291, 2010.

Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G. J., Villani, F., Ercolini, D. Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. **Food microbiology**, v. 45, p. 83-102, 2015.

Cheng, JH. Oxidação lipídica em carne. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v; 6, p. 1-3, 2016.

Chen, J., Li, L., Yi, R., Xu, N., Gao, R., Hong, B. Extraction and characterization of acid-soluble collagen from scales and skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **LWT-Food Science and Technology**, v. 66, p. 453- 459, 2016.

Chien, S. Y., Sheen, S., Sommers, C., Sheen, L. Y. Modeling the inactivation of Escherichia coli O157: H7 and Uropathogenic E. coli in ground beef by high pressure processing and citral. **Food Control**, v. 73, p. 672-680, 2017.

Chiumarelli, M., Hubinger, M. D. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch – Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. **Food Hydrocolloids**, v. 28, p. 59–67, 2012.

Coombs, C. E., Holman, B. W., Friend, M. A., Hopkins, D. L. Long-term red meat preservation using chilled and frozen storage combinations: A review. **Meat science**, v.125, p. 84-94, 2017.

Choe, J. H., Stuart, A., Kim, Y. H. B. Effect of different aging temperatures prior to

freezing on meat quality attributes of frozen/thawed lamb loins. **Meat Science**, v. 116, p. 158–164, 2016.

Costa, M. J., Maciel, L. C., Teixeira, J. A., Vicente, A. A. E., Cerqueira, M. A. Uso de filmes e revestimentos comestíveis na preservação de queijos: Oportunidades e desafios. **Food Research International**, 2018.

Distrito Federal. Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. Instrução Normativa n.16, de 23 de maio de 2017; Aprova a atualização do anexo da Instrução Normativa n. 4, de 15 de dezembro de 2014, que aprovou o regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 mai. 2017. Seção 1. Pag. 5.

Daudt, R., Tasende, V., Cafruni, I., Thys, R., Cladera-Olivera, F., Kulkamp- Guerreiro, I. C., Marczak, L. Uso de diferentes plastificantes na produção de biofilmes à base de amido de pinhão. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v.1, n.2, p. 4777-4784, 2015.

Fuhr, R. 66 f. **Levantamento de plantas alimentícias não convencionais (PANC) no município de Pato Branco-PR**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.

Fruet, A. P. B., Mello, A., Trombetta, F., Stefanello, F. S., Speroni, C. S., Vargas, D. P., Nörnberg, J. L. Oxidative stability of beef from steers finished exclusively with concentrate, supplemented, or on legume-grass pasture. **Meat Science**, 2018.

Formigoni, I. **Consumo de carnes no Brasil e no mundo**, 2019.

Farias, J. S. **Maturação do contra filé de bovinos nelore sobre as características físicas, biológicas e sensoriais**, 2016.

Pati, F., Adhikari, B., & Dhara, S. Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. **Bioresource technology**, v.101, n.10, p. 3737-3742, 2010.

Garcia, L. C., Pereira, L. M., Luca, S. C. I., Hubinger, M. D. Selection of an edible

starch coating for minimally processed strawberry. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, p. 834-842, 2010.

Gómez, G. M. C., Giménez, B., López, C. M. E., Monteiro, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. **Food Hydrocolloid**, v.25, p.1813-1827, 2011.

Holman, B. W., Collins, D., Kilgannon, A. K., Hopkins, D. L. The effect of technical replicate (repeats) on Nix Pro Color Sensor™ measurement precision for meat: A case-study on aged beef colour stability. **Meat science**, v.135, p. 42-45, 2018.

Hanani, Z. N., Roos, Y. H., & Kerry, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International journal of biological macromolecules**, v. 71, p. 94-102, 2014.

Islam, S. (2007). Medicinal and nutritional qualities of sweetpotato tops and leaves. North Central Association of Colleges and Schools, Commission on Institutions of Higher Education, 30 N. LaSalle Chicago.

Islam S. Medicinal and Nutritional Qualities of Sweetpotato Tops and Leaves. **Plant Science**, 4, 3-7, 2009.

Karakaya, M., Bayrak, E., Ulusoy, K. Use of natural antioxidants in meat and meat products. **Journal of Food Science and Engineering**, v.1, p.1-10, 2011.

Kim, J., Choi, Y., Kim, S. R. B., Lim, S. **Food Hydrocolloid**, v.41, p.140, 2014.

Kokoszka, S., Debeaufort, F., Hambleton, A., Lenart, A., Voilley, A. Innov. **Food Sciences Emerging Technology**, v.11, p. 503, 2010.

Khoshgozaran, A. S., Azizi, M. H., Hamidy, Z., Bagheripoor, N. Mechanical, physicochemical and color properties of chitosan based-films as a function of aloe vera gel incorporation. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 2058-2062, 2012.

Ma., Z., Wang., G., Yang., S., Li., X., Guo., Y. Trend on the occurrence of foodborne

disease 412 in school during the year 2003-2015 in China. **Chinese Journal of School Health**, v. 38, p. 82-85, 2017.

Mapa. Ministério da agricultura pecuária e abastecimento. Projeições do agronegócio, Brasília, 2018.

Mesquita, M. O., Valente, T. P., Zimmermann, A. M., Fries, L. L. M., Terra, N. N. Qualidade físico-química da carne bovina in natura aprovada na recepção de restaurante industrial. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 2, p. 103-108, 2014.

Mohr, L., Spohr, G. M., Quadros, C. S., Mai, S., Menoncin, S., Ternus, R. Z., Dalcanton, F. Estudo da concentração de fécula de mandioca na utilização em filmes biodegradáveis para o recobrimento de tomates. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, p. 3254-3261, 2015.

Montgomery, J. L., Parrish, J. R. F. C., Olson, D. G., Dickson, J. S., Niebuhr, S. Storage and packaging effects on sensory and color characteristics of ground beef. **Meat Science**, v. 64, p. 357-363, 2003.

Montes, S. D. S., Santana, N. L. G., Cruz, R. S. Óleos essenciais em embalagens para alimentos-Revisão de literatura de 2000 a 2012. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 5, p. 1-2, 2014.

Nakashima, A.Y; Chevalier, R. C; Cortez, W.R. Development and characterization of collagen films with added essential oil of clove india. **Journal of bioenergy and food science**, V. 3, n. 1, 2016.

Oliveira, B. D. Á., Rodrigues, A. C., Cardoso, B. M. I., Ramos, A. L. C. C., Bertoldi, M. C., Taylor, J. G & Pinto, U. M. (2016). Antioxidant, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of *Rubus rosaefolius* phenolic extract. **Industrial Crops and Products**, 84, 59-66, 2016.

Oliveira, G. D., Andrade, L. H. C., Oliveira, A. F. M. Species used to prevent osteoporosis in Brazilian traditional medicine. **Pharmceutical Biology**, 50, 7, 930-932, 2012.

Pereira, J. F. R. P; Fonseca, C. R. **Análise das ações antimicrobianas e antioxidantes do extrato de taioba (*Xanthosoma sagittifolium schott*)**. Resumos do VIII Seminário de Iniciação Científica e Inovação Tecnológica do IFTM, 2018.

Pati, F., Adhikari, B. e Dhara, S. Isolamento e caracterização de colágeno de escama de peixe de maior estabilidade térmica. **Biorresource technology**, v. 101, n.10, p. 3737-3742, 2010.

Pires, C. V; Oliveira, M. D. A; Rosa, J. C; Costa, N. M. B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 26, 1, 179-187, 2006.

Panseri, S., Martino, P. A., Cagnardi, P., Celano, G., Tedesco, D., Castrica, M., Chiesa, L. M. Feasibility of biodegradable based packaging used for red meat storage during shelf-life: A pilot study. **Food chemistry**, v. 249, p. 22-29, 2018.

Passett, R. A. C., Torrecilhas, J. A., Ornaghi, M. G., Mottin, C., Guerrero, A. Determinação da coloração e a disposição de compra pelos consumidores da carne bovina. **Pubvet**, v.10, p.111-189, 2016.

Piñeros-Hernandez, D., Medina-Jaramillo, C., López-Córdoba, A. & Goyanes, S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food hydrocolloids**, 63, 488-495, 2017.

Park, S. C.; Kim, S. H.; Park, S.; Lee, H. U.; Lee, J. S.; Park, W. S.; Ahn, M. J.; Kim, Y. H.; Jeong, J. C.; Lee, H. S.; Kwak, S. S. Enhanced accumulation of carotenoids in sweetpotato plants overexpressing IbOr-Ins gene in purple- fleshed sweetpotato cultivar. **Plant Physiology**, n. 86, p. 82-90, 2014.

Pouzo, L. B., Zaritzky, N. E., Pavan, E., Rossetti, L., Descalzo, A. M. Utilization of fluorescence spectroscopy as a novel approach to evaluate the oxidative stability in beef retail displayed. **Meat science**, v. 119, p. 7-13, 2016.

Rocha, G. O., Farias, M. G., Carvalho, C. W. P., Ascheri, J. L. R., Galdeano, M. C. Filmes compostos biodegradáveis a base de amido de mandioca e proteína de soja. **Polímeros**, v. 28, 2014.

Ren, T., Qiao, M., Huang, T. S., Weese, J., Ren, X. Efficacy of N- halamine compound on reduction of microorganisms in absorbent food pads of raw beef. **Food Control**, v. 84, p. 255-262, 2018.

Romani, V. P., Hernández, C. P., Martins, V. G. Pink pepper phenolic compounds incorporation in starch/protein blends and its potential to inhibit apple browning. **Food Packaging and Shelf Life**, v.15, p.151-158, 2018.

Realini, C. E., Marcos, B. Active and intelligent packaging systems for a modern society. **Meat Science**, v.98, p. 404-419, 2014.

Shah, M. A., Bosco, S. J. D., Mir, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat science**, v. 98, p. 21-33, 2014.

Seligra, P. G., Jaramillo, C. M., Famá, L., Goyanes, S. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, n. 66, 2016.

Silva, I. G. D. S. Carne PSE (pale, soft, exudative) e DFD (dark, firm, dry) em abate industrial de bovinos, 2017.

Silva, D. C. D., Faria, P. B., Pereira, A. D. A., Duarte, W. F., Nogueira, T. M. Parâmetros microbiológicos em diferentes cortes de carne bovina resfriada. **Higiene alimentar**, v. 30, p. 116-120, 2016.

Souza, A. C., Dias, A. M., Sousa, H. C., & Tadini, C. C. Impregnation of cinnamaldehyde into cassava starch biocomposite films using supercritical fluid technology for the development of food active packaging. **Carbohydrate polymers**, 102, 830-837, 2014.

Souza, M. C. C. **Elaboração de filme biodegradável a partir da gelatina extraída da pele de Tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.

Tamilmozhi, S., Veeruraj, A. e Arumugam, M. Isolamento e caracterização do colágeno ácido e solubilizado em pepsina da pele do peixe- vela (*Istiophorus platypterus*). **Food**

Research International, v.54, n. 2, p. 1499-1505, 2013.

Tumwesigye, K. S., Oliveira, J. C., & Sousa-Gallagher, M. J. New sustainable approach to reduce cassava borne environmental waste and develop biodegradable materials for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, 7, 8-19, 2016.

Microbial contamination in bulk ready-to-eat meat products of China in bulk ready-to-eat meat products of China in 2016. **Food Control**, v. 91, p. 113-122, 2018.

Viégas, L. P. 90f. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro Campos dos Goytacazes-Rio de Janeiro, 2016.

Yang, S., Pei, X., Yang, D., Zhang, H., Chen, Q., Chui, H., Liu, Q. Microbial contamination in bulk ready-to-eat meat products of China in. **Food Control**, v. 91, p. 113-122, 2018.

Zhang, X., Ma, L., Yu, Y., Zhou, H., Guo, T., Dai, H., Zhang, Y. Physico-mechanical and antioxidant properties of gelatin film from rabbit skin incorporated with rosemary acid. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 121-130, 2019.

**CAPITULO 2: EXTRATOS DE FOLHAS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas*)
E TAIOBA (*Xanthosoma sagittifolium*): NOVAS FONTES DE BIOADITIVOS
PARA APLICAÇÃO EM TECNOLOGIA ALIMENTAR**

**EXTRACTS OF SWEET POTATO LEAVES (*Ipomoea batatas*) AND TAIOBA
(*Xanthosoma sagittifolium*): NEW SOURCES OF BIOADDITIVES FOR FOOD
TECHNOLOGY APPLICATION**

Gilmar Freire da Costa¹, Solange de Sousa¹, Bruno Raniere Lins de Albuquerque
Meireles², Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro¹

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal da
Paraíba, Bananeiras, Paraíba, Brasil

²Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia de
Alimentos, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil

Autor para correspondência: gilmarfreiredacosta@gmail.com

RESUMO

As espécies de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) são as principais fontes alimentares em alguns países da Ásia, África do Sul e América do Sul. Entretanto, o uso das folhas dessas hortaliças para consumo humano e como aditivo alimentar é limitado. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi buscar evidências do potencial do extrato de folha de batata doce (EFBD) e do extrato de taioba (EFT) como fontes de compostos fenólicos com atividade antioxidante, antimicrobiana e citotóxica. A análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi utilizada para investigar a composição química dos extratos, resultando na identificação de quatorze metabólitos secundários para cada extrato, que pertencem principalmente aos grupos ácidos hidroxibenzóico, ácidos hidroxicinâmicos e flavonóides. Os extratos mostraram forte atividade antioxidante com taxas de eliminação de DPPH de 70,24% para EFBD e 51,80% para EFT. Verificou-se também que o EFBD possui atividade antimicrobiana com valores de CIM em relação à *Bacillus cereus* de 500 a 1000 µg / mL e *Salmonella Typhimurium* de 250 a 1000 µg / mL.

Ambos os extratos mostraram atividade citotóxica moderada contra *Artemia salina* com LD₅₀ de 300,4 para EFBD e 265,7 para EFT. Assim, esses resultados confirmam o potencial desses extratos como aditivo natural para a preservação de alimentos.

Palavras-Chave: Atividade antimicrobiana, Atividade antioxidante, Composição fenólica, Compostos bioativos.

ABSTRACT

The species of sweet potato (*Ipomoea batatas*) and taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) are the main food sources in some countries in Asia, South Africa, and South America. However, the use of the leaves of these vegetables for human consumption and as food additive is limited. In this context, the aim of this work was to seek evidence of the potential of sweet potato leaf extract (SPLE) and taioba extract (ELT) as sources of phenolic compounds with antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity. High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis was used to investigate the chemical composition of the extracts, resulting in the identification of fourteen secondary metabolites for each extract, which belong mainly to the groups hydroxybenzoic acids, hydroxycinnamic acids, and flavonoids. The extracts showed strong antioxidant activity with DPPH scavenging rates of 70.24% for SPLE and 51.80% for ELT. It was also found that the SPLE has antimicrobial activity with MIC values in relation to *Bacillus cereus* from 500 to 1000 µg/mL and *Salmonella Typhimurium* from 250 to 1000 µg/mL. Both extracts showed moderate cytotoxic activity against *Artemia salina* with LD₅₀ of 300.4 for SPLE and 265.7 for ELT. Thus, these results confirm the potential of these extracts as a natural additive for food preservation.

Keywords: Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Phenolic composition, Bioactive compounds.

1. INTRODUÇÃO

O consumo e a valorização de alimentos naturais que contêm compostos bioativos, que podem contribuir para a melhoria da saúde humana, têm ganhado atenção nos últimos anos (Radbeh et al., 2020). Os efeitos dos compostos bioativos na saúde do consumidor estão ligados aos metabólitos secundários das plantas. Esses são

antioxidantes e antimicrobianos naturais e podem ser usados pela indústria de alimentos como aditivos naturais (Goswani et al., 2020).

A batata-doce (*Ipomoea batatas*) é uma hortaliça de grande importância econômica mundial, com indicação etnográfica médica já confirmada na literatura (Kim et al., 2015). Porém, devido à escassez de informações sobre os compostos bioativos encontrados em suas folhas e aos efeitos benéficos à saúde humana, ainda existe um grande temor em sua utilização como alimento ou como aditivo para preservação de alimentos na forma de extratos.

Outra fonte vegetal de relevância mundial devido ao seu consumo em países da Ásia, África, América Central e Ilhas do Pacífico (Simsek, 2012) é a folha de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*). Esta planta pertence à família Araceae, possui folhas longas, podendo atingir até dois metros de altura (Oridupa; Folasire & Owolabi, 2017). Atualmente, apesar do alto consumo nos países orientais, há uma escassez de informações sobre sua composição fitoquímica e atividades biológicas (Nyadanu, 2015; Oridupa et al., 2017; Kumari et al., 2017).

Nos últimos anos, um grande foco tem sido colocado pela indústria de alimentos no desenvolvimento de produtos alimentares mais saudáveis e este objetivo pode ser alcançado usando duas estratégias possíveis: a) a redução de substâncias indesejáveis e b) o aumento dos níveis de componentes bioativos desejados (Menekata et al., 2020). Desse modo, a batata-doce e as folhas de orelha-de-elefante podem ser novas fontes de matérias-primas promissoras para a investigação de componentes bioativos naturais, principalmente os compostos fenólicos, sendo assim uma opção de conservantes naturais para a indústria alimentícia (Elfalleh et al., 2019a).

Os extratos possuem diversas bioatividades, incluindo propriedades antimicrobiana, antioxidante, antidiabética e anticâncer, sendo pesquisados pela indústria de alimentos, neste último caso, para serem utilizados como substitutos de antioxidantes sintéticos, proporcionando proteção contra a degradação oxidativa desencadeada por radicais livres (Almeida et al., 2011). Nesse contexto, o objetivo foi investigar o potencial do extrato de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e orelha-de-elefante (*Xanthosoma sagittifolium*) como novas fontes de aditivos com eficácia antioxidante e antimicrobiana, bem como avaliar a citotoxicidade. Os resultados deste estudo podem abrir novos horizontes para a utilização de compostos bioativos naturais como um novo ingrediente para aplicação no desenvolvimento de alimentos mais saudáveis.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Reagentes

Os padrões de ácido gálico, 2,4,6-tri 2-piridil-s-triazina (TPTZ), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), TROLOX (6-hidroxi-2, 5,7, Ácido 8 tetrametilcroman-2-carboxílico), ácidos fenólicos: Hidroxibenzóico, Vanílico, Siríngico, P-cumárico elágico, Transcinâmico, Cafeína e Felúrico, e flavonóides como Rutina, Miricetina, Quercetina, Narina, Catecina, Kaempferol e Crisingen foram obtidos da Sigma-Aldrich (Sigma Co., EUA). O reagente Folin-Ciocalteau foi adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha). Os reagentes hexahidrato de cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), acetato de sódio tri-hidratado e carbonato de sódio foram obtidos da Vetec Química Fina Ltda (Duque de Caxias, Brasil). O etanol de grau analítico foi obtido na Dinâmica Química LTDA (São Paulo, Brasil). O metanol para HPLC e acetonitrila por J. T. Baker (Phillipsburg, EUA). O cloreto de trifetil tetrazólio foi adquirido na DicaLab, produtos para laboratório Ltda (Londrina, Paraná). O Dimetilsulfóxido - DMSO foi obtido na Loja Química LTDA (São Paulo-SP). O Agar Mueller Hinton e o caldo Brain Heart Infusion (BHI) foram adquiridos da Kasvi Laboratory Products Ltda (São José dos Pinhais, Paraná).

2.2. Coleta das plantas

Folhas frescas de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e taioba (*Xanthosoma sagittifolium*), sem danos físicos, microbianos ou visíveis por insetos, foram coletadas no município de Bananeiras, localizado na Serra da Borborema, Paraíba, Brasil. Em seguida, os materiais vegetais coletados foram devidamente limpos em água corrente, secos em estufa a 40 °C por 24 horas. Posteriormente, foram triturados em moinho de facas (Willey, SL-31, Piracicaba, São Paulo) e armazenados em embalagens de vidro âmbar para posterior utilização no preparo dos extratos.

2.3. Preparação do extrato

As folhas reduzidas a pó foram submetidas à extração líquido-sólido com etanol: água (80:20, v / v) conforme previamente descrito por Cordeiro et al., (2013). 1g de pó seco foi suspenso em 10 mL do solvente seguido de homogeneização manual por 5 minutos e posteriormente o material vegetal foi deixado em contato com o solvente por 15 dias. Após esse período, as misturas foram centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos e os sobrenadantes obtidos foram evaporados a vácuo em evaporador rotativo (Fisatom)

e colocados em vidro âmbar e armazenados sob refrigeração até sua caracterização.

2.4. Conteúdo de fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais nos extratos foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu descrito por Rossi; Joseph e Singleton (1965). Uma alíquota de 20 μL do extrato de folha de batata-doce e 120 μL do extrato de folha de orelha de elefante em folha de seta foi transferida para o tubo de ensaio, e 60 μL do reagente Folin-Ciocalteu foram adicionados juntamente com 2740 μL de água destilada, agitando por 60 segundos. Em seguida, 180 μL de uma solução de carbonato de sódio a 15% foram adicionados e agitados por mais 60 segundos. A mistura reacional foi deixada em repouso durante 2 horas na ausência de luz. A leitura da absorbância das amostras e do padrão foi medida a 760 nm. Uma curva padrão com ácido gálico em concentrações de 1 a 20 mg/L ($y = 0,0995x + 0,0025$, $R^2 = 0,9974$) foi usada para calcular os resultados expressos em mg de GAE (equivalente em ácido gálico) por grama do extrato.

