

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

SINTHYA KELLY QUEIROZ MORAIS

**ELABORAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICABILIDADE DO SISTEMA DE
EMBALAGEM INTELIGENTE E ATIVA UTILIZANDO EXTRATO DE BAGAÇO
DE UVA E GELATINA DE TILÁPIA**

CAMPINA GRANDE - PB

2024

SINTHYA KELLY QUEIROZ MORAIS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA DE EMBALAGEM
INTELIGENTE E ATIVA UTILIZANDO EXTRATO DE BAGAÇO DE UVA E
GELATINA DE TILÁPIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador(a): Dr^a Deyzi Santos Gouveia

Coorientador(a): Dr^a Thaisa Abrantes Souza Gusmão

CAMPINA GRANDE - PB

2024

M827e Morais, Sinthya Kelly Queiroz.
Elaboração, caracterização e aplicabilidade do sistema de embalagem inteligente e ativa utilizando extrato de bagaço de uva e gelatina de tilápia / Sinthya Kelly Queiroz Morais – Campina Grande, 2024.
75 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, 2024.

"Orientação: Profa. Dra. Deyzi Santos Gouveia, Profa. Dra. Thaisa Abrantes Souza Gusmão."

Referências.

1. Embalagem Biodegradável. 2. Biopoliméricas. 3. Antocianinas. 4. Colágeno. 5. Bagaço de Uva. 6. Gelatina de Tilápia. I. Gouveia, Deyzi Santos. II. Gusmão, Thaisa Abrantes Souza. III. Título.

CDU 678.56(043)

SINTHYA KELLY QUEIROZ MORAIS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA DE EMBALAGEM
INTELIGENTE E ATIVA UTILIZANDO EXTRATO DE BAGAÇO DE UVA E
GELATINA DE TILÁPIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Aprovado em: 26/02/2024

Dr^a Deyzi Santos Gouveia

Orientadora

Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos – PPGEALI/UFCG

Dr^a Thaisa Abrantes Souza Gusmão

Coorientadora

Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos – PPGEALI/UFCG

Dr^a Mércia Melo de Almeida Mota

Examinadora Interna

Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos – PPGEALI/UFCG

Dr^a Renata Duarte Almeida

Examinadora Externa

Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos – UEALI/UFCG



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PROGRAMA DE POS-GRADUACAO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS
Rua Aprígio Veloso, 882, - Bairro Universitario, Campina Grande/PB, CEP 58429-900

REGISTRO DE PRESENÇA E ASSINATURAS

ATA DE DEFESA DE SEMINÁRIOS II DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS, REALIZADA EM 26 DE FEVEREIRO DE 2024.

Aos 26 dias do mês de FEVEREIRO de 2024, às 14:00 horas, em sessão pública no auditório Mario Cavalcante Mata, no Bloco de Engenharia de Alimentos - LEA, da UAEALI/CTRN/UFCG, na presença da Banca Examinadora presidida pela professora **Dra. Deyzi Santos Gouveia (Orientadora) - Matrícula/SIAPE nº 1805305** a professora **Dra. Thaisa Abrantes Souza Gusmão (Co-orientadora) Matrícula/SIAPE nº 2187212**, a professora **Dra. Mércia Melo de Almeida Mota (Avaliadora-Membro Interno) - Matrícula/SIAPE nº 27364715**, a professora **Dra. Renata Duarte Almeida (Avaliadora-Membro Externo)**, a aluna **Sinthya Kelly Queiroz Morais, Mat. 221173020041**, apresentou a **DEFESA DE DISSERTAÇÃO** intitulado: **"Elaboração, caracterização e aplicabilidade do sistema de embalagem inteligente e ativa utilizando extrato de bagaço de uva e gelatina de tilápia"**, como requisito curricular indispensável para a integralização do Curso de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela **APROVAÇÃO** do referido trabalho, divulgando o resultado formalmente a aluna e demais presentes e eu, na qualidade de Presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais examinadores e pela aluna.



