



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

GABRIELLE INGRID BIZERRA FLORENTINO

**INCORPORAÇÃO DA PECTINA DO MARACUJÁ-AMARELO
(*Passiflora edulis* Flavicarpa) EM FILMES BIODEGRADÁVEIS A
BASE DE PROTEÍNAS DO SUBPRODUTO DE PEIXES**

JOÃO PESSOA

2022

GABRIELLE INGRID BIZERRA FLORENTINO

**INCORPORAÇÃO DA PECTINA DO MARACUJÁ-AMARELO (*Passiflora
edulis* Flavicarpa) EM FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE PROTEÍNAS
DO SUBPRODUTO DE PEIXES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Ciência
e Tecnologia de Alimentos, do Centro de
Tecnologia, da Universidade Federal da
Paraíba em cumprimento aos requisitos
para obtenção do título de Mestra em
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Anderson
Pereira da Silva

Coorientadora: Dra. Cristiani Viegas
Brandão Grisi

JOÃO PESSOA

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F633i Florentino, Gabrielle Ingrid Bizerra.
Incorporação da pectina do maracujá-amarelo
(Passiflora edulis Flavicarpa) em filmes biodegradáveis
a base de proteínas do subproduto de peixes / Gabrielle
Ingrid Bizerra Florentino. - João Pessoa, 2022.
87 f. : il.

Orientação: Fábio Anderson Pereira da Silva.
Coorientação: Cristiani Viegas Brandão Grisi.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Sustentabilidade. 2. Pectina do maracujá. 3.
Proteínas miofibrilares de peixe. 4. Bioplásticos. 5.
Filmes biodegradáveis. I. Silva, Fábio Anderson Pereira
da. II. Grisi, Cristiani Viegas Brandão. III. Título.

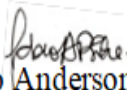
UFPB/BC

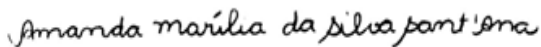
CDU 502.131.1(043)

GABRIELLE INGRID BIZERRA FLORENTINO

INCORPORAÇÃO DA PECTINA DO MARACUJÁ-AMARELO (*Passiflora edulis*
Flavicarpa) EM FILMES BIODEGRADÁVEIS A BASE DE PROTEÍNAS DO
SUBPRODUTO DE PEIXES

Dissertação DEFENDIDA em 04/03/2022


Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva
Orientador e Presidente


Prof.ª Dr.ª Amanda Marília da Silva Santana
Membro Externo/UFPB


Prof.ª Dr.ª Taliana Kênia Alencar Bezerra
Membro Interno/UFPB


Dr.ª Cristiani Viegas Brandão Grisi
Membro Externo/UFPB

JOÃO PESSOA
2022

Dedico esse trabalho, com muito amor e gratidão, ao meu esposo Rafael Aguiar, ao meu pai João Batista e a minha mãe Gauba Bizerra.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sua fidelidade, proteção e amor, por me guiar, fortalecer e encorajar a enfrentar os obstáculos ao longo da minha vida acadêmica.

Agradeço aos meus pais, João e Gauba, pelo amor incondicional. Por me ensinar valores de família, respeito, dedicação, perseverança e fidelidade que fizeram de mim uma pessoa ciente da importância de cada conquista. Agradeço ao meu irmão Arthur pela amizade, apoio e cuidado de sempre. Meu eterno amor e gratidão a vocês.

Agradeço ao meu esposo, Rafael, pelo seu amor e companheirismo, pelo apoio em todos os momentos e por cuidar tão bem de mim. Obrigada por compreender tantas vezes com paciência as preocupações ao longo da minha vida acadêmica, por ser força e estímulo nos momentos delicados, por vibrar comigo cada conquista.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Silva pela sua orientação, tempo doado, ensinamentos, oportunidades, dedicação, paciência e conhecimento passado. Obrigada pelas experiências profissionais e oportunidades que contribuem para meu crescimento profissional.

Agradeço a Prof^a. Dr^a. Marta Madruga, pela generosa disponibilidade de seu laboratório.

Agradeço a Dra. Cristiani por estar sempre tão solícita a ajudar durante a execução deste estudo e por aceitar ser minha coorientadora.

Agradeço as doutoras Amanda Marília e Taliana Kênia, pela disponibilidade e por terem aceitado participar da minha banca de dissertação.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida.

RESUMO

O desenvolvimento de bioplásticos a base de matérias primas renováveis tem despontado como uma opção inovadora no cenário da indústria de alimentos. A aplicação de proteínas de peixes na produção de bioplásticos dá origem a filmes com boas propriedades de barreira, mas com características mecânicas insatisfatórias, como a alta rigidez e baixa maleabilidade. A incorporação de pectina em bioplásticos proteicos pode melhorar as propriedades físicas e mecânicas do filme comparado aos bioplásticos a base de proteínas ou pectina isoladamente. Neste contexto, objetivou-se maximizar as condições para a produção de bioplástico biodegradável a partir de proteínas do subproduto do postejamento do peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*) e da pectina do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa). Na primeira etapa do experimento, avaliaram-se as proteínas miofibrilares extraídas do subproduto do peixe serra e determinou-se o grau de esterificação e acetilação da pectina obtida da casca do maracujá. Em seguida, a proteína miofibrilar e pectina extraída foram utilizadas para determinar as condições ótimas de obtenção do bioplástico biodegradável, utilizando metodologia de superfície de resposta. A proteína miofibrilar extraída do peixe serra apresentou 72,42% de proteínas, principalmente miofibrilares, e 2,38% de lipídeos, enquanto a pectina extraída do maracujá teve alto teor de metoxilação (88,95%) e baixo teor de acetilação (5,37%). O bioplástico elaborado com 5% de proteína miofibrilar e 3% de pectina do maracujá-amarelo apresentou os menores valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA) e maior resistência à tração (RT). O bioplástico maximizado apresentou características satisfatórias como, boa resistência à tração (4,91 MPa), baixa permeabilidade ao vapor d'água ($0,9 \times 10^{-2}$ gH₂O.mm/m².h.mmHg), flexível (264,87%), cor amarelada, boa estabilidade térmica, baixa solubilidade (18,82%), biodegradável, semicristalino e amorfo, compatibilidade favorável entre as cadeias proteicas miofibrilares e da pectina, superfície lisa e homogênea, indicando que os biopolímeros extraídos podem ser usados para produzir bioplásticos biodegradáveis.

Palavras chave: subproduto, proteínas miofibrilares de peixe, pectina, sustentabilidade, bioplásticos.

ABSTRACT

The development of bioplastics based on renewable raw materials has emerged as an innovative option in the food industry scenario. The application of fish proteins in the production of bioplastics gives rise to films with good barrier properties, but with unsatisfactory mechanical characteristics such as high rigidity and low malleability. The incorporation of pectin into protein bioplastics can improve the physical and mechanical properties of the film compared to protein-based bioplastics or pectin alone. In this context, the objective was to maximize the conditions for the production of biodegradable bioplastic from proteins from the by-product of the spearfish (*Scomberomorus brasiliensis*) and pectin from the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Flavicarpa). In the first stage of the experiment, the myofibrillar proteins extracted from the by-product of the sawfish were evaluated and the degree of esterification and acetylation of the pectin obtained from the passion fruit peel was determined. Then, the myofibrillar protein and extracted pectin were used to determine the optimal conditions for obtaining the biodegradable bioplastic, using response surface methodology. The myofibrillar protein extracted from the sawfish presented 72.42% of proteins, mainly myofibrillar, and 2,38% of lipids, while the pectin extracted from the passion fruit had a high content of methoxylation (88,95%) and low content of acetylation (5,37%). The bioplastic made with 5% protein concentrate and 3% yellow passion fruit pectin showed the lowest values of water vapor permeability (PVA) and higher tensile strength (RT). The maximized bioplastic showed satisfactory characteristics such as good tensile strength (4.91 MPa), low water vapor permeability (0.9×10^{-2} gH₂O.mm/m².h.mmHg), flexible (264,87%) , yellowish color, good thermal stability, low solubility (18,82%), biodegradable, semi-crystalline and amorphous, favorable compatibility between myofibrillar and pectin protein chains, smooth and homogeneous surface, indicating that the extracted biopolymers can be used to produce bioplastics biodegradable.

Key words: by-product, fish myofibrillar proteins, pectin, sustainability, bioplastics.

LISTA DE ABREVIACES

pH	Potencial Hidrogeninico
FAO	Organizao das Naes Unidas para Agricultura e Alimentao
DE	Grau de esterificao
CIE	Comisso Internacional de Iluminao
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
PVA	Permeabilidade ao vapor de gua
DRX	Difraco de raios X
FTIR	Espectroscpica de absoro no infravermelho
MEV	Microscpio eletrnico de varredura
RT	Resistncia  trao
GE	Grau de Esterificao
GA	Grau de Acetilao

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Peixe serra (<i>Scomberomorus brasiliensis</i>).....	21
Figura 2 – Delineamento da obtenção de embalagem biodegradável oriundos de subprodutos do peixe serra e pectina do maracujá-amarelo.....	28
Figura 4 – Fluxograma de elaboração da proteína miofibrilar oriundo do subproduto do peixe serra.....	30
Figura 5 – Fluxograma de elaboração da pectina obtida do maracujá-amarelo.....	32
Figura 6 – Fluxograma de elaboração do bioplástico.....	35

ARTIGO

Figura 1 – Electrophoretic profile of myofibrillar proteins extracted from the cutting byproduct of Serra Spanish Mackerel.....	81
Figura 2 – Pareto chart of the responses variables: tensile strength (A); water vapor permeability (B). Response surfaces generated for the response variables: tensile strength (C); water vapor permeability (D). Profile for predicted value and desirability (E).....	82
Figura 3 – TG curves (A), DSC curve (B), FTIR spectra (C) and XDR curve (D) of protein/pectin composite film.....	85
Figura 4 – SEM images of the surface (A) and the cross-section (B) of protein/pectin composite film.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos de bioplásticos biodegradáveis.....	18
Tabela 2 – Variáveis independentes e níveis do planejamento para obtenção do bioplástico.....	33
Tabela 3 – Matriz do planejamento experimental.....	34

ARTIGO

Tabela 1 – Design matrix.....	78
Tabela 2 – Results properties of bioplastics.....	79

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 POLÍMEROS SINTÉTICOS	15
2.2 BIOPLÁSTICOS BIODEGRADÁVEIS	16
2.3 BIOCOMPOSTOS PROTEICOS PARA OBTENÇÃO DE BIOPLÁSTICOS BIODEGRADÁVEIS	18
2.3.1 Subproduto do peixe serra	20
2.4 INCORPORAÇÃO DE PECTINA EM BIOPLÁSTICOS	22
2.5 CARACTERIZAÇÃO BIOPLÁSTICOS	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	28
4.2 MATERIAL	29
4.3 PROTEÍNAS MIOFIBRILARES	29
4.3.1 Extração de proteínas miofibrilares	29
4.3.2 Caracterização química das proteínas miofibrilares	30
4.4 PECTINA DO MARACUJÁ-AMARELO	31
4.4.1 Extração da pectina do maracujá-amarelo	31
4.4.2 Determinação do grau de esterificação	32
4.4.3 Determinação do grau acetilação	33
4.5 PREPARAÇÃO DO BIOPLÁSTICO	33
4.6 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DO BIOPLÁSTICO	35
4.6.1 Determinação das propriedades físicas do bioplástico	35
4.6.2 Determinação das propriedades mecânicas do bioplástico	36
4.6.3 Caracterização das propriedades térmicas do bioplástico	36
4.6.4 Caracterização morfológica do bioplástico	37
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
REFERÊNCIAS	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
6 CONCLUSÕES GERAIS	80
APÊNDICES	88

1 INTRODUÇÃO

O plástico é um polímero derivado da indústria petroquímica, com aumento contínuo da demanda e produção a cada ano, em virtude do grande potencial de aplicações industrial, como por exemplo, nas embalagens para alimentos (MANNINA et al., 2019). O setor de embalagens de alimentos responde por cerca de 40% do consumo de todo o material plástico produzido no planeta (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2020). No entanto, a degradação completa da maioria dos plásticos na natureza pode durar centenas ou milhares de anos em virtude das longas cadeias de polímero. Como resultado, 11 bilhões de toneladas métricas de plásticos são projetadas para serem acumuladas em aterros e no meio ambiente em 2025, causando poluição ambiental severa (BRAHNEY et al., 2020).

Nas últimas décadas, uma maior atenção tem sido atribuída às alternativas para as embalagens plásticas convencionais à base de petróleo, tais como os bioplásticos, que são compostos poliméricos funcionalmente semelhantes aos plásticos sintéticos, mas sustentáveis do ponto de vista ambiental (ATIWESH et al., 2021). Esses bioplásticos são geralmente derivados de polímeros naturais como amido (ABE et al., 2022; QUEIROZ et al., 2021), proteínas (YAMADA et al., 2020; JIMÉNEZ-ROSADO et al., 2020), celulose (ALASHWAL et al., 2020), algas (SUDHAKAR et al., 2021), entre outros.

As proteínas e os polissacarídeos têm sido considerados matérias-primas inovadoras para o desenvolvimento de bioplásticos, visto que estes possuem biomoléculas com grande potencial para formação de filmes biodegradáveis (DIAS; REIS, 2019). Além disso, são abundantes, econômicos, capazes de formar matrizes poliméricas contínuas que dão estrutura ao filme e principalmente, são facilmente encontrados como subprodutos da indústria de alimentos (LUCHESE et al., 2019).

As proteínas de origem animal provenientes dos subprodutos de peixes apresentam excelentes propriedades tecnológicas, como a capacidade de formar gel, plasticidade e boa barreira ao oxigênio, favorecendo as propriedades de barreira dos bioplásticos (KAEWPRACHU et al., 2017). O subproduto do processamento do peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*) destaca-se devido às características nutricionais e tecnológicas, possuindo alto teor proteico e baixa quantidade de gordura (LIMA et al., 2020). Este pescado é comumente comercializado na forma de postas congeladas, as quais são obtidas a partir do corte em máquina serra-fita. Segundo Lima et al. (2020), o

postejamento do peixe congelado em máquina serra-fita dá origem a um subproduto constituído principalmente por proteínas miofibrilares que se acumula no interior do equipamento, sendo frequentemente descartado no ambiente. O tratamento adequado deste subproduto pode transformá-lo em uma matéria-prima interessante para a elaboração de bioplásticos a base de proteínas.

Apesar do potencial das proteínas para a elaboração de bioplásticos, seu uso como embalagem de alimentos é limitado, devido à rigidez dos filmes de proteínas miofibrilares (ALIAS; ISHAK, 2020). A combinação de proteínas e polissacarídeos pode ser uma prática vantajosa para melhorar as características de qualidade dos bioplásticos, como por exemplo, Jridi et al. (2020) desenvolveu bioplásticos à base de proteínas extraídas do peixe-porco combinado com pectina da casca da laranja de grande potencial para a substituição de plásticos convencionais.

A pectina é um polissacarídeo encontrado predominantemente em cascas de cítricos como o maracujá. Apresenta grande relevância para produção de filmes devido a baixa toxicidade, alta biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de não apresentar risco a saúde e ser um hidrocoloide capaz de formar redes que capturam água e formam géis. Portanto, considerando estas características, a incorporação da pectina do maracujá-amarelo em filmes proteicos apresenta-se promissor, melhorando as propriedades mecânicas e de barreira comparado aos bioplásticos formados por proteínas ou pectina isoladamente (LA FUENTE ARIAS et al., 2021). No entanto, torna-se necessário avaliar as melhores condições desta combinação.

Diante dos argumentos citados e da escassez de trabalhos realizados, objetivou-se maximizar as condições para a produção de bioplásticos biodegradáveis a base de pectina do maracujá-amarelo e proteínas extraídas do subproduto do postejamento do peixe Serra (*Scomberomorus brasiliensis*) em máquina serra-fita.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 POLÍMEROS SINTÉTICOS

Plásticos são materiais constituídos de polímeros de alto peso molecular, formados pela união de grandes cadeias moleculares denominadas de macromoléculas compostas por moléculas menores de monômeros, possuindo entre 1000 a 10000 unidades de repetições monoméricas (BRYDSON, 1999).

A produção de plástico é realizada por uma série de etapas, a primeira é a destilação de petróleo bruto em refinaria de petróleo. Esse processo separa e fragmenta o petróleo bruto pesado em segmentos, cada segmento é uma mistura de cadeias de hidrocarbonetos poliméricos. Uma dessas frações, nafta, é o componente imprescindível para gerar monômeros como etileno, propeno e estireno para a produção de plásticos. Esses monômeros formam plásticos através de poliadição e/ou policondensação auxiliada por catalisadores específicos (SALEH; GUPTA, 2017). Entretanto, essa conversão produz poluentes e gases de efeito estufa, como dióxido de carbono (CO₂), contribuindo assim para a poluição ambiental e aquecimento global (BUI, 2019).

Os materiais plásticos se tornaram produtos de fabricação comuns, embora a sua produção em escala industrial tenha começado apenas na década de 1950, rapidamente se tornaram essenciais para a vida cotidiana, devido as suas excelentes características como, baixo custo, baixa densidade aparente, alta durabilidade, boas propriedades mecânicas e de barreira. Entranto, devido a versatilidade desencadeou o rápido aumento do volume de plástico produzido anualmente nas últimas décadas e essa quantidade continua crescendo (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). De acordo com a fundação Heinrich Boll (2020), o planeta poderá atingir em 2025, mais de 600 milhões de toneladas de plástico produzidos anualmente, um aumento de 50% em relação à produção do ano de 2020 (HEINRICH BÖLL, 2020).

Com isto, ocorreu a necessidade de reciclagem dos plásticos. Porém, a reciclagem de plásticos enfrenta muitos desafios, por se tratar de produto com multiplicidade de resinas, camadas sucessivas dentro da mesma embalagem, incompatibilidades químicas, presença de poluentes, aditivos e outras impurezas (BONALDI, 2019). Como resultado, menos de 10% dos plásticos são reciclados, cerca de 10% são incinerados e cerca de 80% acabam em aterros (GROS, 2017).

As embalagens plásticas correspondem à maior quantidade (>30%) do plástico global consumido. Aproximadamente 99% das embalagens plásticas são feitas de polímeros à base de petróleo, e persistem no meio ambiente por centenas de anos. Mais de 50% destas embalagens de plástico são usadas apenas uma vez antes do descarte (ARRIETA et al., 2017).

Dentre as embalagens plásticas, destacam-se as de alimentos e desta forma vale destacar que o mercado de embalagens de alimentos deve crescer US \$ \$ 85,67 bilhões de 2018 (US \$ 292,91 bilhões) a 2022 (US \$ 378,58 bilhões), impulsionado pelo aumento da demanda por produtos alimentares de consumo rápido, aumento da população urbana e demanda crescente para minimizar o desperdício de alimentos (TECHNAVIO, 2018). Portanto, recentemente esforços acadêmicos e industriais estão em direção a opções de embalagens de alimentos com desempenho igual, mas sustentável. Uma alternativa promissora é representada pelos bioplásticos.

2.2 BIOPLÁSTICOS BIODegradáveis

Os danos ambientais causados pelo descarte inadequado de polímeros sintéticos incentivaram a busca por substitutos para estes materiais. Bioplástico é um termo genérico que descreve os dois plásticos de base biológica, ou seja, aqueles que são feitos de materiais biológicos, e aqueles plásticos (incluindo os petroquímicos) que são biodegradáveis. Portanto, um bioplástico é o plástico que é de base biológica, biodegradável ou ambos (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2021).

O primeiro bioplástico biodegradável foi descoberto em 1862. Esse material era feito de nitrato de celulose. Devido à alta adaptabilidade, atraiu a atenção do público, mas devido ao alto custo de produção, não foi comercializado (SHARMA et al., 2020).

A produção de bioplásticos foi de 2,11 milhões de toneladas em 2020 (das quais 44,5% eram bioplásticos de base biológica/não biodegradáveis e 55,5% bioplásticos biodegradáveis). Além disso, em 2025, a produção de bioplásticos deverá atingir cerca 2,87 milhões de toneladas. A embalagem é considerada o principal segmento de mercado para a produção de bioplásticos com 47% (0,99 milhões de toneladas) do mercado total de bioplásticos em 2020 (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2020).