2.5. Identificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC)

Para a identificação dos compostos fenólicos, as amostras foram eluídas com sistema gradiente constituído de solvente A (ácido acético 2%, v/v) e solvente B (acetonitrila: metanol, 2: 1, v/v), utilizado como fase móvel, com fluxo de 1 mL/min. A temperatura da coluna foi mantida em 25 °C e o volume de injeção foi de 20 μL . O sistema de gradiente começou em 90% A 0 min, 88% A em 3 min, 85% A em 6 min, 82% A em 10 min, 80% A em 12 min, 70% A em 15 min, 65% A em 20 min, 60% A em 25 min, 50% A em 30-40 min, 75% A em 42 min e 90% A em 44 min. A execução cromatográfica total foi de 50 minutos. Os picos dos compostos fenólicos foram monitorados a 280 nm (Alcântara et al., 2019). As colunas utilizadas foram uma coluna Shimadzu LC-18 (25 cm x 4,6 mm, tamanho de partícula de 5 μm , de Supelco, Bellefonte, PA) e uma coluna C-18 ODS Shimadzu. O software LabSolutions (Shimadzu) foi usado para controlar o LC-UV e o sistema de processamento de dados. Os compostos fenólicos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção com os padrões dos ácidos fenólicos e flavonóides, sendo quantificados em concentrações de mg / mL.

2.6. Método de captura de radical livre em (1, 1-Difenil-2-picril-hidrazil-DPPH)

A capacidade de eliminação de radicais livres de cada extrato para o radical DPPH foi determinada conforme descrito anteriormente por Rufino et al., (2007). As soluções de cada extrato foram preparadas em uma única concentração de 31,25 µL/mL, deixada para reagir com uma solução de 2,5 mL de DPPH diluída em etanol (0,06 mM). As misturas foram incubadas por 30 minutos no escuro à temperatura ambiente e a redução do DPPH foi medida a 517 nm usando um espectrofotômetro (Shimadzu UV-vis, modelo UV-2550). A atividade antioxidante foi calculada da seguinte forma:

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = ((A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}}) \times 100$$

Onde, A_{control} e A_{sample} , são as absorbâncias da reação de controle e dos extratos, respectivamente.

2.7. Atividade antimicrobiana

Os extratos foram testados contra bactérias Gram-negativas como *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028) e *Escherichia coli* (ATCC 101536) e bactérias Gram-positivas como *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Listeria Innocua* (ATCC 33090), *Staphylococcus aureus* (ATCC 15000) e *Clostridium perfringens* (ATCC 3624). A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada diretamente por meio da concentração inibitória mínima (CIM), utilizando-se método de microdiluição em caldo Brain Heart Infusion (BHI) baseado na metodologia descrita pelo Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017). Uma alíquota de 100 µL de cada extrato foi adicionada a cada poço de uma microplaca de 96 poços contendo 100 µL de caldo BHI estéril e suspensão bacteriana de 10⁸ CFU / mL para atingir os intervalos de concentração final de 31,25 a 1000 µg / mL para os extratos vegetais. As microplacas foram incubadas por 24 horas a 37 °C. Posteriormente, a interpretação dos resultados foi baseada no crescimento visual da bactéria após incubação e confirmada pela mudança de cor do meio de cultura com adição de 20 µL de Trifeniltetrazólio (0,5% v / v). A MIC foi definida como a concentração mínima capaz de inibir o crescimento visível das células bacterianas.

2.8. Avaliação da atividade citotóxica

A toxicidade dos extratos foi avaliada utilizando microcrustáceos *Artemia salina* com base na metodologia descrita por Meyer et al., (1982). O bioensaio consiste em inserir ovos de *Artemia salina* para eclodirem em água salina com aeração constante por um período de 48 horas. Posteriormente, 9 mL de cada solução de extrato correspondente às concentrações testadas (15,62 a 1000 ppm) foram adicionados em microtubos contendo 10 larvas de *Artemia salina* totalizando 10 repetições para cada concentração. Após 24 horas de exposição de *Artemia salina* aos extratos vegetais, foram contabilizados microcrustáceos vivos e mortos. Para estabelecer a relação entre citotoxicidade e atividade antimicrobiana, o índice de seletividade (IS) foi calculado de acordo com a equação $SI = \log [DL50] / [MIC]$. Onde valores positivos indicam alta seletividade contra microrganismos, enquanto valores negativos apontam para alta toxicidade dos extratos em *Artemia salina*.

2.9. Análise estatística

O conteúdo fenólico total e a atividade antioxidante foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos em média e desvio padrão (média \pm DP). A significância estatística foi analisada pelo teste t de Student ($p < 0,05$). A análise dos dados foi realizada por meio do software SAS® System (2012). A avaliação citotóxica dos extratos foi expressa como DL50, dose letal capaz de matar 50% dos microcrustáceos, com limite de confiança de 95%, por meio de regressão linear, através do gráfico do logaritmo da concentração utilizada nas amostras versus o percentual da mortalidade dos microcrustáceos, calculada pelo método estatístico Probit, utilizando o software Polo-plus 1.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas da batata-doce e da taioba geralmente são desconsideradas, mas são fontes potenciais de compostos fenólicos com propriedades promissoras para uso em alimentos (Ghasemzadeh et al., 2012 e Hossain et al., 2015). No entanto, pouco se sabe sobre o potencial antioxidante, antimicrobiano e citotóxico dessas espécies, principalmente da taioba. Assim, foi hipotetizado que ambos os vegetais na forma de extratos poderiam efetivamente conter importantes compostos bioativos, como os ácidos fenólicos e flavonóides, e ser usados como bioaditivos naturais pela indústria de

alimentos.

3.1. Conteúdo fenólicos totais e atividade antioxidante

De acordo com a Tabela 1, o extrato de folha de batata-doce (EFBD) teve mais do que o dobro ($p < 0,05$) de fenólicos totais em comparação com o extrato de folha de taioba (EFT). Os resultados atuais também foram maiores do que aqueles relatados em outras espécies de batata-doce e taioba.

Tabela 1: Conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos das folhas de batata-doce e taioba

| Extratos vegetais | Conteúdo de fenólicos totais (mg GAE/100 g) | Atividade antioxidante (%) |
|-------------------|---|----------------------------|
| EFBD | 780,15±7,97 ^a | 76,24±3,63 ^a |
| EFT | 249,79±1,18 ^b | 51,80±13,1 ^b |

EFBD: Extratos da folha de batata-doce

EFT: Extratos da folha de taioba

Ghasemzadeh et al. (2012) pesquisaram os extratos das folhas de seis variedades de batata-doce e encontraram fenólicos totais com valores variando de 4,79 a 8,11 mg EAG / 100 g de extrato. Hossain et al. (2015) descobriram que o extrato de folhas de taioba obtido por diferentes solventes variou de 27,41 a 52,70 mg EAG / 100 g de extrato. Esta discrepância entre as duas espécies estudadas e comparadas com estudos anteriores está associada a fatores genéticos, efeitos ambientais, método de extração e principalmente à variabilidade química existente nas diferentes variedades dessas plantas, influenciando diretamente na formação e quantificação de metabólitos secundários (Reyes; Cisneros Zevallos, 2003; Wu et al; 2004; Rodrigues et al., 2018).

A atividade sequestradora de radicais livres determinada pelo DPPH% é amplamente utilizada para estimar a capacidade anti-radicalar / antioxidante de extratos vegetais. Os valores de atividade antioxidante variaram significativamente ($p < 0,05$) entre os extratos das duas espécies vegetais, sendo que o extrato da folha de batata-doce apresentou maior capacidade de redução dos radicais livres, corroborando com o maior teor de fenólicos totais encontrado para esta espécie.

Apesar da variação nos valores da atividade antioxidante, ambos os extratos apresentaram alta atividade sequestrante do radical DPPH + e esta foi associada à presença de compostos químicos, como flavonóides e ácidos fenólicos (Tabela 2). Este grupo de constituintes químicos atua principalmente na inibição do oxigênio singlete, principal causador de danos oxidativos no organismo humano (Elfalleh et al., 2011), e

pode ser utilizado pela indústria cosmética, farmacêutica e principalmente alimentícia desde lipídios e proteínas a oxidação são fatores que reduzem a vida útil de alimentos perecíveis.

3.2. Composição fitoquímica de extratos

A determinação do perfil fenólico revelou quatorze compostos químicos para cada extrato vegetal (Tabela 2).

Tabela 2: Concentração (mg/100 g extract) dos compostos fenólicos presents nos extratos das folhas de batata-doce e taioba

| Compostos fenólicos | EFBD mg/100 g of extract | EFT mg/100 g of extract |
|-----------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Acido gálico | 8,48 ± 0,00 | 17,62 ± 4,15 |
| Acido 3,4 dihidroxibenzóico | 1385,22 ± 71,96 | 110,13 ± 14,53 |
| Acido 4-hidroxibenzóico | 2458,06 ± 145,92 | nd |
| Acido 2,5 dihidroxibenzóico | 22979,18 ± 353,82 | 2189,54 ± 450,66 |
| Acido sinapico | 400,01 ± 5,99 | nd |
| Acido vanílico | 578,11 ± 25,98 | nd |
| Acido siríngico | nd | 834,11 ± 24,92 |
| Acido salicílico | nd | 1139,55 ± 78,91 |
| Acido p-cumárico | 39,57 ± 0,00 | 593,27 ± 16,61 |
| Acido felúrico | nd | 154,19 ± 6,23 |
| Acido trans-cinámico | 7,06 ± 1,99 | 8,81 ± 0,00 |
| Rutina | 661,51 ± 7,99 | 1215,92 ± 45,68 |
| Miricetina | 3142,19 ± 169,91 | nd |
| Quercetina | 117,32 ± 1,99 | 57,27 ± 26,99 |
| Naringenina | 360,44 ± 17,99 | 8,81 ± 4,15 |
| Kaempferol | 49,47 ± 9,99 | nd |
| Crisina | nd | 22,02 ± 2,07 |
| Catequina | 354,78 ± 13,99 | 182,09 ± 8,30 |
| Hespertina | Nd | 4,40 ± 2,07 |
| Total | 32541,40 | 6537,73 |

nd: não detectado

EFBD = Extrato da folha de batata-doce

EFT = Extrato da folha de taioba

Observou-se que o extrato de folha de batata-doce (EFBD) foi o mais rico em termos de concentração dos componentes selecionados. Neste extrato, também foram observadas grandes quantidades de ácido 3,4 dihidroxibenzóico, ácido 4-hidroxibenzóico, ácido 2,5 dihidroxibenzóico, ácido vanílico, miricetina e rutina. Enquanto isso, no extrato de taioba (EFT), o ácido 2,5 di-hidroxibenzóico, o ácido síngico, o ácido salicílico e a rutina foram identificados em maiores quantidades. Fitoquímicos como ácido 4-hidroxibenzóico, ácido sinápico, ácido vanílico, miricetina e Kaempferol estiveram presentes apenas no EFBD e seríngos, salicílico, felúrico, Crisina

e hesperina estavam presentes apenas na EFT.

Esses compostos bioativos são conhecidos por sua eficácia no controle de reações oxidativas, bem como no controle de doenças inflamatórias, diabetes, câncer, entre outros. Os ácidos hidroxibenzoicos são fitoquímicos que possuem atividade antioxidante. No entanto, suas propriedades mais interessantes estão associadas à capacidade de modificar os processos de sinalização celular. Eles induzem um efeito multiplicador como a ativação da via Nrf2, que é um dos principais mecanismos de defesa celular contra o estresse oxidativo, resultando em uma melhora dos mecanismos antioxidantes endógenos (Juurlink et al., 2014a).

O ácido 2,5-Diidroxibenzóico foi o principal fitoquímico presente em ambos os extratos, estando em concentração bastante expressiva no EFBD. Esse ácido fenólico é responsável por inibir a formação de prostaglandinas em resposta aos lipopolissacarídeos por meio da inibição de Cox (Hinz et al., 2000). Isso sugere que os alimentos ricos nesse ácido podem contribuir para a diminuição da ocorrência de infartos devido à formação de coágulos (Juurlink et al., 2014b).

Outro ácido fenólico identificado e quantificado no EFBD foi o ácido 4-hidroxibenzóico. É um excelente antioxidante devido à sua baixa toxicidade. É amplamente utilizado pela indústria cosmética, farmacêutica e alimentícia (Elfalleh et al., 2019b). O ácido 3,4-diidroxibenzóico também identificado em maior quantidade no EFBD apresenta diversos benefícios à saúde, como atividade antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatória, anti-hiperglicêmica, anti-apoptótica e antiproliferativa (Rashmi & Negi, 2020).

Em um estudo anterior, Khan et al. (2015a) revisou várias atividades biológicas do ácido 3,4-dihidroxibenzoico e relatou excelentes atividades antibacteriana, antiviral, neurológica, antiaterosclerótica, antifibrótica, antienvelhecimento, anticâncer e antiviral. Dois estudos distintos exibiram atividade antiaterogênica do ácido 3,4-dihidroxibenzóico, onde Wang et al. (2012) atribuíram esse efeito à combinação de uma diminuição na expressão de miR-10b, juntamente com um aumento na expressão de ABCA1 e ABCG1, bem como no transporte acelerado de colesterol reverso pelas macrofases. Um estudo de Zheng et al., (2020) atribuiu este efeito à normalização da inflamação arterial por regulação positiva de MERTK e inibição de MAPK3 / 1 em macrofases lesionais.

O ácido salicílico, por outro lado, foi identificado apenas na EFT, e a alta concentração desse ácido fenólico no extrato de taioba também revela a importância

desse vegetal para a saúde, já que Peterson et al. (2006) relataram que o ácido salicílico é um bioativo antiinflamatório, antiaterogênico, antiinfecioso e antifúngico.

Os flavonóides são um grupo de substâncias naturais amplamente conhecidas por suas atividades biológicas responsáveis principalmente por sua forte ação antioxidante e antimicrobiana (Pinheiro & Justino, 2012; Kumar & Pandey, 2013). Entre os flavonóides encontrados em altas concentrações nos dois extratos vegetais, destaca-se a rutina, um flavonóide com ações benéficas à saúde, como proteção de pequenos vasos sanguíneos; inibição do processo de formação de radicais livres, contribuindo com propriedades antioxidantes e antiinflamatórias, além de ter funções ligadas ao tratamento da neuropatia diabética, sendo também considerado um potente antitrombótico para doenças cardiovasculares (Choi et al., 2015).

Outro flavonóide importante encontrado apenas no EFBD foi a miricetina. É um dos principais compostos presentes em diversos alimentos e bebidas. É também um fenólico que possui uma ampla gama de atividades, incluindo forte atividade antioxidante, anticâncer, antidiabética e antiinflamatória. Essas atividades estão associadas ao sistema nervoso central e seu consumo pode ser benéfico contra as doenças de Parkinson e Alzheimer (Semwal et al., 2016). Além disso, a catequina esteve presente nos dois extratos com maior concentração no EFBD. Sua capacidade de eliminar os radicais livres tem sido relatada como um dos principais benefícios desse flavonóide (Almajano, Carbó, Jiménez e Gordon, 2008; Sheila A. Wiseman, 2009). Além disso, a catequina tem outras propriedades medicinais, incluindo propriedades anticancerígenas, antitumorigênicas e antimutagêneses, além de prevenir o crescimento de metástases e tumores (Donlao & Ogawa, 2019).

3.3. Atividade antimicrobiana

Verificou-se que o extrato de folha de batata-doce foi mais eficaz em relação à atividade antimicrobiana quando comparado ao extrato de orelha de elefante de folha de seta, inibindo duas bactérias patogênicas, uma Gram-positiva e outra Gram-negativa (Tabela 3).

Tabela 3: Atividade antimicrobiana de extratos das folhas de batata-doce e taioba

| Extrato da folha de batata-doce (EFBD) | | | | | | |
|---|-------------|------------|------------|------------|-------------|--------------|
| Concentrações testadas ($\mu\text{g/mL}$) | | | | | | |
| Bactérias Gram-positiva | 1000 | 500 | 250 | 125 | 62,5 | 31,25 |
| <i>Bacillus cereus</i> | + | + | - | - | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Listeria innocua</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Clostridium perfringens</i> | - | - | - | - | - | - |
| Bactéria Gram-negativa | | | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> | + | + | + | - | - | - |
| Extrato da folha de taioba (EFT) | | | | | | |
| Concentrações testadas ($\mu\text{g/mL}$) | | | | | | |
| Bactérias Gram-positiva | 1000 | 500 | 250 | 125 | 62,5 | 31,25 |
| <i>Bacillus cereus</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Listeria innocua</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Clostridium perfringens</i> | - | - | - | - | - | - |
| Bactérias Gram-negativa | | | | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Salmonella Typhimurium</i> | - | - | - | - | - | - |

(+) = Houve atividade de inibição

(-) = Não houve atividade inibitória

EFBD = Extrato da folha de batata-doce

EFT = Extrato da folha de taioba

As concentrações que inibiram a cepa de *Bacillus cereus* ATCC 11778 variaram de 500 a 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Enquanto as concentrações que inibiram *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 variaram de 250 a 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$. As outras bactérias testadas foram resistentes a ambos os extratos em todas as concentrações testadas. A atividade antimicrobiana do extrato de folha de batata-doce demonstrada para as duas bactérias patogênicas (*Bacillus cereus* e *Salmonella Typhimurium*) pode estar associada à presença de ácidos fenólicos, como ácido gálico, ácido 3,4-dihidroxibenzóico e ácido sinápico, devido ao antimicrobiano a eficácia desses compostos bioativos foi relatada em estudos anteriores (Kim et al., 2006; Engels, Schieber e Ganzle, 2012 e Khan et al., 2015b).

Alguns flavonóides identificados em altas concentrações no extrato da folha da batata-doce também apresentam atividade antimicrobiana, o que pode ter contribuído para a eficácia desse extrato. Estudos anteriores mostraram que flavonóides como naringenina, kaempferol e quercetina podem inibir ou reduzir a formação de

microorganismos patogênicos (Winter et al., 1989; Lee et al., 2011).

A atividade bacteriostática do extrato de folha de batata-doce contra *Salmonella Tiphymurium* ATCC 14028 foi de extrema importância, visto que principalmente as bactérias Gram-negativas são bem conhecidas por sua maior resistência a antimicrobianos. Essa resistência está relacionada aos lipopolissacarídeos presentes em sua membrana externa e também pela presença de canais hidrofílicos, conhecidos como porinas, onde esses canais normalmente impedem a entrada de substâncias hidrofóbicas (Hayrapetyan et al., 2012 & Paz et al., 2015) .

Porém, é possível enfraquecer essa membrana externa desintegrando os lipopolissacarídeos, genericamente chamados de permeabilizadores, o que possivelmente aconteceu com as moléculas fenólicas presentes no extrato da folha da batata-doce nas concentrações que inibiam a bactéria. Assim, flavonóides presentes em extratos de folhas de batata-doce, como quercetina, naringenina, miricetina e Kaempferol, que possuem atividade antimicrobiana, além da presença de um ácido fenólico como o ácido gálico podem ter agido em sinergismo e desintegrado a membrana de gram bactérias negativas (Puupponen et al., 2005; Nohynek et al., 2006 e Yin et al., 2019a).

Em relação ao extrato da folha de taioba, nenhuma atividade bacteriostática foi observada. Esse fato indica a resistência da bactéria aos compostos fenólicos presentes nesta planta. Vale ressaltar que o perfil fenólico do extrato de taioba não apresentou compostos fenólicos importantes para a atividade antimicrobiana, como a miricetina e Kaempferol, o que ajuda a explicar o resultado. Essas substâncias, quando presentes, podem agir sinergicamente com outros agentes antimicrobianos, aumentando a atividade antimicrobiana (Yin et al., 2019b).

3.4. Atividade citotóxica

Pela primeira vez, com testes in vitro, foi avaliada a atividade citotóxica de várias concentrações de extrato de folha de batata doce e orelha de elefante de folha de seta em *Artemia salina*. A Tabela 4 expressa às doses letais (LD) que foram capazes de matar 50%, 90% e 95% das larvas de *Artemia salina* para os dois extratos vegetais.

Tabela 4: Atividade citotóxica e índice de seletividade de extratos das folhas de batata-doce e taioba

| Extrato da folha de batata-doce (EFBD) | | | Índice de seletividade bacteriana (IS) | |
|--|------------------|---------------------|--|-----------------------|
| Dose letal | Doses em (µg/mL) | Limite de confiança | <i>B. cereus</i> | <i>S. Typhimurium</i> |
| DL ₅₀ | 300,4 | 164,8<DL<783,6 | 0,60 | 1,20 |
| DL ₉₀ | 504356,5 | 36776,8<DL<267697,4 | - | - |
| DL ₉₅ | 588203,4 | 154204,5<DL<0,0 | - | - |
| Extrato da folha de taioba (EFT) | | | | |
| Dose letal | Doses em (µg/mL) | Limite de confiança | | |
| DL ₅₀ | 265,7 | 129,1<CL<827,6 | - | - |
| DL ₉₀ | 81909,6 | 7877,2<CL<625405,8 | - | - |
| DL ₉₅ | 416105,7 | 22169,9<CL<0,0 | - | - |

EFBD= Extrato da folha de batata-doce

EFT= Extrato da folha de taioba

O índice de seletividade (IS) foi feito apenas para o extrato de folha de batata-doce, pois foi o único que demonstrou ter alguma atividade antimicrobiana. O extrato de folha de batata-doce (EFBD) apresentou alto índice de seletividade para *Bacillus cereus* e *Salmonella Typhimurium*. Portanto, o EFBD é um agente antimicrobiano promissor, pois exibiu boa atividade antimicrobiana contra as duas bactérias patogênicas (*Bacillus cereus* e *Salmonella Typhimurium*), enquanto a citotoxicidade correspondente ao LD50 foi considerada média. A dose letal capaz de matar 50 % da salina *Artemia* foi 300,40 µg /mL, enquanto as outras doses letais (LD90 e LD95) variaram de 504356,50 a 588203,40 µg/mL.

Em um estudo recente, Nascimento et al. (2020) verificaram a atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos das espécies Senna e Cassia, e relataram alto índice de seletividade antifúngica contra as leveduras *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata* e baixa toxicidade de seus extratos, corroborando com os resultados encontrados em nosso estudo .

O extrato de folha de taioba (EFT) não apresentou seletividade em relação às bactérias estudadas, porém foi mais eficaz em diminuir a viabilidade de sobrevivência de *Artemia salina* com valores menores em comparação ao extrato de folha de batata-doce, correspondendo às doses letais. (LD50, LD90 e LD95). Mesmo assim, o resultado para LD50 também indicou uma atividade citotóxica média desse extrato. A dose letal capaz de matar 50% da *Artemia salina* foi de 265,7 µg/mL, enquanto as demais doses letais (LD90 e LD95) variaram de 81909,6 a 416105,7 µg/mL. De acordo com Bussmann et al. (2011) doses abaixo de 249 µg / mL são consideradas altamente tóxicas; doses entre 250-499 µg / mL são consideradas de toxicidade média; doses entre

500 a 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ são consideradas baixas e doses acima de 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$ não apresentam toxicidade.