Documento assinado eletronicamente por **DEYZI SANTOS GOUVEIA, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 27/02/2024, às 16:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **RENATA DUARTE ALMEIDA, ENGENHEIRO-AREA**, em 27/02/2024, às 16:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **MERCIA MELO DE ALMEIDA MOTA, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 28/02/2024, às 09:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **THAISA ABRANTES SOUZA GUSMAO, PROFESSOR(A) DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em



28/02/2024, às 14:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sinthya Kelly Queiroz Morais, Usuário Externo**, em 28/02/2024, às 14:08, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **4238406** e o código CRC **77FE6413**.

Referência: Processo nº 23096.007398/2024-74

SEI nº 4238406

Dedico aos meus pais, Simone e Vanderleno, que sempre se esforçaram para me dar o melhor, além de me apoiarem em todos os momentos. Amo vocês!

Dedico ao meu tio Wanderley (*in memoriam*) por sempre me apoiar e confiar no meu potencial. Sei que o senhor está orgulhoso de mim!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus que esteve comigo em todos os momentos, me dando força e discernimento, Ele que tornou tudo possível.

Agradeço aos meus pais, Simone Morais e Vanderleno Morais, por serem o meu porto seguro, sei que sempre poderei contar com vocês e me sinto muito grata por isso. À minha irmã Gabrielly Morais por todo o apoio e torcida, mesmo que à distância.

Ao meu noivo José Nathanael, por ser minha calma nas horas mais turbulentas, além de todo o apoio e compressão nos demais momentos, e por ser minha companhia nas intensas noites no laboratório, te amo.

À minha família, avós, tios, primos e sogros, por toda a torcida e apoio durante a minha caminhada, em especial a Júnior Misaki, por sempre me incentivar a ir cada vez mais longe.

Às minhas companheiras de Laboratório, Kassandra Felipe e Julia Morais, por todos os momentos compartilhados, do choro às risadas, o apoio de vocês foi de suma importância.

Aos meus colegas de curso, em especial Tainara Araujo e Diego Duarte, por todas as conversas, surtos e apoio durante esta caminhada.

À minha orientadora Dra. Deyzi Gouveia, por ter confiado em mim e acreditado no meu potencial, com paciência e cuidado, me incentivando e desafiando a ir além; e por sempre aparecer com as soluções certas nos meus momentos de desespero ao decorrer da pesquisa.

À minha coorientadora Dra. Thaisa Gusmão, por toda a ajuda e orientação durante o desenrolar da minha pesquisa.

Aos demais professores tanto da pós quanto da graduação por toda a ajuda durante minha pesquisa, em especial o Dr. Jorge Jacó por ter me ensinado como montar e aplicar um planejamento estatístico.

Às técnicas de laboratório Leila Nunes, Renata Almeida e Rebeca Dantas, por todos os conselhos e muita ajuda durante esta pesquisa.

À Dr^a Mércia Melo de Almeida Mota pela ajuda durante esta pesquisa e por ter aceito o convite para participar da minha banca.

Às minhas amigas por todo o apoio e ombro amigo que me estendem sempre que necessário.

Agradeço a todos que, de alguma forma, participaram da minha jornada acadêmica. Muito obrigada!

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o senhor, o seu deus, estará com você por onde você andar”.