A produção anual de bioplásticos é relativamente baixa, representando de um por cento dos quase 368 milhões de toneladas de plásticos produzidos por ano. No

entanto, uma vez que a demanda do mercado está crescendo continuamente, incluindo aplicações mais avançadas e produtos inovadores, o mercado de bioplásticos encontra-se em constante expansão e diferenciação (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2021).

Os bioplásticos biodegradáveis têm sido recomendados como substitutos preferenciais de plásticos convencionais oriundos de fontes petrolíferas, pois podem oferecer os benefícios de biodegradabilidade e propriedades funcionais combinadas a um modelo sustentável em que os subprodutos são transformados em matéria-prima no curto prazo (EUROPEAN BIOPLASTICS, 2020).

A obtenção de bioplásticos biodegradáveis necessita da elaboração de uma solução filmogênica, elaborada basicamente por um agente formador de filme, um solvente e um plastificante. Cada um desses componentes é utilizado em diferentes combinações, buscando oferecer características distintas para o filme (ALBUQUERQUE; MALAFAIA, 2018).

Os filmes são obtidos em escala industrial através do processamento térmico, compreendendo, de forma geral, nas seguintes etapas: fusão, injeção, compressão, extrusão/sopro e extrusão/calandragem. Em escala laboratorial, a técnica mais utilizada corresponde ao espalhamento da solução filmogênica, denominado *casting*. Na técnica de espalhamento, as soluções filmogênicas obtidas são verticalizadas em placas, posteriormente realiza-se a etapa de evaporação do solvente através da utilização de condições ambiente e/ou em estufa com circulação forçada de ar, em temperatura constante por um determinado período de tempo (MALI et al., 2010).

Diversos estudos têm sido elaborados utilizando bioplásticos biodegradáveis, visando à conscientização ambiental e melhoramento as propriedades físicas, térmicas, estruturais e mecânicas dos filmes. Na Tabela 1 estão apresentados estudos de bioplásticos biodegradáveis obtidos de biopolímeros.

Os bioplásticos podem ser utilizados como embalagens ou revestimentos aplicados na superfície do alimento e devem apresentar algumas características como: propriedades de barreira ao oxigênio, água e gorduras; como também, propriedades mecânicas comparáveis aos plásticos convencionais; estabilidade microbiológica, físico-química e bioquímica; ausência de componentes tóxicos ou prejudiciais à saúde, entre outras (ALBUQUERQUE; MALAFAIA, 2018).

Tabela 1 – Estudos de bioplásticos biodegradáveis.

Biopolímero	Fonte	Referência
Proteína	Sardinha, filé e pó de subproduto de cavala	Alias; Ishak (2020)
Gelatina	Peixe-porco (<i>Canthidermis maculata</i>) e tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Arpi et al. (2018)
Pectina	Casca da pitaia	Listyarini et al. (2020)
Colágeno	Pele de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Costa et al. (2021)
Amido	Amido de milho e amido de arroz	Marichelvam et al. (2019)
Celulose	Casca de arroz	Bilo et al. (2018)
Quitosana	Casca do camarão	Kasmuri; Zait (2018)
Queratina	Pena de frango	Ramakrishnan et al. (2018)

Os filmes biodegradáveis têm algumas desvantagens, como baixas propriedades físicas e mecânicas, falta de resistência térmica e alto custo em comparação com filmes plásticos sintéticos. Portanto, melhorar e desenvolver excelentes filmes biodegradáveis que podem competir contra os filmes plásticos tornou-se a atenção da comunidade científica (WANG et al., 2020).

No entanto, essas desvantagens podem ser minimizadas pela combinação de diferentes biopolímeros entre si. Os biopolímeros de fontes naturais consistem em macromoléculas, incluindo proteínas e polissacarídeos, que desempenham um papel importante na melhoria da qualidade dos bioplásticos, que complementam defeitos na matriz (CAZÓN, et al., 2017; MURRIETA-MARTÍNEZ, et al., 2018;).

2.3 BIOCOMPOSTOS PROTEICOS PARA OBTENÇÃO DE BIOPLÁSTICOS BIODEGRADÁVEIS

As proteínas são um dos biocompostos mais utilizados na indústria alimentícia devido ao seu valor nutricional, não toxicidade, biodegradabilidade e capacidade de formar géis (BOURBON et al., 2019). Dentre as proteínas, destacam-se as musculares,

que são agrupadas em três grupos principais de acordo com a solubilidade: proteínas miofibrilares, sarcoplasmáticas e estromais. As proteínas miofibrilares são os principais componentes do músculo esquelético, representando cerca de 65-75% do total proteínas musculares (DELLA MALVA et al., 2018). As proteínas miofibrilares incluem algumas proteínas contráteis, como miosina e actina, proteínas regulatórias, como tropomiosina e troponina, e outras proteínas menores (MEDINA; PAZOS, 2010).

Recentemente, proteínas miofibrilares de peixes têm recebido atenção significativa por sua capacidade de formar filmes comestíveis biodegradáveis com boas propriedades de barreira contra gases, voláteis e lipídios orgânicos, que são insolúveis em água, mas podem ser tornados solúveis ajustando o pH da solução (ROCHA et al., 2013). Esses filmes desenvolvidos a partir de proteínas miofibrilares de peixe apresentam vantagens: excelente barreira à luz ultravioleta quando comparada a filmes comerciais de policloreto de vinila; boa barreira de oxigênio e dióxido de carbono; leve transparência; potencial para a produção de embalagem ativa (ROSTAMZAD et al., 2017).

Araújo et al. (2018) produziram e caracterizaram bioplásticos preparados a partir de proteínas miofibrilares encontradas em subprodutos de bagre dourado (*Brachyplatystoma rousseauxii*), por meio da metodologia de superfície de resposta. De acordo com os resultados, foi elaborado um bioplástico com 0,79% de proteína e 40% de plastificante que era homogêneo, transparente, forte, flexível e com baixa permeabilidade ao vapor d'água, indicando que os biopolímeros extraídos de peixes podem ser usados para produzir bioplásticos.

Kaewprachu et al. (2018) estudaram as propriedades dos filmes de proteína miofibrilar de peixe tilápia fresca (*Oreochromis niloticus*) incorporados com extrato de catequina-Kradon (*Careya sphaerica* Roxb.). De acordo com os resultados, os filmes incorporados com 9 mg/ml de catequina e 1% de proteína possuem potencial para serem usados como embalagem ativa de alimentos.

Alias e Ishak (2020) desenvolveram bioplásticos proteicos a partir de subprodutos de peixes utilizando diferentes tipos de plastificantes; polietilenoglicol, trietilenoglicol e glicerol. A proteína em pó de peixe (cabeça, pele, escamas, vísceras) foi preparada a partir de subproduto de sardinha, filé de cavala em pó e pó do subproduto de cavala. Descobriu-se que o glicerol é o plastificante mais eficaz entre os estudados. Os resultados obtidos indicaram que os tipos de plastificantes e a concentração proteica melhoram significativamente as propriedades do filme.

A principal desvantagem que limita uma ampla aplicação comercial desses filmes é a rigidez e a baixa resistência mecânica devido à extensa cadeia proteína-proteína na rede do filme que é ainda mais reforçada por ligações dissulfeto, hidrogênio ligações e/ou interações eletrostáticas (KAEWPRACHU et al., 2018). Os filmes produzidos a partir de um único biopolímero geralmente carecem de algumas propriedades importantes. Uma alternativa para superar essa limitação é o uso combinado de biocompostos.

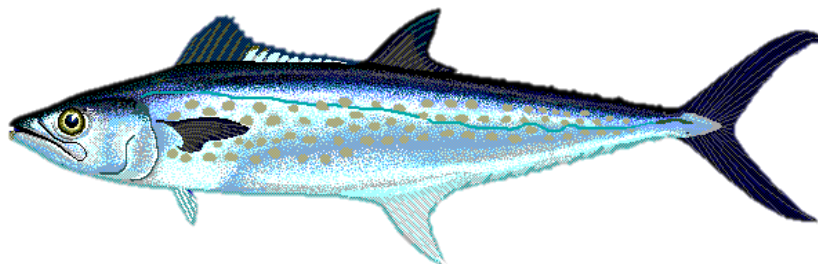
2.3.1 Subproduto do peixe serra

De acordo com o relatório da FAO (2020), a produção mundial de peixes deverá expandir de 179 milhões de toneladas em 2018 para 204 milhões de toneladas em 2030. A produção da aquicultura está projetada para atingir 109 milhões de toneladas em 2030, aumento de 32% em relação a 2018. Em desenvolvimento, o Brasil em 2018 foi o segundo maior produtor aquícola da América do Sul, ficando atrás apenas do Chile, produzindo 605 mil toneladas (FAO, 2020).

No Brasil, a região Nordeste obteve a maior evolução na aquicultura entre os anos de 2017 a 2018, com crescimento anual de 20,6%, em contraste com 7,8% do Centro-Oeste, 7 % do Norte, 7,6 % do Sudeste e 11,3 % da região Sul. O Estado da Paraíba é responsável por 2,2% dos pescados produzidos no Nordeste, correspondendo a 2,93 mil toneladas de pescado ao ano (IBGE, 2017). Além de espécies oriundas da Paraíba, esse estado beneficia em indústrias várias espécies de peixes que não são regionais, dentre essas, destaca-se o peixe serra (LIMA, 2020).

O peixe serra (Figura 1), pertence a Ordem Perciformes, família Scombridae e espécie *Scomberomorus brasiliensis*. Trata-se de uma espécie marinha com a nadadeira dorsal dupla, com o corpo bastante alongado, cabeça afilada, focinho cônico e pontudo com boca grande (GURGEL et al., 2014). Essa espécie de pescado é encontrada no oceano atlântico ocidental, ao longo das costas do Caribe e do Atlântico da América Central e do Sul, de Belize ao Rio Grande do Sul, Brasil (FISH BASE, 2021). Além disso, o peixe serra possui alto valor de mercado no Brasil, sendo um recurso pesqueiro explorado com grande valor comercial para o país. Serra é um peixe muito popular no Nordeste do Brasil, sendo uma boa fonte de proteína para a população (DO VALE et al., 2020).

Figura 1 – Peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*).



Fonte: Fish base, 2021.

Após a captura do peixe, ele é submetido à etapa de beneficiamento, que consiste nos processos de limpeza, evisceração, filetagem ou postejamento dos pescados (ARGENTA, 2012). O postejamento trata-se da realização de cortes verticais no corpo de peixes eviscerados e congelados, usualmente utilizado em espécies mais nobres, evitando as espécies de pequeno porte, necessitando de equipamentos específicos, como a máquina serra-fita, gerando grande quantidade de subproduto (FRANZON, 2011).

Apesar do crescimento apresentado pela indústria da pesca e da aquicultura, a elevada produção resulta na geração de grande quantidade de subprodutos. Os subprodutos do processamento de peixes contêm quantidades consideráveis de proteínas que são conhecidas por possuírem alto teor nutricional, em relação à composição de aminoácidos essenciais e ao conteúdo de proteínas, variando de 15-60% (BECHTEL et al., 2017).

Considerando que o processamento de peixes pode gerar cerca de 40% a 70% de subprodutos sólidos em relação ao total de matéria prima capturada e que a estimativa da produção global total de pescas de captura em 2018, foi de 96,4 milhões de toneladas (FAO, 2020), possivelmente 38,56 a 67,48 milhões de toneladas de subprodutos sólidos foram gerados naquele ano.

Na busca por alternativas que minimizem esses problemas, diversas pesquisas (Surya et al. 2021, Kaewprachu et al. 2017, Neves et al. 2019, entre outros) são realizadas para utilização dos subprodutos pesqueiros. Entre essas alternativas estão o uso de subprodutos de peixe como um biopolímero para elaboração de bioplásticos proteicos como uma alternativa sustentável e ecologicamente correta. Além disso, usar produtos residuais como matéria-prima para filmes, não só reduz a poluição ambiental, mas também se beneficia de produtos mais baratos.

A construção de novas estratégias com o intuito de fortalecer, conscientizar e concretizar o desenvolvimento sustentável em caráter global foi desenvolvido pela ONU. Especificamente, em 2015, chefes de Estado e de Governo e altos representantes, reunidos na sede das Nações Unidas em Nova York (EUA), criaram a Agenda 2030, delineando 17 novos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) e 169 metas, com objetivo de guiar a economia mundial, bem-estar e diplomacia para as próximas gerações. São eles: ODS1: Erradicação da pobreza; ODS2: Fome zero e agricultura sustentável; ODS 3: Saúde e bem-estar; ODS 4: Educação de Qualidade; ODS 5: Igualdade de Gênero; ODS 6: Água potável e saneamento; ODS 7: Energia acessível; ODS 8: Trabalho decente e Crescimento econômico; ODS 9: Indústria; Inovação e Infraestrutura; ODS 10: Reduzir a desigualdade dentro dos países e entre eles; ODS 11: Cidades e comunidades Sustentáveis; ODS 12. Assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis; ODS 13. Ação contra mudança global do Clima; ODS 14. Vida na água; ODS 15. Vida Terrestre; ODS 16. Paz, justiça e Instituições eficazes; ODS 17. Parcerias e meios de Implementação (ONU, 2015).

Com isso, a produção de bioplásticos biodegradáveis e utilização de subprodutos como matéria-prima para a produção desses filmes contribuem para a ODS 12, assegurando padrões de produção industrial sustentável.

2.4 INCORPORAÇÃO DE PECTINA EM BIOPLÁSTICOS

Polissacarídeos e proteínas são os biopolímeros mais usados para elaboração de filmes comestíveis. A mistura desses dois componentes em condições específicas pode resultar em complexos de proteína-polissacarídeo que formarão filmes com propriedades físicas vantajosas (MURILLO MARTÍNEZ et al., 2011). Misturas de proteína e polissacarídeo na solução resultam em fase de separação que pode ser associativa (atração entre polímeros) ou segregativa (repulsão entre polímeros). Durante a separação associativa, os biopolímeros de cargas opostas podem se reticular por meio da interação eletrostática e formar uma fase rica em biopolímeros e a outra em solvente (EGHBAL et al., 2016).

A pectina é um heteropolissacarídeo formado por uma cadeia principal linear de unidades repetidas de ácido D-galacturônico ligados covalentemente por ligações α -(1,4) apresentando variações dos grupos carboxilas metil esterificados (TONGKHAM

et al., 2017). A utilização na indústria tem diversas aplicações e que apresentam-se ainda em fase de desenvolvimento (TERESA et al., 2019).

A aplicação da pectina está relacionada ao grau de esterificação (DE), que corresponde à proporção de grupos esterificados de ácido galacturônico para o grupo total de ácidos galacturônicos. Quando a proporção é superior a 50%, a pectina é designada como alto DE e, quando inferior a 50%, é referida como baixo DE. A principal diferença é que as pectinas de alto DE são utilizadas em produtos com alta concentração de açúcar; enquanto as pectinas de baixo DE precisam do íon cálcio para produzir o gel. Em relação ao tempo necessário para a gelificação, à medida que o DE aumenta, o tempo diminui (GÜZEL; AKPINAR, 2019; TUAN et al., 2019).

Comumente, a extração da pectina é realizada por métodos convencionais e ocorre sob a influência de vários fatores, como temperatura e tempo. Em escala industrial, a extração de ácido é realizada, e geralmente soluções de ácido forte, como nítrico, fosfórico, sulfúrico e clorídrico ácido é usado. No entanto, por serem uma potencial fonte de poluição ambiental, esses ácidos fortes estão sendo substituídos por ácidos orgânicos, tais como o ácido cítrico (NAJAFABADI et al., 2020).

A obtenção de uma pectina de boa qualidade depende das características da matéria-prima, a principal fonte desse biopolímero é em casca de frutas cítricas. Um exemplo é na farinha de cascas de maracujá, que podem apresentar de 60 a 80% de pectina em sua composição (FAVERI et al., 2020). O maracujá é uma fruta tropical com mais de 500 espécies, em que 400 delas são espécies do gênero *Passiflora*, conhecido como maracujá amarelo. A origem do nome maracujá vem do Tupi-Guarani e significa alimento que se toma de sorvo ou alimento em forma de cuia. Os primeiros registros da planta do gênero *Passiflora* foram feitas no século XVI (FALEIRO; JUNQUEIRA, 2016).

A utilização do maracujá não é limitada apenas ao uso da polpa, devido as suas diversas propriedades a casca vem recebendo atenção em pesquisas científicas (DE FAVERI et al. 2020). A casca do maracujá é composta pelo flavedo e albedo, sendo essa última a parte que contém maior parcela de pectina (SILVA, et al., 2016). A casca do maracujá é um subproduto gerado em grandes quantidades durante o processamento da fruta para produzir polpa e suco. Em 2018, 602.651 toneladas de maracujá foram colhidas no Brasil (IBGE, 2018), que gerou aproximadamente 319.405 toneladas de subproduto, já que a casca representa cerca de 53% da massa total do fruto (FREITAS et al., 2019).

Na maioria das vezes, os subprodutos são descartados sem qualquer uso. No entanto, é importante notar que a casca do maracujá tem potencial de aproveitamento, visto que possui quantidades significativas de fibras, principalmente pectina (KULKARNI; VIJAYANAND, 2010). Desta forma o fruto pode ser utilizado integralmente diminuindo os subprodutos resultantes do seu consumo.

A pectina tem se mostrado uma alternativa atraente para elaboração de bioplásticos, em virtude da sua alta viscosidade, excelente formação de gel e é facilmente solúvel em água, mas insolúvel em etanol. Devido às características mencionadas, a pectina representa um polímero potencial para o desenvolvimento de membranas de base biológica no campo de embalagens de alimentos (ŠEŠLIJA et al., 2018). Um grande obstáculo que limita o uso de pectina é o seu caráter hidrofílico (CHEN et al., 2010).

Para superar essa desvantagem, a incorporação da pectina do maracujá-amarelo em bioplásticos proteicos pode melhorar as propriedades físicas e mecânicas do filme comparado aos bioplásticos formados por proteínas ou pectina isoladamente.

2.5 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOPLÁSTICOS

A fim de avaliar as propriedades dos bioplásticos para aplicá-los, algumas análises laboratoriais fornecem informações detalhadas a respeito da caracterização de filmes. Dentre as propriedades físicas de embalagens biodegradáveis, a transparência é uma das características desejáveis, considerando sua influência na aparência do produto e aceitabilidade pelo consumidor. Entretanto, é indesejável aos produtos sensíveis a luz. (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1992).

Além disso, a cor do filme também pode afetar a aceitabilidade do consumidor ao aplicá-lo em alimentos. A cor é parâmetro de percepção subjetiva e individual, com isso, é necessário identificar as características mínimas para expressar uma cor, sendo elas: a tonalidade, a luminosidade e o grau de saturação (MELCHIADES; BOSHI, 1999). Os espaços colorimétricos são métodos empregados para representação da cor, a CIE (Comissão Internacional de Iluminação) estabeleceu o espaço psicométrico $L^*a^*b^*$ em coordenadas cartesianas para identificação de cores (KONICA MINOLTA, 2007).

A espessura é uma propriedade física que pode influenciar em algumas propriedades dos filmes como: capacidade mecânica, permeabilidade ao vapor de água, transmissão de luz e transparência. Controlar a espessura de filmes é um dos aspectos

decisivos para a produção de embalagens adequadas para aplicações em alimentos (KAEWPRACHU et al., 2016).

As propriedades mecânicas dos filmes dependem de diversos fatores, dentre eles, das interações entre os componentes da matriz, em função da formação de ligações moleculares fortes ou numerosas entre as cadeias. A resistência à tração e alongamento dos filmes são parâmetros de grande importância, considerando as características mecânicas de uma embalagem. Resistência à tensão corresponde à tensão de tração máxima que o filme pode sustentar e alongamento a alteração máxima no comprimento de uma amostra de teste antes de romper (PEREDA; AMICA; MARCOVICH, 2012).

Os parâmetros térmicos dos filmes podem ser avaliados através da análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC), na qual corresponde a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência termicamente estável, em função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. As curvas da DSC obtidas representam picos ascendentes que caracterizam eventos exotérmicos, enquanto os descendentes eventos endotérmicos (WENDLANDT, 1986; MACHADO, MATOS, 2004).