4. CONCLUSÕES

Em geral, os extratos de folhas de batata-doce e taioba exibiram forte capacidade de sequestro de radicais livres em testes de atividade antioxidante e altos valores de fenólicos totais. O perfil fenólico mostrou que os dois extratos são ricos em compostos bioativos. A atividade antimicrobiana desses extratos também foi avaliada contra cepas de bactérias patogênicas Gram-positivas e Gram-negativas, porém, apenas o extrato de folha de batata-doce teve destaque, inibindo as cepas de *Bacillus cereus* ATCC 11778 e *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 que suportam o uso dessa espécie na medicina tradicional para o tratamento de infecções por essas bactérias, bem como sua aplicação em alimentos contaminados por essas bactérias. Além disso, esses extratos apresentaram atividade citotóxica média, que foi determinada pela primeira vez. De maneira geral, os dados obtidos mostram que os extratos de batata doce e folha de taioba podem ser utilizados para o desenvolvimento de ingredientes bioativos com aplicações promissoras na área alimentícia e nutracêutica. Porém, estudos abrangentes são necessários para esclarecer a bioatividade antimicrobiana, principalmente do extrato da folha de taioba contra bactérias patogênicas em concentrações mais elevadas, bem como estudar a sinergia entre ambos, visando potencializar a ação.

REFERÊNCIAS

Almajano, M.P., Carbó, R., Jiménez, J.A.L., & Gordon, M.H. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. **Food Chemistry**, 108 (1), 55-63, 2008.

Almeida, M.M.B., Sousa, P.H.M., Arriaga, Â.M.C., Prado, G.M., Carvalho M.C.E., Maia, G.A., & Lemos, T.L.G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, 44 (7), 2155-2159, 2011.

Alcântara, M.A., Polari, I.D.L.B., Albuquerque, M.B.R.L., Lima, A.E.A., Silva, J.J.C., Andrade, V.É., & Magalhães, C.A.M.T. Effect of the solvent composition on the profile of phenolic compounds extracted from chia seeds. **Food chemistry**, 275 (1), 489-496,

2019.

Bussmann, R.W., Malca, G., Glenn, A., Sharon, D., Nilsen, B., Parris, B., Dubose, D., Ruiz, D., Saleda, J., Martinez, M., Carillo, L., Walker, K., Kuhlman, A., & Townesmith, A. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. **Journal of Ethnopharmacology**, 137 (1), 121-140, 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard – (8^a ed). https://clsi.org/media/1632/m07a10_sample.pdf, 2017

Cordeiro, A.M.T.M., Medeiros, M.L., Santos, N.A., Soledade, L.E.B., Pontes, L.F.B.L., Souza, A.L., & Souza, A.G. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract: Thermal study and evaluation of the antioxidant effect on vegetable oils. **Journal of Thermal Analysis and calorimetry**, 113 (2), 889-895, 2013.

Choi, J., Kim, D., Park, S., Lee, H., Kim, K., Kim, K., & Kim, S. Anti-thrombotic effect of rutin isolated from *Dendropanax moribifera* Leveille. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 120 (2), 181–186, 2015.

Donlao, N., & Ogawa, Y. The influence of processing conditions on catechin, caffeine and chlorophyll contents of green tea (*Camelia sinensis*) leaves and infusions. **LWT**, 116, 108567, 2019.

Engels, C., Schieber, A., & Ganzle, M.G. Sinapic acid derivatives in defatted Oriental mustard (*Brassica juncea* L.) seed meal extracts using UHPLC-DAD-ESI-MS and identification of compounds with antibacterial activity. **European Food Research and Technology**, 234 (3), 535–542, 2012.

Elfalleh, W., Tlili, N., Nasri, N., Yahia, Y., Hannachi, H., Chaira, N., & Ferchichi, A. Antioxidant capacities of phenolic compounds and tocopherols from Tunisian pomegranate (*Punica granatum*) fruits. **Journal of food science**, 76 (5), 07-13, 2011.

Elfalleh, W., Kirkan, B., & Sarikurkcu, C. Antioxidant potential and phenolic composition of extracts from stachys tmolea: an endemic plant from turkey. **Industrial crops and products**, 127, 212-216, 2019.

Ghasemzadeh, A., Omidvar, V., & Jaafar, H. Z. Polyphenolic content and their antioxidant activity in leaf extract of sweet potato (*Ipomoea batatas*). **Journal of Medicinal Plants Research**, 6 (15), 2971-2976, 2012.

Goswami, S., Das, R., Ghosh, P., Chakraborty, T., Barman, A., & Ray, S. Comparative antioxidant and antimicrobial potentials of leaf successive extract fractions of poison bulb, *Crinum asiaticum* L. **Industrial Crops and Products**, 154 (15), 112667, 2020.

Hossain, M.S., Asaduzzaman, M., Uddin, M.S., Noor, M.A.A., Rahman, M.A., & Munira, M. S. Investigation of the in vitro antioxidant and cytotoxic activities of *Xanthosoma sagittifolium* leaf. **Indo American Journal Pharmaceutical Research**, 5 (10), 3300, 2015.

Hinz, B., Kraus, V., Pahl, A., & Brune, K. Salicylate metabolites inhibit cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin E2 synthesis in murine macrophages. **Biochemical and biophysical research communications**, 274 (1), 197-202, 2000.

Hayrapetyan, H., Hazeleger., W.C., & Beumer R.R. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*punica 8 borges et al. granatum*) peel extract in meat pate at different temperatures. **Food Control**, 23 (1), 66-72, 2012.

Juurlink, B.H., Azouz, H.J., Aldalati, A.M., AlTinawi, B.M., & Ganguly, P. Hydroxybenzoic acid isomers and the cardiovascular system. **Nutrition journal**, 13 (1), 63, 2014.

Khan, A.K., Rashid, R., Fatima, N., Mahmood, S., Mir, S., Khan, S., & Murtaza, G. Pharmacological activities of protocatechuic acid. **Acta Poloniae Pharmaceutica n Drug Research**, 72 (4), 643–650, 2015.

Kumar, K.A., Narayani, M., Subanthini, A., & Jayakumar, M. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of citrus fruit peels - utilization of fruit waste. **International Journal of Engineering Science and Technology**, 3 (6), 5414-5421, 2011.

Kumari, A., Parida, A.K., Rangani, J., & Panda, A. Antioxidant Activities, Metabolic Profiling, Proximate Analysis, Mineral Nutrient Composition of *Salvadora persica* Fruit Unravel a Potential Functional Food and a Natural Source of Pharmaceuticals. **Frontiers In Pharmacology**, 8 (61), 01-14, 2017.

Kim, S.H., Jun, C.D., Suk, K., Choi, B.J., Lim, H., Park, S., & Shin, T.Y. Gallic acid inhibits histamine release and pro-inflammatory cytokine production in mast cells. **Toxicological Sciences**, 91 (1), 123–131, 2006.

Kim, H.J., Park, W.S., Bae, J.Y., Kang, S.Y., Yang, M.H., Lee, S., & Ahn, M.J. Variations in the carotenoid and anthocyanin contents of Korean cultural varieties and home-processed sweet potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, 41, 188-193, 2015.

Lee, J.H., Regmi, S.C., Kim, J.A., Cho, M.H., Yun, H., Lee, C.S., & Lee, J. Apple Flavonoid Phloretin Inhibits *Escherichia coli* O157:H7 Biofilm Formation and Ameliorates Colon Inflammation in Rats. **Infection and Immunity**, 79 (12), 4819 – 4827, 2011.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., & McLaughlin, J.L. Brine Shrimp: a convenient general bioassays for active plant constituents. **Planta Médica**, 45, 31-34, 1982.

Munekata, P.E.S., Rocchetti, G., Pateiro, M., Lucini, L., Domínguez, R., & Lorenzo, J. M. Addition of plant extracts to meat and meat products to extend shelf-life and health-promoting attributes: An overview. **Current Opinion in Food Science**, 31, 81-87, 2020.

Nohynek, L.J., Alakomi, H.L., Ka'hko'nen, M.P., Heinonen, M., Helander, I.M., K.M.

Oksman-Caldentey, K.M., & Puupponen-Pimia, R.H. Berry phenolics: antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. **Nutrition Cancer**, 54 (1), 18-32, 2006.

Nyadanu, D., & Lowor, S.T. Promoting competitiveness of neglected and underutilized crop species: comparative analysis of nutritional composition of indigenous and exotic leafy and fruit vegetables in Ghana. **Genetic Resources And Crop Evolution**, 62 (1), 131-140, 2015.

Nascimento, M.N.G., Martins, M.M., Cunha, L.C.S., Souza, S.P., Goulart, L.R., Souza, S.T., & Pivatto, M. Antimicrobial and cytotoxic activities of Senna and Cassia species (Fabaceae) extracts. **Industrial Crops and Products**, 148, 112-081, 2020.

Oridupa, O.A., Folasire, O.F., & Owolabi, A.J. Evaluation of the sub-chronic toxicity profile of the corm of *Xanthosoma sagittifolium* on hematology and biochemistry of alloxan-induced diabetic Wistar rats. **Journal Of Complementary And Integrative Medicine**, 14 (2), 1-7, 2017.

Pinheiro, P.F., & Justino, G.C. Structural analysis of flavonoids and related compounds a review of spectroscopic applications. In: Rao, V. (Ed.), *Phytochemical. A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. **Intech Europe**, 33–5672, 2012.

Paz, M., Gullón, P., Barroso, M.F., Carvalho, A.P., Domingues, V.F., Gomes, A.M., Becker, H., Longhinotti, E., & Delerue-Matos, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**. 172 (1), 462–468, 2015.

Paterson, J., Baxter, G., Lawrence, J., & Duthie, G. Is there a role for dietary salicylates in health? **Proceedings of the Nutrition Society**, 65 (1), 93–96, 2006.

Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Alakomi, H.L., & Oksman-Caldentey, K.M. Bioactive berry compounds—novel tools against human pathogens. **Applied Microbiology Biotechnology**, 67, 8-18, 2005.

Rufino, M.D.S.M., Alves, R.E., Brito, E.S., Morais, S.M., Sampaio, C.D.G., Pérez-Jimenez, J., & Saura-Calixto, F.D. Scientific methodology: determination of the total antioxidant activity in fruits by capturing the free radical DPPH. **Embrapa Tropical Agroindustry-Technical Communication**, 2007.

Rodrigues, V.H., Melo, M.M., Portugal, I., & Silva, C.M. Extraction of Eucalyptus leaves using solvents of distinct polarity. Cluster analysis and extracts characterization. **The Journal Supercritical Fluids**. 135, 263–274, 2018.

Radbeh, Z., Asefi, N., Hamishehkar, H., Roufegarinejad, L., & Pezeshki, A. Novel carriers ensuring enhanced anti-cancer activity of *Cornus mas* (cornelian cherry) bioactive compounds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 125, 109-906, 2020.

Reyes, L.F., & Cisneros-Zevallos, L. Wounding stress increases the phenolic content and antioxidant capacity of purple-flesh potatoes (*Solanum tuberosum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 5296-5300, 2003.

Rashmi, H.B., & Negi, P.S. Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. **Food Research International**, 136, 109-298, 2020.

Singleton, V.L., Joseph, A., & Rossi, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 16, 144-149, 1965.

Silva, M.L.C., Costa, R.S., Santos Santana, A., & Koblitz, M.G.B. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Agricultural Sciences**, 31 (3), 669-681, 2010.

Semwal, D.K., Semwal, R.B., Combrinck, S., & Viljoen, A. "Myricetin: A Dietary Molecule with Diverse Biological Activities". **Nutrients**, 8 (2), 90, 2016.

Simsek, S.N.E. **Carbohydrate Polymers**, 90, 1204–1209, 2012.

Sheila, D.A.B.B.F., & Wiseman, A. Antioxidants in tea. **Critical Reviews in Food**

Science and Nutrition, 37 (8), 705-718, 2009.

Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., & Haytowitz, D.B. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52, 4026-4037, 2004.

Wang, D., Xia, M., Yan, X., Li, D., Wang, L., Xu, Y., & Ling, W. Gut microbiota metabolism of anthocyanin promotes reverse cholesterol transport in mice via repressing miRNA-10b. **Circulation Research**, 111 (8), 967–981, 2012.

Winter, J., Moore L.H., Dowell, V.R, & Bokkenheuser, V.D.C – ring cleavage of flavonoids by human intestinal bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, 55 (5), 1203 – 1208, 1989.

Yin, L., Han, H., Zheng, X., Wang, G., Li, Y., & Wang, W. Flavonoids analysis and antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of crude and purified extracts from *Veronicastrum latifolium*. **Industrial Crops and Products**, 137 (1), 652-661, 2019.

Zheng, J., Li, Q., He, L., Weng, H., Su, D., Liu, X., & Wang, D. Protocatechuic acid inhibits vulnerable atherosclerotic lesion progression in older Apoe^{-/-} Mice. **The Journal of Nutrition**, 150 (5), 2020.

CAPITULO 3: PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES A PARTIR DE COLÁGENO, FÉCULA DE MANDIOCA E SUAS MISTURAS PARA USO POTENCIAL COMO EMBALAGEM DE ALIMENTOS

PREPARATION AND CHARACTERIZATION FILMS FROM COLLAGEN, CASSAVA STARCH AND THEIR BLEND FOR POTENTIAL USE AS FOOD PACKAGING

Gilmar Freire da Costa¹, Solange de Sousa¹, Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles², Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro¹

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras, Paraíba, Brasil

²Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil

Autor para correspondência: gilmarfreiredacosta@gmail.com

RESUMO

Filmes à base da pele de tilápia, fécula de mandioca e suas misturas foram preparados pela técnica de *casting*. Foi elaborado um delineamento experimental com 5 (cinco) tratamentos, sendo T1 - representa o filme contendo 6% de colágeno; T2 - filme contendo 6% de fécula de mandioca; Filme T3 contendo mistura de 3% / 3% de colágeno / fécula de mandioca; Filme T4 contendo a mistura 4,5% / 1,5% de colágeno / fécula de mandioca e filme T5 contendo a mistura de 1,5% / 4,5% colágeno / fécula de mandioca. Foram avaliadas as propriedades físicas, mecânicas, térmicas e morfológicas de cada filme. Os resultados indicaram que os tratamentos T1 e T4 melhoraram a resistência do filme à água ($p < 0,05$). Os tratamentos T3, T4 e T5 proporcionaram maiores valores ($p < 0,05$) de leveza (L^*). As micrografias eletrônicas de varredura (MEV) mostraram uma estrutura mais ordenada, lisa e homogênea para o tratamento T1, o que resultou em maiores propriedades mecânicas ($p < 0,05$) e maior estabilidade térmica. Em geral, os tratamentos T1 e T4 foram considerados as formulações ideais. Estudos para a aplicação desses filmes como embalagens de alimentos deverão ser

realizados futuramente.

Palavras-chave: Filmes compostos, Microestrutura, Propriedades mecânicas, Propriedades físicas.

ABSTRACT

Films based on Tilapia skin, cassava starch and their blends were prepared using the casting technique. An experimental design was prepared with 5 (five) treatments, where T1-represents the film containing 6% collagen, T2-film containing 6% cassava starch; T3-film containing 3%/3% blend of collagen/cassava starch; T4-film containing the 4.5%/1.5% blend of collagen/cassava starch and T5-film containing the blend of 1.5%/4.5% collagen/cassava starch. The physical, mechanical, thermal and morphological properties of each film were evaluated. The results indicated that T1 and T4 treatments improved film water resistance ($p < 0.05$). T3, T4 and T5 treatments provided higher values ($p < 0.05$) of lightness (L^*). The scanning electron micrographs (SEM) showed a more orderly, smooth and homogeneous structure for the T1 treatment, which resulted in greater mechanical properties ($p < 0.05$) and greater thermal stability. In general, T1 and T4 treatments were considered the ideal formulations. Studies for the application of these films in food packaging should be carried out in the future.

Keywords: Composite films, Microstructure, Mechanical properties, Physical properties.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o setor de embalagens plásticas vem sofrendo algumas transformações e o pivô dessas mudanças são as consequências negativas que todo o setor oferece ao meio ambiente. Devido a essas consequências, a ideia de desenvolver filmes biodegradáveis vem se espalhando muito rapidamente por meio da pesquisa científica. Essa tendência visa reduzir os resíduos, principalmente os não biodegradáveis, e aumentar o uso de materiais de origem natural, como resíduos de alimentos. A possibilidade de conversão de resíduos em biopolímeros representa uma alternativa aos polímeros derivados da indústria química, e sua utilização em algumas aplicações, inclusive como embalagens de alimentos, pode mitigar alguns danos

ambientais (Silva et al., 2019).

As principais matérias-primas utilizadas na preparação dos filmes são polissacarídeos, proteínas e lipídeos. O uso da fécula de mandioca para a elaboração de filmes justifica-se por algumas características específicas, principalmente seu caráter renovável, abundância, baixo custo e biodegradabilidade. Porém, sua aplicação como embalagem em matrizes de alimentos é limitada por apresentar algumas deficiências em suas propriedades mecânicas, (Yan et al., 2012; Liu et al., 2019).

Portanto, nos últimos anos, os estudos de materiais naturais renováveis baseados em proteínas têm atraído cada vez mais atenção (Ahmad et al., 2016). A proteína pode ser a melhor escolha para a produção de filmes por possuir propriedades de barreira ao vapor d'água e gases, além de propriedades mecânicas superiores em comparação com outras macromoléculas como a fécula de mandioca (Nur et al., 2014). O colágeno obtido da pele de peixes de água doce como a Tilápia (*Oreochromis niloticus*) pode ser usado como uma boa matriz para a produção de filmes devido às suas excelentes propriedades, incluindo não toxicidade, biocompatibilidade, baixa antigenicidade, alergenicidade e biodegradabilidade (Harper et al., 2012; Depalle et al., 2015). Além disso, o uso de colágeno é uma alternativa para reduzir os impactos ambientais que causam problemas de poluição e, acima de tudo, para evitar o desperdício de potenciais fontes de proteína (Zhang et al., 2019).

Filmes biodegradáveis, principalmente aqueles produzidos com fécula de mandioca, apresentam algumas deficiências em suas propriedades de resistência mecânica e barreira ao vapor d'água. Algumas estratégias podem ser utilizadas para superar essas deficiências, sendo uma delas o desenvolvimento de blends a partir de dois polímeros. Dessa forma, o colágeno da pele da tilápia pode ser uma alternativa a ser incorporado na formulação desses filmes de fécula de mandioca para melhorar seu desempenho mecânico e físico (Yoo e Krochta, 2011).

Pesquisas anteriores elaboraram e caracterizaram as propriedades de várias proteínas, incluindo caseína, gelatina, albumina, soja e soro de leite em combinação com filmes de amido (Galus et al., 2012; Rhim et al., 1998; Jagannath et al., 2003; Sun et al., 2013 e Chollakup et al., 2020). No entanto, nenhuma investigação foi realizada anteriormente sobre a caracterização de filmes à base de colágeno de pele de Tilápia e sua mistura com fécula de mandioca para preparação de embalagens. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do colágeno, da fécula de mandioca e das misturas dessas macromoléculas nas propriedades físicas, mecânicas, térmicas e

morfológicas de filmes para aplicação como embalagens de alimentos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Matérias-primas e reagentes químicos

A pele da tilápia utilizada para a extração do colágeno foi fornecida por um produtor rural localizado no município de Bananeiras, Paraíba, Brasil. A fécula de mandioca foi obtida no comércio local em Solânea, Paraíba, Brasil. O glicerol foi fornecido pela Dinâmica Química Ltda, São Paulo, Brasil. A sacarose e o ácido cítrico foram obtidos na Merck, Darmstadt, Alemanha.

2.2. Extração de colágeno

A extração do colágeno foi realizada de acordo com a metodologia desenvolvida por Huang et al., (2016) com algumas modificações (temperatura, congelamento, resfriamento e tipo de material). As peles das tilápias foram lavadas em água corrente e pesadas na proporção de 1: 1 (água e pele), seguidas de aquecimento a 60 ° C por 1 hora, em seguida a solução de colágeno foi filtrada e congelada a -18 ° C por 24 horas. Posteriormente, a solução de colágeno foi refrigerada a 7° C por 48 horas para drenar a água e, conseqüentemente, concentrar a rede de colágeno. Por fim, o colágeno foi liofilizado, triturado e armazenado em temperatura refrigerada a 5° C até a utilização.

2.3. Planejamento experimental e preparação dos filmes

Para a elaboração dos filmes, as concentrações de colágeno, fécula de mandioca e de blends foram definidas por meio de um delineamento experimental simplex lattice utilizando o programa estatístico Minitab 19 (Tabela 1). Como plastificantes, foram utilizados 1,5% de glicerol e 0,7% de sacarose. Os tratamentos foram preparados para 500 mL de água destilada, obtendo-se 11 repetições para cada um, totalizando 55 filmes elaborados. Os filmes foram preparados pelo método de casting (Farhan & Hani, 2020). Em seguida, as soluções aquosas de colágeno (p/v), fécula de mandioca (p/v) e as blends (p/v) foram aquecidas em microondas até a temperatura de gelificação (83 °C). Em seguida, 1,5% de glicerol e 0,7% de sacarose foram adicionados às soluções filmogênicas e homogeneizadas por 10 minutos. A solução descansou por 2 horas. Em seguida, as soluções filmogênicas foram pesadas (45 g) em placas de Petri de cristal e desidratadas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C por 24 horas.

Posteriormente, os filmes obtidos foram armazenados e acondicionados a 75% UR a 25 °C por 7 dias antes de serem caracterizados.