Josué 1:9 - Bíblia

RESUMO

O presente trabalho objetivou desenvolver e caracterizar um sistema de embalagem ativa e inteligente a partir do extrato do bagaço de uva e da gelatina da pele de tilápia. O extrato foi analisado quanto ao pH, cor, antocianinas, potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos. Na gelatina, foi feita a análise de Bloom. A solução filmogênica foi preparada utilizando a gelatina, glicerina/pectina e extrato natural do bagaço da uva. As formulações dos filmes seguiram um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), obtendo 17 formulações distintas. Os filmes foram caracterizados pelas análises de cor, opacidade, potencial antioxidante, solubilidade, permeabilidade ao vapor de água (PVA) e índice de intumescimento. Os dados foram analisados através do Design de Experimentos (DOE), utilizando Análise de Variância (ANOVA) no Statistica 7 a um nível de significância de 5%. As embalagens que se sobressairam nos testes, foram analisadas quanto as propriedades mecânicas, biodegradabilidade, toxicidade. O filé de tilápia *in natura* foi analisado quanto a sua composição centesimal, atividade de água (Aa), pH, colorimetria, oxidação lipídica (TBARS) e nitrogênio em bases voláteis (N-BVT). Por fim, foi realizado o teste de ativação tanto da embalagem ativa quanto da inteligente em carne de tilápia. Todas as análises feitas para o extrato estavam de acordo com a literatura. Nas análises feitas para o filme, os gráficos de Pareto mostraram que o extrato influenciou positivamente no parâmetro a^* , na opacidade e no potencial antioxidante, enquanto que um menor valor de glicercina/pectina resultou em um melhor solubilidade e PVA do filme. Por fim, o índice de intumescimento foi maior nos filmes que possuíam uma maior quantidade de extrato. Ao ser feita uma análise geral, conclui-se que os melhores filmes foram os dos ensaios E2 e E14, uma vez que possuíam os maiores valores no potencial antioxidante e no parâmetro a^* da análise de cor, sendo utilizados na segunda fase deste trabalho, assim como a embalagem controle (E13). As embalagens E13 e E14 se sobressaíram nos testes de propriedades mecânicas, em relação a biodegradabilidade a E2 e E13 degradaram mais rápido. As amostras E2 e E14 foram consideradas atóxicas enquanto a embalagem E13 possui baixa toxicidade. A composição centesimal, o pH e a atividade de água (Aa) do filé de tilápia *in natura* estavam de acordo com a literatura, assim como os valores de TBARS e N-BVT que confirmaram o frescor da amostra. A ativação dos filmes inteligentes em carne de tilápia não foi satisfatória, pois houve aumento do pH sem mudança de cor dos pigmentos das embalagens; enquanto os filmes ativos, conclui-se que as embalagens aditivadas com extrato do bagaço de uva foram eficazes ao retardar a oxidação lipídica e o aumento das bases voláteis nitrogenadas, sendo a embalagem E14 considerada a mais eficiente.

Palavras-chave: Antocianinas, Colágeno, Biopoliméricas.

ABSTRACT

The present work aimed to develop and characterize an active and intelligent packaging system based on grape pomace extract and tilapia skin gelatin. The extract was analyzed for pH, color, anthocyanins, antioxidant potential and phenolic compound content. Bloom's analysis was performed on gelatin. The film-forming solution was prepared using gelatin, glycerin/pectin and natural grape pomace extract. The film formulations followed a Rotational Central Composite Design (DCCR), obtaining 17 different formulations. The films were characterized by analyzing color, opacity, antioxidant potential, solubility, water vapor permeability (PVA) and swelling index. The data were analyzed through Design of Experiments (DOE), using Analysis of Variance (ANOVA) in Statistica 7 at a significance level of 5%. The packaging that stood out in the tests was analyzed for mechanical properties, biodegradability and toxicity. The fresh tilapia fillet was analyzed for its proximate composition, water activity (Aa), pH, colorimetry, lipid oxidation (TBARS) and nitrogen in volatile bases (N-BVT). Finally, the activation test for both active and intelligent packaging was carried out on tilapia meat. All analyzes carried out for the extract were in accordance with the literature. In the analyzes carried out for the film, the Pareto charts showed that the extract had a positive influence on the a^* parameter, opacity and antioxidant potential, while a lower value of glycerin/pectin resulted in better solubility and PVA of the film. Finally, the swelling index was higher in films that had a greater amount of extract. When carrying out a general analysis, it was concluded that the best films were those from tests E2 and E14, since they had the highest values in the antioxidant potential and in the a^* parameter of the color analysis, being used in the second phase of this work, as well as the control packaging (E13). Packaging E13 and E14 stood out in the mechanical properties tests, in relation to biodegradability, E2 and E13 degraded faster. Samples E2 and E14 were considered non-toxic while packaging E13 has low toxicity. The proximate composition, pH and water activity (Aa) of the fresh tilapia fillet were in accordance with the literature, as were the TBARS and N-BVT values, which confirmed the freshness of the sample. The activation of smart films on tilapia meat was not satisfactory, as there was an increase in pH without changing the color of the packaging pigments; while the active films, it was concluded that the packaging containing grape pomace extract was effective in delaying lipid oxidation and the increase in volatile nitrogen bases, with the E14 packaging being considered the most efficient.