Os parâmetros térmicos dos filmes também podem ser avaliados através da análise de termogravimétrica (TGA), técnica termoanalítica que acompanha a variação da massa (perda ou ganho) da amostra em função do tempo ou em função da temperatura (DENARI; CAVALHEIRO, 2012). As curvas TGA fornecem informações quanto à estabilidade térmica da amostra, à composição e à estabilidade dos compostos intermediários e do produto final. Durante os eventos térmicos, a amostra deve liberar um produto volátil devido aos processos físicos ou químicos, tais como desidratação, vaporização, dessorção, oxidação, redução, etc.; ou deve interagir com o gás da atmosfera no interior do forno resultando em processos que envolvem ganho de massa, tais como: absorção, oxidação de ligas ou metais e óleos, etc. (CANEVAROLO, 2007).

A solubilidade em água é uma propriedade morfológica de interesse para caracterização de bioplásticos. Filmes solúveis em água são aplicáveis em desenvolvimento de revestimentos comestíveis e encapsulamento de aditivos. Durante elaboração dos filmes, a presença de plastificantes pode colaborar para o aumento da solubilidade em água, em contrapartida a adição de componentes hidrofóbicos pode minimizar este efeito (LUCHESE et al., 2019).

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) é uma das propriedades morfológicas mais importantes de uma embalagem biodegradável para evitar a secagem dos

alimentos ou ganho de umidade. Essa propriedade depende das características intrínsecas do material, como, teor do plastificante, umidade relativa e temperatura às quais os filmes estão expostos. O nível de PVA desejável depende das aplicações específicas, pois, por exemplo, alimentos secos ou frutas e vegetais precisa de filme com PVA muito baixo e moderado, respectivamente, para evitar a absorção de umidade do meio ambiente (LIONETTO; CORCIONE et al., 2021).

A difração de raios X (DRX) é uma técnica que permite estudar a estrutura cristalina e sua fração percentual através do espalhamento dos raios-X por estruturas organizadas (CANEVAROLO, 2007). Os átomos e as moléculas podem se arranjar de forma cristalina ou amorfa. A cristalinidade influencia na estrutura espacial, nas características físico-químicas e a solubilidade dos filmes (TANG; MITSUNAGA; KAWAMURA, 2006).

Através do estudo das vibrações moleculares pela técnica espectroscópica de absorção no infravermelho (FTIR) é possível prever a estrutura química das moléculas. Estas, por sua vez, são influenciadas pela estrutura molecular, cujas distâncias de ligação química e ângulos de ligações são bem definidos e específicos para cada molécula (CANEVAROLO, 2007). Através da espectroscopia de infravermelho, os compostos orgânicos são analisados de forma qualitativa, pois cada grupo apresenta vibrações características que provocam o aparecimento de bandas no espectro infravermelho em frequências específicas (ROHMAN et al., 2011).

A caracterização de filmes quanto a sua degradabilidade é de grande importância para atender aos apelos ambientais. Alguns polímeros naturais, como celulose, proteína, pectina, amido e quitosana, e outros sintéticos como poli(ácido láctico), poli(hidroxibutirato) e poli(caprolactona) são biodegradáveis, podendo se decompor pela ação enzimática de microorganismos em meio adequado de temperatura, pH, umidade e oxigênio. A biodegradação pode ocorrer em duas etapas: (i) despolimerização, em que as enzimas dos microorganismos rompem as ligações hidrolisáveis, gerando cadeias menores e (ii) mineralização, em que as cadeias suficientemente pequenas são transportadas para o interior dos organismos, transformados em biomassa e geram produtos como CO₂, N₂, CH₄, água e sais minerais. Os filmes biodegradáveis têm encontrado um nicho promissor de aplicação (FECHINE, 2010).

O microscópio eletrônico de varredura (MEV) é utilizado para obter informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos de uma amostra

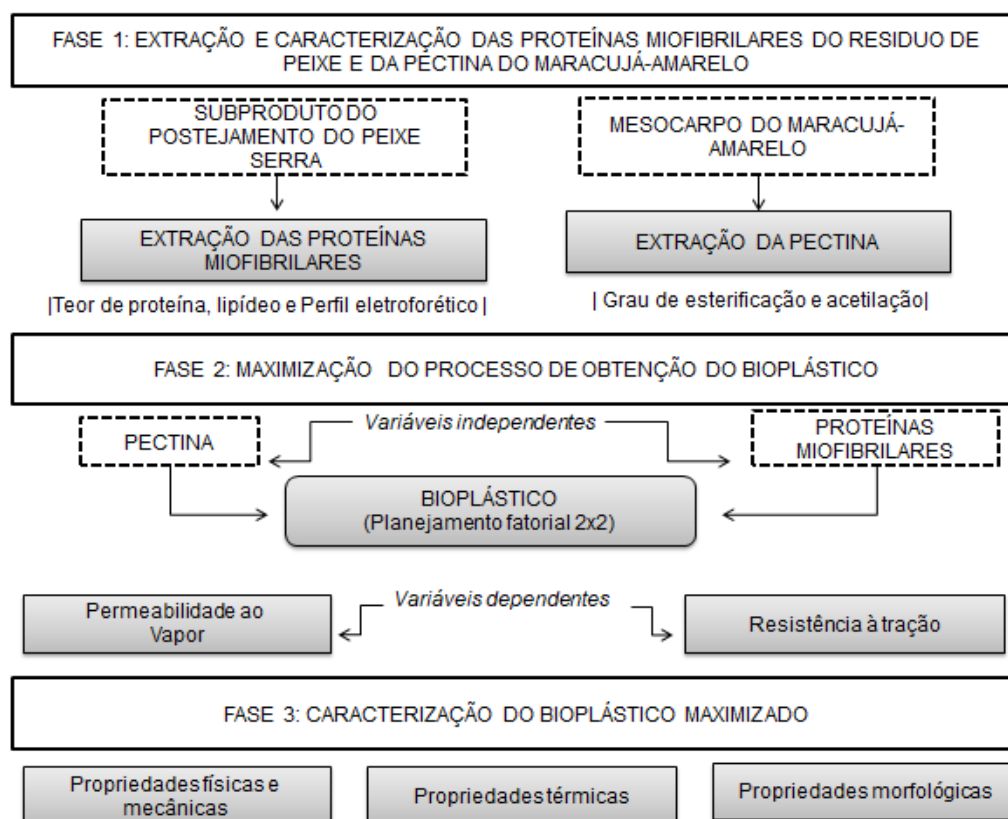
sólida, sendo possível obter imagem tridimensional da amostra. O microscópio eletrônico de varredura utiliza um feixe de elétrons no lugar de fótons, utilizados em um microscópio óptico convencional, o que permite solucionar o problema de resolução relacionado com a fonte de luz branca (NAGATANI et al. 1987).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O desenvolvimento do experimento foi realizado em três etapas (Figura 2). Inicialmente, as proteínas miofibrilares e a pectina foram extraídas dos subprodutos do postejamento do peixe serra e do mesocarpo do maracujá-amarelo, respectivamente. Na segunda etapa, realizou-se a análise do efeito da concentração proteica e do teor de pectina nas características de qualidade do bioplástico, utilizando-se metodologia de superfície de resposta em um planejamento fatorial 2x2. Ao final, o bioplástico que apresentou a menor permeabilidade ao vapor de água (PVA) e a maior resistência à tração (RT) foi analisado quanto às propriedades físicas, mecânicas, térmicas e morfológicas.

Figura 2 – Delineamento para obtenção de embalagem biodegradável oriundos de subprodutos do peixe serra e pectina do maracujá-amarelo.



Fonte: próprio autor

4.2 MATERIAL

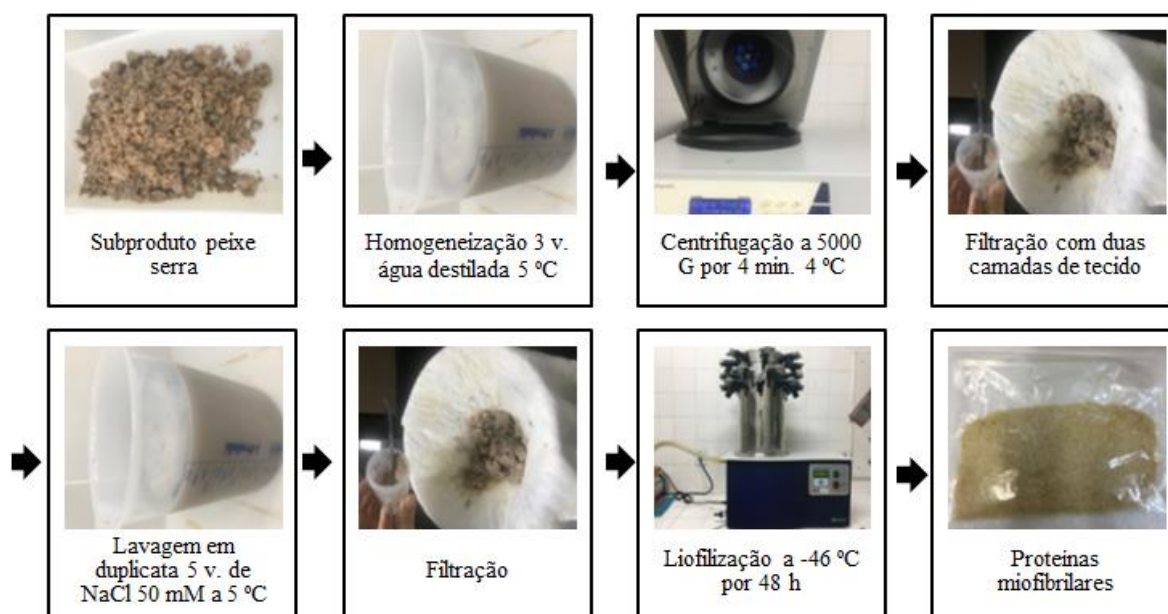
Os subprodutos do postejamento de peixe serra (*Scomberomorus brasiliensis*) foram coletados em uma indústria de beneficiamento de pescado do município de João Pessoa/PB. O peixe serra (1000-1400 g e 55 a 65 cm) foi capturado no Estado do Pará e comercializado no Estado da Paraíba. As amostras foram coletadas em triplicata imediatamente após o corte das postas na máquina serra-fita dos peixes congelados. As amostras foram mantidas congeladas e transportadas imediatamente para o laboratório de análises químicas de alimentos (LAQA), localizado no Campus I-UFPB em João Pessoa-Pb. Os maracujás-amarelos (*Passiflora edulis* Flavicarpa) foram adquiridos no comércio local em João Pessoa, Paraíba, Brasil. As amostras de maracujá foram escolhidas no estágio de maturação maduro, possuindo coloração da casca amarela, sendo transportadas em caixas térmicas para o LAQA. Glicerol e cloreto de sódio (Dinamica, Indaiatuba, São Paulo, Brasil) foram fornecidos por Dinâmica Química Contemporânea LTDA. Ácido cítrico (Sheron, João Pessoa, Paraíba, Brasil) foi obtido na Sheron Indústria LTDA e álcool etílico (Alphatec) na Alphatec S.A, Macaé, Rio de Janeiro, Brasil.

4.3 PROTEÍNAS MIOFIBRILARES

4.3.1 Extração de proteínas miofibrilares

As proteínas miofibrilares do subproduto do postejamento do peixe serra em máquina serra fita foram extraídas de acordo com o método adaptado proposto por Araújo et al. (2018). Os subprodutos foram homogeneizados com 3 volumes de água destilada fria (5 °C) e a mistura foi centrifugada a 5000 G por 4 minutos a 4 °C e, em seguida, filtrada em duas camadas de tecido de algodão. A fração retida foi lavada e filtrada em duplicata com 5 volumes de NaCl 50 mM a 5 °C. Após estas etapas, a massa resultante foi congelada e liofilizada (Liotp L101) a -46 °C por 48 h e as amostras foram acondicionadas a vácuo em sacos de polietileno e armazenadas sob congelamento (-18 °C) até a realização das análises.

Figura 4 – Fluxograma de elaboração da proteína miofibrilar oriundo do subproduto do peixe serra.



Fonte: próprio autor

4.3.2 Caracterização química das proteínas miofibrilares

A proteína miofibrilar extraída dos subprodutos da máquina serra-fita foram submetidos à análise de proteínas utilizando o método Kjeldahl de acordo com o método proposto pela AOAC (2016) e lipídeos seguindo as metodologias descritas por Folch (1957).

Para a avaliação do perfil eletroforético da proteína miofibrilar, utilizou-se a metodologia adaptada de Laemmli (1970). Inicialmente, as amostras foram diluídas em solução tampão (0,5 mol/L Tris-HCl, pH 6,8, 10% SDS, 10% glicerol, 5% β -mercaptoetanol e 0,1% Coomassie Blue G250), sendo posteriormente homogeneizadas em vórtex. Em seguida, a solução foi submetida ao banho ultrassônico por 10 minutos e posteriormente aquecida, a 90 °C por 5 minutos (Loccus, São Paulo, Brasil). O gel de separação foi montado possuindo um gradiente de 12,5% de poliacrilamida em tampão Tris - HCl 3 mol/L, pH 8,8 e SDS a 1%. Em seguida foi preparado o gel de empacotamento com 3,5% de poliacrilamida em tampão Tris - HCl 0,5 mol/L, pH 6,8 e SDS a 1%. A corrida foi realizada em amperagem 25 mA, tensão 200 V e potência 15 W. Após o término da corrida, o gel foi retirado da placa e fixado em TCA 12,5% durante uma hora. Utilizou-se Coomassie brilliant blue R250 para corar o gel e solução

descolorante de metanol, ácido acético e água (1:3,5:8 v/v/v) para remoção do excesso de corante. Os pesos moleculares, foram comparadas mediante a utilização de marcador de peso molecular de 12 a 225 kDA (Full-Range Rainbow Molecular Weight Markers (GE), RPN800EG, Life Sciences, Piscataway, NJ, USA).

4.4 PECTINA DO MARACUJÁ-AMARELO

4.4.1 Extração da pectina do maracujá-amarelo

A extração da pectina do mesocarpo do maracujá-amarelo foi realizada de acordo com o método de Canteri-Schemin et al. (2005) utilizando-se 0,086% de ácido cítrico durante 60 minutos de extração, conforme condição ótima determinada no estudo de Pinheiro et al. (2008).

Inicialmente, os maracujás foram lavados e higienizados. O flavedo e a polpa foram removidos e as cascas cortadas em pequenos pedaços, branqueadas para inativação enzimática e secas em estufa de circulação de ar forçada a 55 °C até peso constante. As cascas foram trituradas até obtenção de uma farinha fina. Esta farinha foi embalada em sacos de polietileno à vácuo e armazenada em freezer (-18 ± 2 °C) até a extração da pectina.

A pectina foi extraída sob refluxo em sistema de condensação a 97 °C (soluto/solvente 1:50) durante 60 minutos. O extrato ácido foi filtrado em papel filtro e resfriado a 4 °C. O filtrado (contendo a pectina) foi centrifugado por 30 minutos a 6000 rpm e o sobrenadante separado. O sobrenadante foi adicionado de etanol PA (1:2 v/v) e esta mistura foi agitada por 10 minutos e deixada em repouso por uma hora para permitir a precipitação da pectina, o precipitado foi separado por filtração em papel filtro. A pectina pastosa obtida foi utilizada para elaboração do bioplástico e parte da mesma foi seca em estufa de circulação de ar forçada a 45 °C por 12 horas para a realização das análises de esterificação e acetilação. A pectina pastosa foi acondicionada em placas de petri e a pectina seca em sacos de polietileno à vácuo, ambas armazenadas sob refrigeração (5 °C).

Figura 5 – Fluxograma de elaboração da pectina obtida do maracujá-amarelo.



Fonte: próprio autor

4.4.2 Determinação do grau de esterificação

O grau de esterificação da pectina extraída do mesocarpo do maracujá-amarelo foi determinado pelo método de Bocek, Zabilova e Petropavlovskii (2001) utilizando-se titulação potenciométrica. A pectina seca (0,2 g) foi umedecida com etanol 95 %. Água destilada aquecida a 40 °C (20 mL) foi adicionada e o polímero foi dissolvido sob agitação. A solução resultante foi titulada com NaOH 0,1 N, utilizando a fenolftaleína como indicador e o resultado foi anotado como titulação inicial (T_i). Posteriormente, foi adicionado 10 mL da solução de NaOH 0,1 N à amostra neutralizada de ácido galacturônico e esta solução foi agitada por 2 horas para saponificação dos grupos carboxílicos esterificados do polímero. 10 mL de HCl 0,1 N foi adicionado. O excesso de HCl foi titulado com NaOH 0,1 N. O número de grupos carboxílicos esterificados foi calculado a partir do volume de NaOH 0,1 N gasto na titulação final (T_f). O grau de esterificação foi calculado usando a Equação 1:

$$\% \text{ DE} = T_f / (T_i + T_f) \times 100 \text{ (Equação 1)}$$

Em que, T_i : total de NaOH usado na titulação inicial, mL; T_f : total de NaOH usado na titulação final, mL.

4.4.3 Determinação do grau acetilação

O grau de acetilação foi determinado de acordo com a metodologia de Ranganna (1977). Foi pesado 0,5 g de pectina em um erlenmeyer de 250 mL e adicionado 25 mL de NaOH 0,1N em agitação até que a pectina se dissolvida. A solução ficou reservada durante uma noite. Em seguida, foi diluída com água destilada em um balão volumétrico de 50 mL, do qual foi pipetada uma alíquota de 20 mL e adicionados 20 mL da solução de sulfato de magnésio com ácido sulfúrico. A solução foi destilada em destilador de nitrogênio. Foram reservados 100 mL do destilado para titulação com NaOH 0,05N com o indicador vermelho fenol. Para a detecção do ponto de viragem foi preparado um branco com 20 mL de água destilada e 20 mL de solução de sulfato de magnésio com ácido sulfúrico. A equação para o cálculo do valor acetil foi realizado através da Equação 2.

$$\% \text{ Acetil} = N_{\text{NaOH}} \times \text{mL}_{\text{NaOH}} \times 4.3/P_a \text{ (Equação 2)}$$

Em que: N_{NaOH} : Normalidade do NaOH, mL_{NaOH} : Volume gasto na titulação, mL, P_a : Peso da alíquota, g.

4.5 PREPARAÇÃO DO BIOPLÁSTICO

Os bioplásticos foram preparados pela técnica de espalhamento (*casting*) conforme descrito por Silva et al. (2018), com adaptações. As condições para obtenção do bioplástico foram otimizadas mediante planejamento fatorial 2x2 com 3 pontos centrais, totalizando 7 experimentos e três repetições por unidade experimental. As variáveis independentes foram (x_1) concentração da proteína miofibrilar do subproduto de peixe e (x_2) concentração de pectina (Tabela 2). A permeabilidade ao vapor de água (PVA) e a resistência à tração (RT) foram as variáveis resposta. A faixa das duas variáveis independentes foi determinada com base em experimentos preliminares.