Tabela 1: Planejamento experimental para a composição do filme (%) de colágeno, fécula de mandioca e suas misturas

| Tratamentos | Colágeno | Fécula de mandioca | Glicerol | Sacarose | Água destilada |
|-------------|----------|--------------------|----------|----------|----------------|
| T1 | 6,00 | 0,00 | 1,50 | 0,70 | 100,00 |
| T2 | 0,00 | 6,00 | 1,50 | 0,70 | 100,00 |
| T3 | 3,00 | 3,00 | 1,50 | 0,70 | 100,00 |
| T4 | 4,50 | 1,50 | 1,50 | 0,70 | 100,00 |
| T5 | 1,50 | 4,50 | 1,50 | 0,70 | 100,00 |

*T1: Filme contendo 6% de colágeno da pele de Tilapia; T2: Filme contendo 6% de fécula de mandioca; T3: Filme contendo 3% de colágeno e 3% de fécula de mandioca; T4: Filme contendo 4, 5% de colágeno e 1, 5% de fécula de mandioca e T5: Filme contendo 1, 5% de colágeno and 4, 5% de fécula de mandioca.

2.4. Caracterização dos filmes

2.4.1. Espessura e propriedades mecânicas

A espessura do filme foi medida por um paquímetro digital (Mitutoyo-Co, Japão) com precisão de 0,001 mm. A espessura média de cada filme foi obtida a partir de uma média de 15 posições aleatórias nas amostras de filme (Beigomi, Mohsensadeh, & Salari, 2018).

As propriedades mecânicas como resistência à tração e alongamento na ruptura (EAB) foram verificadas em um instrumento de teste estático de SHIMADZU, Japão, operando de acordo com as especificações ASTM D882-12 (ASTM, 2012). Os filmes foram acondicionados por 72 horas em estufa com 75% de umidade relativa a 25° C. Os corpos-de-prova foram cortados em tiras de 70 mm x 15 mm de largura, com separação inicial da garra de 50 mm e velocidade de separação da garra de 12,5 mm/min. As análises foram realizadas com 10 (dez) repetições para cada tratamento. Os resultados são expressos como alongamento à ruptura (EAB) (%) e resistência à tração (MPa).

2.4.2. Conteúdo de umidade (MC)

O teor de umidade dos filmes foi medido de acordo com Maniglia, Tessaro, Lucas, & Tapia-Blácido (2017). As amostras de filme foram cortadas 2 x 2 cm e pesadas para obtenção do peso inicial (PI). As amostras foram secas em estufa a 105 ° C até peso constante para obtenção do peso final (FW). O teor de umidade foi calculado

de acordo com a Equação 1.

$$\% \text{ Conteúdo de umidade} = [(IW-FW) / (IW)] \times 100 \quad (1)$$

Onde, IW, é o peso inicial dos filmes, e FW, é o peso final dos filmes.

2.4.3. Solubilidade em água

A solubilidade dos filmes foi determinada de acordo com Ge et al., (2018). As amostras de filme foram cortadas em pedaços de 2 x 2 cm e pesadas. Em seguida, os pedaços de filme foram secos em estufa a 105 ° C por 24 horas para atingir peso constante (IW). Posteriormente, os filmes secos foram imersos diretamente em 30 mL de água destilada a 25 ° C por 24 horas. Em seguida, as amostras foram coletadas e novamente secas em estufa a 105° C por 24 horas para atingir peso constante (PF). Os resultados foram expressos em porcentagem de matéria seca do filme solubilizado após 24 horas de imersão em água. A solubilidade em água dos filmes foi calculada de acordo com a Equação 2.

$$\text{Solubilidade (\%)} = [(IW - FW) / (IW)] \times 100 \quad (2)$$

Em que, IW e FW são os pesos inicial e final das amostras secas, respectivamente.

2.4.5. Permeabilidade ao vapor de água – WVP

A permeabilidade ao vapor de água foi realizada de acordo com a norma ASTM 96-95 (2000). As amostras de filme foram fixadas em uma célula de permeação de vidro hermeticamente fechada contendo 50 mL de água destilada. A massa inicial do sistema foi medida e armazenada em um dessecador a 25 ° C com sílica gel. Depois disso, o sistema foi pesado a cada 24 horas por 7 dias, e a permeabilidade ao vapor de água foi calculada com base na Equação 3.

$$\text{WVP} = [(C_i / A) \cdot X] / [P_s (UR1-UR2)] \quad (3)$$

Onde, Ci é a inclinação da reta gerada pela perda de peso do sistema em função do tempo; A, é a área do filme (m²); X e a espessura (mm); Ps, é a pressão de saturação do vapor d'água a 25 °C (22,2 mmHg); UR1, é a umidade relativa da câmara (0%) e UR2, é

a umidade relativa no interior da cápsula (100%), e o resultado foi expresso em $\text{gH}_2\text{Omm} / \text{m}^2.\text{h}.\text{mmHg}$.

2.4.6. Cor

A determinação da cor dos filmes foi realizada com o colorímetro Chroma Meter CR 300 (Konica Minolta, Japão) de acordo com Medina, Gonzalez, Goyanes, Bernal, & Fama (2015). Os valores de L^* , a^* e b^* foram obtidos diretamente pelo colorímetro. Os filmes, em padrão branco, foram lidos em 8 pontos aleatórios das amostras dos filmes.

2.4.7. Análise Termogravimétrica – TGA

As análises termogravimétricas foram realizadas em analisador térmico Shimadzu DTG-60H em atmosfera de ar sintético com vazão de gás de $50 \text{ mL}.\text{min}^{-1}$. As amostras ($\sim 8 \text{ mg}$) foram colocadas em cadinhos de cerâmica e aquecidas de 30° C a 800° C com taxa de aquecimento de $10^\circ \text{ C}.\text{min}^{-1}$.

2.4.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Um microscópio eletrônico de varredura, TESCAN VEGA3 SBH equipado com um microanalisador de raios-X dispersivo de energia selecionada, foi usado para observar a morfologia da superfície dos filmes. As amostras foram depositadas diretamente em uma fita de carbono na prateleira e pulverizadas com Au / Pd de aproximadamente 6 mm de espessura por pulverização catódica (SPut Module Sputter Coater). A tensão de aceleração variou de 5 a 15 kV.

2.4.9. Espectroscopia vibracional por transformada de Fourier (FTIR)

Os filmes foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier (FTIR) usando um espectrofotômetro Shimadzu modelo IR Prestige-21, com um acessório de refletância total atenuada (ATR). As condições de análise foram: região $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$; à temperatura ambiente usando 20 acumulações e resolução de 4 cm^{-1} .

2.5. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado no tratamento estatístico dos dados foi o inteiramente ao acaso (DIC). A análise de variância foi aplicada aos dados e as médias

comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância ($p < 0,05$) por meio do programa estatístico SAS® versão 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Espessura e propriedades mecânicas

A espessura e as propriedades mecânicas dos filmes baseados no colágeno da pele de Tilápia, fécula de mandioca e suas misturas são mostradas na Tabela 2. A espessura dos tratamentos T2, T3, T4 e T5 aumentaram com a incorporação da fécula de mandioca. Diferentes concentrações de fécula de mandioca promoveram efeitos significativos na espessura desses filmes.

Tabela 2: Espessura e propriedades mecânicas de filmes de colágeno, fécula de mandioca e suas misturas

| Tratamentos | Espessura (mm) | Resistencia a tração (RT/MPA) | Alongamento na ruptura % (AR) |
|-------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| T1 | 0,040 ± 0,004 ^e | 6,14 ± 0,22 ^a | 243,90 ± 4,42 ^a |
| T2 | 0,100 ± 0,006 ^b | 2,32 ± 0,04 ^b | 40,40 ± 0,31 ^e |
| T3 | 0,070 ± 0,004 ^c | 1,00 ± 0,03 ^d | 86,40 ± 2,55 ^c |
| T4 | 0,050 ± 0,004 ^d | 1,43 ± 0,02 ^c | 215,60 ± 6,38 ^b |
| T5 | 0,110 ± 0,005 ^a | 0,87 ± 0,23 ^d | 54,70 ± 1,59 ^d |

* T1: Filme contendo 6% de colágeno da pele de Tilápia; T2: Filme contendo 6% de fécula de mandioca; T3: Filme contendo 3% de colágeno e 3% de fécula de mandioca; T4: Filme contendo 4,5% de colágeno e 1,5% de fécula de mandioca; T5: Filme contendo 1,5% de colágeno e 4,5% de fécula de mandioca. ** a-e: Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Esse comportamento pode ser devido à matéria seca e às interações hidrofílicas entre a proteína e a fécula de mandioca que podem ter causado alterações na evaporação do solvente, devido à alta viscosidade do gel (Silva et al., 2019). Algumas explicações para o efeito da espessura em filmes foram relatadas. Park et al., (1993) atribuíram o efeito na espessura ao inchaço do filme como resultado da força de atração entre o polímero e a água. Os valores de espessura ficaram próximos aos encontrados para filmes à base de proteína isolada de carne de tilápia separada mecanicamente, variando de 0,06 a 0,11, respectivamente (Silva et al., 2020). No entanto, Silva et al., (2019) relataram valores mais elevados para filmes contendo amido de mandioca, gelatina e quitosana, variando de 0,20 a 0,44; isso prova que a mistura de componentes resulta em filmes mais espessos.

Com relação às propriedades mecânicas, a resistência à tração e a flexibilidade

são características importantes dos filmes para manter a integridade das embalagens de alimentos. O tratamento T1 puro apresentou o maior valor ($p < 0,05$) de RT e AR, sendo mais resistente e flexível que os demais tratamentos. E esse comportamento esteve ligado à maior quantidade de grupos sulfidríla presentes na superfície da proteína do colágeno, isso promoveu um maior número de ligações covalentes do tipo S-S na matriz do filme (Zavareze et al., 2012). Essa nova formulação de filme representada pelo tratamento T1 é muito promissora para ser utilizada como embalagem de alimentos, uma vez que o valor de RT foi semelhante ao encontrado para embalagens sintéticas de polietileno de baixa densidade variando de 6,9 a 16 MPA e que é amplamente utilizado como embalagem de alimentos (Lara et al., 2019). Os tratamentos T3, T4 e T5 contendo diferentes proporções de colágeno/fécula de mandioca apresentaram os menores valores de RT. Uma explicação para esses resultados pode ter sido a presença de plastificante de glicerol, uma vez que Su et al., (2010) concluíram que o glicerol é um plastificante de pequena molécula que pode penetrar entre cadeias poliméricas e enfraquecer a interação entre amidos e proteínas reduzindo as propriedades mecânicas dos filmes. Esse mesmo comportamento foi observado por Al-Hassan e Norziah (2012) em estudo anterior que também relatou baixos valores para RT em filmes com blends de amido de sagu e gelatina de peixe plastificada com glicerol.

Embora os tratamentos T3, T4 e T5 tenham apresentado os menores valores de RT, os tratamentos contendo maiores concentrações de colágeno na mistura apresentaram maiores valores de AR do que os tratamentos com maiores concentrações de fécula de mandioca. A partir dessa observação, fica comprovado que o colágeno em pó da pele da Tilápia contribui para a obtenção de um filme mais flexível. Isso é atribuído às cadeias peptídicas dos aminoácidos glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina e alanina que estão presentes neste colágeno (Brodsky e Ramshaw, 1997; Nalinanon et al., 2011). Essas cadeias são organizadas paralelamente a um eixo, formando fibras de colágeno, que promovem elasticidade na estrutura do material do filme (Silva e Penna, 2012).

3.2. Solubilidade em água, conteúdo de umidade (CU) e permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Os níveis de solubilidade em água, umidade, permeabilidade ao vapor de água e índice de intumescimento de filmes compostos de colágeno, fécula de mandioca e suas misturas são mostrados na tabela 3.

Tabela 3: Solubilidade em água, conteúdo de umidade (CU) e permeabilidade ao vapor de água (PVA) de filmes de colágeno, fécula de mandioca e suas misturas

| Tratamentos | Solubilidade em água (%) | Conteúdo de umidade (CU) (%) | PVA (gH ₂ O mm/m ² h mmHg) |
|-------------|----------------------------|------------------------------|--|
| T1 | 43,90 ± 6,35 ^{ab} | 24,50 ± 5,88 ^a | 0,26 ± 0,02 ^b |
| T2 | 49,40 ± 1,11 ^a | 26,90 ± 0,43 ^a | 0,33 ± 0,04 ^a |
| T3 | 40,80 ± 0,72 ^{ab} | 27,10 ± 5,33 ^a | 0,31 ± 0,04 ^{ab} |
| T4 | 38,30 ± 0,76 ^b | 27,30 ± 13,4 ^a | 0,27 ± 0,03 ^b |
| T5 | 48,10 ± 4,98 ^a | 27,20 ± 8,48 ^a | 0,28 ± 0,04 ^{ab} |

* T1: Filme contendo 6% de colágeno da pele de Tilápia; T2: Filme contendo 6% de fécula de mandioca; T3: Filme contendo 3% de colágeno e 3% de fécula de mandioca; T4: Filme contendo 4,5% de colágeno e 1,5% de fécula de mandioca; T5: Filme contendo 1,5% de colágeno e 4,5% de fécula de mandioca. ** a-b: Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (p <0,05) pelo teste de Tukey.

O tratamento T4, contendo maiores concentrações de colágeno na blenda, apresentou o menor valor de solubilidade. Uma diferença significativa (p <0,05) foi observada entre este tratamento e aqueles contendo maiores concentrações de fécula de mandioca (T2 e T5). Esse resultado sugere que os filmes feitos em T4 apresentam boa estabilidade à água. Sukhija et al., (2016) sugeriram que a baixa solubilidade pode resultar da interação entre grupos sulfidríla livres de proteína e grupos hidroxila livres de amido. O menor valor de solubilidade pode sugerir que a mistura T4 de colágeno / fécula de mandioca é a mais adequada para o desenvolvimento de filmes quando a aplicação pretendida requer baixa solubilidade. Este comportamento provavelmente se deve à maior densidade de ligações entre a proteína colágena e a fécula de mandioca, estabelecendo melhores interações na matriz. A solubilidade é uma propriedade importante dos filmes para aplicações na proteção de alimentos congelados ou frescos com alta atividade de água para evitar a exsudação durante o processamento, mantendo a integridade do produto (Romani et al., 2017).

Nenhum dos tratamentos testados influenciou significativamente o teor de umidade dos filmes. Porém, ao verificar os valores da Tabela 3, pode-se observar que os tratamentos T2, T3, T4 e T5 contendo a fécula de mandioca apresentaram os maiores valores de umidade. Caetano et al. (2018) obtiveram valores de umidade semelhantes em filmes à base de amido de mandioca. Essa característica pode ser justificada pelo fato de os plastificantes utilizados interagirem fortemente com a fécula de mandioca e provavelmente formarem ligações do tipo hidrogênio entre amilose, glicerol e sacarose. Essa interação pode resultar na diminuição das interações inter e intramoleculares entre

as macromoléculas de amido, aumentando a movimentação e o rearranjo de suas cadeias, facilitando a absorção de água (Gutiérrez et al., 2015). Por isso o tratamento T2 contendo amido de mandioca puro apresentou maior solubilidade em água e PVA.

Os valores encontrados para a permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes variaram de 0,261 a 0,334 gH₂O mm/m² hmm / Hg, onde os tratamentos T1 e T4 apresentaram os menores valores de PVA com diferença significativa em relação ao tratamento T2. A menor permeação do vapor d'água através dos filmes T1 e T4 pode ter sido plausivelmente obtida pela interação mais forte e maior grau de organização das moléculas de proteínas na rede do filme, reduzindo a penetração do vapor d'água de forma mais eficaz (Heng et al., 2003). Filmes com baixos níveis de PVA são indicados para embalagens de alimentos, pois são considerados estáveis e evitam a transmissão do vapor d'água do meio ambiente para os alimentos, preservando suas características originais. Já no tratamento T2, a alta permeação de água se deve à forte característica higroscópica da fécula, por se tratar de um polímero sensível à água, onde ligações de hidrogênio podem ser formadas entre a água e seus grupos hidroxila, tornando este material mais hidrofílico (Majid et al., 2009; Sabetzadeh et al., 2015 e Nguyen et al., 2016).

3.3. Cor

As propriedades de cor (L^* , a^* e b^*) são parâmetros importantes para a aparência da embalagem, pois influenciam diretamente na aceitabilidade do produto pelo consumidor (Wu et al., 2019). Para leveza, quanto mais próximo o valor estiver de 100, mais branca ficará a amostra e isso foi confirmado para o tratamento T5. De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4, este tratamento, contendo baixa concentração de colágeno e alto teor de fécula de mandioca, afetou significativamente ($p < 0,05$) a luminosidade (L^*). Por outro lado, os demais tratamentos T1, T2, T3 e T4 foram caracterizados com valores L^* significativamente menores. Silva et al., (2020) obtiveram resultados semelhantes para leveza em filmes à base de amido de milho.

Tabela 4: Parâmetros de cor de filmes baseados em colágeno de pele de Tilápia, fécula de mandioca e suas misturas

| Tratamentos | L* | a* | b* |
|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| T1 | 60,10 ± 1,79 ^c | -1,77 ± 0,35 ^a | 13,80 ± 1,40 ^a |
| T2 | 63,40 ± 3,04 ^b | -0,76 ± 0,19 ^b | 5,90 ± 0,76 ^d |
| T3 | 63,00 ± 1,22 ^b | -1,68 ± 0,20 ^a | 10,10 ± 0,92 ^c |
| T4 | 62,60 ± 1,92 ^b | -1,74 ± 0,20 ^a | 11,70 ± 1,14 ^b |
| T5 | 77,40 ± 2,70 ^a | -1,18 ± 1,82 ^{ab} | 11,20 ± 2,28 ^{bc} |

* T1: Filme contendo 6% de colágeno da pele de Tilápia; T2: Filme contendo 6% de fécula de mandioca; T3: Filme contendo 3% de colágeno e 3% de fécula de mandioca; T4: Filme contendo 4,5% de colágeno e 1,5% de fécula de mandioca; T5: Filme contendo 1,5% de colágeno e 4,5% de fécula de mandioca. ** a-d: Valores com letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Em relação aos valores de a^* e b^* , a adição de colágeno foi acompanhada por um aumento significativo desses parâmetros. Pode-se observar que todos os valores de a^* foram muito baixos, próximos à zero, onde prevaleceu uma tendência à coloração verde para todos os tratamentos. Já para b^* , principalmente no tratamento T1, a cor amarela prevaleceu fortemente em relação aos demais tratamentos. O tratamento T2 foi aquele em que a cor amarela foi menos intensa. Resultados semelhantes foram observados por Soukoulis et al., (2016) em filmes comestíveis à base de proteína e amido, onde os valores de a^* variaram de 1,06 a 1,36, enquanto os valores de b^* variaram de 7,38 a 10,32.

3.4. Propriedades térmicas

A TGA (análise termogravimétrica) foi realizada para avaliar as propriedades térmicas dos filmes, e os resultados podem ser vistos na Tabela 5. Os tratamentos T1, T3, T4 e T5 apresentaram três estágios de perda de peso, enquanto o tratamento T2 apresentou apenas duas etapas de perda de peso. A primeira etapa corresponde à perda de água, onde para os tratamentos T2, T3, T4 e T5 foram maiores, possivelmente devido a uma maior quantidade de absorção de água feita pelo amido e glicerol.

Tabela 5: Perfil térmico de filmes biodegradáveis

| Tratamentos | $\Delta 1$ | | $\Delta 2$ | | $\Delta 3$ | | Resíduo (%) |
|-------------|------------|-----------------|------------|-----------------|------------|-----------------|-------------|
| | T (°C) | $\Delta w1$ (%) | T (°C) | $\Delta w2$ (%) | T (°C) | $\Delta w3$ (%) | |
| T1 | 202,60 | 15,20 | 305,30 | 30,00 | 555,20 | 40,30 | 14,50 |
| T2 | 324,00 | 55,20 | 515,50 | 40,30 | - | - | 4,50 |
| T3 | 310,00 | 40,30 | 503,90 | 30,10 | 585,60 | 15,20 | 14,40 |
| T4 | 354,40 | 55,40 | 475,80 | 15,00 | 732,80 | 25,40 | 4,20 |
| T5 | 261,00 | 30,20 | 368,40 | 29,00 | 550,60 | 33,00 | 7,80 |

* T1: Filme contendo 6% de colágeno da pele de Tilápia; T2: Filme contendo 6% de fécula de mandioca; T3: Filme contendo 3% de colágeno e 3% de fécula de mandioca; T4: Filme contendo 4,5% de colágeno e 1,5% de fécula de mandioca; T5: Filme contendo 1,5% de colágeno e 4,5% de fécula de mandioca. ** $\Delta w1$, $\Delta w2$, $\Delta w3$, denotam a perda de peso da primeira, segunda e terceira etapas da perda de massa dos filmes durante o aquecimento.

Na segunda etapa, os tratamentos apresentaram comportamentos distintos. Pode-se observar para T1 que conforme a temperatura aumentou, a perda de peso aumentou, devido à degradação do glicerol e da sacarose. Já para os demais tratamentos, a perda de peso foi menor em relação ao primeiro estágio. Isso porque, possivelmente, esses tratamentos tiveram alguma perda de glicerol e sacarose na primeira fase, uma vez que Pica et al., (2012) relataram que a presença do glicerol pode acelerar a degradação do amido. Além disso, T2 foi completamente degradado no segundo estágio com a perda das frações de amido. Os demais tratamentos foram degradados na terceira etapa, onde houve perda total das frações protéicas e do amido de mandioca.