Keywords: Anthocyanins, Collagen, Biopolymeric.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

| | |
|---|---|
| FIGURA 1. PRINCIPAIS BIOPOLÍMEROS DE ORIGEM VEGETAL, ANIMAL E MICROBIANA | 3 |
| FIGURA 2. ESTRUTURA QUÍMICA DA GELATINA..... | 4 |
| FIGURA 3. ESTRUTURA QUÍMICA DA PECTINA | 5 |

ARTIGO I – DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF INTELLIGENT AND ACTIVE PACKAGING SYSTEM USING GRAPE POMACE EXTRACT AND TILÁPIA GELATIN

| | |
|--|----|
| FIGURE 1. VISUALIZATION WITH THE NAKED EYE OF THE SENSITIVITY OF GRAPE POMACE EXTRACT AT DIFFERENT pHs | 28 |
| FIGURE 2. PARETO CHARTS FOR COLOR PARAMETERS: L, A* AND B*..... | 29 |
| FIGURE 3. PARETO CHARTS FOR OPACITY, TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITY AND SOLUBILITY PARAMETERS | 30 |
| FIGURE 4. SCATTERPLOTS OF THE MULTIPLE VARIABLES OF THE WATER VAPOR PERMEABILITY (PVA) ANALYSIS IN RELATION TO TIME (H) | 32 |
| FIGURE 5. SCATTERPLOTS OF THE MULTIPLE VARIABLES OF THE SWELLING INDEX IN RELATION TO TIME (MIN)..... | 33 |

ARTIGO 2 – APLICABILIDADE DE SISTEMA DE EMBALAGEM INTELIGENTE E ATIVA OBTIDA A PARTIR EXTRATO DE BAGAÇO DE UVA E GELATINA DE TILÁPIA

| | |
|--|----|
| FIGURA 1. ANÁLISE DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DAS EMBALAGENS BIOPOLIMÉRICAS | 46 |
| FIGURA 2. SISTEMA FILME + TELA UTILIZADO PARA A ANÁLISE DE BIODEGRADABILIDADE | 47 |
| FIGURA 3. SISTEMA BANDEJAS DE POLIETILENO + TERRA VEGETAL | 47 |
| FIGURA 4. TENSÃO DE RUPTURA VERSUS DEFORMAÇÃO DAS EMBALAGENS POLIMÉRICAS | 52 |
| FIGURA 5. EVOLUÇÃO DA BIODEGRADAÇÃO DOS FILMES ELABORADOS..... | 53 |
| FIGURA 6. PORCENTAGEM DE ARTÊMIAS SALINAS MORTAS EM RELAÇÃO A CONCENTRAÇÃO DAS EMBALAGENS POLIMÉRICAS | 54 |
| FIGURA 7. pH DA CARNE DE TILÁPIA, PARÂMETROS COLORIMÉTRICOS (L, A* E B*) E MUDANÇA DE COR (ΔE) DO FILME INDICADOR DURANTE OS 30 DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO | 60 |
| FIGURA 8. TBARS E N-BVT EM FILÉ DE TILÁPIA IN NATURA EMBALADO COM FILMES ATIVOS E CONTROLE DURANTE OS 60 DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO..... | 64 |

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I – DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF INTELLIGENT AND ACTIVE PACKAGING SYSTEM USING GRAPE POMACE EXTRACT AND TILAPIA GELATIN

| | |
|--|----|
| TABLE 1. LEVELS OF INDEPENDENT VARIABLES | 22 |
| TABLE 2. 2 ³ + 3 FACTORIAL EXPERIMENTAL DESIGN FOR THE PRODUCTION OF ACTIVE AND INTELLIGENT PROTEIN FILM | 22 |
| TABLE 3. CHEMICAL, PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION, AND COLOR PARAMETERS OF GRAPE POMACE EXTRACT | 25 |
| TABLE 4. EVALUATION OF THE SENSITIVITY OF GRAPE POMACE EXTRACT AT DIFFERENT pHs, ACCORDING TO COLOR PARAMETERS | 27 |
| TABLE 5. EVALUATION OF THE SENSITIVITY OF POLYMERIC FILMS ADDED WITH GRAPE EXTRACT, ACCORDING TO THE FACTORIAL DESIGN, AT DIFFERENT pHs, BASED ON THE COLOR PARAMETERS..... | 34 |