Tabela 2– Variáveis independentes e níveis do planejamento para obtenção do bioplástico.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Concentração de pectina (%) – x_1	1,0	3,0	5,0
Concentração proteica (%) – x_2	3,0	5,0	7,0

A superfície de resposta foi elaborada mediante modelo matemático representado pela Equação 3, onde β representa os coeficientes do modelo:

$$Y = \pm\beta_0 \pm \beta_1X_1 \pm \beta_2X_2 + \beta_5X_1X_2 \text{ (Equação 3)}$$

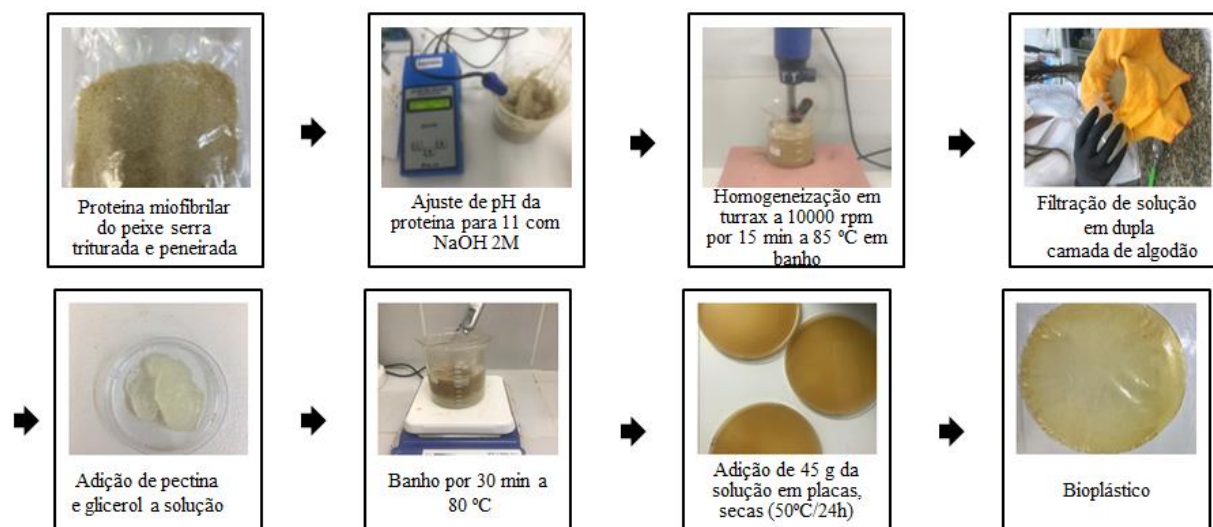
Os efeitos das variáveis independentes foram ranqueados e o teste de desejabilidade foi utilizado para determinar as condições ótimas para a obtenção do bioplástico. Para a validação do modelo, foi realizada a medição da RT e PVA nas condições maximizadas. Os resultados obtidos foram comparados com os valores preditos por meio de teste t para amostras independentes ($p \leq 0,05$). Após a validação o bioplástico maximizado foi submetido à análise de caracterização física, morfológica, mecânica e térmica.

Para a elaboração do bioplástico (Figura 3), de acordo com o planejamento experimental (Tabela 3), as proteínas miofibrilares do subproduto de peixe serra foram trituradas e peneiradas. As proteínas foram misturadas com água destilada e o pH da mistura foi ajustado para 11 com NaOH 2M. A solução foi homogeneizada em turrax sob agitação constante a 10000 rpm por 15 min a 85 °C. Após a homogeneização, a mistura foi filtrada em tecido de algodão com camada dupla. A pectina e o glicerol (4%) foram adicionados à solução e em seguida a mistura foi homogeneizada com bastão por 30 min a 80 °C em banho. As soluções filmogênicas (45 g) foram dispostas em placas de acrílico (150x15mm) e secas em estufa a 50 °C por 24 h. Ao final da secagem, os filmes foram transferidos para dessecadores (30% umidade relativa) até temperatura constante.

Tabela 3– Matriz do planejamento experimental.

Ensaio	Teor de proteína (%)	Teor de pectina (%)
1	+1 (7,0)	+1 (5,0)
2	+1 (7,0)	-1 (1,0)
3	-1 (3,0)	+1 (5,0)
4	-1 (3,0)	-1 (1,0)
5	0 (5,0)	0 (3,0)
6	0 (5,0)	0 (3,0)
7	0 (5,0)	0 (3,0)

Figura 3 – Fluxograma de elaboração do bioplástico.



Fonte: próprio autor

4.6 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DO BIOPLÁSTICO

4.6.1 Determinação das propriedades físicas do bioplástico

A espessura do bioplástico foi determinada pela média aritmética medida em 10 pontos aleatórios utilizando-se um paquímetro portátil com precisão de 0,001mm.

A cor foi determinada com auxílio de um colorímetro digital (CR-300, Konica Minolta, USA). Para a leitura dos parâmetros L^* (luminosidade), a^* (intensidade de vermelho/verde) e b^* (intensidade de amarelo/azul), conforme especificações da Comissão Internationale de L'éclairage - CIE (2004).

Os filmes foram analisados quanto à transmissão de luz na faixa de comprimento de onda de 600 nm em espectrofotômetro (UV-Vis, Modelo Q798U, Diadema, São Paulo/SP, Brasil). Os filmes foram devidamente cortados nas dimensões da cubeta e posicionados perpendicularmente na direção do feixe de luz.

Para determinar a transparência, aderiu-se como base a relação existente entre a medida de transmitância e a espessura dos filmes, de acordo com a Equação 4 (SOTHORNVIT et al., 2010). A espessura foi medida em três pontos da amostra de cada filme utilizando um paquímetro digital.

$$T = \frac{\text{Log } (\%T)}{b} \quad (\text{Equação 4})$$

Em que, %T, é o percentual de transmitância e b, é a espessura do filme em milímetros.

4.6.2 Determinação das propriedades mecânicas do bioplástico

O ensaio de tração foi realizado para a determinação da resistência à tração (RT) e do alongamento percentual. Tais propriedades foram medidas usando um instrumento de ensaios estáticos da SHIMADZU – Linha AGS - X 10 Kn, operando conforme as especificações da ASTM D882-12 (ASTM, 2012).

Os corpos de provas foram ensaiados em formato de tiras com uma dimensão de 120 x 15 mm, e foram medidas as espessuras dos filmes com auxílio de paquímetro digital de inox (LEE TOOLS), em cinco posições aleatórias em todas as amostras, previamente acondicionadas a 30 % UR e 25°C.

Na execução do ensaio, os corpos de prova foram fixados entre as garras do equipamento, na posição inicial de 50 mm e a velocidade de separação das garras de 10 mm/min estabelecidos pela norma. A RT (em MPa) foi determinada pela relação entre a força máxima de tração medida (σ) e a área da seção transversal inicial do corpo de prova (A_o), conforme Equação 5.

$$RT \text{ (MPa)} = \frac{\sigma}{A_o} \text{ (Equação 5)}$$

O alongamento (em %) foi determinado pela relação entre a distância percorrida no deslocamento das garras até a ruptura (ΔL = comprimento final (L_f) – comprimento inicial (L_o)) e comprimento inicial do corpo de prova (L_o), conforme Equação 6.

$$AL \text{ (\%)} = \frac{\Delta L}{L_o} \times 100 \text{ (Equação 6)}$$

4.6.3 Caracterização das propriedades térmicas do bioplástico

Os parâmetros térmicos dos filmes foram avaliados por meio de calorímetro diferencial de varredura da SHIMADZU modelo DSC-60, operado com gás nitrogênio a 20 mL/min. A massa das amostras variou de 5 a 9 mg e foi acondicionada em recipiente de alumínio fechado. Posteriormente, as amostras foram aquecidas até 550 °C a uma taxa de 10 °C/min.

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada em analisador termogravimétrico da SHIMADZU modelo DTG-60H. O teste não-isotérmico foi realizado utilizando 10 mg de amostra, em cadinho de alumínio com atmosfera de ar

sintético, fluxo de 50 mL/min, com razão de aquecimento de 10 °C/min, variando de 25-800 °C.

4.6.4 Caracterização morfológica do bioplástico

As amostras foram caracterizadas quanto à permeabilidade ao vapor de água (PVA) pelo método gravimétrico ATSM E96/E96M-16 (ASTM, 2016), com adaptações. Os filmes com 5 cm de diâmetro foram inseridos e vedados com liga nos recipientes de plástico, contendo sílica em gel. Os recipientes foram acondicionados em dessecador (25°C) à 75% (com solução saturada de NaCl). As amostras foram pesadas em balança analítica a cada 24 h por 7 dias. Calculadas de acordo com a Equação 7, com resultados expressos em gH₂O.mm/m².h.mmHg.

$$WVP = \frac{\left(\frac{C_i}{A}\right).x}{P_S.(UR_1-UR_2)} \text{ (Equação 7)}$$

A solubilidade em água foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Ojagh et al. (2010), com adaptações. Os filmes foram cortados em quadrados de (2x2cm). A determinação da matéria seca inicial foi determinada por meio de secagem em estufa, a 105 °C, por 24 h. Após a primeira pesagem, as amostras foram imersas em um Erlenmeyer de 250 mL com 50 mL de água destilada e mantidas sob agitação a 100 rpm (MultiShaker) por 24 h, a 25 °C. Após este período, a água foi removida por meio de secagem em estufa com circulação de ar a 105 °C por 24 h e feita à medição da massa da matéria seca que não se dissolveu em água. A solubilidade, expressa em porcentagem, foi calculada conforme a equação 8.

$$S(\%) = \left(\frac{P_i - P_f}{P_i}\right) \times 100 \text{ (Equação 8)}$$

Em que, P_i - massa inicial do material seco e P_f - massa final do material seco que não se dissolveu.

A avaliação da degradação dos filmes foi através da verificação da perda de massa quando exposto à microbiota natural encontrada no solo por um período de 15 dias. As amostras foram cortadas em forma retangular (2x2cm), pesadas e enterradas em recipientes de plásticos com 15 cm de profundidade. A cada 5, 7, 9 e 15 dias, os filmes foram desenterrados e lavados com água destilada para eliminar os resquícios de terra,

em seguida foram secos em estufa a 40 °C por 24 h e pesadas (CHANDRA; RUSTGI, 1997).

Os filmes foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier de infravermelho médio (FTIR) (Shimadzu, modelo IR Prestige-2). Os espectros foram obtidos no modo ATR na faixa de 4000 a 600 cm⁻¹, resolução de 4 cm⁻¹ e 40 de varreduras (ASTM, 2011).

A análise de difração de raios X (DRX) foi obtida através dos parâmetros propostos por Spagnol et al. (2018). Foi utilizado um difratograma de raios X com uma tensão aplicada de 40 kV e uma corrente de 30 mA (radiação CuK α = 1,5418 Å), na faixa de 2 θ = 10-50° e uma velocidade de 2°.min⁻¹.

Para o tamanho do cristalito (t) foi utilizado a equação 9 descrita por Costa (2012).

$$t = \frac{0,9 \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad (\text{Equação 9})$$

Onde λ é o comprimento de onda da radiação (1,5418 Å), β é a largura do pico à meia altura em radianos e θ é o ângulo de intensidade máxima do pico (2 $\theta \approx 20^\circ$).

O espaçamento interplanar foi calculado pela substituição do ângulo de espalhamento, 2 θ , do pico mais intenso na equação de Bragg.

$$d = \frac{\lambda}{2 \cdot \sin \theta} \quad (\text{Equação 10})$$

A micrografia dos bioplásticos foi determinada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Tescan São Paulo, SP, Brasil). As amostras foram fixadas em suporte metálico com fita dupla-face de carbono e revestidas com uma fina camada de ouro. As imagens foram capturadas através software operacional MiraTC, com uma voltagem de aceleração de 10kV, detectores SE, com fluxo de 1750mA e ampliação de 100 e 50 μ m.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos do planejamento fatorial foram submetidos à Análise de Variância ($p < 0,05$) e os coeficientes de regressão foram utilizados para gerar as superfícies de resposta com auxílio do software Statistica versão 7.0. Os efeitos das variáveis independentes foram ranqueados e o teste de desejabilidade foi utilizado para determinar as condições ótimas para a obtenção do bioplástico. Para validar o modelo

matemático, o experimento foi repetido nas condições ótimas indicadas pela função desejabilidade e os resultados obtidos foram comparados com os valores preditos através do teste-t para amostras independentes, considerando um intervalo de confiança de 95%.

REFERÊNCIAS

ABE, M. M.; BRANCIFORTI, M. C.; MONTAGNOLLI, R. N.; MORALES, M. A. M.; JACOBUS, A. P.; BRIENZO, M. Production and assessment of the biodegradation and ecotoxicity of xylan-and starch-based bioplastics. **Chemosphere**, v. 287, p. 132290, 2022.

ALASHWAL, B. Y.; BALA, M. S.; GUPTA, A.; SHARMA, S.; MISHRA, P. Improved properties of keratin-based bioplastic film mixed with microcrystalline cellulose: a comparative analysis. **Journal of King Saud University-Science**, v. 32, n. 1, p. 853-857, 2020.

ALBUQUERQUE, P. B. S.; MALAFAIA, C. B. Perspectives on the production, structural characteristics and potential applications of bioplastics derived from polyhydroxyalkanoates. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 615-625, 2018.

ALIAS, S. A.; ISHAK, K. M. K. Preparation and Characterization of Protein Bioplastics from Fish Waste Using Different Plasticizers. **Materials Science Forum**, v. 982, p. 67-72, 2020.

AOAC- Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis the of AOAC International**. 20. ed. Washington, 2016.

ARAÚJO, C. S.; RODRIGUES, A. M. C.; JOELE, M. P., ARAÚJO, E. A. F.; LOURENÇO, L. F. H. Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. **Food packaging and shelf life**, v.16, p. 23-30, 2018.

ARGENTA, F. F. **Tecnologia de pescado: características e processamento da matéria-prima**. 2012. Monografia (Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

ARPI, N.; HARDIANTI, E. Preparation and characterization of biodegradable film based on skin and bone fish gelatin. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 207, n. 1, p. 012050, 2018.

ARRIETA, M. P.; PEPONI, L.; LOPEZ, D.; LOPEZ, J.; KENNY, J. M. An´ overview of nanoparticles role in the improvement of barrier properties of bioplastics for food packaging applications. **Food Packaging**, p. 391–424, 2017.

ASROFI, M.; SAPUAN, S. M.; ILYAS, R. A.; RAMESH, M. Característica dos bioplásticos compostos do amido de tapioca e da fibra de bagaço de cana-de-açúcar:

Efeito da duração do tempo da ultrassônica (Tipo banho). **Materiais Hoje: Procedimentos**, v. 46, p. 1626-1630, 2021.

ASTM - American Society for Testing and Materials. ASTM D5477-11. **Standard practice for identification of polymer layers or inclusions by fourier transform infrared microspectroscopy (FT-IR)**. 2011.

ASTM, A. - American Society for Testing and Materials. D882-12. **Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting**. 2012.

ASTM. - American Society for Testing and Materials. ASTM E96/E96M-16. **Standard test methods for water vapor transmission of materials**. 2016.

ATIWESH, G.; MIKHAEL, A.; PARRISH, C. C.; BANOUB, J.; LE, T.-A. T. Environmental impact of bioplastic use: A review. **Heliyon**, v.7. n.9, p.e07918, 2021.

BECHTEL, P. J.; BLAND, J. M.; BETT-GARBER, K. L.; GRIMM, C. C.; BRASHEAR, S. S.; LLOYD, S. W.; LEA, J. M. Chemical and nutritional properties of channel and hybrid catfish byproducts. **Food Science & Nutrition**, v. 5, n. 5, p. 981-988, 2017.

BILO, F.; PANDINI, S.; SARTORE, L.; DEPERO, L. E.; GARGIULO, G.; BONASSI, A.; BONTEMPI, E. A sustainable bioplastic obtained from rice straw. **Journal of cleaner production**, v. 200, p. 357-368, 2018.

BOCHEK, A. M.; ZABIVALOVA, N. M.; PETROPAVLOVSKII, G. A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 75, p. 796-799, 2001.

BONALDI, C. Os desafios da reciclagem de plásticos, 2019. Disponível em: <https://www.jornalcruzeiro.com.br/meio-ambiente/os-desafios-da-reciclagem-do-plastico/>. Acesso em: 22 dez. 2021.

BOURBON, A. I.; PEREIRA, R. N.; PASTRANA, L. M.; VICENTE, A. A.; CERQUEIRA, M. A. Protein-based nanostructures for food applications. **Gels**, v. 5, n. 1, p. 9, 2019.

BOURBON, A. I.; PINHEIRO, A. C.; CERQUEIRA, M. A.; ROCHA, C. M.; AVIDES, M. C.; QUINTAS, M. A.; VICENTE, A. A. Physico-chemical characterization of chitosanbased edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. **Journal of Food Engineering**, v. 106, p. 111-118, 2011.

BRAHNEY, J.; HALLERUD, M.; HEIM, E.; HAHNENBERGERET, M.; SUKUMARAN, S. Plastic rain in protected areas of the United States. **Science** v.368, p.1257–1260, 2020.

BRANDÃO, E. M.; ANDRADE, C. T. Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectinas de alto grau de metoxilação. **Polímeros**, v.9, p.38-44, 1999.

BRYDSON, J.A. **Plastics Materials**. Elsevier, p. 920, 1999.

BUIS, A. The atmosphere: getting a handle on carbon dioxide, 2019. Disponível em: <https://climate.nasa.gov/news/2915/the-atmosphere-getting-a-handle-on-carbon-dioxide/>. Acesso em: 21 dez. 2021.

CANEVAROLO JUNIOR, S. V. Técnicas de Caracterização de Polímeros. São Paulo: Artliber, p. 448, 2007.

CANTERI-SCHEMIN, M. H.; FERTONANI, H. C. R.; WASZCZYNSKYJ, N.; WOSIACKI, G. Extraction of pectin from apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p.259-266, 2005.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J.A.; VÁZQUEZ, M. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocoll**, v.68, 136–148, 2017.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradation of maleated linear low-density polyethylene and starch blends. **Polymer Degradation and Stability**, v.56, n.2, p.185-202, 1997.

CHEN, P. H.; KUO, T. Y.; KUO, J. Y.; TSENG, Y. P.; WANG, D. M., LAI, J. Y.; HSIEH, H. J. Novel chitosan–pectin composite membranes with enhanced strength, hydrophilicity and controllable disintegration. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1236-1242, 2010.

COSTA, G. F.; GRISI, C. V. B.; MEIRELES, B. R. L. A.; DE SOUSA, S.; CORDEIRO, A. M. T. M. Collagen films, cassava starch and their blends: Physical–chemical, thermal and microstructure properties. **Packaging Technology and Science**, p 1-12, 2021.

DELLA MALVA, A.; ALBENZIO, M.; SANTILLO, A.; RUSSO, D.; FIGLIOLA, L.; CAROPRESE, M.; MARINO, R. Methods for extraction of muscle proteins from meat and fish using denaturing and non-denaturing solutions. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.

DENARI, G. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Princípios e aplicações de análise térmica. **São Carlos: IQSC**, p. 40, 2012.

DIAS, H. C.; REIS, A. B. Feasibility study and development of active films from waste from the wine industry. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v.5, n.5, p. 0444-0451, 2019.

EGHBAL, N.; YARMAND, M. S.; MOUSAVI, M.; DEGRAEVE, P.; OULAHAL, N.; GHARSALLAOUI, A. Complex coacervation for the development of composite edible films based on LM pectin and sodium caseinate. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 947-956, 2016.

EUROPEAN BIOPLASTICS. Bioplastic Materials, 2021. Disponível em: <https://www.european-bioplastics.org/bioplastics/materials/>. Acesso em: 23 dez. 2021.

EUROPEAN BIOPLASTICS. Bioplastics market data, 2020. Disponível em: <https://www.european-bioplastics.org/market/>. Acesso em: 23 dez. 2021.

EUROPEAN BIOPLASTICS. Plastics - The facts 2019, 2020. Disponível em: <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2019/>. Acesso em: 23 dez. 2021.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. **Embrapa Cerrados-Livro técnico (INFOTECA-E)**, p. 341, 2016.

FAO–ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO. **The state of word fisheries and aquaculture 2020**. 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en>. Acesso em: 10 jul. 2021.

FAVERI, A.; FAVERI, R.; BROERING, M. F.; BOUSFIELD, I. T.; GOSS, M. J.; MULLER, S. P.; SANTIN, J. R. Effects of passion fruit peel flour (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* O. Deg.) in cafeteria diet-induced metabolic disorders. **Journal of ethnopharmacology**, v. 250, p. 112482, 2020.

FECHINE, G. J. M. A Era dos Polimeros Biodegradaveis. **Revista Plastico Moderno**, v. 423, n. 28, 2010.

FISH BASE. *Scomberomorus brasiliensis*, 2020. Disponível em: <https://www.fishbase.de/summary/Scomberomorus-brasiliensis>. Acesso em: 10 jul. 2021.

FRANCO, G. T. Desenvolvimento de filmes biodegradáveis baseados em pectina e nanofibras de celulose funcionalizadas. 2019. 100f. **Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos**, 2019.