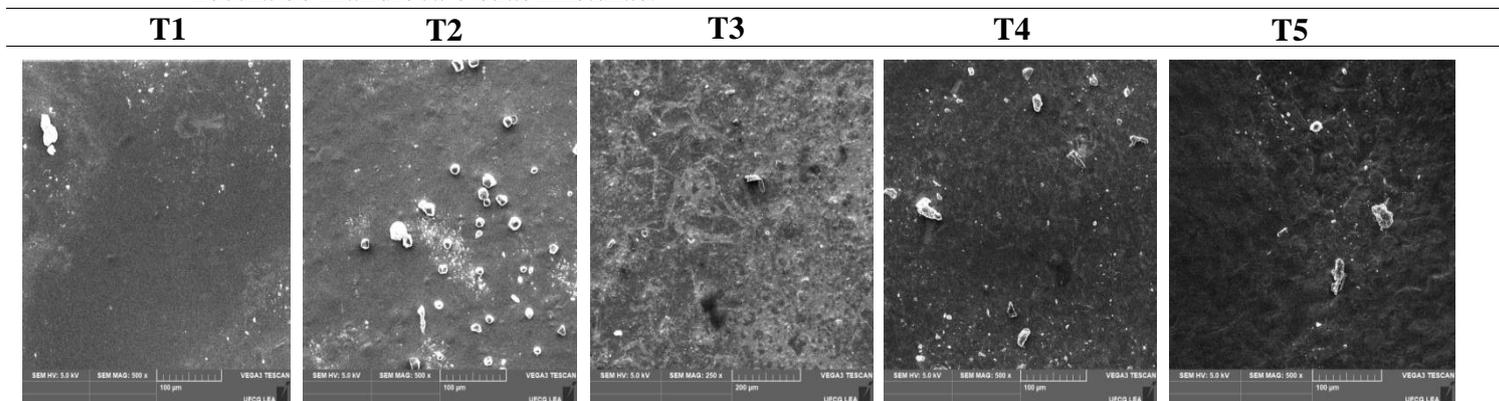
Os tratamentos apresentaram massa residual de 4,2% a 14,5%, sendo a maior porcentagem correspondendo a T1 que contém a maior concentração de colágeno. Assim, a decomposição dos filmes à base de colágeno ocorre em temperaturas mais elevadas (acima de 500° C). Estudos anteriores de Ikoma et al., (2003) e Tang et al., (2015) relataram que o conteúdo e a sequência de aminoácidos desempenham um papel fundamental na estabilidade térmica do colágeno em peixes de água doce.

3.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens das microestruturas na superfície dos diferentes tratamentos foram observadas por microscopia eletrônica de varredura (Figura 1). No tratamento T1, foi observada uma distribuição compacta, lisa e homogênea na superfície do filme em relação aos demais tratamentos. Essa característica pode estar relacionada à capacidade de formação de fibrilas de colágeno em decorrência de diferenças na conformação e na estrutura primária das moléculas protéicas. Essa característica também resultou em

melhorias principalmente nas propriedades mecânicas e no PVA desse filme (Tabelas 2 e 3). Resultados semelhantes foram observados por Tang et al., (2015) em filmes de colágeno de diferentes espécies de peixes de água doce.

Figura 1: Micrografias eletrônicas de varredura da superfície do filme de colágeno, fécula de mandioca e suas misturas.



* T1: Filme contendo 6% de colágeno da pele de Tilápia; T2: Filme contendo 6% de fécula de mandioca; T3: Filme contendo 3% de colágeno e 3% de fécula de mandioca; T4: Filme contendo 4,5% de colágeno e 1,5% de fécula de mandioca; T5: Filme contendo 1,5% de colágeno e 4,5% de fécula de mandioca.

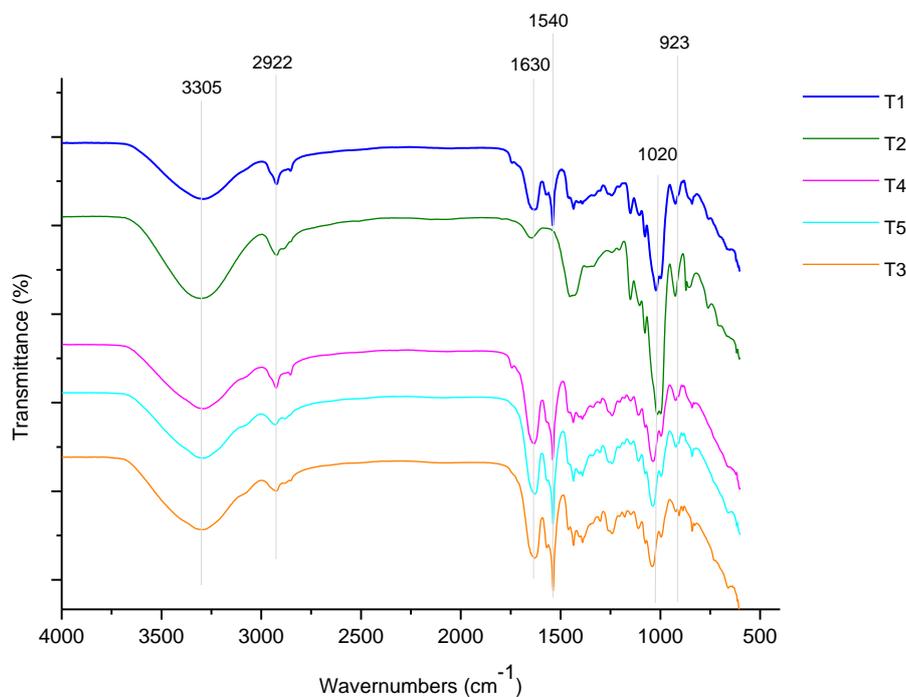
O tratamento T2 teve uma superfície regular, mas foram observados grânulos de amido não solubilizado, o que provavelmente contribuiu para a obtenção de filmes com propriedades mecânicas e de barreira fracas. Os tratamentos (T3, T4 e T5) compostos pela mistura de colágeno e fécula de mandioca apresentaram superfícies muito rugosas com dispersão de pequenas partículas na matriz do filme, e isso pode ser devido à menor interação entre o colágeno e a fécula de mandioca que também contribuiu para suas fracas propriedades mecânica e de barreira. Provavelmente a fraca interação entre o colágeno e a fécula de mandioca pode estar relacionada à formação de ligações covalentes sofridas pela proteína durante o aquecimento, seguidas de ligações não covalentes e dissulfeto após o resfriamento. Conseqüentemente, os agregados proteicos insolúveis formados durante o aquecimento contribuíram para a disposição dessas partículas dispersas na fase contínua dos filmes, reduzindo a capacidade de interação entre os dois polímeros (Day e Swanson, 2013).

3.6. Espectroscopia vibracional por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR de filmes baseados em colágeno de pele de Tilápia, fécula de mandioca e suas misturas estão ilustrados na Figura 2. Filmes preparados com

colágeno, fécula de mandioca e suas misturas apresentaram picos semelhantes, mas com amplitudes diferentes. As frequências de absorção da amida A, amida B, amida I, amida II e amida III foram 3.305 cm^{-1} , 2922 cm^{-1} , 1630 cm^{-1} , 1540 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} , respectivamente. A banda de amida A é produzida pela vibração de alongamento NH, a banda de amida B é produzida pela vibração de alongamento assimétrico de CH₂, a banda de amida I é produzida pela vibração de alongamento C = O, a banda de amida II é produzida pela flexão de CH₂ vibração e vibração de alongamento CN e a banda de amida III é produzida pela vibração de agitação de CH₂ (Lin, et al., 2016; Bodini et al., 2013).

Figura 2: Espectroscopia vibracional por transformada de Fourier (FTIR) na faixa do infravermelho médio



* T1: Filme contendo 6% de colágeno da pele de Tilápia; T2: Filme contendo 6% de fécula de mandioca; T3: Filme contendo 3% de colágeno e 3% de fécula de mandioca; T4: Filme contendo 4,5% de colágeno e 1,5% de fécula de mandioca; T5: Filme contendo 1,5% de colágeno e 4,5% de fécula de mandioca.

Todos os tratamentos exibiram características de absorção infravermelha semelhantes nas bandas A e B da amida. Nenhuma mudança ou absorção de novos picos foi encontrada. Zhuang et al., (2020) também encontraram frequências de

absorção infravermelha semelhantes para filmes de colágeno da pele de Tilápia com amido de *Pachyrhizus* nas bandas de amida A e B. As bandas de amida A e amida I na faixa de 3.305 cm^{-1} a 1630 cm^{-1} correspondeu ao alongamento NH / alongamento OH e alongamento C = O, respectivamente. O tratamento T2 apresentou absorção infravermelha diferente em relação aos demais tratamentos entre as amidas I e II correspondentes às frequências de $1630\text{-}1540\text{ cm}^{-1}$. Nesta região, o filme contendo a fécula de mandioca pode ter uma estrutura amorfa desencadeada pela gelatinização do amido, indicando perda de ordem molecular (Filippov et al., 2013).

Na região entre 1435 a 923 cm^{-1} , os espectros de infravermelho de todos os tratamentos ainda apresentaram alta similaridade. Entretanto, as blendas de colágeno e a fécula de mandioca de mandioca resultaram em mudanças na intensidade das bandas de absorção deslocadas para 1020 e 923 cm^{-1} , onde foram menos intensas em comparação aos tratamentos T1 e T2. Este comportamento provavelmente se deve às interações proteína-amido através de ligações de hidrogênio que no caso dos tratamentos T3, T4 e T5, observou-se que o OH presente no colágeno substitui algumas interações entre a água e os grupos hidroxila da fécula de mandioca que ocorreu em T2 devido à grande quantidade de água utilizada no processo de fundição, reduzindo assim os grupos OH livres (Ochoa et al., 2019).

4. CONCLUSÕES

O colágeno em pó da pele da Tilápia e a mistura contendo 4,5% de colágeno e 1,5% de fécula de mandioca produziram filmes com menor espessura e maior resistência à água. As melhores propriedades mecânicas foram obtidas para o filme produzido com colágeno puro, além de uma superfície mais lisa e homogênea e melhor estrutura interna. A incorporação da fécula de mandioca proporcionou aos filmes com base de colágeno maior leveza e também resultou em interação intermolecular, o que foi confirmado por espectros de FTIR. Foi demonstrado por meio de análises termogravimétricas que o colágeno utilizado isoladamente resultou em filmes com maior estabilidade térmica. Em geral, os tratamentos T1 e T4 foram considerados as formulações ideais, pois se alternaram nas melhores propriedades mecânicas, de barreira e térmicas. Esses resultados indicam que esses dois tratamentos podem garantir boa aplicabilidade como material para embalagens, revestimentos e cápsulas de alimentos e estudos para a aplicação desses filmes em alimentos devem ser realizados futuramente.

REFERÊNCIAS

- Al-Hassan, A.A, & Norziah, M.H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food hydrocolloids**, 26 (1), 108-117, 2012.
- ASTM-D882-12. (2012). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Book of Standards.: ASTM International, 08, 01.
- ASTM E96-95. Standard test methods for water vapor transmission of materials, 2020.
- Ahmad, M, Nirmal, N.P, Danish, M, Chuprom, J, & Jafarzedeh, S. Characterisation of composite films fabricated from collagen/chitosan and collagen/soy protein isolate for food packaging applications. **Royal Society of Chemistry Advances**, 6, 82191–82204, 2016.
- Bodini, R.B, Sobral, P.J.A, Favaro-Trindade, C.S, & Carvalho, R.A. Properties of collagen-based films with added ethanol–propolis extract. **LWT-Food Science Technology**, 51, 104–110, 2013.
- Brodsky, B, & Ramshaw, J.A.M. The Collagen triple-helix structure. **Matrix Biology**, 15, 545-554, 1997.
- Beigomi, M, Mohsenzadeh, M, & Salari, A. Characterization of a novel biodegradable edible film obtained from *Dracocephalum moldavica* seed mucilage. **International Journal of Biological Macromolecules**, 108, 874-883, 2018.
- Caetano, S.K, Lopes, N.A, Costa, T.M.H, Brandelli, A, Rodrigues, E, Flôres, S.H, & Cladera-Olivera, F. (2018). Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Food packaging and shelf life**, 16, 138-147, 2018.
- Chollakup, R, Pongburoos, S, Boonsong, W, Khanonkon, N, Kongsin, K, Sothornvit, R, & Harnkarnsujarit, N. Antioxidant and antibacterial activities of cassava starch and whey protein blend films containing rambutan peel extract and cinnamon oil for active packaging. **LWT – Food Science and Tecnology**, 30, 109-573, 2020.
- Day, L, & Swanson, B.G. Functionality of protein-fortified extrudates.

Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12 (5), 546-564, 2013.

Depalle, B, Qin, Z, Shefelbine, S.J, & Buehler, M.J. Influence of cross-link structure, density and mechanical properties in the mesoscale deformation mechanisms of collagen fibrils. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, 52, 1–13, 2015.

Farhan, A, & Hani, N.M. Active edible films based on semi-refined κ -carrageenan: Antioxidant and color properties and application in chicken breast packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, 24, 100-476, 2020.

Filippov, L.O, Severov, V.V, & Filippova, I.V. Mechanism of starch adsorption on Fe–Mg–Al-bearing amphiboles. **International Journal of Mineral Processing**, 123, 120-128, 2013.

Ge, L, Zhu, M, Li, X, Xu, Y, Ma, X, Shi, R, & Mu, C. Development of active rosmarinic acid-gelatin biodegradable films with antioxidant and long-term antibacterial activities. **Food hydrocolloids**, 83, 308-316, 2018.

Gutiérrez, T.J, Morales, N.J, Pérez, E, Tapia, M.S, & Famá, L. Physico-chemical properties of edible films derived from native and phosphated cush-cush yam and cassava starches. **Food Packaging and Shelf Life**, 3, 1-8, 2015.

Galus, S, Mathieu, H, Lenart, A, & Debeaufort, F. Effect of modified starch or maltodextrin incorporation on the barrier and mechanical properties, moisture sensitivity and appearance of soy protein isolate-based edible films. **Innovative food science & emerging technologies**, 16, 148-154, 2012.

Heng, P.W.S, Chan, L.W, & Ong, K.T. Influence of storage conditions and type of plasticizers on ethylcellulose and acrylate films formed from aqueous dispersions. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, 6, 334-344, 2003.

Harper, B.A, Barbut, S, Lim, L.T, & Marcone, M.F. Microstructural and textural investigation of various manufactured collagen sausage casings. **Food Research International**, 49, 494–500, 2012.

Huang, C.Y, Kuo, J.M, Wu, S.J, & Tsai, H.T. Isolation and characterization of fish

scale collagen from tilapia (*Oreochromis sp.*) by a novel extrusion–hydro-extraction process. **Food chemistry**, 190, 997-1006, 2016.

Ikoma, T, Kobayashi, H, Tanaka, J, Walsh, D, & Mann, S. Physical properties of type I collagen extracted from fish scales of *Pagrus major* and *Oreochromis niloticas*. **International journal of biological macromolecules**, 32 (3-5), 199-204, 2003.

Jagannath, J.H, Nanjappa, C, Das Gupta, D.K, & Bawa, A.S. Mechanical and barrier properties of edible starch–protein-based films. **Journal of applied polymer science**, 88 (1), 64-71, 2003.

Lin, L, Guo, D, Zhao, L, Zhang, X, Wang, J, & Zhang, F. (2016). Comparative structure of starches from high-amylose maize inbred lines and their hybrids. **Food Hydrocolloids**, 52, 19–28, 2016.

Lara, B.R.B, Araújo, A.C.M.A, Dias, M.V, Junior, M.G, Santos, T.A, Ferreira, L.F, & Borges, S.V. Morphological, mechanical and physical properties of new whey protein isolate/polyvinyl alcohol blends for food flexible packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, 19, 16-23, 2019.

Liu, P, Kang, X, Cui, B, Wang, R, & Wu, Z. Effects of glycerides with different molecular structures on the properties of maize starch and its film forming capacity. **Industrial Crops and Products**, 129, 512-517, 2019.

Medina, J.C, Gonzalez, S.P, Goyanes, S, Bernal, C, & Fama, L. Biofilms based on cassava starch containing extract of yerba mate as antioxidant and plasticizer. **Starch-Starke**, 67, 780-789, 2015.

Maniglia, B.C, Tessaro, L, Lucas, A.A, & Tapia-Blácido, D.R. Bioactive films based on babassu mesocarp flour and starch. **Food Hydrocolloids**, 70, 383-391, 2017.

Majid, R.A, Ismail, H, & Taib, R.M. Effects of PE-g-MA on tensile properties, morphology and water absorption of LDPE/thermoplastic sago starch blends. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, 48 (9), 919-924, 2009.

Nalinanon, S, Benjakul, S, Kishimura, H, & Osako, K. Type I collagen from the skin of ornate threadfin bream (*Nemipterus hexodon*): characteristic and effect of pepsin

hydrolysis. **Food Chemistry**, 125, 500-507, 2011.

Nguyen, D.M, Do, T.V.V, Grillet, A.C, Thuc, H.H, & Thuc, C.N.H. Biodegradability of polymer film based on low density polyethylene and cassava starch. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 115, 257-265, 2016.

Nur Hanani, Z.A, Roos, Y.H, & Kerry, J.P. (2014). Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of Biological Macromolecules**, 71, 94–102, 2014.

Ochoa-Yepes, O, Di Gioglio, L, Goyanes, S, Mauri, A, & Famá, L. Influence of process (extrusion/thermo-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. **Carbohydrate polymers**, 208, 221-231, 2019.

Park, H.J, Weller, C.L, Vergano, P.J, & Testin, R.F. Permeability and mechanical properties of cellulose-based edible films. **Journal of Food Science**, 58 (6), 1361-1364, 1993.

Pica, M, Donnadio, A, & Casciola, M. Starch/zirconium phosphate composite films: Hydration, thermal stability, and mechanical properties. **Starch-Starke**, 64 (3), 237–245, 2012.

Romani, V.P, Olsen, B, Collares, M.P, Oliveira, J.R.M, Prentice-Hernández, C, & Martins, V.G. Improvement of fish protein films properties for food packaging through glow discharge plasma application. **Food hydrocolloids**, 87, 970-976, 2019.

Rhim, J.W, Gennadios, A, Weller, C.L, Cezeirat, C, & Hanna, M.A. Soy protein isolate–dialdehyde starch films. **Industrial Crops and Products**, 8 (3), 195-203, 1998.

Sukhija, S, Singh, S, & Riar, C.S. Analyzing the effect of whey protein concentrate and psyllium husk on various characteristics of biodegradable film from lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome starch. **Food Hydrocolloids**, 60, 128-137, 2016.

Sabetzadeh, M., Bagheri, R., & Masoomi, M. Study on ternary low density polyethylene/linear low density polyethylene/thermoplastic starch blend films. **Carbohydrate polymers**, 119, 126-133, 2015.

Silva, T.F.D, & Penna, A.L.B. Collagen: Chemical characteristics and functional

properties. **Magazine of the Adolfo Lutz Institute**, 71 (3), 530-539, 2012.

Silva, O.A, Pellá, M., Caetano, J, Simões, M.R, Bittencourt, P.R, & Dragunski, D.C. Synthesis and characterization of a low solubility edible film based on native cassava starch. **International journal of biological macromolecules**, 128, 290-296, 2019.

Soukoulis, C, Singh, P, Macnaughtan, W, Parmenter, C, & Fisk, I.D. Compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. **Food hydrocolloids**, 52, 876-887, 2016.

Silva Scudeler, C.G, de Lima Costa, T, Cortez-Vega, W.R, Prentice, C, & Fonseca, G.G. Development and characterization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein isolate-based biopolymer films incorporated with essential oils and nanoclay. **Food Packaging and Shelf Life**, 25, 100-542, 2020.

Sun, Q, Sun, C, & Xiong, L. Mechanical, barrier and morphological properties of pea starch and peanut protein isolate blend films. **Carbohydrate polymers**, 98 (1), 630-637, 2013.

Su, J.F, Huang, Z, Yuan, X.Y, Wang, X.Y, & Li, M. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. **Carbohydrate Polymers**, 79 (1), 145-153, 2010.

Silva, A.P.M, Oliveira, A.V, Pontes, S.M, Pereira, A.L, Rosa, M.F, & Azeredo, H.M. Mango kernel starch films as affected by starch nanocrystals and cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, 211, 209-216, 2019.

Silva, V.D.M, Macedo, M.C.C, Rodrigues, C.G, dos Santos, A.N, Loyola, A.C.D.F, & Fante, C.A. Biodegradable edible films of ripe banana peel and starch enriched with extract of *Eriobotrya japonica* leaves. **Food Bioscience**, 38, 100-750, 2020.

Tang, L, Chen, S, Su, W, Weng, W, Osako, K, & Tanaka, M. Physicochemical properties and film-forming ability of fish skin collagen extracted from different freshwater species. **Process Biochemistry**, 50 (1), 148-155, 2015.

Wu, H, Lei, Y, Zhu, R, Zhao, M, Lu, J, Xiao, D, & Li, S. Preparation and characterization of bioactive edible packaging films based on pomelo peel flours

incorporating tea polyphenol. **Food Hydrocolloids**, 90, 41-49, 2019.

Yan, Q.Q, Hou, H.X, Guo, P, & Dong, H.Z. Effects of extrusion and glycerol content on properties of oxidized and acetylated corn starch-based films. **Carbohydrate Polymers**, 87, 707-712, 2012.

Yoo, S, & Krochta, J.M. Whey protein-polysaccharide blended edible film formation and barrier, tensile, thermal and transparency properties. **Journal of the Science of Food & Agriculture**, 91 (14), 2628–2636, 2011.

Zhang, C, Wang, Z, Li, Y, Yang, Y, Ju, X, & He, R. The preparation and physicochemical characterization of rapeseed protein hydrolysate-chitosan composite films. **Food Chemistry**, 272, 694-701, 2019.

Zavareze, E.D.R, Halal, S.L.M.E, Telles, A.C, & Prentice-Hernández, C. Biodegradable films based on fish myofibrillar proteins. **Brazilian Journal of Food Thecnology**, 15, 53-57, 2012.