ARTIGO 2 – APLICABILIDADE DE SISTEMA DE EMBALAGEM INTELIGENTE E ATIVA OBTIDA A PARTIR EXTRATO DE BAGAÇO DE UVA E GELATINA DE TILÁPIA

| | |
|---|----|
| TABELA 1. FORMULAÇÕES E VALORES PARA A PRODUÇÃO DO FILME PROTEICO ATIVO E INTELIGENTE..... | 46 |
| TABELA 2. CONCENTRAÇÃO E VOLUME DAS SOLUÇÕES TESTADAS E QUANTIDADE DE ARTÊMIAS SALINAS..... | 48 |
| TABELA 3. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A TENSÃO DE RUPTURA, DUCTIBILIDADE, TENACIDADE E MÓDULO DE ELASTICIDADE | 50 |
| TABELA 4. PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES | 51 |
| TABELA 5. VALOR DE DOSE LETAL (DL50) PARA CADA UMA DAS EMBALAGENS TESTADAS | 54 |
| TABELA 6. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FILÉ DE TILÁPIA <i>IN NATURA</i> | 55 |
| TABELA 7. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA pH, PARÂMETROS DE COR (L, A* E B*) E MUDANÇA DE COR (ΔE)..... | 58 |
| TABELA 8. VALORES DO pH DA CARNE DE TILÁPIA, PARÂMETROS COLORIMÉTRICOS (L, A* E B*) E MUDANÇA DE COR (ΔE) DO FILME INDICADOR DURANTE OS 30 DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO | 61 |
| TABELA 9. RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA TBARS E N-BVT | 63 |
| TABELA 10. VALORES DE TBARS E N-BVT EM FILÉ DE TILÁPIA <i>IN NATURA</i> EMBALADO COM FILMES | 65 |

| | |
|--|-----------|
| TABELA 11. VALORES DOS PARÂMETROS ANALISADOS DE ACORDO COM AS FORMULAÇÕES TESTADAS..... | 75 |
|--|-----------|