FRANZON, G. **Inspeção de Pescado**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Luterana do Brasil, Rio grande do Sul, 2011.

FREITAS, C. M. P.; RODRIGUES, G. S.; PINHEIRO, M. F.; SILVA, D. J.; SOUSA, R. C. S. Study of the drying kinetics of passion fruit (*Passiflora edulis flavicarpa*) rind. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, p. 20146-20151, 2019.

FOLCH J, L. M.; STANLEY, G. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497–509, 1957.

GEYER, R.; JAMBECK, J. R.; LAW, K. L. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science advances**, v. 3, n. 7, p. 1700782, 2017.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Edible Wheat Gluten Films: Influence of the Main Process Variables on Film Properties using Response Surface Methodology. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 190–195, 1992.

GROSS, M.. Our planet wrapped in plastic. **Current Biology**, v. 27, n. 16, p. 785-788, 2017.

GURGEL, T. A. B.; CAVARLHO, M. M.; OLIVEIRA, M. R.; CHELLAPA, S. Ocorrência e caracterização de peixes marinhos da praia de Ponta Negra, Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Amazônia Open Journal System**, v. 4, n. 3, p.112-118, 2014.

GÜZEL, M.; AKPINAR, Ö. Valorization of fruit by-products: Production characterization of pectins from fruit peels. **Food and Bioproducts Processing**, v. 115, p. 126-133, 2019.

HEINRICH BÖLL. **Atlas do plástico: fatos e números sobre o mundo dos polímeros sintéticos**. Alice boit, p. 64, 2020.

IBGE. Table 5457 - Area planted or destined for harvest, area harvested, quantity produced, average yield and value of production of temporary and permanent crops. Munic. **Agricultural Production**, p.1–330, 2018.

IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**. Brasília, 2015.

JIMÉNEZ-ROSADO, M.; BOUROUDIAN, E.; PEREZ-PUYANA, V.; GUERRERO, A.; ROMERO, A. Evaluation of different strengthening methods in the mechanical and functional properties of soybean protein bioplastics. **Journal of Cleaner Production**, v. 262, p. 121517, 2020.

JRIDI, M.; ABDELHEDI, O.; SALEM, A.; KECHAOU, H.; NASRI, M.; MENCHARI, Y. Physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of fish gelatin-based edible films enriched with orange peel pectin: Wrapping application. **Hidrocolóides alimentares**, v. 103, p.105688, 2020.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; BENJAKUL, S.; RAWDKUEN, S. Effect of protein concentrations on the properties of fish myofibrillar protein based film compared with PVC film. **Journal of food science and technology**, v. 53, n. 4, p. 2083-2091, 2016.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; RAWDKUEN, S. Effects of plasticizers on the properties of fish myofibrillar protein film. **Journal of food science and technology**, v. 55, n. 8, p. 3046-3055, 2018.

KAEWPRACHU, P.; OSAKO, K.; TONGDEESOONTORN, W.; RAWDKUEN, S. The effects of microbial transglutaminase on the properties of fish myofibrillar protein film. **Food packaging and shelf life**, v.12, p.91-99, 2017.

KASMURI, N. ; ZAIT, M. S. A. Enhancement of bio-plastic using eggshells and chitosan on potato starch based. **International Journal of Engineering & Technology**, v. 7, n. 3, p. 110-115, 2018.

KONICA MINOLTA. Precise color communication: color control from perception to instrumentation. Japan: Konica Minolta Sensing Inc, 2007.

KULKARNI, S. G.; VIJAYANAND, P. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* L.). **Food Science and Technology**, v. 43, p. 1026-1031, 2010.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680-685, 1970.

LA FUENTE ARIAS, C. I.; KUBO, M. T. K. N.; TADINI, C. C.; AUGUSTO, P. E. D. Bio-based multilayer films: A review of the principal methods of production and challenges. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1-17, 2021.

LIMA, D. A. S.; SANTOS, M. M. F.; DUVALE, R. L. F.; BEZERRA, T. K. A.; ARAÚJO, Í. B.S.; MADRUGA, M. S.; SILVA, F. A. P. Technological properties of protein hydrolysate from the cutting byproduct of serra spanish mackerel (*Scomberomorus brasiliensis*). **Journal of Food Science and Technology**, p. 1-11, 2020.

LIONETTO, F.; ESPOSITO CORCIONE, C. Recent applications of biopolymers derived from fish industry waste in food packaging. **Polymers**, v. 13, n. 14, p. 2337, 2021.

LISTYARINI, R. V.; SUSILAWATI, P. R.; NUKUNG, E. N.; YUA, M. A. T. Bioplastic from Pectin of Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Peel. **Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi**, v. 23, n. 6, p. 203-208, 2020.

LUCHESI, C. L.; PAVONI, J. M. F.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Avaliação da influência da incorporação de diferentes resíduos agro industriais em filmes à base de amido de mandioca. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 2, p. 802-812, 2019.

MACHADO, L. D. B.; MATOS, J. R.. Análise térmica diferencial e calorimetria exploratória diferencial. São Paulo: Artliber, p.229-261, 2004.

MALI, S.; GROSSMANN, M.V.E.; YAMASHITA, F. Starch films: production, properties and potential of utilization. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, p. 137-156, 2010.

MANNINA, G.; PRESTI, D.; MONTIEL-JARILLO, G.; SUAREZ-OJEDA, M. E. Bioplastic recovery from wastewater: a new protocol for polyhydroxyalkanoates (PHA) extraction from mixed microbial cultures. **Bioresource Technology**, v.282, p.361–369, 2019.

MARICHELVA, M. K.; JAWAID, M.; ASIM, M. Corn and rice starch-based bioplastics as alternative packaging materials. **Fibers**, v. 7, n. 4, p. 32, 2019.

MEDINA, I.; PAZOS, M. **Oxidation and protection of fish**. Woodhead Publishing Ltd, v. 2, p.120, 2010.

MELCHIADES, F. G.; BOSCHI, A. O. Cores e Tonalidades em Revestimentos Cerâmicos. **Cerâmica Industrial**, v. 4, p. 11–18, 1999.

MORALES-MARTÍNEZ, Y.; DEL ROCÍO LÓPEZ-CUELLAR, M.; CHAVARRÍA-HERNÁNDEZ, N.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, A. I. Rheological behaviour of acetylated pectins from cactus pear fruits (*Opuntia albicarpa* and *O. matudae*). **Food Hydrocolloids**, v.85, p.110-119, 2018.

MURRIETA-MARTÍNEZ, C.L.; SOTO-VALDEZ, H.; PACHECO-AGUILAR, R.; TORRES-ARREOLA, W.; RODRÍGUEZ-FELIX, F.; MÁRQUEZ-RÍOS, E. Edible

protein films: Sources and behavior. **Packaging Technology and Science**, v.31, n.3, p.113-122, 2018.

MURILLO-MARTÍNEZ, M. M.; PEDROZA-ISLAS, R.; LOBATO-CALLEROS, C.; MARTÍNEZ-FEREZ, A.; VERNON-CARTER, E. J. Designing W1/O/W2 double emulsions stabilized by protein–polysaccharide complexes for producing edible films: Rheological, mechanical and water vapour properties. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 4, p. 577-585, 2011.

NAGATANI, T.; SAITO S.; SATO, M.; YAMADA, M. Development of an ultra high resolution scanning electron microscope by means of a field emission source and in-lens system. **Scanning Microscopy**. v.11, 901-909, 1987.

NAJAFABADI, N. S.; SAHARI, M. A.; BARZEGAR, M.; ESFAHANI, Z. H. Role of extraction conditions in the recovery of some phytochemical compounds of the jujube fruit. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 22, p. 439-45, 2020.

NEVES, E. M. P. X.; PEREIRA, R. R.; DA SILVA PEREIRA, G. V.; DA SILVA PEREIRA, G. V., VIEIRA, L. L.; LOURENÇO, L. D. F. H. Effect of polymer mixture on bioplastic development from fish waste. **Bulletin of the Fisheries Institute**, v.45, n.4, 2019.

OJAGH, S. M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S. H.; HOSSEINI, S. M. H. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food chemistry**, v.120, n.1, p.193-198. 2010.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável Nova York: ONU, 2015. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/wp-content/uploads/2015/10/agenda2030-pt-br.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2022.

PEREDA, M.; AMICA, G.; MARCOVICH, N. E. Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1318-1325, 2012.

PEREZ-GAGO, M. B.; KROCHTA, J. M. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. **Journal of Food Science**, v.66, n.5, p.705-710, 2001.

PINHEIRO, E. R.; SILVA, I. M. D. A.; GONZAGA, L. V.; AMANTE, E. R.; TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C.; AMBONI, R. D. M. C. Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. **Bioresource technology**, v. 99, n.13, p.5561-5566, 2008.

QUEIROZ, E. L.; ARAÚJO, G. S.; ALMEIDA, T. B.; MARTINEZ, E. A.; SOUZA, S. M. A. D. Chemical and mechanical properties of bioactive film of cassava starch with the addition of jamelon extract (*Syzygium cumini* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, 2021.

RAMAKRISHNAN, N.; SHARMA, S.; GUPTA, A.; ALASHWAL, B. Y. Keratin based bioplastic film from chicken feathers and its characterization. **International journal of biological macromolecules**, v. 111, p. 352-358, 2018.

RANGANNA, S. Pectin. In: Manual of analysis of fruit and vegetable products. **New Delhi: Tata McGraw Hill Publishing Company Limited**, p. 21-54, 1977.

REID, L. M.; O'DONNELL, C. P.; DOWNEY, G. Recent technological advances for the determination of food authenticity. **Food Science and Technology**, v. 17, n. 7, p. 344–353, 2006.

ROCHA, M.; LOIKO, M. R.; GAUTÉRIO, G. V.; TONDO, E. C.; PRENTICE, C. Influence of heating, protein and glycerol concentrations of film-forming solution on the film properties of Argentine anchovy (*Engraulis anchoita*) protein isolate. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 3, p. 666-673, 2013.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.21, n.6, p.445-463, 2008.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B.; HASHIM, P.; ISMAIL, A. FTIR spectroscopy combined with chemometrics for analysis of lard adulteration in some vegetable oils. **CYTA. Journal of Food**, v. 9, n. 2, p. 96–101, 2011.

ROSTAMZAD, H.; PAIGHAMBARI, S.Y.; SHABANPOUR, B.; OJAGH, S.M.; MOUSAVI, S.M. Improvement of fish protein film with nanoclay and transglutaminase for food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 7, p. 1-7, 2017.

SALEH, T. A.; GUPTA, V. K. **Nanomaterial and Polymer Membranes: Synthesis, Characterization, and Applications**. Elsevier, p. 267, 2017.

SANDARANI, M. D. J. C. A review: different extraction techniques of pectin. **Journal of Pharmacognosy & Natural Products**, v.3, n.3, p.1-5, 2017.

SANTOS, J. P.; ESQUERDO, V. M.; MOURA, C. M.; PINTO, L. A. Crosslinking agents effect on gelatins from carp and tilapia skins and in their biopolymeric films. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 539, p.184-191, 2018.

SCHANDA, J. CIE colorimetry. **Colorimetry: Understanding the system CIE**. p.25-78, 2007.

ŠEŠLIJA, S.; NEŠIĆ, A.; RUŽIĆ, J.; KRUŠIĆ, M. K.; VELIČKOVIĆ, S.; AVOLIO, R.; MALINCONICO, M. Edible blend films of pectin and poly (ethylene glycol): Preparation and physico-chemical evaluation. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 494-501, 2018.

SHARMA, P.; GAUR, V. K.; KIM, S. H.; PANDEY, A. Microbial strategies for bio-transforming food waste into resources. **Bioresource Technology**, v. 299, p. 1–11, 2020.

SILVA, E. C., SILVA, W. P., SILVA, E. T., LOPES, J. D., GUSMÃO, R. P. Obtenção e caracterização da farinha do albedo de maracujá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) para uso alimentício. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 3, p. 6, 2016.

SILVA, J. L.; RAO, M. A. 11 Pectins: Structure, Functionality, and Uses. **Food polysaccharides and their applications**, p.353, 2006.

SILVA, K. S.; FONSECA, T. M. R.; AMADO, L. R.; MAURO, M. A. Physicochemical and microstructural properties of whey protein isolate-based films with addition of pectin. **Food packaging and shelf life**, v.16, p.122-128, 2018.

SOTHORNVIT, R.; HONG, S.I.; AN, D.J.; RHIM, J. W. Efeito do teor de argila nas propriedades físicas e antimicrobianas dos filmes compostos de proteína de soro de leite/organo-argila. **LWT-Food Science and Technology**, v.43, n.2, p.279-284, 2010.

SPAGNOL, C.; FRAGAL, E. H.; PEREIRA, A. G.; NAKAMURA, C. V.; MUNIZ, E. C.; FOLLMANN, H. D.; RUBIRA, A. F. Cellulose nanowhiskers decorated with silver nanoparticles as an additive to antibacterial polymers membranes fabricated by electrospinning. **Journal of colloid and interface science**, v.531, p.705-715, 2018.

SUDHAKAR, M. P.; PETER, D. M. ; DHARANI, G. Studies on the development and characterization of bioplastic film from the red seaweed (*Kappaphycus alvarezii*). **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-15, 2020.

SUDHAKAR, M. P.; MAGESH PETER, D.; DHARANI, G. Estudos sobre o desenvolvimento e caracterização do filme bioplástico a partir das algas vermelhas (*Kappaphycus alvarezii*). **Pesquisa de Ciência e Poluição Ambiental**, v. 28, n. 26, p. 33899-33913, 2021.

SURYA, P.; ARUMUGAM, S.; NITHIN, A.; ISWARYA, P. Eco-Friendly Preparation and Characterization of Bioplastic Films from Marine Fish Wastes. **Research Article**, v.1, p. 1-24, 2021.

TALMA, S. V.; REGIS, S. A.; FERREIRA, P. R.; MELLINGER-SILVA, C.; RESENDE, E. D. D. Characterization of pericarp fractions of yellow passion fruit: density, yield of flour, color, pectin content and degree of esterification. **Food Science and Technology**, v.39, p.683-689, 2019.

TANG, H.; MITSUNAGA, T.; KAWAMURA, Y. Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture. **Carbohydrate Polymers**, v. 63, n. 4, p. 555–560, 2006.

TECHNAVIO. Global consumer goods contract packaging Market 2018-2022, 2020. Disponível em: <https://www.technavio.com/report/global-consumer-goods-contract-packaging-market-analysis-share-2018>. Acesso em: 22 dez. 2021.

TERESA, I. A.; GOUVEIA, K. B.; MARIA, C. R.; CASTRO, M. P.; GONÇALVES, H. K. S. S. A new approach to develop biodegradable films based on thermoplastic pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 97, p.105-175, 2019.

TONGKHAM, N.; JUNTASALAY, B.; LASUNON, P.; SENGKHAMPARN, N. Dragon fruit peel pectin: microwave-assisted extraction and fuzzy assessment. **Agricultural and Natural Resources**, v. 51, n. 4, p.262-267, 2017.

TUAN, N. T., DANG, L. N., HUONG, B. T. C., DANH, L. T. One step extraction of essential oils and pectin from pomelo (*Citrus grandis*) peels. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, v. 142, p. 107550, 2019.

VALE, D. A.; VIEIRA, C. B.; OLIVERIA, J. M.; VIDAL, M. F.; ALCÂNTARA, L. O.; SILVA, A. I. M.; SOUZA, B. W. S. Determining the wetting capacity of the chitosan coatings from *Ucides cordatus* and evaluating the shelf-life quality of *Scomberomorus brasiliensis* fillets. **Food Control**, v.116, p.107-329, 2020.

WANG, W.; ZHANG, Y.; LI, M.; WEI, X.; WANG, Y., LIU, L.; WANG, H.; SHEN, S. Operation mechanism of constructed wetland-microbial fuel cells for wastewater treatment and electricity generation: a review. **Bioresource Technology**, v. 314, p. 123808. 2020.

WENDLANDT, W.W. Thermal analysis. New York: John Wiley & Sons, p.1, 1986.

YAMADA, M.; MORIMITSU, S. HOSONO, E.; YAMADA, T. Preparação de bioplástico usando proteína de soja. **Revista internacional de macromoléculas biológicas**, v. 149, p. 1077-1083, 2020.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com a realização desta dissertação permitiram a elaboração de um (01) artigo científico, submetido à revista Food Packaging and Shelf Life, com Fator de Impacto 6,429.

Characterization of a new food packaging material based on fish by-product proteins and passion fruit pectin

Abstract: The development of biodegradable bioplastics based on renewable raw materials has emerged as an innovative option to minimize the adverse effects of improper disposal of petrochemical packaging in the environment. This study aimed to maximize the conditions for bioplastic production from proteins of the cutting byproduct of Serra Spanish Mackerel (*Scomberomorus brasiliensis*) and pectin of the yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Flavicarpa), evaluating the physical, mechanical, thermal, and morphological characteristics of the maximized bioplastic. According to the results, the optimal conditions for obtaining the bioplastic were 5.0% protein concentrate and 3.0% pectin. The maximized film was homogeneous, strong, flexible, and biodegradable, with low solubility and water vapor permeability, indicating that the protein and pectin biopolymers had good interaction and could produce bioplastics. Therefore, there was a satisfactory interaction between the incorporated biopolymers, indicating their application in the food industry and thus causing a reduction in the production of industrial by-products.

Keywords: by-products, fish myofibrillar proteins, pectin, sustainability, bioplastics.

1 Introduction

The excessive use of fossil plastics is a global concern due to their high resistance to degradation, which leads to the accumulation of by-products in the environment (Raza et al., 2018). Currently, the containment measures of the new coronavirus through social isolation have strongly influenced the lifestyle and consumption pattern of the world's population, promoting an increase in the use and

inadequate disposal of plastic packaging (Adyel, 2020). As a result, the size of the global plastic packaging market had an 11.4% growth in revenue between 2019 and 2021, rising from \$909.2 billion to \$1012.6 billion (Business Insider, 2020).

Biodegradable films have been widely studied in the last decades and have been pointed out as an option to replace petrochemical packaging (Asrofi et al., 2021). These bioplastics are usually derived from natural polymers such as starch (Marichelvam et al., 2019; Yang et al., 2021), proteins (Chalermthai et al., 2021; Jiménez-Rosado et al., 2021), cellulose (Azmin et al., 2020), and algae (Yusmaniar et al., 2019; Lim et al., 2021), among others.

Proteins from fish by-products have been considered as innovative raw materials for bioplastic development because they are biodegradable, have high nutritional value and low cost, and exhibit excellent technological properties, such as the ability to form networks, plasticity, elasticity, and satisfactory oxygen barrier, thus being considered promising in the preparation of films (Kaewprachu et al., 2017).

Fish byproducts are largely produced during processing, most prominently during spawning. This process generates a byproduct known as "fish powder." Its composition configures it as a raw material rich in myofibrillar proteins. However, it is noteworthy that despite being underutilized or discarded, it is considered ideal for use in the development of biodegradable films (Lima et al., 2020). However, films from a single biopolymer such as fish proteins show good barrier properties but unsatisfactory mechanical features such as high stiffness and low malleability. An alternative to overcome this limitation is the combined use of bio compounds, such as protein and pectin, for example (La Fuente Arias et al., 2021).

Pectin is a complex natural heteropolysaccharide abundant in citrus fruit byproducts such as passion fruit and can be applied in the production of various

products such as biodegradable and renewable films (Mellinas et al., 2020). Incorporating passion-fruit pectin into protein bioplastics can improve the physical and mechanical properties of the film compared to bioplastics formed by protein or pectin alone. Therefore, the aim was to maximize the conditions for bioplastic production from Serra fish (*Scomberomorus brasiliensis*) and yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Flavicarpa) byproduct proteins, evaluating the physical, mechanical, thermal, and morphological characteristics of the optimized bioplastic.