CAPITULO IV: FILME ATIVO À BASE DE COLÁGENO E EXTRATOS DAS FOLHAS DE BATATA-DOCE E TAIOBA: APLICAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DA CARNE BOVINA IN NATURA

ACTIVE FILM BASED ON COLLAGEN AND SWEET POTATO AND TAIOBA LEAF EXTRACTS: APPLICATION AND QUALITY CONTROL OF FRESH BEEF

Gilmar Freire da Costa¹, Solange de Sousa¹, Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles², Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro¹

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras, Paraíba, Brasil

²Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil

Autor para correspondência: gilmarfreiredacosta@gmail.com

RESUMO

Um filme inovador à base de colágeno de pele de Tilápia e extratos de folhas de batata doce e taioba, plastificado com glicerol e sacarose, foi usado para estender a vida útil da carne bovina refrigerada. A carne bovina com e sem filme ativo foi monitorada por oito dias a 4°C, por meio de análises físico-químicas de perda de peso, cor, pH, índice de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, porcentagem de metamioglobina e teor de ferro heme. Os principais resultados mostraram que a carne bovina armazenada em embalagens contendo 0,1% de extratos vegetais apresentou as menores perdas de peso e cor. Os filmes contendo extrato também reduziram a oxidação lipídica e a conversão de ferro heme em ferro não heme, além de apresentarem os menores acúmulos de metamioglobina. Portanto, os filmes ativos mostraram ser mais eficazes na preservação da carne bovina do que o filme de policloreto de vinila usado como controle.

Palavras-chave: Aditivos naturais, Embalagem ativa, Oxidação lipídica, Prazo de validade.

ABSTRACT

An innovative film based on tilapia skin collagen and sweet potato and taioba leaf extracts, plasticized with glycerol and sucrose was used to extend the shelf life of refrigerated beef. Bovine meat with and without active films was monitored for eight days at 4°C, through physicochemical analyses of weight loss, color, pH, index of thiobarbituric acid reactive substances, percentage of metmyoglobin, and heme iron content. The main results showed that beef stored in packaging containing 0.1% plant extracts had the lowest losses in weight and color. The films containing extract also reduced lipid oxidation and conversion of heme iron to non-heme iron, in addition to presenting the lowest accumulations of metmyoglobin. Therefore, the active film proved to be more effective in preserving beef than the polyvinyl chloride film used as a control.

Keywords: Natural additives, Active packaging, Lipid oxidation, Shelf life.

1. INTRODUÇÃO

Durante o armazenamento refrigerado, os alimentos sofrem deterioração devido a processos químicos e microbiológicos, que não podem ser evitados pelas embalagens plásticas convencionais (Sahraee, Milani, Regenstein, & Kafil, 2019). Assim, uma solução para esse problema é a utilização de embalagens ativas que podem trazer diversos benefícios aos alimentos como preservação, manutenção da qualidade e segurança (Muratore, Barbosa, & Martini, 2019). Esse tipo de embalagem aumenta a vida útil de alimentos perecíveis, como carnes frescas, tornando-os acessíveis ao consumidor por mais tempo (Chen, Dong, Zhao, Li, & Chen, 2019).

A adição de antioxidantes naturais a filmes de extratos vegetais foi considerada, e o uso dessas substâncias tem um apelo maior em comparação com conservantes químicos, como butilhidroxianisol (BHA) e butilhidroxitolueno (BHT), devido à preferência dos consumidores por alimentos mais saudáveis (Adilah, Jamilah, Naranizan e Hanana, 2018). Nesse contexto, folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas*) e folhas de taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) foram utilizadas por serem fontes de compostos fenólicos com propriedades antioxidantes comprovadas em estudos

anteriores. Além disso, ambas as plantas são produtos naturais facilmente encontrados na natureza, com atividades biológicas específicas, e podem fornecer substâncias funcionais para a preservação de alimentos (Almeida, Monteiro, Raposo, & Maya-Farfán, 2013; Jose, Carvalho, & wiest, 2015).

A composição química da carne bovina *in natura* é um fator que contribui para sua rápida perecibilidade, proporcionando uma vida útil muito curta, em torno de 3 dias a 4°C (FDA / CFSAN, 2018). A perecibilidade da carne se deve aos altos níveis de umidade, contato com oxigênio e atividade enzimática, que favorecem principalmente o aumento da oxidação lipídica durante o armazenamento refrigerado. Esses processos de deterioração causam alterações indesejáveis de cor e sabor, afetando a qualidade nutricional da carne e reduzindo sua aceitabilidade comercial (Jiridi et al., 2018a; Mehdizadeh, Tajik, Langroodi, Molaei, & Mahmoudian, 2020). Os fatores que causam a oxidação dos lipídeos podem ser controlados pelo uso de aditivos antioxidantes. No entanto, devido aos riscos potenciais à saúde humana de alguns antioxidantes sintéticos comumente usados na indústria de alimentos, o uso de antioxidantes naturais pode ser uma alternativa para atender a demanda dos consumidores por produtos mais saudáveis (Oria, Rodriguez, Rubio, Fernandez, & Fernandez, 2019) Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo analisar os efeitos de um filme ativo de colágeno, contendo extratos de batata-doce e folha de taioba, no controle de qualidade de carne bovina *in natura* refrigerada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material e produtos químicos

A pele da Tilápia, da qual foi extraído o colágeno, e as folhas da batata-doce e da taioba foram adquiridas no município de Bananeiras (Paraíba, Brasil). A carne (contra-filé) foi adquirida em um supermercado da cidade de Campina Grande, na Paraíba. A sacarose e o ácido cítrico foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha). Os outros produtos químicos usados neste estudo (glicerol, metanol PA, clorofórmio PA, acetona PA, cloreto de sódio PA, ácido tricloroacético PA e solução tampão de fosfato de pH 6,8) foram adquiridos da “Dinâmica Química” Ltda (São Paulo, Brasil).

2.2. Extração de extratos de batata-doce e folhas de taioba

As folhas reduzidas a pó foram submetidas à extração líquido-sólido com etanol:

água (80:20, v / v) conforme previamente descrito por Cordeiro et al., (2013). 1g de pó seco foi suspenso em 10 mL do solvente seguido de homogeneização manual por 5 minutos e posteriormente o material vegetal foi deixado em contato com o solvente por 15 dias. Após esse período, as misturas foram centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos e os sobrenadantes obtidos foram evaporados a vácuo em evaporador rotativo (Fisatam) e colocados em vidro âmbar e armazenados sob refrigeração até sua caracterização.

2.3. Extração de colágeno da tilápia

O colágeno foi extraído da pele da Tilápia seguindo o método desenvolvido por Huang, Kuo, Wu, & Tsai, (2016) com modificações (temperatura, congelamento, refrigeração e tipo de material). As peles foram lavadas em água corrente e pesadas na proporção de 1: 1, seguidas de aquecimento a 60°C e mantidas nesta temperatura por 1 hora. Em seguida, a solução de colágeno foi filtrada e congelada a -18°C por 24 horas. Após esse período, a solução de colágeno foi refrigerada a 7°C por 48 horas para retirada da água e conseqüente concentração da rede de colágeno. Em seguida, o colágeno foi liofilizado (L19 Liotop) a -57°C, moído e armazenado sob refrigeração a 5°C até o momento do uso.

2.4. Preparando os filmes

Os filmes foram preparados pelo método de solution casting (Farhan & Hani, 2020). Uma solução aquosa de colágeno (6%, m / v) foi aquecida no micro-ondas até a temperatura de gelificação (83°C). Em seguida, foram adicionados à solução glicerol 1,5% e sacarose 0,7%, homogeneizados por 10 minutos e deixados em repouso por 90 minutos. Quando a solução filmogênica atingiu aproximadamente 40°C, foram adicionados extratos de batata-doce e folhas de taioba em concentrações fixas de 0,1%, homogeneizando por 10 minutos. A seguir, a solução foi pesada (45 g) em placas de Petri 150 x 15 mm e desidratada em estufa com circulação forçada de ar a 40°C por 24 horas. Os filmes foram armazenados em câmara BOD a 75% UR e 25°C, até serem aplicados nas amostras de carne bovina. Quatro formulações de filme foram obtidas: C6% = filme sem extratos, C6% -EFBD = filme com extrato de folha de batata-doce, C6% -EFT = filme com extrato de folha de taioba e C6% -EFBD-EFT = filme contendo batata doce e taioba extratos de folhas.

2.5. Aplicação de filmes ativos à carne bovina

O experimento foi montado usando bandejas de poliestireno expandido, nas quais o filme ativo foi intercalado com o corte de carne (6–8 cm de espessura) de forma que ambos os lados do bife fossem cobertos pelo filme. Cada bandeja continha três bifês, correspondentes a cada tratamento. As bandejas contendo as carnes embaladas nos filmes foram armazenadas em câmara BOD a 4°C. Para o tratamento controle, a carne bovina foi embalada em filmes de policloreto de vinila (PVC). A carne foi monitorada por oito dias, com cinco intervalos de tempo (0, 2, 4, 6 e 8) para as análises físico-químicas.

2.6. Caracterização de filmes

2.6.1. Espessura e propriedades mecânicas

A espessura do filme foi medida por um paquímetro digital (Mitutoyo-Co, Japão) com precisão de 0,001 mm, a partir de 5 posições aleatórias dos filmes (Beigomi, Mohsensadeh, & Salari, 2018). As propriedades mecânicas dos filmes ativos, como resistência à tração e porcentagem de alongamento, foram analisadas por meio de um instrumento de ensaio estático (SHIMADZU, Japão), operando de acordo com as especificações da ASTM D882-12 (ASTM, 2012). Os filmes foram acondicionados por 72 horas em estufa com umidade relativa de 75% a 25°C. Os corpos de prova foram cortados em tiras (70 mm de comprimento x 15 mm de largura), com as garras em posição inicial de 50 mm e velocidade de separação de 12,5 mm / min. Cada tratamento consistiu em cinco repetições e os resultados foram expressos como porcentagem de alongamento e resistência à tração (MPa).

2.6.2. Permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água foi analisada de acordo com a norma ASTM 96-95 (2000), com algumas modificações (Água destilada, Erlenmeyer, cola Durex). Amostras de filmes foram fixadas em uma célula de permeação de vidro contendo 50 ml de água destilada e seladas hermeticamente. O sistema foi pesado para registro inicial da massa e armazenado em um dessecador a 25 ° C com sílica gel. Posteriormente, o sistema foi pesado a cada 24 horas durante 7 dias, e a permeabilidade ao vapor de água foi calculada com base na Equação 1.

$$PVA = \frac{(C_i/A) \cdot X}{P_s (RU_1 - RU_2)} \quad 1$$

Onde C_i é o coeficiente angular da linha gerado pela perda de peso do sistema em função do tempo; A é a área do filme (m^2); X corresponde à espessura (mm); P_s é a pressão de saturação do vapor d'água a $25^\circ C$ (22, 2 mmHg); RU_1 é a umidade relativa na câmara (0%); RU é a umidade relativa dentro da cápsula (100%). O resultado foi expresso em $gH_2Omm / m^2.h.mmHg$.

2.7. Caracterização da carne

2.7.1. Perda de peso

A perda de peso das amostras nos dias 2, 4, 6 e 8 foi medida de acordo com Jridi et al., (2018b) e calculada pela Equação 2.

$$\text{Perda de peso (\%)} = \frac{(PI - PF)}{PI} \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

Onde PI é o peso inicial da amostra e PF é o peso da mesma amostra após 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento.

2.7.2. Medição de cor

A cor da carne foi determinada em colorímetro (410 Minolta Chroma Meter, Osaka, Japão) com iluminante D65 e observador 10° , conforme método descrito por Holman, Collins, Kilgannon, & Hopkins (2018). Oito leituras foram feitas em pontos diferentes na superfície de cada lombo de vaca lendo os parâmetros L^* (brilho), a^* (intensidade de vermelho / verde) e b^* (intensidade de amarelo / azul).

2.7.3. Medição de pH

O pH das amostras foi medido em um medidor de pH (PHS-3C) contendo um eletrodo com compensação de temperatura (ambos da TPS Pty Ltd., Brisbane, QLD, Austrália) (Cao, Warner, & Fang, 2019). O medidor de pH foi calibrado usando soluções tampão de pH 4 e 7 antes de ser usado.

2.7.4. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi avaliada com base na dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo método descrito por Ganhão, Estévez, & Morcuende, (2011), com algumas modificações (quantidade de amostra e ácido tricloroacético). Uma amostra de 2,5 gramas foi homogeneizada em 7,5 ml de ácido tricloroacético (TCA) a 10% e filtrada. O volume da amostra foi completado para 10 ml e centrifugado por 3 minutos a 3500 rpm. Em seguida, 2 ml da mistura centrifugada foram misturados com 2 ml de ácido 2-tiobarbitúrico (0,02 M TBA). Os tubos foram colocados em banho-maria a 90°C por 30 minutos. Em seguida, os tubos foram resfriados por 5 minutos. A leitura da absorbância foi realizada a 532 nm. Uma curva padrão ($y = 0,15x - 0,30 = R^2 = 0,87$) de 1,1,3,3-tetraetoxipropano foi usada para calcular os resultados. O valor de TBARS foi expresso em mg MDA (equivalente de malonaldeído) por kg de amostra.

2.7.5. Teor de metamioglobina

O conteúdo de metamioglobina foi determinado de acordo com o método proposto por Fernandez et al., (2003). Cinco gramas de carne bovina foram homogeneizados em 25 ml de solução tampão de fosfato 0,04 M (pH 6,8) por 15 segundos (homogeneizador Vortex). Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 4000 rpm e o sobrenadante foi filtrado. A solução obtida foi analisada por espectrofotometria, medindo-se a absorbância em 525, 572 e 730 nm. A porcentagem de metamioglobina foi calculada com base na Equação 3.

$$MMB(\%) = \frac{1.395 - (A_{572} - A_{730})}{(A_{525} - A_{730})} \times 100 \quad \text{Eq. 3}$$

2.7.6. Teor de ferro heme

O teor de ferro heme foi determinado de acordo com o método descrito por Clark, Mahoney, & Carpenter (1997). Uma amostra de 2 gramas de carne bovina foi homogeneizada em 9 ml de acetona acidificada. Em seguida, a solução foi deixada em repouso a 25°C, protegida da luz, por 1 hora. Após esse período, a solução foi filtrada e analisada por espectrofotometria a 640 nm. A quantidade de ferro heme foi calculada de acordo com a Equação 4.

$$\text{Heme iron } (\mu\text{g/g of meat}) = A_{640} \times 680 \times 0.0882 \quad \text{Eq. 4}$$

Onde A_{640} é a absorvância medida a 640 nm; 680 e 0, 0882 são valores constantes na equação.

2.8. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), em delineamento inteiramente casualizado (DIC), e os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão. Quando houve efeito significativo ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Duncan, utilizando o software SAS® System (2012), versão 9.2.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Espessura, Propriedades mecânicas e Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A espessura, propriedades mecânicas e PVA dos filmes preparados sem e com extratos são apresentadas na Tabela 1. A adição dos extratos aos filmes não modificou sua espessura. A uniformidade durante o processo de elaboração é evidenciada pela ausência de diferenças ($p > 0,05$) entre todos os tratamentos. Isso pode ser devido ao baixo conteúdo de extratos SPLE e TLE adicionados ao filme. Esse resultado está relacionado aos grupos hidroxila presentes nos compostos fenólicos desses extratos vegetais, que formaram ligações de hidrogênio intermoleculares com os grupos amino dos filmes, tornando os extratos uniformemente distribuídos no espaço da matriz do filme.

Tabela 1: Espessura, permeabilidade ao vapor de água (PVA), resistência à tração e porcentagem de alongamento de filmes de colágeno contendo extratos vegetais

| Tratamentos | Espessura (mm) | Resistência a tração (MPa) | Porcentagem de alongamento (%) | PVA (gH ₂ O mm/m ² h mmHg) |
|--------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--|
| C6% | 0,072 \pm 0,00 ^a | 8,46 \pm 1,10 ^d | 199,2 \pm 7,39 ^d | 1,40 \pm 0,05 ^a |
| C6%-EFBD | 0,072 \pm 0,00 ^a | 13,6 \pm 0,96 ^c | 265,5 \pm 2,72 ^a | 1,15 \pm 0,11 ^b |
| C6%-EFT | 0,062 \pm 0,01 ^a | 19,6 \pm 1,38 ^b | 216,5 \pm 1,49 ^c | 0,91 \pm 0,02 ^c |
| C6%-EFBD-EFT | 0,068 \pm 0,00 ^a | 26,3 \pm 0,54 ^a | 247,2 \pm 4,04 ^b | 1,16 \pm 0,02 ^b |

C6% = filme sem extratos, C6% -SPLE = filme com extrato de folha de batata-doce, C6% -TLE = filme com extrato de folha de taioba e C6% -SPLE-TLE = filme contendo extrato de batata doce e folha de taioba.

a-d: Os valores com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Liu et al., (2019a) também não encontraram alterações na espessura do filme de

gelatina de peixe na presença de extratos de baga de haskap (*Lonicera caerulea* L.) ricos em compostos fenólicos, e atribuíram esse comportamento à distribuição uniforme do extrato no matriz de filme.

A adição de extratos hidroalcoólicos de batata-doce e folhas de taioba influenciou a resistência à tração e a porcentagem de alongamento dos filmes à base de colágeno.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos, nos quais os filmes contendo extratos apresentaram os maiores valores, sendo mais resistentes e alongados que o filme C6%. Este resultado está relacionado às interações moleculares entre os compostos ativos dos extratos e o colágeno, contribuindo para a formação de filmes mais coesos e flexíveis.

Essas interações intermoleculares entre extratos de plantas e filmes também foram registradas por Liu et al., (2019b), que observaram que os extratos de haskap berry aumentaram a resistência à tração e a porcentagem de alongamento de filmes de gelatina de peixe de água fria. Segundo Zhai et al., (2018), interações entre extratos vegetais e filmes também ocorrem devido à ligação de hidrogênio formada entre os compostos fenólicos dos extratos e os filmes, tornando-os mais firmes e resistentes.

Os valores de resistência à tração obtidos para os filmes C6% -TLE e C6% -SPLE-TLE foram maiores do que os encontrados por Madaleno, Rosa, Zawadzki, Pedrouzo, & Ramos, (2009) para filmes de cloreto de polivinila (PVC) produzidos com diferentes plastificantes, que apresentava valores em torno de 18 MPa. Por outro lado, esses autores encontraram maior percentual de alongamento para os filmes de PVC, o que foi associado a uma maior concentração (40%) dos plastificantes utilizados.

A partir dessas comparações, fica comprovado que os filmes de colágeno contendo extratos vegetais, desenvolvidos neste estudo, foram mais resistentes que os filmes de PVC estudados pelos autores supracitados. Esse é um resultado positivo, pois embalagens resistentes são essenciais para proteger os produtos alimentícios de danos mecânicos durante o processamento, transporte e distribuição aos consumidores.

A permeabilidade ao vapor d'água é uma importante propriedade de barreira às embalagens, garantindo maior integridade da estrutura da embalagem, além de reduzir a transferência de umidade entre os alimentos e a atmosfera do entorno, sendo fundamental para a manutenção da qualidade e segurança alimentar.

O filme controle (C6% sem extratos) apresentou o maior WVP, que foi significativamente menor nos demais tratamentos ($p < 0,05$), em comparação ao

controle. Este comportamento foi influenciado pelos compostos fenólicos dos extratos, que possivelmente produziram uma rede hidrofóbica, firme e coesiva, impedindo parcialmente a passagem de água pelo filme.

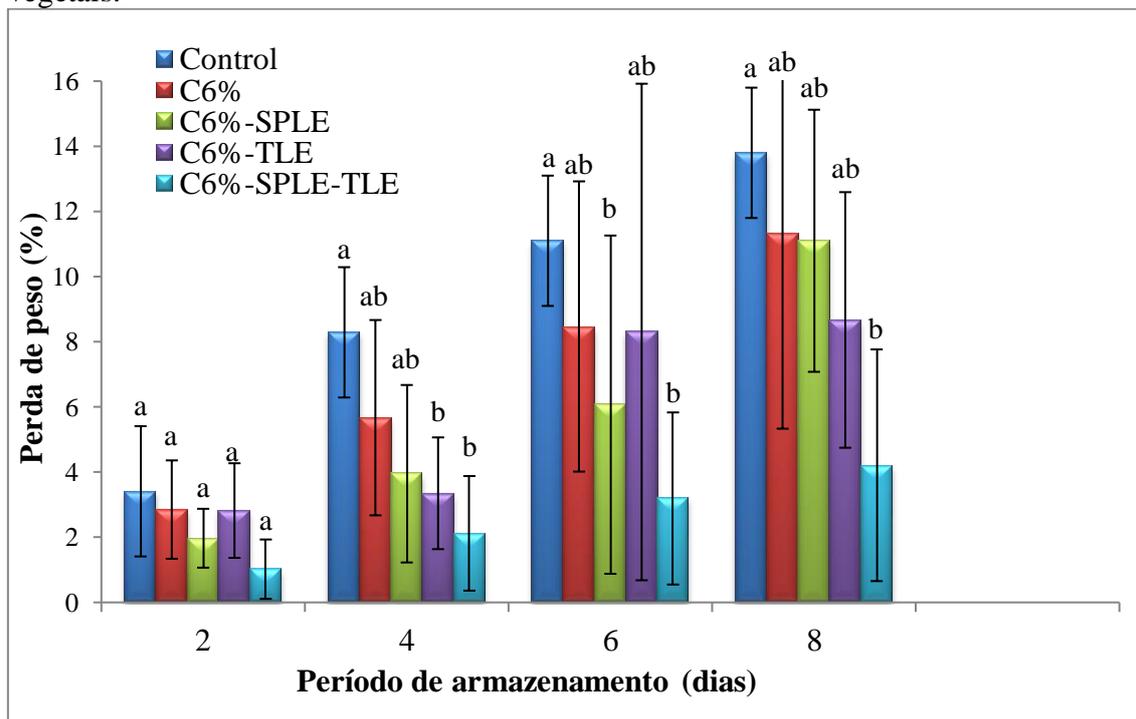
O vapor de água tem maior probabilidade de se espalhar em regiões amorfas na matriz do filme à base de proteína (Khan et al., 2012). Assim, a diminuição do WVP em filmes contendo extratos de batata-doce e folhas de taioba, usados individualmente ou em combinação, também pode estar relacionada a regiões amorfas menores nesses filmes. Outro fato importante é que o tratamento contendo apenas extrato de folha de taioba (C6% -TLE) teve um valor de WVP inferior ($p < 0,05$) em comparação com os demais tratamentos, o que pode ter resultado das diferentes interações entre a estrutura do polímero biodegradável e o compostos ativos presentes neste extrato.