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| 2. OBJETIVOS | 2 |
| 2.1. Objetivo Geral | 2 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 2 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 3.1. Biopolímeros | 3 |
| 3.1.1. Gelatina | 4 |
| 3.1.2. Pectina | 5 |
| 3.2. Embalagem ativa e inteligente | 6 |
| 3.3. Extratos vegetais..... | 7 |
| 3.3.1. Bagaço de uva | 8 |
| REFERÊNCIAS | 10 |
| ARTIGO I – DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF INTELLIGENT AND ACTIVE PACKAGING SYSTEM USING GRAPE POMACE EXTRACT AND TILAPIA GELATIN | 16 |
| 1. INTRODUCTION | 17 |
| 2. METHODOLOGY | 18 |
| 2.1. Research location | 18 |
| 2.2. Raw material..... | 18 |
| 2.3. Extraction of purple grape pomace extract..... | 19 |
| 2.4. Quantification of anthocyanin content in grape pomace extract | 19 |
| 2.5. Colorimetric and physicochemical characterization of grape pomace extract | 19 |
| 2.6. Total phenolic content | 20 |
| 2.7. Determination of the total antioxidant activity of grape pomace extract by free radical scavenging | 20 |
| 2.8. Evaluation of the sensitivity of grape extract in different ph ranges..... | 20 |
| 2.9. Gelatin extraction from tilapia skin | 21 |
| 2.10. Crosslinking of tilapia skin gelatin..... | 21 |
| 2.11. Tilapia skin gelatin gel (<i>bloom</i>) strength..... | 21 |
| 2.12. Factorial planning | 22 |
| 2.13. Active and intelligent film preparation..... | 23 |
| 2.14. Determination of hydrophilic, optical properties, and antioxidant activity of the film... | 23 |
| 2.15. Color change (ΔE) of films | 25 |
| 2.16. Statistical analysis | 25 |
| 3. RESULTS AND DISCUSSION | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 3.1. Chemical and physical-chemical characterization of grape pomace extract..... | 25 |
| 3.2. Tilapia skin gelatin gel (bloom) strength | 28 |
| 3.3. Determination of physical, hydrophilic, optical characteristics, color, and antioxidant activity of polymeric packaging | 29 |
| 3.4. Color change (ΔE) of films | 33 |
| 4. CONCLUSION | 37 |
| REFERENCES | 38 |
| ARTIGO 2 – APLICABILIDADE DE SISTEMA DE EMBALAGEM INTELIGENTE E ATIVA OBTIDA A PARTIR EXTRATO DE BAGAÇO DE UVA E GELATINA DE TILÁPIA | 43 |
| 1. INTRODUÇÃO | 43 |
| 2. METODOLOGIA | 45 |
| 2.1. Local da pesquisa..... | 45 |
| 2.2. Matéria-prima | 45 |
| 2.3. Propriedade mecânicas | 46 |
| 2.4. Biodegradabilidade das embalagens biopoliméricas | 46 |
| 2.5. Toxicidade das embalagens biopoliméricas frente ao microcrustáceo artemia salina..... | 47 |
| 2.6. Avaliação físico-química da carne de tilápia | 48 |
| 2.7. Teste de ativação dos filmes inteligentes em carne de tilápia | 49 |
| 2.8. Teste de ativação dos filmes ativos em carne de tilápia | 49 |
| 2.9. Análise estatística..... | 49 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 50 |
| 3.1. Propriedades mecânicas..... | 50 |
| 3.2. Biodegradabilidade das embalagens biopoliméricas..... | 52 |
| 3.3. Toxicidade das embalagens biopoliméricas frente ao microcrustáceo <i>artemia salina</i> ... | 53 |
| 3.4. Avaliação físico-química da carne de tilápia..... | 55 |
| 3.5. Ativação dos filmes inteligentes em carne de tilápia | 57 |
| 3.6. Teste de ativação dos filmes ativos em carne de tilápia | 63 |
| 4. CONCLUSÃO | 67 |
| REFERÊNCIAS | 67 |
| APÊNDICE | 74 |
| APÊNDICE A. Valores das análises de cor, opacidade, capacidade antioxidante e solubilidade das embalagens | 75 |

1. INTRODUÇÃO GERAL

Devido à crescente preocupação ambiental com o acúmulo de materiais não renováveis e o gerenciamento de resíduos agroindustriais, há um grande interesse no desenvolvimento de embalagens biopoliméricas, que além de minimizarem a utilização de poliméricos sintéticos tradicionais de origem petroquímica, oferecem uma opção para o uso dos resíduos gerados em agroindústrias (Santos, 2019).

Os biopolímeros vêm sendo apontados como substitutos dos polímeros sintéticos na fabricação de embalagens, pois são obtidos de fontes renováveis e podem ser biodegradáveis ou biocompostáveis sob ambientes específicos (Pereira, 2017; Vitor, 2021). Diversos biopolímeros possuem potencial de aplicação na formação das embalagens, como a quitosana, o amido, o colágeno, glúten, gelatina e a carragenina (Sousa *et al.*, 2014).

Muitas pesquisas têm sido realizadas utilizando a gelatina de pele de peixe para elaboração de filmes biodegradáveis com boas propriedades tecnológicas (Silva *et al.*, 2018). As proteínas de pescado apresentam algumas propriedades vantajosas na elaboração de filmes, como habilidade de formar redes, plasticidade, elasticidade e uma boa barreira ao oxigênio. Porém, apresentam baixa barreira ao vapor de água que pode ser modificada pela adição de plastificantes e/ou aditivos (Zavareze *et al.*, 2012; Moia, 2021).

Um grande desafio enfrentado pela indústria de alimentos é a perda da qualidade dos produtos durante o armazenamento, provocado por alterações química, físicas ou biológicas, causando um aumento no desperdício de alimentos, fazendo-se necessário a utilização de novas tecnologias que visem estender a vida útil dos alimentos. Entre as tecnologias que ganharam reconhecimento pela indústria e consumidores, as embalagens ativas e inteligentes estão sendo utilizadas e cada vez mais estudadas para melhorar o sistema de preservação de variados alimentos (Bolumar *et al.*, 2014; Demirhan e Candoğan, 2017; Ongaratto *et al.*, 2022).