2 Material and Methods

2.1 Material

The cutting byproduct of the Serra Spanish Mackerel (*Scomberomorus brasiliensis*) spawning were collected in a fish processing industry in the municipality of João Pessoa, Paraíba, Brazil. The sawfish (1000-1400 g and 55 to 65 cm) was caught in Pará State and commercialized in the State of Paraíba. The samples were collected in triplicate immediately after cutting the frozen fish fillets in the band saw machine and kept frozen, and immediately transported to the Laboratory of Food Chemical Analysis (LAQA/UFPB). The yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Flavicarpa) was purchased from the local market in João Pessoa, Paraíba, Brazil. The samples were selected at the ripe, yellow skin coloring stage and transported in cool boxes to LAQA. Glycerol and sodium chloride (Dinamica, Indaiatuba, São Paulo, Brazil) were supplied by Dinâmica Química Contemporânea LTDA. Citric acid (Sheron, João Pessoa, Paraíba, Brazil) was obtained from Sheron Indústria LTDA and ethyl alcohol (Alphatec) from Alphatec S.A, Macaé, Rio de Janeiro, Brazil.

2.2 Extraction of myofibrillar proteins

Myofibrillar proteins from the by-product of Serra fish spawning in a band saw machine were extracted according to the adapted method proposed by Araújo et al. (2018). The byproducts were homogenized with three volumes of cold distilled water (5 °C), and the mixture was centrifuged at 5000 G for four minutes at 4 °C and then filtered through two layers of cotton cloth. The retained fraction was washed and filtered in duplicate with five volumes of 50 mM NaCl at 5 °C. After these steps, the resulting mass was frozen and lyophilized (Liotp *L101*) at -46 °C for 48 h, and the samples were vacuum packed in polyethylene bags and stored under freezing until the analyses were performed.

2.3 Chemical characterization of myofibrillar proteins

The myofibrillar protein extracted from the by-products of the bandsaw machine were subjected to protein analysis using the Kjeldahl method according to the method proposed by AOAC (2016), and lipids following the methodologies described by Folch (1957). To assess the electrophoretic profile of myofibrillar protein, we used the methodology adapted from Laemmli (1970). Initially, samples were diluted in buffer solution (0.5 mol/L Tris-HCl, pH 6.8, 10% SDS, 10% glycerol, 5% β -mercaptoethanol, and 0.1% Coomassie Blue G250) and then homogenized in a vortex. The solution was then submitted to an ultrasonic bath for 10 minutes and subsequently heated at 90 °C for five minutes (Loccus, São Paulo, Brazil). The separation gel was set up with a gradient of 12.5% polyacrylamide in Tris – HCl 3 mol/L buffer, pH 8.8, and 1% SDS. Then the packing gel was prepared with 3.5% polyacrylamide in 0.5 mol/L Tris - HCl buffer, pH 6.8, and 1% SDS. The run was performed at 25 mA amperage, 200 V voltages, and 15 W of power. After the run, the gel was removed from the plate and fixed in 12.5% TCA

for one hour. Coomassie brilliant blue R250 was used to stain the gel and a destaining solution of methanol, acetic acid, and water (1:3.5:8 v/v/v) to remove excess dye. The molecular weights were compared using a molecular weight marker from 12 to 225 kDa (Full-Range Rainbow Molecular Weight Markers (GE), RPN800EG, Life Sciences, Piscataway, NJ, USA).

2.4 Extraction of pectin from yellow passion fruit

The extraction of pectin from the yellow passion fruit mesocarp was performed according to the method of Canteri-Schemin et al. (2005) using 0.086% citric acid and 60 minutes of extraction, according to the optimal condition determined in the study by Pinheiro et al. (2008). Initially, the passion fruits were washed and sanitized. The flavedo and pulp were removed, and the peels were cut into small pieces, bleached for enzyme inactivations, and dried in a forced-air oven at 55 °C until constant weight. The peels were ground to obtain fine flour, called passion fruit peel flour. This flour was packed in polyethylene vacuum bags and stored in a freezer (-18 ± 2 °C) until pectin extraction. The pectin was extracted under reflux in a condensation system at 97 °C (solute/solvent 1:50), and the acid extract was filtered through filter paper and cooled at 4 °C. The filtrate containing the pectin was centrifuged for 30 minutes at 6000 rpm, and the supernatant was separated. Ethanol PA (1:2 v/v) was added to the supernatant, and this mixture was stirred for 10 minutes and allowed to stand for one hour to allow the pectin to precipitate; the precipitate was separated by filtration on filter paper. The pasty pectin was used to prepare the bioplastic, and part of it was dried in a forced-air circulation oven at 45 °C for 12 hours to perform esterification and acetylation analyses. The pasty pectin was packed in Petri dishes and the dry pectin in vacuum polyethylene bags, both stored under refrigeration.

2.5 Determination of the degree of esterification (%GE) and acetylation (%GA) of yellow passion fruit pectin

The degree of esterification of pectin extracted from the yellow passion fruit mesocarp was determined by Bocek, Zabilova & Petropavlovskii (2001) using potentiometric titration. The degree of acetylation was determined according to the methodology of Ranganna (1977).

2.6 Experimental design and preparation of the bioplastics

The bioplastics were prepared by the casting technique described by Silva et al. (2018), with adaptations. The conditions for obtaining the bioplastic were optimized using a 2x2 factorial planning with three central points, totaling seven experiments and three replications per experimental unit. The independent variables were (x_1) myofibrillar protein concentration of the fish byproduct and (x_2) pectin concentration. The response variables were water vapor permeability (WVP) and tensile strength (TS). The range of the two independent variables was determined based on preliminary experiments. The response surface was elaborated using a mathematical model represented by Equation 1, where β represents the coefficients of the model:

$$Y = \pm\beta_0 \pm \beta_1X_1 \pm \beta_2X_2 + \beta_5X_1X_2 \quad (1)$$

TS and WVP were measured at the maximized conditions to validate the model. After validation, the maximized bioplastic was subjected to physical, morphological, mechanical, and thermal characterization. The myofibrillar proteins from the Serra fish byproduct were ground and sieved to make the bioplastic. The proteins were mixed with distilled water, and the pH of the mixture was adjusted to 11 with 2M NaOH. The solution was homogenized in a turrax under constant stirring at 10,000 rpm for 15 min at 85 °C. After homogenization, the mixture was filtered through a double-layered

cotton cloth. Pectin and glycerol (4%) were added to the solution. Then the mixture was homogenized with a rod for 30 min in an 80 °C bath. The filmogenic solutions (45 g) were placed on acrylic plates (150x15 mm) and dried in an oven at 50 °C for 24 h. Then, the films were transferred to desiccators (30% relative humidity) until constant temperature.

2.7 Determination of the physical properties of the bioplastic

The thickness of the bioplastic was determined by the arithmetic average measured in 10 random points using a portable micrometer with a precision of 0.001mm. The color of the bioplastic was determined using a digital colorimeter (CR-300, Konica Minolta, USA). For reading, the parameters L* (luminosity), a* (red/green intensity), and b* (yellow/blue intensity) were used, according to specifications of the *Comission Internationale de L'éclairage* - CIE (2004). The films were analyzed for light transmission in the 600 nm wavelength range in a spectrophotometer (UV-Vis, Model Q798U, Diadema, São Paulo/SP, Brazil). The films were properly cut to the dimensions of the cuvette and positioned perpendicular to the light beam direction. To determine the transparency, the relationship between the transmittance measurement and the films' thickness was adopted as the basis (Sothornvit et al., 2010). Thickness was measured at three points on the sample of each film using a digital micrometer.

2.8 Determination of the mechanical properties of bioplastic

The SHIMADZU static testing instrument was used to assess the mechanical properties of percent elongation and tensile strength (TS), operating according to the specifications of ASTM D882-12 (Astm, 2012). Random slices were taken from the edges and center of the plate containing the biofilm. The film was cut into a rectangular

shape measuring 7 cm long and 3 cm wide and was attached to the texturometer for mechanical testing.

2.9 Characterization of the thermal properties of bioplastic

Thermogravimetric analysis (TGA) was performed in a thermogravimetric analyzer (SHIMADZU, model DTG-60H). The non-isothermal test was performed using 10 mg of sample, in an alumina crucible with synthetic air atmosphere, the flow of 50 mL/min, with a heating rate of 10 °C/min, ranging from 25-800 °C.

The thermal parameters of the films were evaluated in a SHIMADZU differential scanning calorimeter model DSC-60 operated with nitrogen gas at 20 mL/min. Subsequently, the samples were heated up to 550 °C at a rate of 10 °C/min. The mass of the samples varied from 5 to 9 mg and was packed in a closed aluminum container.

2.10 Morphological characterization of the bioplastic

The samples were characterized for water vapor permeability (WVP) with adaptations by the gravimetric method ATSM E96/E96M-16 (ASTM, 2016). The 5 cm diameter films were inserted and alloy-sealed into the plastic containers containing silica gel. The containers were conditioned in a desiccator (25°C) at 75% with saturated NaCl solution. The samples were weighed on an analytical balance every 24 h for seven days. Calculated according to Equation 2 with results expressed as gH₂O.mm/m².h.mmHg:

$$WVP = \frac{\left(\frac{C_i}{A}\right).X}{P_S.(UR_1-UR_2)} \quad (2)$$

Water solubility was determined with adaptations according to the methodology described by Ojagh et al. (2010). The films were cut into 2x2cm squares. The initial dry

matter was defined by drying in an oven at 105 °C for 24 h. After the first weighing, the samples were immersed in a 250 mL Erlenmeyer flask with 50 mL of distilled water and kept under stirring at 100 rpm (MultiShaker) for 24 h at 25 °C. After this period, the water was removed by drying in an oven with air circulation at 105 °C for 24 h, and the dry matter mass that did not dissolve in water was measured. The solubility expressed in percent was calculated according to Equation 3:

$$S(\%) = \left(\frac{P_i - P_f}{P_i} \right) \times 100 \quad (3)$$

In this equation, P_i is the initial mass of the dry material, and P_f is the final mass of the dry material that did not dissolve.

The evaluation of the degradation of the films occurred by verifying the mass loss when exposed to the natural microbiota found in the soil for 15 days. The samples were cut in a rectangular shape (2x2cm), weighed, and buried in plastic containers 15 cm deep. Every 5, 7, 9, and 15 days, the films were dug up and washed with distilled water to remove soil residues, then dried in an oven at 40 °C for 24 h and weighed (Chandra & Rustgi, 1997).

The films were characterized by Fourier transform mid-infrared spectroscopy (FTIR) (Shimadzu, IR Prestige-2 model). Spectra were obtained in ATR mode in the range of 4000 to 600 cm^{-1} , 4 cm^{-1} resolution, and 40 scans (Astm, 2011).

X-ray diffraction (XRD) analysis was obtained using the parameters proposed by Spagnol et al. (2018). We used an X-ray diffractogram with a 40 kV applied voltage and a 30 mA current ($\text{CuK}\alpha$ radiation= 1.5418 Å), in the range $2\theta = 10\text{-}50^\circ$ and a velocity of $2^\circ.\text{min}^{-1}$.

The micrography of the bioplastics was determined in a scanning electron microscope (SEM) (Tescan São Paulo, SP, Brazil). The samples were fixed on a metal support with double-sided carbon tape and coated with a thin gold layer. Images were

captured using MiraTC operational software, with a 10kV acceleration voltage and SE detectors with a flux of 1750mA and magnification of 100 and 50 μm .

2.11 Statistical analysis

The data obtained from the factorial design were submitted to Analysis of Variance ($p < 0.05$), and regression coefficients were used to generate the response surfaces with the help of Statistica software version 7.0. The effects of the independent variables were ranked, and the desirability test was used to set the optimal conditions for obtaining the bioplastic. The validation of the mathematical model occurred through the experiment that was repeated under the optimal conditions indicated by the desirability function, and the results obtained were compared with the predicted values through the t-test for independent samples, considering a confidence interval of 95%.

3 Results and discussion

3.1 Characterization of myofibrillar protein

The myofibrillar protein extracted from the sawfish spawning byproduct showed high protein content (72.42%), which was interesting for forming a biopolymer matrix. The lipid content was considered low (2.38%), and such behavior may be related to the efficiency of the protein extraction and the removal of fats caused by successive washing and centrifugation. The results obtained corroborate that found by Araújo et al. (2018), who obtained myofibrillar proteins with high protein content (96.58%) and low lipid content (0.74%) from fish byproducts (golden catfish) with the extraction process.

The electrophoretic profile (Figure 1) of the myofibrillar protein obtained from the sawfish spawning byproduct showed variations of approximately 225 to 12 kDa in

the molecular weight of the proteins existing in the treatment. A typical electrophoretic profile of muscle tissue was identified, in which the characterization of myofibrillar proteins was evident with the appearance of the myosin heavy chain (above 225 kDa), protein compounds formed by the fragmentation of the myosin heavy chain (150 kDa), and the α -actinin (102 kDa). A fraction with a molecular weight of 52 kDa was observed with greater intensity, corresponding to the troponin. Other fractions of myofibrillar proteins, such as myosin light chain fragments, troponin T, or β -actin subunits, were also observed since the molecular weights of these proteins were close in the electrophoretic profiles (30-12 kDa). A 17 kDa fragment of myoglobin was observed among the bands (Souza et al., 2004). The molecular weight marker confirms that the myofibrillar proteins were extracted satisfactorily from the sawfish spawning byproducts.

3.2 Degree of esterification (GE%) and acetylation (GA%) of yellow passion fruit pectin

The pectin from yellow passion fruit showed 88.95% esterification, resulting in a polysaccharide with high methoxylation content since it had $GE \geq 50\%$ (Sandarani, 2017). The data obtained were higher than those reported by Talma et al. (2019) in pectin from yellow passion fruit (76.3%), a difference that can be justified by the use of optimal pectin extraction conditions. Pectins with a high degree of esterification are considered more promising because they can form gel quickly, becoming advantageous for obtaining films (Khotimchenko et al., 2017).

As for the acetylation degree, the pectin obtained presented an average value of 5.37%. Morales-Martínez et al. (2018) obtained similar values (4.94%) in pectin from the fruit of the forage palm (*O. matudae*). The acetyl groups are known to impede

gelation, causing steric hindrance between the chains, making interactions difficult (Silva & Rao, 2006). According to the results observed, the pectin of the present study has a high content of methoxylation and low acetylation content, suggesting viable characteristics for production and application in bioplastics.

3.3 Maximization of the conditions for obtaining bioplastic

The experimental values of tensile strength and water vapor permeability shown in Table 1 vary according to the protein and pectin content used in each treatment. Treatment 1 (7.0% protein / 5.0% pectin) and 2 (7.0% protein / 1.0% pectin) showed higher tensile strength of 8.91 and 12.22 MPa, respectively, probably due to the increase in protein concentration. However, the films with a high tensile strength index presented unsatisfactory malleability characteristics, hindering its removal from the sheets, thus rendering it unviable for industrial application. The lowest vapor permeability values were observed in treatments 2 (1.0% pectin / 7.0% protein) and core treatments 5, 6, and 7 (3.0% pectin / 5.0% protein).

The analysis of the Pareto graph (Figure 2A) generated from the experimental data of maximization of the process showed that among the parameters tested, the protein:pectin ratio and the pectin concentration did not influence the response function (TS), the protein concentration was the only factor that had a linear influence on the TS response function. Possibly, this behavior is due to the fact that myofibrillar proteins present a large amount of sulfhydryl groups on their surface, promoting a greater number of covalent bonds in the matrix of the films, making them more resistant (Gu et al., 2019).

Besides that, according to the Pareto plot, pectin and protein concentrations did not influence the WVP results (Figure 2B). The interaction between the independent variables was not significant, considering a confidence interval of 95%.

From the response surface of the tensile strength (Figure 2C) generated by Equation 5, it could be confirmed that the variations in protein concentration strongly interfere with the TS. It was also noted from Equation 6 and the response surface of vapor permeability (Figure 2D) that pectin and protein do not influence the parameters studied in the WVP of bioplastics. It was also noted that the region where the central treatment is located, with 5% protein and 3% pectin, had the highest TS values.

$$TS = 4,36 + 1,68 * X_2 + 0,23 * X_1 + 0,085 * X_1 * X_2 \quad (5)$$

$$WVP = 2,02 - 0,13 * X_2 - 0,08 * X_1 + 0,01 * X_1 * X_2 \quad (6)$$

Where: X_1 = pectin (%) and X_2 = protein (%)

The application of the desirability function (Figure 2E) allowed confirmation that the region where treatments 5, 6, and 7 are contained, comprised in the range of 5% protein and 3% pectin, corresponds to the maximized variables, indicated by the response surface. Thus, the central point that presented the best quality characteristics compared to the other treatments was considered the one that presented the best conditions for obtaining bioplastic.

The center point selection combines high tensile strength and low water vapor permeability, giving good characteristics to the bioplastic. Araújo et al. (2018) obtained tensile strength of 4.91 MPa when developing bioplastics with myofibrillar proteins from the golden catfish (*Brachyplatystoma rousseauxii*), and it was lower than that observed in the core treatment of the present study. In addition, Arpi et al. (2018) presented permeability data for gelatin films from tilapia fish (*Oreochromis niloticus*)

with values of 0.9×10^{-2} gH₂O.mm/m².h.mmHg, which were higher than those obtained in the core assay.

Based on the conditions obtained through desirability, obtaining the bioplastic was validated. Considering the tensile strength parameter as response surface for the variables $X_1 = 3\%$ pectin and $X_2 = 5\%$ protein, an experiment whose average TS value obtained was submitted to a statistical test (t-test) with the predicted TS value was performed in triplicate. No significant difference was found between the mean of the replicates ($6.31 \text{ MPa} \pm 0.17$) and the predicted TS value ($6.04 \text{ MPa} \pm 0.17$) for $p \leq 0.05$, according to the t-test.

Under the same conditions, no difference was found for WVP between the mean of the replicates ($1.22 \times 10^{-4} \pm 0.04$ gH₂O.mm/m².h.mmHg) and the predicted value (1.25×10^{-4} gH₂O.mm/m².h.mmHg ± 0.04) for $p \leq 0.05$, and the model was valid within the 95% confidence interval. The bioplastic with 3% pectin and 5% protein was selected for the characterization analyses.

3.4 Physical Properties

The data of the physical properties of the bioplastic are arranged in Table 2. Kaewprachu et al. (2017) achieved a thickness of 0.019 mm in bioplastic acquired from myofibrillar proteins from tilapia fish incorporated with the catechin-kradon extract. The thickness results were close to those reported in the literature for films obtained from myofibrillar proteins.

Thus, the miscibility and interaction between pectin and myofibrillar proteins in the film network of the present study were positive. According to the color attributes, the protein bioplastic incorporated with pectin is characterized by the predominance of the yellow pigment (b *), agreeing with the visual coloration of the produced film.

Probably, this behavior is due to the presence of carotenoids, a natural pigment of yellow-orange color, normally present in the passion-fruit peel and fish byproduct (Rodriguez-Amaya, Kimura & Amaya-Farfan, 2008).

The light transmission of the maximized bioplastic was below 80%. This behavior may be directly related to the composition and origin of the incorporated components since the film presented a yellowish color and reduced transparency to human eyes. The transparency value of the bioplastic obtained (3.49%) was close to those observed by Surya et al. (2021) (2.16%) in films based on fish scale powder. Less transparent films have higher light barrier properties and are indicated for the preservation of foods against oxidation reactions (Silva et al., 2018).

3.5 Mechanical Properties

Bioplastic showed 264.87% elongation (Table 2). Neves et al. (2019) achieved elongation values (315.65%) in films of myofibrillar proteins and gelatin from the gó hake fish (*Macrodon ancylodon*) close to the present study, which suggests that films of combined biopolymers are malleable and flexible. Thus, favorable characteristics are observed by correlating TS and elongation of the bioplastic obtained under the maximized conditions, as it shows good strength and elasticity.

3.6 Thermal Properties

The study of thermal stability of polymeric materials is of great importance for evaluating the conditions of the molding, transport, conservation, and application processes. Thus, the mass loss variation of the bioplastic obtained under maximized conditions was investigated as a function of temperature. The film's thermogravimetric analysis (TGA) is shown in Figure 3A, which shows three stages of thermal

degradation. Between 50-120 °C, the first stage refers to the evaporation of residual solvents, mainly water, remaining from the film production process, with a mass loss of 10% and a maximum temperature of 70 °C. The second stage (170-270 °C) is attributed to the dehydration reactions of the polymer structure, with approximately 70% mass loss and a maximum temperature of 198 °C. The third stage (285-345 °C) refers to the decomposition of the organic components. The residual mass was 2.22 %. Similar results were reported by Neves et al. (2019) on films composed of myofibrillar protein and fish gelatin (gó hake), where thermal degradation of the polymers occurred between 232.44 and 301, 17 °C.