Os resultados obtidos nesta pesquisa foram consistentes com os encontrados por Rasid, Nazmi, Isa, & Sarbon, (2018), que observaram uma diminuição do WVP no filme de gelatina bovina adicionado ao extrato de Centella asiatica. Segundo esses autores, esse resultado se deve ao menor volume de água na matriz polimérica ocasionado pelo extrato adicionado.

3.4. Perda de peso (Pp)

A perda de peso da carne bovina foi medida antes e após o uso dos filmes, durante o armazenamento a 4 °C (Figura 1). Amostras de carne bovina armazenadas em filmes com e sem (C6%) extratos tiveram menor perda de peso (Pp) do que as amostras controle (PVC), durante todo o período de armazenamento refrigerado, especialmente amostras C6%-EFBD-EFT ($p < 0,05$), cujo a Pp foi inferior ao Pp das amostras controle, do segundo ao oitavo dia.

Figura 1: Perda de peso (%) em carne bovina armazenada em filmes com e sem extratos vegetais.



Controle = Filme de policloreto de vinila (PVC), C6% = filme sem extratos, C6%-EFBD = filme com extrato de folha de batata-doce, C6%-EFT = filme com extrato de folha de taioba e C6%-EFBD-EFT = filme contendo doce extratos de batata e folhas de taioba.

Barras com letras diferentes no mesmo dia são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Ao final do período de armazenamento, o Pp na carne bovina armazenada em filmes sem extratos foi inferior a 18,4% em relação ao controle. Filmes baseados em EFBD e EFT reduziram Pp em 19,8% e 37,5% em comparação com o controle, respectivamente. Os melhores resultados foram obtidos para os filmes contendo ambos os extratos (C6%-EFBD-EFT), que reduziram o Pp em até 69,6% no último dia de armazenamento, apresentando um Pp inferior ($p < 0,05$) em comparação com o controle (PVC)

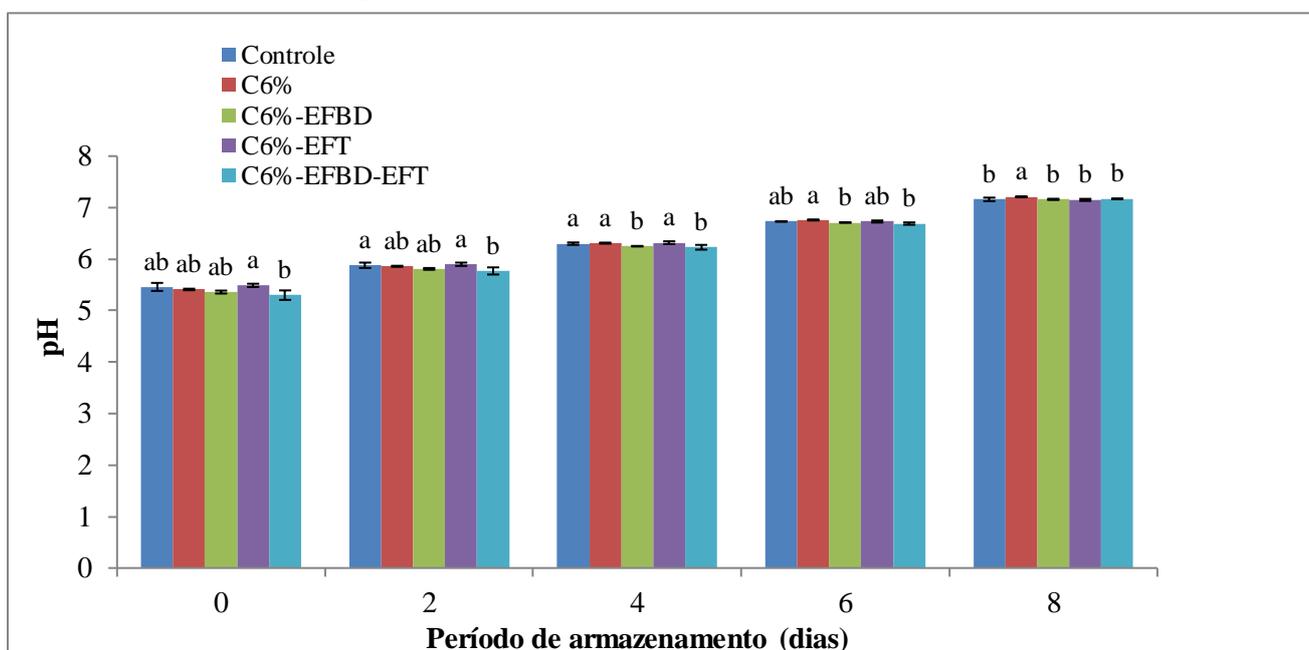
Esse resultado pode estar relacionado à adição de extratos, que interagiram com os aminoácidos por meio de ligações de hidrogênio no interior e na superfície do filme de colágeno, aumentando sua hidrofobicidade e resultando na diminuição da perda de água na carne durante o período de armazenamento, atuando como uma barreira física (Silva & Penna, 2012). Bandypadyay, Glosch, & Ghosh, (2012) relataram que a interação entre compostos fenólicos e proteínas é impulsionada por dois fatores principais: interação hidrofóbica e interações de ligações de hidrogênio.

Esses resultados mostraram que os filmes de colágeno contendo os extratos foram mais eficientes em retardar a perda de peso em bovinos do que os filmes de polipropileno revestidos com álcool polivinílico analisados por Han, Wang, Li, Lu, & (2014), que observaram essa perda de peso em todos os bovinos. as amostras aumentaram ao longo de 12 dias de armazenamento, sem diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos.

3.5. pH

O pH é um indicador importante da qualidade da carne fresca. O pH da carne bovina fresca geralmente varia de cerca de 5,50-5,80, que é uma faixa de pH ideal para consumo (Kim et al., 2016). O pH inicial (no dia 0) da carne analisada variou de 5,30 nas amostras C6%-EFBD-EFT a 5,49 nas amostras C6%-EFT, aumentando gradativamente ao longo dos oito dias de armazenamento refrigerado (Figura 2). Porém, C6%-EFBD-EFT controlou parcialmente o pH do segundo ao quarto dia de armazenamento, o que é confirmado por uma diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao controle.

Figura 2: Mudanças nos valores de pH em amostras de carne bovina durante 8 dias de armazenamento refrigerado (4 °C).



Controle = Filme de policloreto de vinila (PVC), C6% = filme sem extratos, C6% -SPLE = filme com extrato de folha de batata-doce, C6% -TLE = filme com extrato de folha de taioba e C6% -SPLE-TLE = filme contendo doce extratos de batata e folhas de taioba.

Barras com letras diferentes no mesmo dia são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Porém, principalmente do sexto ao oitavo dia de armazenamento, os valores de pH aumentaram dramaticamente em todos os tratamentos. Esse comportamento se deve ao processo de biodeterioração das proteínas, resultando em alta degradação das proteínas pela decomposição dos aminoácidos livres, levando à formação de amônia (NH₃) e aminas alcalinas (Iljaz et al., 2020). Isso também foi confirmado em estudos anteriores de Karabagias, Badeka, & Kontominas, (2011); Battisti et al., (2017), que associaram o aumento do pH em amostras de carne bovina à deterioração de proteínas e nucleotídeos musculares, resultando na formação de amônia e aminas por meio de uma reação alcalina.

3.6. Mudanças de cor

A cor da carne fresca é um importante indicador de qualidade visual e os parâmetros CIE-LAB (L*, a*, b*) são amplamente usados para medir a qualidade da cor, cujos altos valores de L*, a* e b* indicam uma maior intensidade do brilho, vermelho e amarelo, respectivamente (Pathare, Opara, & Al-Said, 2013).

Os valores L* em todos os tratamentos mostraram um comportamento decrescente ao longo dos 8 dias de monitoramento, sugerindo uma coloração levemente escura mais intensa nas amostras controle (Tabela 2). No entanto, nenhuma tendência ($p > 0,05$) foi observada entre os diferentes grupos de tratamento.

O pH afetou diretamente a cor da carne in natura, que se tornou mais escura ao longo do armazenamento refrigerado, resultando em carne com características DFD (escura, firme e seca). Conforme o pH aumenta, a capacidade de retenção de água das proteínas musculares também aumenta, fazendo com que as fibras inchem e o espaço entre as fibrilas musculares diminua. Esse fenômeno causa uma diminuição na dispersão da luz e aumenta a absorção de luz pela mioglobina e, como consequência, a cor da superfície da carne parece mais escura (Wu et al., 2020).

Esse resultado foi semelhante aos encontrados por Shange, Gouws, & Hoffman, (2019), que concluíram que a carne com pH alto tem uma cor menos estável em comparação com a carne com pH normal. Outra pesquisa de Hugles, Clarke, Li, Purslow e Warner, (2018) também mostrou que o aumento do pH contribuiu para o escurecimento dos músculos longissimus torácicos na carne bovina.

Tabela 2: Mudanças nas características de cor em amostras de carne durante 0, 2, 4, 6 e 8 dias de armazenamento refrigerado

| Atributos | Tratamentos | Período de armazenamento (dias) | | | | |
|-----------|--------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| L* | Controle | 36,0±0,63 ^{aA} | 35,8±0,74 ^{aA} | 35,6±0,88 ^{aA} | 35,5±1,55 ^{aA} | 32,7±5,32 ^{aA} |
| | C6% | 36,4±2,12 ^{aA} | 35,6±1,32 ^{aA} | 35,7±2,22 ^{aA} | 35,7±3,97 ^{aA} | 33,4±5,93 ^{aA} |
| | C6%-EFBD | 36,2±1,47 ^{aA} | 36,0±0,69 ^{aA} | 36,8±0,43 ^{aA} | 36,6±2,43 ^{aA} | 34,4±7,72 ^{aA} |
| | C6%-EFT | 37,4±0,37 ^{aA} | 36,6±0,66 ^{aA} | 36,3±0,67 ^{aA} | 36,1±0,74 ^{aA} | 34,9±2,33 ^{aA} |
| | C6%-EFBD-EFT | 37,7±1,62 ^{aA} | 36,9±1,78 ^{aA} | 36,2±3,06 ^{aA} | 35,7±4,66 ^{aA} | 35,4±6,03 ^{aA} |
| a* | Controle | 12,3±0,88 ^{bA} | 10,8±0,62 ^{cA} | 8,52±1,39 ^{bB} | 6,80±1,74 ^{aBC} | 5,13±2,08 ^{aC} |
| | C6% | 16,3±1,37 ^{aA} | 14,0±1,47 ^{abAB} | 11,9±2,81 ^{abAB} | 9,44±5,68 ^{aB} | 10,1±2,11 ^{aB} |
| | C6%-EFBD | 15,1±2,01 ^{aA} | 12,6±0,87 ^{bAB} | 10,3±2,64 ^{abAB} | 8,39±4,37 ^{aAB} | 6,85±5,87 ^{aB} |
| | C6%-EFT | 16,7±1,24 ^{aA} | 13,5±1,12 ^{bB} | 10,7±0,86 ^{abC} | 8,05±1,05 ^{aD} | 5,47±1,52 ^{aE} |
| | C6%-EFBD-EFT | 16,5±2,63 ^{aA} | 15,3±1,60 ^{aA} | 13,4±1,24 ^{aAB} | 10,1±2,50 ^{aB} | 9,68±6,26 ^{aB} |
| b* | Controle | 11,7±0,33 ^{aA} | 10,4±0,28 ^{aA} | 10,7±0,58 ^{bA} | 10,4±1,18 ^{aA} | 10,2±1,64 ^{abA} |
| | C6% | 12,0±0,35 ^{aA} | 11,3±0,82 ^{aA} | 12,4±1,26 ^{aA} | 11,2±3,08 ^{aA} | 12,1±1,23 ^{aA} |
| | C6%-EFBD | 12,2±0,79 ^{aA} | 11,2±0,65 ^{aAB} | 10,2±0,65 ^{bCB} | 9,57±1,05 ^{aCB} | 8,91±1,34 ^{bC} |
| | C6%-EFT | 12,8±0,33 ^{aA} | 11,7±0,48 ^{aB} | 10,8±0,53 ^{abBC} | 10,1±0,69 ^{aDC} | 9,40±2,00 ^{abD} |
| | C6%-EFBD-EFT | 12,9±1,70 ^{aA} | 11,5±1,08 ^{aAB} | 11,7±0,52 ^{abAB} | 10,7±1,12 ^{aB} | 11,4±2,00 ^{abAB} |

Controle = Filme de policloreto de vinila (PVC), C6% = filme sem extratos, C6%-EFBD = filme com extrato de folha de batata-doce, C6% -EFT = filme com extrato de folha de taioba e C6% -EFBD-EFT = filme contendo doce extratos de batata e folhas de taioba.

a-c = Valores com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (p <0, 05).

A-E = Valores com letras maiúsculas diferentes na mesma linha são significativamente diferentes (p <0, 05).

A cor vermelha intensa (a^*) na carne bovina é comumente usada como padrão de qualidade pelos consumidores, e altos valores de vermelhidão geralmente indicam carne mais fresca (AMSA, 2012). As amostras C6%, C6%-EFBD e C6%-EFT apresentaram valores de a^* maiores ($p < 0,05$) do que as amostras de controle até o segundo dia, e as amostras C6%-EFBD-EFT apresentaram o mesmo comportamento até o quarto dia de armazenamento refrigerado. Posteriormente, todas as amostras tiveram uma diminuição gradativa da coloração vermelha, o que pode ser explicado pela alta capacidade respiratória das mitocôndrias, competindo com a mioglobina pelo oxigênio disponível, mantendo assim a mioglobina desoxigenada, resultando em carne parcialmente marrom devido à formação de metamioglobina (Lu, Cornforth, Carpenter, Zhu, & Luo, 2020; Xiong, Chen, Warner e Fang, 2020).

No entanto, as amostras armazenadas em filmes contendo extratos tiveram uma perda menos intensa da cor vermelha em comparação com as amostras controle. Esse comportamento pode ser observado individualmente para cada tratamento ao longo do período de armazenamento. Mesmo assim, a presença de extratos na embalagem não teve um efeito significativo esperado na prevenção da perda da cor vermelha na carne bovina, até o final do período de armazenamento, demonstrando que a concentração de 0,1% dos extratos adicionados à embalagem pode ter sido baixo e não pode promover um efeito protetor prolongado.

Esses resultados corroboram os de Camo, Lorés, Djenane, Beltrán, & Roncalés, (2011) que adicionaram extrato de orégano às embalagens e observaram que a menor concentração de 0,5% não evitou a perda da cor vermelha na carne bovina; entretanto, melhores resultados foram obtidos quando utilizaram a concentração de 1,0%, indicando que embalagens com maiores concentrações de extrato foram essenciais para preservar a cor vermelha da carne durante o armazenamento refrigerado. Em relação aos valores de b^* , houve poucas diferenças entre os tratamentos; uma diferença significativa ($p < 0,05$) pôde ser observada entre C6%, controle, e C6%-EFBD apenas no quarto e oitavo dia de armazenamento.

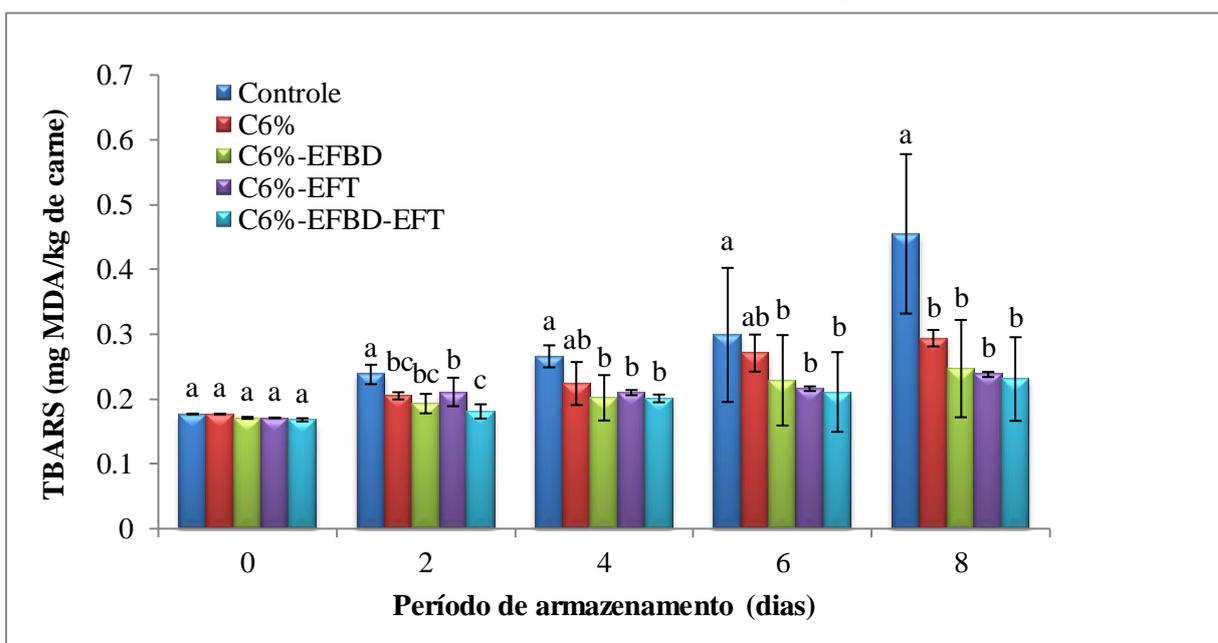
3.7. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica na carne bovina foi avaliada pelo método TBARS, que mede a quantidade de produtos secundários produzidos durante a oxidação lipídica, cujo maior valor indica maior grau de deterioração, sendo um fator limitante da vida de prateleira dos alimentos, principalmente carnes e derivados. A percepção do sabor

rançoso devido à oxidação lipídica é detectada pelos consumidores quando o valor TBARS é superior ao limite de 0,5 mg MDA / kg de carne (Silva, Borges, & Ferreira, 1999).

TBARS na carne bovina armazenada em embalagem de PVC (controle) aumentou significativamente ($p < 0,05$) durante o armazenamento, atingindo o valor de 0,455 mg MDA / kg aos oito dias de monitoramento; um valor muito próximo do limite perceptivo de ranço (Figura 3). Por outro lado, a carne bovina armazenada em embalagens contendo 0,1% de extratos vegetais teve uma redução significativa em TBARS, sem diferença significativa ($p > 0,05$) entre esses grupos de tratamento. Esses resultados são corroborados por Jião, Quek, Gu, guo, & Liu, (2020), que analisaram carne bovina armazenada em embalagens contendo antioxidantes sintéticos e naturais em diferentes concentrações e descobriram que as concentrações mais altas não resultaram em melhor controle da estabilidade oxidativa. em comparação com as concentrações mais baixas testadas. Isso reforça a hipótese de que os compostos fenólicos atuam em concentrações muito baixas, apresentando uma correlação não linear entre sua eficácia antioxidante e o teor adicionado à embalagem para proteção oxidativa da carne.

Figura 3: Alterações na oxidação lipídica (valores TBARS, mg MDA / kg de carne) em amostras de carne bovina durante 8 dias de armazenamento refrigerado (4°C).



Controle = Filme de policloreto de vinila (PVC), C6% = filme sem extratos, C6% -SPLE = filme com extrato de folha de batata-doce, C6% -TLE = filme com extrato de folha de taioba e C6% -SPLE-TLE = filme contendo doce extratos de batata e folhas de taioba.

Barras com letras diferentes no mesmo dia são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

A eficácia antioxidante evidenciada pelas embalagens ativas pode ser atribuída à adição de extratos de batata-doce e folhas de taioba, que são fontes de compostos fenólicos com atividade antioxidante. Antocianinas, flavonóides como rutina, miricetina, quercetina e ácidos fenólicos (por exemplo, caféico, singênico e p-cumárico) destacaram-se entre os compostos presentes nesses extratos (Islam, 2006; Araujo et al., 2017).

O acondicionamento sem extratos (C6%) foi eficaz na prevenção da oxidação lipídica apenas no segundo e oitavo dias de armazenamento, em comparação com o tratamento controle. Isso se deve às moléculas bioativas, como peptídeos e tripeptídeos, que possivelmente desempenharam um papel antioxidante, reduzindo parcialmente a deterioração oxidativa na carne bovina (Ferraro, Anton, & Santé-Lhoutellier, 2016; Ennaas et al., 2016; Kim & Venkatesan, 2014; Ohashi et al., 2015).

3.8. Mudanças na porcentagem de metamioglobina e teor de ferro heme

Na oxidação lipídica, o ferro heme pode ser parcialmente convertido em ferro não heme em carnes e produtos cárneos (Rezaei & Hosseini, 2008). O teor de ferro heme em amostras de carne bovina armazenadas em filme de colágeno com e sem extratos, bem como nas amostras de controle, são mostrados na Tabela 3.

As amostras de controle tinham uma concentração menor de pigmento heme do que as outras amostras, indicando que o ferro heme foi totalmente convertido em ferro não heme durante o armazenamento refrigerado. Esse comportamento está relacionado ao aumento dos níveis de TBARS, uma vez que o ferro não heme acelera a oxidação lipídica. O filme de colágeno (C6%) e o filme contendo extrato de folha de batata-doce (C6%-EFBD) reduziram a perda de ferro heme até o quarto dia, e C6% -EFT e C6% -EFBD-EFT reduziram a perda de pigmento heme até o sexto dia de armazenamento refrigerado em relação ao tratamento controle.