In the DSC thermogram (Figure 3B), it was possible to observe that the melting of the developed bioplastic occurs over a wide temperature range. Possibly, the film has crystalline substances, with crystal components being destroyed at various temperatures. A melting peak with the same characteristic and close melting range was observed in low-density polyethylene (Rabello, 2021).

According to Barreto, Pires & Soldi (2003), thermal stability is enhanced by protein interactions, such as hydrogen bonds, and ionic and hydrophobic interactions, suggesting a strong interaction between the bio compounds incorporated in the bioplastic. Kaewprachu et al. (2017) observed that bioplastics with good mechanical properties have greater thermal stability, results comparable to this research, which obtained a film with good thermal stability, positive elongation properties, and tensile strength.

3.7 Morphological Characterization

The bioplastic obtained under the maximized conditions showed low water solubility (18.72%) (Table 2), similar to that reported by Kaewprachu et al. (2017)

(18.82%) in films with tilapia myofibrillar proteins. The high solubility of bioplastics results from the loss of morphological integrity of the film, hydrophobicity of the plasticizer, and the degree of protein denaturation (Cuq et al., 1995).

The degradability of the produced bioplastic was assessed by determining the samples' mass loss according to the soil's burial time (Table 2). The results showed a rapid increase in weight loss of the bioplastics in the first five days, possibly due to high microbial growth and activity. The degradation increased slowly after the five days, probably due to a reduction in nutrients essential for the proliferation of microorganisms. After seven days of treatment, Surya et al. (2021) obtained 50% degradation with organic byproducts in films incorporated with fish scale powder and corn starch. Polyethylene film is a non-biodegradable polymer. Albertsson (1980) reported that the weight loss of this polymer amounted to 0.2% in 10 years. Thus, conventional plastics for food packaging can be replaced by this easily degradable bioplastic.

FTIR analysis of the maximized bioplastic was performed in the 4,000-600 cm^{-1} range to detect the presence of various functional groups (Figure 3C). The appearance of the peak at 3293 cm^{-1} was attributed to the presence of amine A stretches. A narrower wavelength in this region suggests that there was a broadening of the OH and NH groups and interaction, forming hydrogen bonds between the polymer molecules in the film network, indicating a positive interaction between the film-forming polymers (Hoque et al., 2011). Similar peaks were obtained by Neves et al. (2019) in a bioplastic with gelatin and myofibrillar protein extracted from the fish *Macrodon ancylodon*.

The absorption frequencies of amide B, amide I, amide II, and amide III were 2927, 1644, 1540, and 1042 cm^{-1} , respectively. Amide band B is produced by asymmetric CH_2 stretching vibration, amide band I is produced due to C=O stretching

vibration, amide band II is produced by CH₂ bending vibration and CN stretching vibration, and amide band III is produced by CH₂ oscillatory vibration (Choa-Yepes et al., 2019).

The vibrational spectrum observed in the range from 1047 to 1036 cm⁻¹ can be attributed to possible interactions between the plasticizer and the polymer structure of the film matrix, favored by hydrogen bonds derived from the glycerol OH groups, which confirms the homogeneous mixing between the polymers and glycerol (Bergo & Sobral, 2007). This result reiterates the good compatibility between the myofibrillar protein chains and pectin.

The XRD method is used to evaluate the crystallinity and atomic arrangement. According to the results (Figure 3D), due to the presence of a sharp and well-defined first peak and a broad second peak, the analyzed material is semicrystalline and amorphous, respectively (Nogueira & Martins, 2019). Sood & Saini (2022) reported that incorporating pectin from red pomelo peel led to a decline in crystallinity in protein films. A more crystalline film has higher molecular packing, resulting in higher density, elasticity, tensile strength, and chemical and heat resistance. Conversely, amorphous regions contribute to product deformation, softness, and adhesion (Rabello, 2021).

The electron microscopy results of the surface and the cross-section of the bioplastic obtained under the maximized conditions (5% myofibrillar proteins and 3% pectin) are presented in Figures 4 A and B, respectively. The images of the film surface show a relatively homogeneous structure, without pores or cracks, demonstrating that the myofibrillar proteins and pectin have aggregated to form a dense and continuous network. The images also show some white spots, probably due to incomplete solubilization; however, the structure or morphology of the material was not affected.

Additionally, the cross-sections of the film revealed the presence of a smooth and homogeneous structure with no visible crystalline points, possibly due to the low crystallinity index observed in the XRD analysis and corroborating with the DSC result. These results show that protein and pectin can aggregate and form a homogeneous film network. Similar results were observed by Neves et al. (2019) on gelatin films and myofibrillar proteins from gó hake (*Macrodon ancylodon*), obtaining bioplastic with a homogeneous structure and no particle accumulation.

4 Conclusion

The myofibrillar proteins of the sawfish by-product and the pectin of the yellow passion fruit peel present adequate chemical characteristics, making them satisfactory raw materials for bioplastic production. The maximized conditions for obtaining the biodegradable film were 5% myofibrillar protein and 3% pectin. Under these conditions, the bioplastic was smooth, homogeneous, yellowish, resistant, and flexible, and has good thermal stability, besides presenting low solubility and water vapor permeability and being biodegradable, allowing its use as biodegradable food packaging, minimizing the impact of the disposal of food industry byproducts in the environment.

Acknowledgements

This study was supported by grants from National Council for Scientific and Technological Development- Brasil (CNPq). This work was funded by the Public Call n. 03 Produtividade em Pesquisa PROPESQ/PRPG/UFPB grant n. PVF13389-2020.

References

- Adyel, T. M. (2020). Accumulation of plastic waste during COVID-19. *Science*, 369(6509), 1314-1315.
<https://doi.org/10.1126/science.abd9925>.
- Albertsson, A.C. (1980). The shape of the biodegradation curve for low- and high-density polyenesenes in extended series of experiments. *European polymer journal*, 16(7), 623-630.
[https://doi.org/10.1016/0014-3057\(80\)90100-7](https://doi.org/10.1016/0014-3057(80)90100-7).
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2016). *Official methods of analysis the of AOAC International* (20 ° ed.). Washington, USA: AOAC.
- Araújo, C. S., Rodrigues, A. M. C., Joele, M. P. Araújo, E. A. F., & Lourenço, F. H. (2018). Optimizing process parameters to obtain a bioplastic using proteins from fish byproducts through the response surface methodology. *Food packaging and shelf life*, 16, 23-30.
<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.009>.
- Arpi, N., & Hardianti, E. (2018). Preparation and characterization of biodegradable film based on skin and bone fish gelatin. *IOP Conference series: earth and environmental science*, 207(1), 012050.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/207/1/01205>.
- Asrofi, M., Sapuan, S. M., Ilyas, R. A., & Ramesh, M. (2021). Characteristic of composite bioplastics from tapioca starch and sugarcane bagasse fiber: Effect of time duration of ultrasonication (Bath-Type). *Materials today: proceedings*, 46, 1626-1630.
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.07.254>.
- ASTM. American Society for Testing and Materials. (2012). ASTM D882-12. *Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting*.

ASTM - American Society for Testing and Materials. (2011). ASTM D5477-11. *Standard practice for identification of polymer layers or inclusions by fourier transform infrared microspectroscopy (FT-IR)*.

ASTM. American Society for Testing and Materials. (2016). ASTM E96/E96M-16. *Standard test methods for water vapor transmission of materials*.

Azmin, S. N. H. M., & Nor, M. S. M. (2020). Development and characterization of food packaging bioplastic film from cocoa pod husk cellulose incorporated with sugarcane bagasse fibre. *Journal of bioresources and bioproducts*, 5(4), 248-255.

<https://doi.org/10.1016/j.jobab.2020.10.003>.

Barreto, P. L. M., Pires, A. T. N., & Soldi, V. (2003). Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. *Polymer degradation and stability*, 79(1), 147-152.

[https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(02\)00267-7](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(02)00267-7).

Bergo, P., & Sobral, P.J.A. (2007). Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. *Food hydrocolloids*, 21(8), 1285-1289.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.09.014>.

Bochek, A.M., Zabivalova, N.M., & Petropavlovskii, G.A. (2001). Determination of the esterification degree of polygalactoronic acid. *Russian journal of applied chemistry*, 75, 796-799.

<https://doi.org/10.1023/A:1012701219447>.

Business Insider. (2020). *COVID-19 impact on packaging market by material type, application and region—global forecast to 2021*. Recovered from

<https://markets.businessinsider.com/news/stocks/covid-19-impact-on-packaging-market-by-material-type-application-and-region-global-forecast-to-2021-1029187123>.

Accessed December 2, 2021.

Canteri-schemin, M. H., Fertoni, H. C. R., Waszczynskyj, N., & Wosiacki, G. (2005). Extraction of pectin from apple pomace. *Brazilian archives of biology and technology*, 48, 259-266.

<https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000200013>.

Chalermthai, B., Giwa, A., Schmidt, J. E., & Taher, H. (2021). Life cycle assessment of bioplastic production from whey protein obtained from dairy residues. *Bioresource technology reports*, 15, 100695.

<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100695>.

Chandra, R., & Rustgi, R. (1997). Biodegradation of maleated linear low-density polyethylene and starch blends. *Polymer degradation and stability*, 56(2), 185-202.

[https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(96\)00212-1](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(96)00212-1).

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

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.030>.

Cuq, B., Aymard, C., Cuq, J., & Guilbert, S. (1995). Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: formulation and functional properties. *Food science*, 60(6), 1369–1374.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb04593.x>

Folch J. L. M., & Stanley, G. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The journal of biological chemistry*, 226, 497–509.

Hoque, M. S., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2011). Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Food hydrocolloids*, 25(1), 82-90.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.05.008>.

Kaewprachu, P., Osako, K., Tongdeesoontorn, W., & Rawdkuen, S. (2017). The effects of microbial transglutaminase on the properties of fish myofibrillar protein film. *Food packaging and shelf life*, 12, 91-99.

<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.04.002>.

Gu, W., Liu, X., Li, F., Shi, S. Q., Xia, C., Zhou, W., ... Li, J. (2019). Filme composto resistente, forte e biodegradável com excelente desempenho de barreira UV composto por isolado de proteína de soja, poliéster hiperbranchado e derivado de cardanol. *Química Verde*, 21(13), 3651-3665.

<https://doi.org/10.1039/c9gc01081e>.

Jiménez-Rosado, M., Bouroudian, E., Perez-Puyana, V., Guerrero, A., & Romero, A. (2020). Evaluation of different methods of strengthening the mechanical and functional properties of soy protein-based bioplastics. *Journal of cleaner production*, 262, 121517.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.121517>.

Khotimchenko, M., Makarova, K., Khozhaenko, E., & Kovalev, V. (2017). Lead-binding capacity of calcium pectates with different molecular weight. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 526–535.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.065>

La Fuente Arias, C. I., Kubo, M. T. K. N., Tadini, C. C., & Augusto, P. E. D. (2021). Bio-based multilayer films: A review of the principal methods of production and challenges. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47, 1-17.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1973955>.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.

<https://doi.org/10.1038/227680a0>.

Lim, C., Yusoff, S., Ng, C. G., Lim, P. E., & Ching, Y. C. (2021). Bioplastic made from seaweed polysaccharides with green production methods. *Journal of environmental chemical engineering*, 9(5), 105895.

<https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105895>.

Lima, D. A. S., Santos, M. M. F., Duval, R. L. F., Bezerra, T. K. A., Da Silva Araújo, Í. B., Madruga, M. S., & Da Silva, F. A. P. (2020). Technological properties of protein hydrolysate from the cutting byproduct of serra spanish mackerel (*Scomberomorus brasiliensis*). *Journal of food science and technology*, 58(8), 2952-2962.

<https://doi.org/10.1007/s13197-020-04797-5>.

Marichelvam, M. K., Jawaid, M., & Asim, M. (2019). Corn and rice starch-based bioplastics as alternative packaging materials. *Fibers*, 7(4), 32.

<https://doi.org/10.3390/fib7040032>.

Mellinas, C., Ramos, M., Jiménez, A., & Garrigós, M. C. (2020). Recent trends in the use of pectin from agro-waste residues as a natural-based biopolymer for food packaging applications. *Materials*, 13(3), 673.

<https://doi.org/10.3390/ma13030673>.

Morales-Martínez, Y., Del R., López-Cuellar, M., Chavarría-Hernández, N., & Rodríguez-Hernández, A. I. (2018). Rheological behaviour of acetylated pectins from cactus pear fruits (*Opuntia albicarpa* and *O. matudae*). *Food hydrocolloids*, 85, 110-119.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.009>.

Neves, E. M. P. X., Pereira, R. R., Da Silva Pereira, G. V., Da Silva Pereira, G. V., Vieira, L. L., & Lourenço, L. D. F. H. (2019). Effect of polymer mixture on bioplastic development from fish waste. *Bulletin of the fisheries institute*, 45(4),

<https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.4.518>.

Nogueira, D., & Martins, V.G. (2019). Use of different proteins to produce biodegradable films and blends. *Journal of polymers and the environment*, 27(9), 2027-2039.

<https://doi.org/10.1007/s10924-019-01494-z>.

Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*, 120(1), 193-198.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006>.

Pinheiro, E. R., Silva, I. M. D. A., Gonzaga, L. V., Amante, E. R., Teófilo, R. F., Ferreira, M. M. C., & Amboni, R. D. M. C. (2008). Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource technology*, 99(13), 5561-5566.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.058>.

Rabello, M. S. (2021). *Structure and Properties of Polymers* (1 th ed.). Structure of crystalline polymers (Chapter 4).

Ranganna, S. (1977). Pectin. In: *Manual of analysis of fruit and vegetable products*. New delhi: tata mcgraw hill publishing company limited, 21-54.

Raza, A., Ghafoor, S., & Butt, M. F. U. (2018). MIMO-enabled integrated MGDM–WDM distributed antenna system architecture based on plastic optical fibers for millimeter-wave communication. *Photonic network communications*, 35(2), 265-273.

<https://doi.org/10.1007/s11107-017-0741>.

Rodríguez-Amaya, D. B., Kimura, M., Godoy, H. T., & Amaya-Farfan, J. (2008). Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. *Journal of food composition and analysis*, 21, 445-463.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.04.001>.

Sandarani, M. D. J. C. (2017). A review: different extraction techniques of pectin. *Journal of pharmacognosy & natural products*, 3(3), 1-5.

<https://doi.org/10.4172/2472-0992.1000143>.

Schanda, J. Colorimetria CIE. *Colorimetry: understanding the system CIE*. p.25-78, 2007.

Sills, J., & Adyel, T. M. (2020). Accumulation of plastic waste during COVID-19. *Science*, 369, 1314-1315.

<https://doi.org/10.1126/science.abd9925>.

Silva, J. L. & Rao, M. A. (2006). *Food polysaccharides and their applications* (4th ed.). Pectins: Structure, Functionality, and Uses (Chapter 11).

Silva, K. S., Fonseca, T. M. R., Amado, L. R., & Mauro, M. A. (2018). Physicochemical and microstructural properties of whey protein isolate-based films with addition of pectin. *Food packaging and shelf life*, 16, 122-128. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.005>.

Sood, A., & Saini, C. S. (2022). Edible composite films based on red grapefruit peel pectin: Effect of pectin incorporation on mechanical, structural, morphological and thermal properties of composite films. *Hydrocolloid foods*, 123, 107135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107135>.

Sothornvit, R., Hong, S.I., An, D. J., & Rhim, J. W. (2010). Effect of clay content on physical and antimicrobial properties of whey protein/organo-clay composite films. *LWT-Food science and technology*, 43(2), 279-284. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.08.010>.

Souza, S. M. A., Sobral, P. J. A., & Menegalli, F. C. (2004). Extraction of myofibrillar proteins from beef for the production of edible films. *Food science and technology*, 24(4), 619-626.

<https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000400024>.

Spagnol, C., Fragal, E. H., Pereira, A. G., Nakamura, C. V., Muniz, E. C., Follmann, H. D., & Rubira, A. F. (2018). Cellulose nanowhiskers decorated with silver nanoparticles as an additive to antibacterial polymers membranes fabricated by electrospinning. *Journal of colloid and interface science*, 531, 705-715.

<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.07.096>.

Surya, P., Arumugam, S., Nithin, A., & Iswarya, P. (2021). Eco-Friendly Preparation and Characterization of Bioplastic Films from Marine Fish Wastes. *Research Article*, 1, 1-24.

<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-982850/v1>.

Talma, S. V., Regis, S. A., Ferreira, P. R., Mellinger-Silva, C., & Resende, E. D. D. (2019). Characterization of pericarp fractions of yellow passion fruit: density, yield of flour, color, pectin content and degree of esterification. *Food science and technology*, 39, 683-689.

<https://doi.org/10.1590/fst.30818>.

Yang, J., Ching, Y. C., Chuah, C. H., & Liou, N. S. (2021). Preparation and characterization of starch/empty fruit bunch-based bioplastic composites reinforced with epoxidized oils. *Polymers*, 13(1), 94.

<https://doi.org/10.3390/polym13010094>.

Yusmaniar, Y., Syafei, D. I., Arum, M., Handoko, E., Kurniawan, C., & Asali, M. R. (2019). Preparation and characterization of Seaweed based Bioplastic Blended with Polysaccharides derived from various seeds of Avocado, Jackfruit and Durian. *Journal of physics: conference series*, 1402(5), 055097.

<https://doi.org/10.1088/1742-6596/1402/5/055097>.

Zavareze, E. R., Halal, S. L. M., Silva, R. M., Dias, A. R. G., & Prentice-Hernández, C.

(2013). Mechanical, barrier and morphological properties of biodegradable films based on muscle and waste proteins from the whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*). *Journal of food processing and preservation*, 38(4), 1973-1981.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.12173>.

TABLES

Table 1 - Design matrix.

Assay	Independent variables (X ₁ and X ₂)		Response variables	
	Pectin content (%)	Protein content (%)	TS (MPa)	WVP (gH ₂ O.mm/m ² .h.mmHg)
1	5.0	7.0	8.91	1.20x10 ⁻⁴
2	1.0	7.0	12.2	1.10x10 ⁻⁴
3	5.0	3.0	1.83	1.69x10 ⁻⁴
4	1.0	3.0	3.79	1.46x10 ⁻⁴
5	3.0	5.0	4.92	1.10x10 ⁻⁴
6	3.0	5.0	5.23	1.10x10 ⁻⁴
7	3.0	5.0	5.37	1.08x10 ⁻⁴

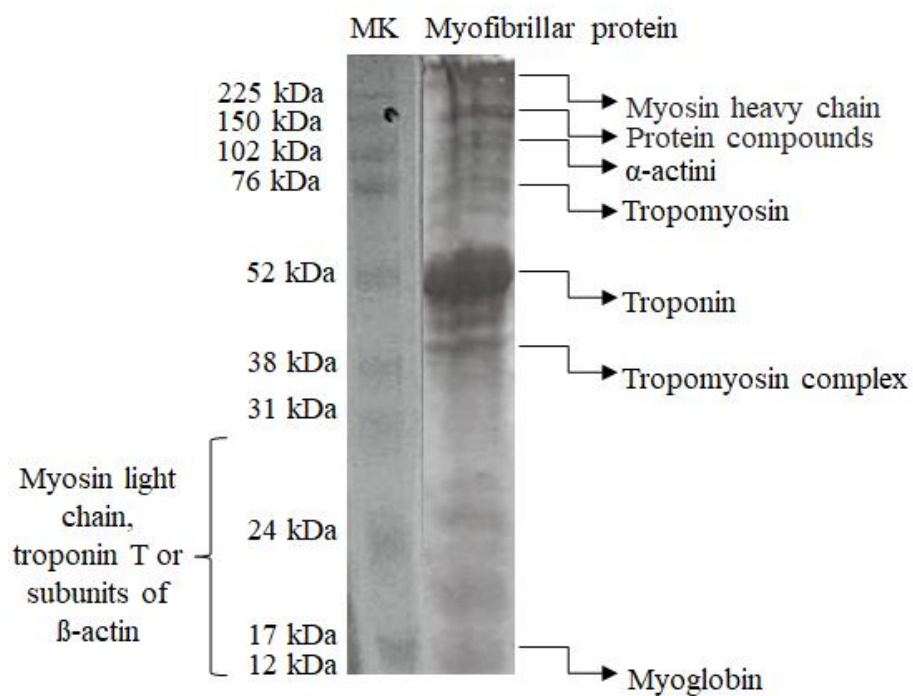
Note: Independent variables X₁ (Pectin content) and X₂ (Protein content). Response variables: TS (Tensile Strength) and WVP (Water Vapor Permeability).