Tabela 3: Mudanças na porcentagem de metamioglobina e teor de ferro heme em amostras de carne durante o armazenamento refrigerado

| | | | | | | |
|--|--------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Conteúdo de ferro heme ($\mu\text{g/g}$) | Controle | 3,89 \pm 0,59 ^{bA} | 3,45 \pm 0,48 ^{bA} | 2,17 \pm 0,06 ^{bA} | 2,99 \pm 1,52 ^{bA} | 3,43 \pm 0,60 ^{abA} |
| | C6% | 5,37 \pm 1,21 ^{abA} | 6,87 \pm 1,63 ^{aA} | 6,10 \pm 0,00 ^{aA} | 5,87 \pm 0,79 ^{abA} | 6,05 \pm 0,54 ^{abA} |
| | C6%-EFBD | 5,17 \pm 1,48 ^{abA} | 5,25 \pm 0,84 ^{abA} | 4,01 \pm 0,42 ^{abAB} | 3,27 \pm 0,64 ^{bB} | 2,53 \pm 0,71 ^{bB} |
| | C6%-EFT | 6,59 \pm 1,37 ^{aA} | 6,77 \pm 1,32 ^{aA} | 6,29 \pm 2,40 ^{aA} | 7,64 \pm 3,57 ^{aA} | 7,48 \pm 2,78 ^{aA} |
| | C6%-EFBD-EFT | 6,86 \pm 1,59 ^{aA} | 7,83 \pm 1,42 ^{aA} | 6,75 \pm 1,63 ^{aA} | 7,45 \pm 2,57 ^{aA} | 6,96 \pm 3,98 ^{aA} |
| MMb% | Controle | 25,3 \pm 5,89 ^{bC} | 35,7 \pm 4,21 ^{aB} | 46,1 \pm 2,98 ^{aA} | 36,4 \pm 6,22 ^{bB} | 48,5 \pm 2,10 ^{aA} |
| | C6% | 42,6 \pm 5,83 ^{aAB} | 37,7 \pm 2,27 ^{aAB} | 32,9 \pm 1,76 ^{cB} | 43,0 \pm 1,20 ^{aAB} | 47,0 \pm 10,55 ^{aA} |
| | C6%-EFBD | 40,8 \pm 7,15 ^{aAB} | 38,5 \pm 3,91 ^{aB} | 36,3 \pm 1,53 ^{cB} | 30,4 \pm 2,03 ^{bB} | 50,4 \pm 1,60 ^{aA} |
| | C6%-EFT | 40,2 \pm 5,53 ^{aB} | 40,0 \pm 2,32 ^{aB} | 39,8 \pm 0,95 ^{bB} | 47,5 \pm 2,25 ^{aA} | 42,5 \pm 4,40 ^{aAB} |
| | C6%-EFBD-EFT | 42,0 \pm 5,77 ^{aAB} | 38,7 \pm 3,01 ^{aAB} | 35,5 \pm 1,25 ^{cB} | 33,2 \pm 3,65 ^{bB} | 45,4 \pm 2,81 ^{aA} |

Controle = Filme de policloreto de vinila (PVC), C6% = filme sem extratos, C6%-EFBD = filme com extrato de folha de batata-doce, C6% -EFT = filme com extrato de folha de taioba e C6% -EFBD-EFT = filme contendo doce extratos de batata e folhas de taioba.

a-c = Valores com letras minúsculas diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($p < 0, 05$).

A-C = Valores com letras maiúsculas diferentes na mesma linha são significativamente diferentes ($p < 0, 05$).

MMb% = Porcentagem de metamioglobina.

O conteúdo de metamioglobina (MMb) foi inicialmente baixo nas amostras de controle, em comparação com os outros grupos de tratamento, mas aumentou até o quarto dia de armazenamento, enquanto as amostras de carne bovina armazenadas em embalagem ativa tiveram uma diminuição significativa no MMb ($p < 0,05$) em comparação com o controle, no mesmo período. Isso implica que as amostras controle tiveram um aumento no consumo de oxigênio, favorecendo as mitocôndrias na competição com a mioglobina por oxigênio disponível, resultando na formação de mais MMb. Por outro lado, o consumo de oxigênio foi baixo nas amostras de carne bovina armazenadas em embalagem ativa. Isso pode estar relacionado ao efeito dos compostos fenólicos nos extratos, levando à formação de equivalentes redutores baixos (NADH), que podem reduzir as espécies ferril mioglobina, evitando um maior acúmulo de MMb na superfície da carne bovina (Libardi, Pindstrop, Cardoso, & Skibsted, 2013).

Esse comportamento está comumente relacionado aos valores de cor (L^* e a^*), especificamente a^* , que indicou as menores perdas de cor nas amostras armazenadas em embalagem ativa em comparação com o controle. De acordo com estudos anteriores (Samuel, Hunt, Kropf, Hachmeister, & Johnson, 2002; Mckena et al., 2005), uma taxa mais baixa de consumo de oxigênio pode estender a vida útil da carne.

No sexto dia de armazenamento, houve diferença ($p < 0,05$) entre os tratamentos, com rápida diminuição dos valores de cor nas amostras controle, C6%-EFBD e C6% -EFBD-EFT; entretanto, nenhum efeito foi observado no comportamento do MMb em amostras de carne bovina no oitavo dia de armazenamento refrigerado, que apresentaram rápida descoloração semelhante aos escores de cor (L^* e a^*), que eram muito baixos ao final do armazenamento.

Segundo Greene, Hsin & Zipser (1971), os consumidores tendem a rejeitar carnes cujo teor de MMb esteja acima de 40%. Assim até o sexto dia de armazenamento, C6% -EFBD e C6% -EFBD-EFT apresentaram os melhores resultados.

Esse resultado evidenciou que filmes contendo os extratos podem reduzir a oxidação do pigmento O₂Mb a MMb. No entanto, deve-se considerar que a cor vermelho-púrpura das amostras não é muito apreciada pelos consumidores. No entanto, embora a cor vermelha brilhante da carne fresca não tenha sido mantida, os filmes C6% -EFBD e C6% -EFBD-EFT atuaram parcialmente como agentes redutores, retardando a redução de Mb + para MMb.

4. CONCLUSÃO

O inovador filme de colágeno ativo contendo 0, 1% de extrato de batata-doce e folha de taioba mostrou-se eficiente no controle de qualidade de carne bovina in natura refrigerada, em comparação ao tratamento controle (PVC). Amostras de carne bovina de C6%-EFBD, EFT e EFBD-EFT tiveram uma diminuição bem-sucedida na perda de peso e na oxidação de lipídios. A diminuição dos escores de cor e do teor de ferro heme e o aumento da porcentagem de metamioglobina também foram menores na carne bovina armazenada em filmes contendo extratos vegetais. Porém, apenas C6%-EFBD e C6%-EFBD-EFT conseguiram estabilizar parcialmente o pH, até o quarto dia de armazenamento.

Desta forma, novos estudos são essenciais para um melhor entendimento desta embalagem quanto ao pH e testar a adição de maiores concentrações desses extratos para aumentar sua eficácia. Além disso, investigações microbiológicas são necessárias para garantir uma vida útil mais longa da carne embalada.

REFERÊNCIAS

ASTM-D882-12. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. Book of Standards.: ASTM International, 08, 01, 2012.

ASTM. ASTM E96-95 Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials, 2000.

AMSA. *AMSA Meat Color Measurement Guidelines: AMSA: American Meat Science Association*, 2012.

Almeida, J.E., Monteiro, E.B., Raposo, H.F, & Amaya-Farfán, J. Cholesterol reducing and bile-acid binding properties of taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) leaf in rats fed a high-fat diet. **Food research international**, 51, 2, 886-891, 2013.

Adilah, A.N., Jamilah, B., Noranizan, M.A, & Hanani, Z.N. Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food packaging and shelf life**, 16, 1-7, 2018.

Araújo, S., Silva, I.A., Tacão, M., Patinha, C., Alves, A, & Henriques, I.

Characterization of antibiotic resistant and pathogenic *Escherichia coli* in irrigation water and vegetables in household farms. **International journal of food microbiology**, 257, 192-200, 2017.

Battisti, R., Fronza, N., Júnior, Á.V., da Silveira, S.M., Damas, M.S.P, & Quadri, M.G.N. Gelatin-coated paper with antimicrobial and antioxidant effect for beef packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, 11, 115-124, 2017.

Beigomi, M., Mohsenzadeh, M, & Salari, A. Characterization of a novel biodegradable edible film obtained from *Dracocephalum moldavica* seed mucilage. **International Journal of Biological Macromolecules**, 108, 874-883, 2018.

Bandyopadhyay, P., Ghosh, A.K, & Ghosh, C. Recent developments on polyphenol–protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. **Food & function**, 3, 6, 592-605, 2012.

Chen, G., Dong, S., Zhao, S., Li, S, & Chen, Y. Improving functional properties of zein film via compositing with chitosan and cold plasma treatment. **Industrial Crops and Products**, 129, 318–326, 2019.

Cao, Y., Warner, R.D, & Fang, Z. Effect of chitosan/nisin/gallic acid coating on preservation of pork loin in high oxygen modified atmosphere packaging. **Food Control**, 101, 9-16, 2019.

Cordeiro, A.M.T.M., Medeiros, M.L., Santos, N.A., Soledade, L.E.B., Pontes, L.F.B.L., Souza, A.L, & Souza, A.G. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract: Thermal study and evaluation of the antioxidant effect on vegetable oils. **Journal of Thermal Analysis and calorimetry**, 113, 2, 889-895, 2013.

Clark, E.M., Mahoney, A.W, & Carpenter, C.E. Heme and total iron in ready to-eat chicken. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 45, 124-126, 1997.

Camo, J., Lorés, A., Djenane, D., Beltrán, J.A, & Roncalés, P. Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. **Meat science**, 88, 1, 174-178, 2011.

Ennaas, N., Hammami, R., Gomaa, A., Bedard, F., Biron, E., Subirade, M., Beaulieu, L., & Fliss, I. Collagencin, an antibacterial peptide from fish collagen: Activity, structure and interaction dynamics with membrane. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 473, 642-647, 2016.

Fernandez Lopez, J., Sevilla, L., Sayas-Barbera, M.E., Navarro, C., Marín, F., & Perez-Alvarez, J.A. Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in cooked pork meat. **Journal of Food Science**, 68, 660-664, 2003.

Farhan, A., & Hani, N.M. Active edible films based on semi-refined κ -carrageenan: Antioxidant and color properties and application in chicken breast packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, 24, 100-476, 2020.

Ferraro, V., Anton, M., & Santé-Lhoutellier, V. The “sisters” α -helices of collagen, elastin and keratin recovered from animal by-products: Functionality, bioactivity and trends of Application. **Trends in Food Science & Technology**, 51, 65-75, 2016.

Ganhão, R., Estévez, M., & Morcuende, D. Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. **Food chemistry**, 126, 2, 772-778, 2011.

Greene, B. E., Hsin, I.M., & Zipser, M.W. Retardation os oxidative color changes in raw ground beef. **Journal of Food Science**, 36, 940-942, 1971.

Huang, C.Y., Kuo, J.M., Wu, S.J., & Tsai, H.T. Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis* sp.) by a novel extrusion–hydro-extraction process. **Food chemistry**, 190, 997-1006, 2016.

Hughes, J., Clarke, F., Li, Y., Purslow, P., & Warner, R. Differences in light scattering between pale and dark beef longissimus thoracis muscles are primarily caused by differences in the myofilament lattice, myofibril and muscle fibre transverse spacings. **Meat science**, 149, 96-106, 2019.

Holman, B.W., Collins, D., Kilgannon, A.K., & Hopkins, D.L. The effect of technical replicate (repeats) on Nix Pro Color Sensor™ measurement precision for meat: A case-

- study on aged beef colour stability. **Meat Science**, 135, 42-45, 2018.
- Han, C., Wang, J., Li, Y., Lu, F., & Cui, Y. Antimicrobial-coated polypropylene films with polyvinyl alcohol in packaging of fresh beef. **Meat science**, 96, 2, 901-907, 2014.
- Islam, S. Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaf: its potential effect on human health and nutrition. **Journal of Food Science**, 71, 13-21, 2006.
- Ijaz, M., Li, X., Zhang, D., Hussain, Z., Ren, C., Bai, Y., & Zheng, X. Association between meat color of DFD beef and other quality attributes. **Meat science**, 161, 107-954, 2020.
- José, A. E., Carvalho, H.H.C, & Wiest, J.M. Avaliação do efeito antibacteriano de extratos de folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) frente a bactérias de interesse em alimentos e correlação com os compostos fenólicos. **Revista Ceres**, 62, 5, 421-429, 2015.
- Jridi, M., Mora, L., Souissi, N., Aristoy, M.C., Nasri, M, & Toldrá, F. Effects of active gelatin coated with henna (*L. inermis*) extract on beef meat quality during chilled storage. **Food control**, 84, 238-245, 2018.
- Jiao, Y., Quek, S.Y., Gu, M., Guo, Y, & Liu, Y. Polyphenols from thinned young kiwifruit as natural antioxidant: Protective effects on beef oxidation, physicochemical and sensory properties during storage. **Food Control**, 108, 106-870, 2020.
- Khan, A., Khan, R.A., Salmieri, S., Le, T.C., Riedl, B, & Bouchard, J. Mechanical and barrier properties of nanocrystalline cellulose reinforced chitosan based nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, 90, 1601–1608, 2012.
- Kim, T.W., Kim, C.W., Kwon, S.G., Hwang, J.H., Park, D.H., Kang, D.G., Ha, J., Yang, M.R., Kim, S.W, & Kim, I.S. pH as Analytical Indicator for Managing Pork Meat Quality. **Sains Malaysiana**, 45, 7, 1097- 1103, 2016.
- Kim, S.K, & Venkatesan, J. Introduction to seafood processing by-products. In: SK. Kim (Ed). *Seafood Processing By-Products Trends and Applications* (pp. 2–4). Springer New York Heidelberg Dordrecht London, 2014.

Karabagias, I., Badeka, M.G., & Kontominas, M.G. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. **Meat Science**, 88, 109-116, 2011.

Lu, X., Cornforth, D.P., Carpenter, C.E., Zhu, L., & Luo, X. Effect of oxygen concentration in modified atmosphere packaging on color changes of the *M. longissimus thoraces et lumborum* from dark cutting beef carcasses. **Meat science**, 161, 107-999, 2020.

Libardi, S.H., Pindstrup, H., Cardoso, D.R., & Skibsted, L.H. Reduction of ferrylmyoglobin by hydrogen sulfide. Kinetics in relation to meat greening. **Journal of agricultural and food chemistry**, 61, 11, 2883-2888, 2013.

Liu, J., Yong, H., Liu, Y., Qin, Y., Kan, J., & Liu, J. Preparation and characterization of active and intelligent films based on fish gelatin and haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) extract. **Food Packaging and Shelf Life**, 22, 100-417, 2019.

Madaleno, E., Rosa, D.D.S., Zawadzki, S.F., Pedrozo, T.H., & Ramos, L.P. Estudo do uso de plastificantes de fontes renovável em composições de PVC. **Polímeros**, 19, 4, 263-270, 2009.

McKenna, D.R., Mies, P.D., Baird, B.E., Pfeiffer, K.D., Ellebracht, J.W., & Savell, J.W. Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. **Meat science**, 70, 4, 665-682, 2005.

Mehdizadeh, T., Tajik, H., Langroodi, A.M., Molaei, R., & Mahmoudian, A. Chitosan-starch film containing pomegranate peel extract and *Thymus kotschyianus* essential oil can prolong the shelf life of beef. **Meat Science**, 163, 108-073, 2020.

Muratore, F., Barbosa, S.E., & Martini, R.E. Development of bioactive paper packaging for grain-based food products. **Food Packaging and Shelf Life**, 20, 100-317, 2019.

Oria, B.A., Rodríguez-Gutiérrez, G., Rubio-Senent, F., Fernández-Prior, Á., & Fernández-Bolaños, J. Effect of edible pectin-fish gelatin films containing the olive

antioxidants hydroxytyrosol and 3, 4-dihydroxyphenylglycol on beef meat during refrigerated storage. **Meat science**, 148, 213-218, 2019.

Ohashi, Y., Onuma, R., Naganuma, T., Ogawa, T., Naude, R., Nokihara, K., & Muramoto, K. Antioxidant properties of tripeptides revealed by a comparison of six different assays. **Food Science and Technology Research**, 21, 5, 695-704, 2015.

Pathare, P.B., Opara, U.L., & Al-Said, F.A.J. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. **Food and Bioprocess Technology**, 6, 1, 36-60, 2013. .

Rezaei, M, & Hosseini, S.F. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. **Journal of Food Science**, 73, 93-96, 2008.

Rasid, N.A.M., Nazmi, N.N.M., Isa, M.I.N, & Sarbon, N.M. Rheological, functional and antioxidant properties of films forming solution and active gelatin films incorporated with *Centella asiatica* (L.) urban extract. **Food Packaging and Shelf Life**, 18, 115–124, 2018.

Shange, N., Gouws, P, & Hoffman, L.C. Changes in pH, colour and the microbiology of black wildebeest (*Connochaetes gnou*) longissimus thoracis et lumborum (LTL) muscle with normal and high (DFD) muscle pH. **Meat science**, 147, 13-19, 2019.

Silva, T.F.D, & Penna, A.L.B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 530-539, 2012.

Sammel, L.M., Hunt, M.C., Kropf, D.H., Hachmeister, K.A, & Johnson, D.E. Comparison of assays for metmyoglobin reducing ability in beef inside and outside semimembranosus muscle. **Journal of Food Science**, 67, 3, 978-984, 2002.

Silva, F.A., Borges, M.F.M, & Ferreira, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química nova**, 22, 1, 94-103, 1999.

Sahraee, S., Milani, J.M., Regenstein, J.M, & Kafil, H.S. Protection of foods against oxidative deterioration using edible films and coatings: A review. **Food Bioscience**, 32,

100-451, 2019.

US Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. How to Cut Food Waste and Maintain Food Safety, 2018. <https://www.fda.gov/media/101389/download> (acessado 30.04.2020).

Wu, S., Luo, X., Yang, X., Hopkins, D.L., Mao, Y, & Zhang, Y. Understanding the development of color and color stability of dark cutting beef based on mitochondrial proteomics. **Meat Science**, 163, 108-046, 2020.

Xiong, Y., Chen, M., Warner, R.D, & Fang, Z. Incorporating nisin and grape seed extract in chitosan-gelatine edible coating and its effect on cold storage of fresh pork. **Food Control**, 110, 107-018, 2020.

Zhai, X., Li, Z., Zhang, J., Shi, J., Zou, X, & Huang, X. Natural biomaterial based edible and pH-sensitive films combined with electrochemical writing for intelligent food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 66, 12836–12846, 2018.

APÉNDICE



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2019 027655 0

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24098477000110

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Cidade Universitária

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58059-900

País: Brasil

Telefone: (83) 32167558

Fax:

Email: inova@reitoria.ufpb.br

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE COLÁGENO E OBTENÇÃO DE FILME BIODEGRADÁVEL A PARTIR DA PELE DE PESCADO

Resumo: A presente invenção trata do processo de extração e obtenção do colágeno da pele de pescado em pó para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis visando agregar valor a este resíduo da indústria de beneficiamento do pescado, reduzindo o impacto ambiental. O diferencial dessa invenção está baseado na fabricação de um produto inédito, natural, biodegradável e comestível, a fim de atender os consumidores preocupados com os impactos ambientais das indústrias de plásticos e pesqueiros. Mais especificamente, o material proposto na presente invenção apresenta características desejáveis à diversas aplicações podendo ser empregados como material de parede de embalagens, revestimentos, filmes, películas e/ou cápsulas (nano ou micro), alimentos, medicamentos, cosméticos ou mesmo no preparo de alimentos, fármacos e/ou medicamentos, cosméticos, embalagens, filmes, películas e cápsulas. Os procedimentos metodológicos para a obtenção do colágeno e elaboração dos filmes são simples e de baixo custo, podendo ser facilmente utilizado pela indústria de pequeno e de grande porte, bem como por cooperativas. Além disso, a presente invenção incentiva o aproveitamento integral do pescado, mostrando que a pele de peixes pode ser considerada como matéria-prima viável para indústria de embalagens, em substituição aos materiais plásticos convencionais.

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 6

Nome: GILMAR FREIRE DA COSTA

CPF: 10891402403

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Mestrando

Endereço: Sitio Gruta de Antônia Luzia – Zona rural

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58220-000

País: BRASIL

Telefone: (83) 996 085615

Fax:

Email: gilmarfreiredacosta@gmail.com

Inventor 2 de 6

Nome: ANGELA MARIA TRIBUZY DE MAGALHÃES CORDEIRO

CPF: 44521979220

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua dos Escoteiros, s/nº, Mangabeira VII Distrito Industrial de Mangabeira

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58058-600

País: BRASIL

Telefone: (83) 996 131012

Fax:

Email: atribuzycordeiro@gmail.com

Inventor 3 de 6

Nome: CRISTIANI VIEGAS BRANDÃO GRISI

CPF: 04296665430

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Aristides Madureira de Barros, Nº 250, Apto 303, Bancários

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58051-580

País: BRASIL

Telefone: (83) 998 877204

Fax:

Email: crisgrisi.gere@gmail.com

Inventor 4 de 6

Nome: SOLANGE DE SOUSA

CPF: 37375725420

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Santo Antônio, S/N, Quadra D, Lote 9, Centro, Condomínio
Caminho da Serra

Cidade: Bananeiras

Estado: PB

CEP: 58220-000

País: BRASIL

Telefone: (83) 991 539245

Fax:

Email: solange_ufpb@yahoo.com.br

Inventor 5 de 6

Nome: ANTÔNIO ROSENDO DA COSTA

CPF: 03621104410

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Biólogo, biomédico e afins

Endereço: Sítio Alagamar – Zona rural

Cidade: Belém

Estado: PB

CEP: 58255-000

País: BRASIL

Telefone: (83) 930 37295

Fax:

Email: antoniorosendo@bol.com.br

Inventor 6 de 6

Nome: BRUNO RANIERE LINS DE ALBUQUERQUE MEIRELES

CPF: 05062333407

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: Avenida Olinda 449, Tambaú

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58039-121

País: BRASIL

Telefone: (83) 999 963436

Fax:

Email: bruno_meireles7@hotmail.com

Documentos anexados

| Tipo Anexo | Nome |
|-------------------------------------|---------------------------------|
| Comprovante de pagamento de GRU 200 | 00_Comprovante de pagamento.pdf |
| Relatório Descritivo | 01_Relatorio_descritivo.pdf |
| Reivindicação | 02_Reivindicacoes.pdf |
| Resumo | 03_Resumo.pdf |

Acesso ao Patrimônio Genético

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.