Table 2 - Results properties of bioplastics.

Parameters	Results
Stretching (%)	264.87±15.14
Thickness (mm)	0.022±0.001
Transmittance (%)	70.9±0.75
Transparency (%)	3.49±0.003
L*	84.56±0.46
a*	-1.73±0.32
b*	30.63±0.82
Solubility (%)	18.72±0.68
Degradability (%):	
day 5	52.68±5.42
day 7	67.11±3.19
day 9	69.93±6.23
day 15	100±0.001

Note: Film containing 3% pectin and 5% protein.

Figure 1 - Electrophoretic profile of myofibrillar proteins extracted from the cutting byproduct of Serra Spanish Mackerel.



MK: Standard molecular weight (12-225 kDa) marker.

Figure 2 – Pareto chart of the responses variables: tensile strength (A); water vapor permeability (B). Response surfaces generated for the response variables: tensile strength (C); water vapor permeability (D). Profile for predicted value and desirability (E).

Figure 2A

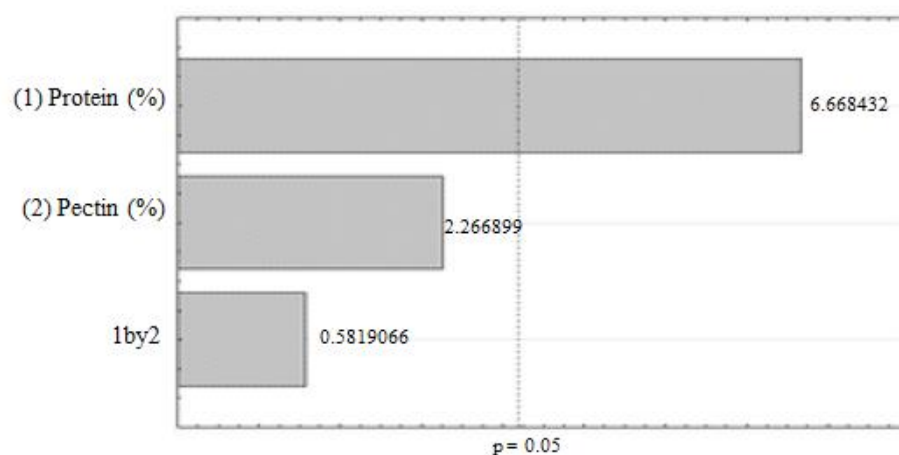


Figure 2B

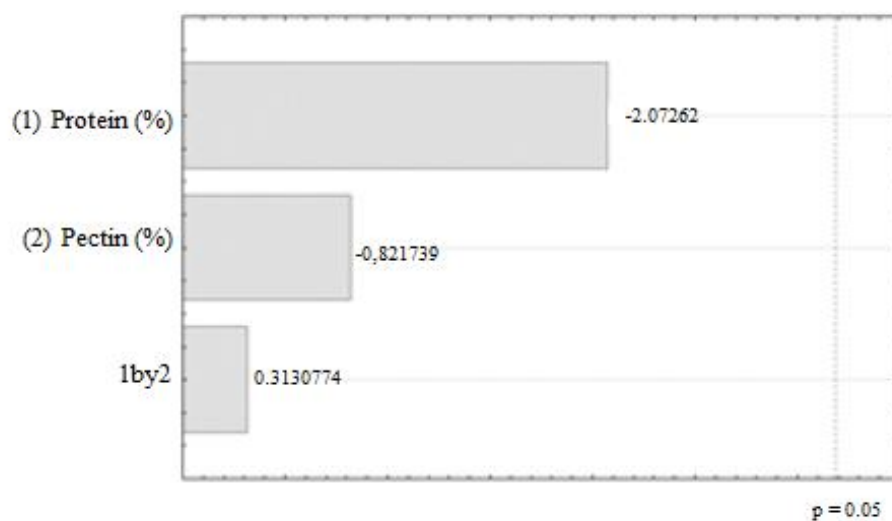


Figure 2C

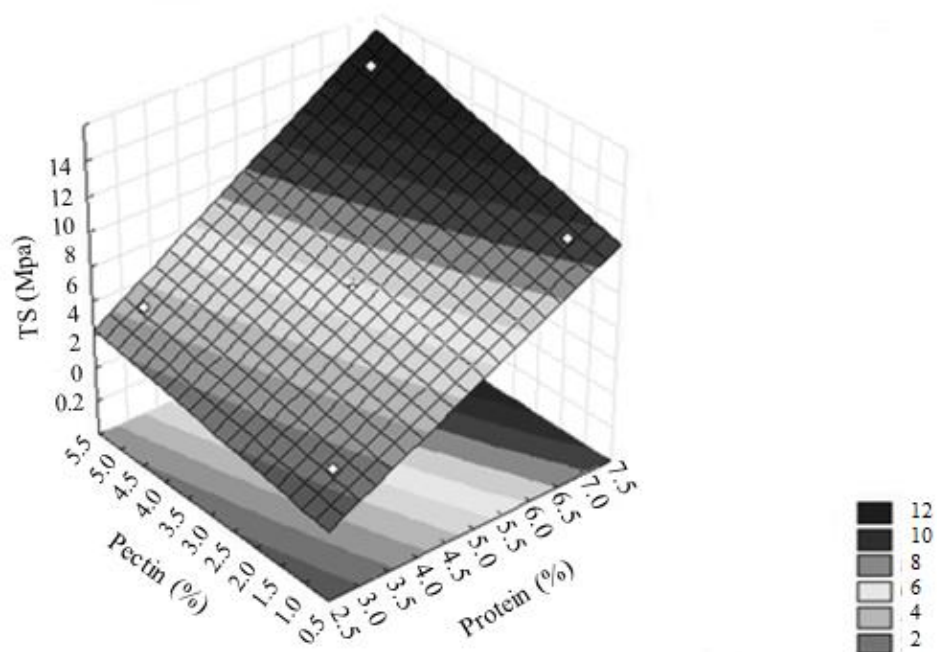


Figure 2D

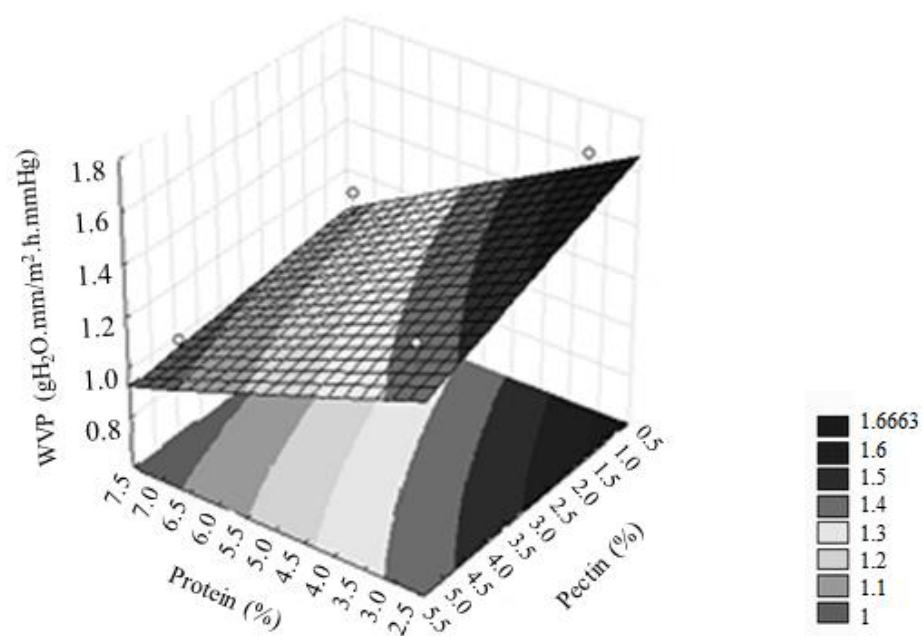


Figure 2E

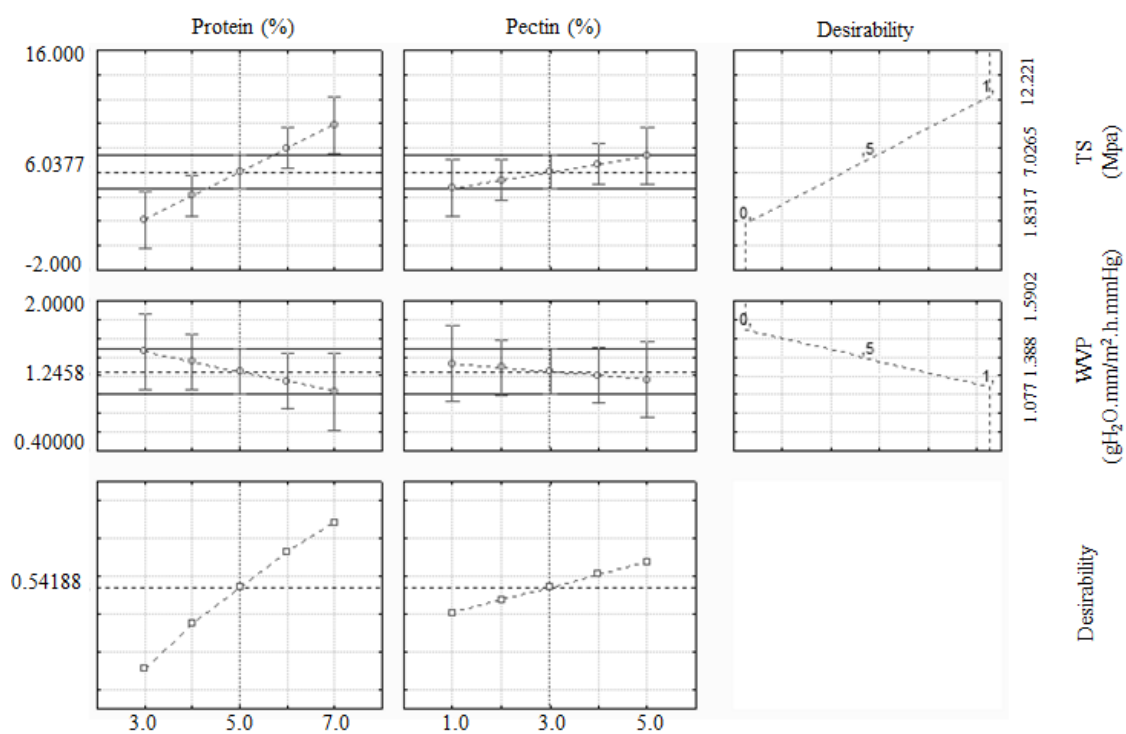


Figure 3 – TG curves (A), DSC curve (B), FTIR spectra (C) and XDR curve (D) of protein/pectin composite film.

Figure 3A

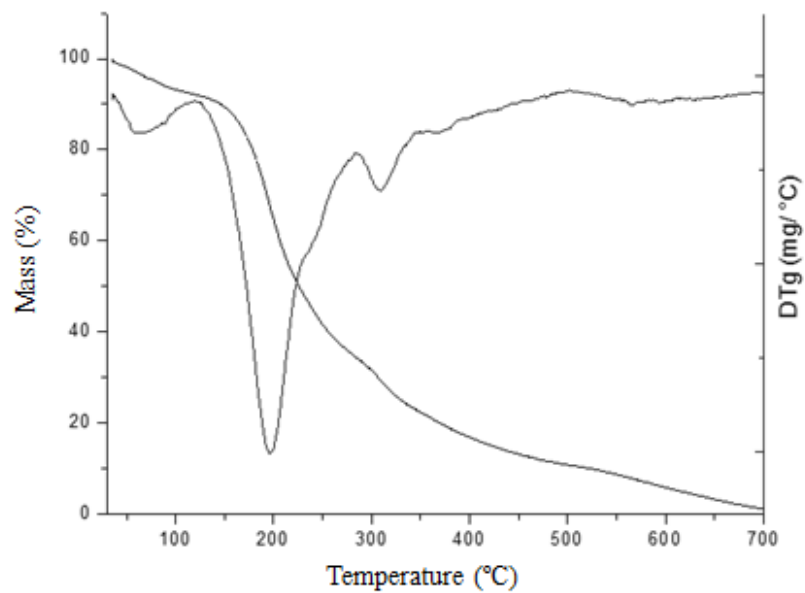


Figure 3B

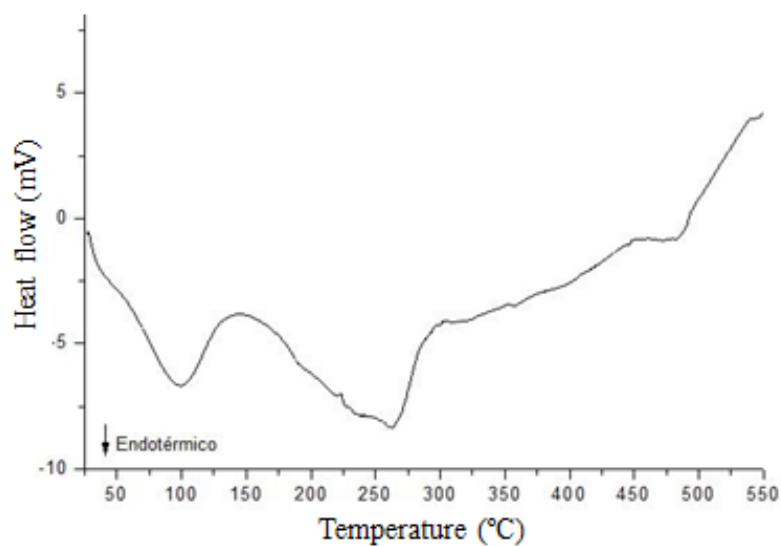


Figure 3C

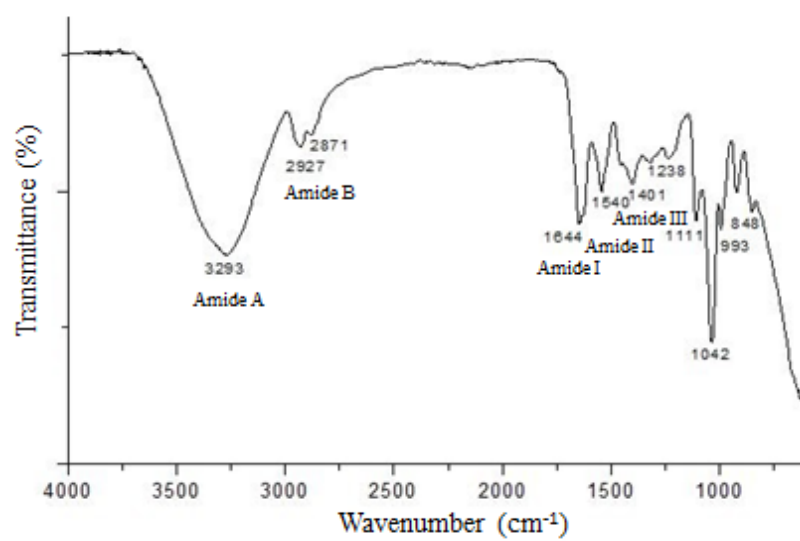


Figure 3D

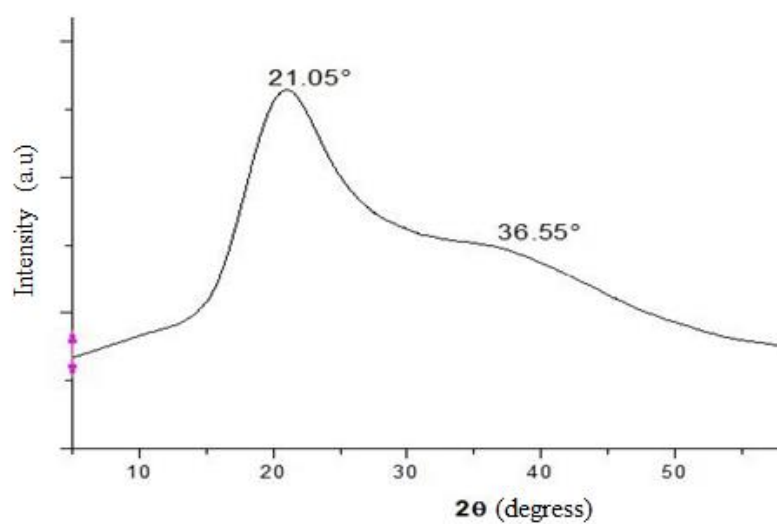
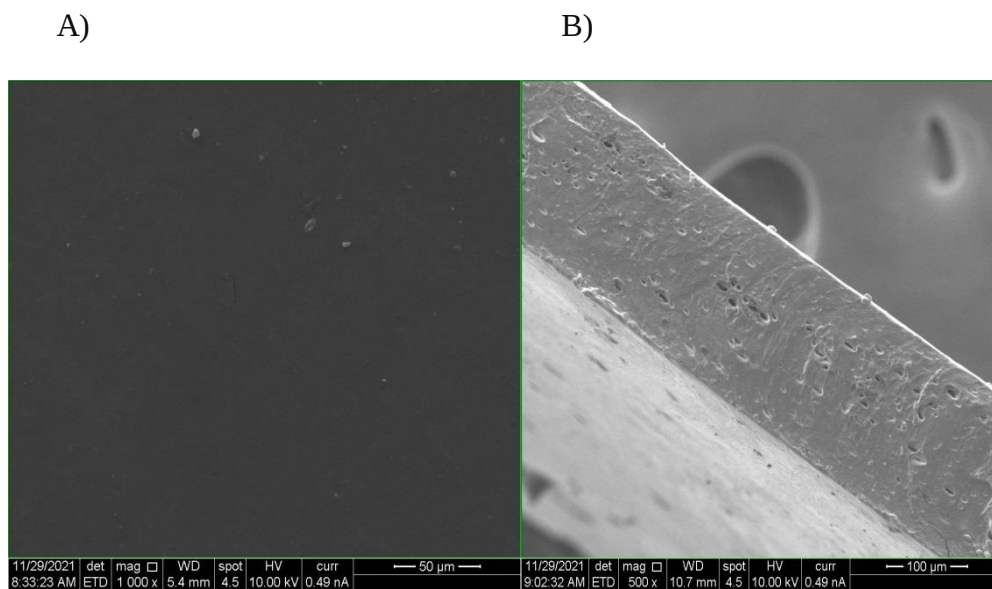


Figure 4 – SEM images of the surface (A) and the cross-section (B) of protein/pectin composite film.



6 CONCLUSÕES GERAIS

A composição da proteína miofibrilar obtida do subproduto do peixe serra possui baixa quantidade de lipídeos e alto teor de proteínas, majoritariamente proteínas miofibrilares, e a pectina extraída do maracujá-amarelo possui alto teor de metoxilção e baixo teor de acetilação, tornando-as matérias-primas satisfatórias para a obtenção de bioplásticos. As condições maximizadas para a obtenção de bioplásticos dentro da região desejável foi 5% de proteína miofibrilar e 3% de pectina. O bioplástico maximizado apresentou superfície lisa, homogênea, cor amarelada viável para embalar alimentos que se oxidam facilmente, biodegradabilidade, resistência, flexibilidade, boa estabilidade térmica, e baixa solubilidade e permeabilidade ao vapor d'água. Portanto, houve boa interação entre os biopolímeros incorporados, podendo ser indicados para obtenção de embalagem biodegradável de alimentos, o que pode minimizar a liberação de subprodutos da indústria de alimentos no ambiente.

Sugerem-se pesquisas futuras a aplicação do bioplástico obtido nesse estudo em alimentos. E também avaliar a adição de produto antioxidante a matriz do bioplástico, para desenvolvimento de filme ativo e posteriores avaliações da vida de prateleira do produto embalado.

APÊNDICES