Essas embalagens se destacam pela incorporação de compostos bioativos que ao entrar em contato com o alimento, irão interagir com o mesmo. O bagaço de uva, composto pela semente, casca e engaço da uva, é um resíduo gerado do processamento da uva e o seu reaproveitamento merece uma atenção especial, por ser rico em compostos fenólicos, como as antocianinas, que podem ser aplicados em outros processos. (Matei, 2015; Padovan, 2022). O extrato do bagaço de uva roxa se encaixa no proposto pelo projeto, pois engloba a atividade antioxidante, importante para a embalagem ativa, bem como apresenta sensibilidade às mudanças de pH, o principal fator para uma embalagem inteligente indicadora de pH.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver, caracterizar e aplicar um sistema de embalagem inteligente e ativa com extrato do bagaço da uva (*Vitis vinifera L.*) e resíduos da filetagem da tilápia (*Oreochromis niloticus*), avaliando sua efetividade em carne de tilápia *in natura*.

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Preparar, quantificar as antocianinas e estudar as características colorimétricas, físico-químicas, teor de fenólicos e atividade antioxidante total do extrato do bagaço da uva roxa (*Vitis vinifera L.*);
- ✓ Avaliar a sensibilidade do extrato de bagaço de uva em diferentes faixas de pH;
- ✓ Extrair, reticular a gelatina dos resíduos (pele) da tilápia e analisar a força do gel (Bloom);
- ✓ Elaborar filmes poliméricos com diferentes concentrações do extrato do bagaço de uva, conforme planejamento fatorial, e caracterizá-los quanto às propriedades mecânicas, hidrofílicas, cor e atividade antioxidante;
- ✓ Avaliar a sensibilidade dos filmes poliméricos em diferentes faixas de pH;
- ✓ Estudar os parâmetros físico-químicos da carne de tilápia;
- ✓ Verificar a toxicidade dos filmes poliméricos;
- ✓ Estudar as características de textura e biodegradabilidade das embalagens poliméricas;
- ✓ Avaliar a ação inteligente das embalagens frente às alterações dos valores de pH da carne de tilápia *in natura*, monitorando seu grau de deterioração;
- ✓ Avaliar a efetividade das embalagens ativas frente às alterações dos valores de oxidação lipídica da carne de tilápia *in natura*, monitorando seu grau de deterioração.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biopolímeros

O aglomerado de materiais não renováveis no ambiente é um empecilho social a ser elucidado, onde uma grande parcela deste está relacionado à utilização de embalagens pelas indústrias de alimentos, predominantemente constituídas de materiais não biodegradáveis como plástico, metal, alumínio, dentre outros (Das e Tiwari, 2018; Martins *et al.*, 2022).

Biopolímeros são polissacarídeos obtidos a partir de recursos renováveis devido à microorganismos, plantas, animais, além da síntese química utilizando açúcares, óleos, amido e gordura (Ferfera-harrar e Dairi, 2014; Souza *et al.*, 2021). Inúmeras pesquisas vêm sendo executadas com o objetivo de obter novos biopolímeros, principalmente adquiridos de resíduos agroindustriais pois o aproveitamento desses recursos contribui para o desenvolvimento de normas mais sustentáveis (Maraveas, 2020; Justino *et al.*, 2022)

Na Figura 1 pode-se observar a classificação e os principais biopolímeros obtidos a partir da sua origem, seja vegetal, animal ou microbiana. Os biopolímeros à base de plantas são encontrados em espécies vegetais e são obtidos de diferentes partes de plantas terrestres ou aquáticas, enquanto os origem animal são derivados das espécies animais ou dos resíduos obtidos pelo processamento. Por fim, os biopolímeros microbianos são criados por microorganismos, geralmente como secreções extracelulares em meios de cultura (Priyadarshi *et al.*, 2021; Justino *et al.*, 2022)

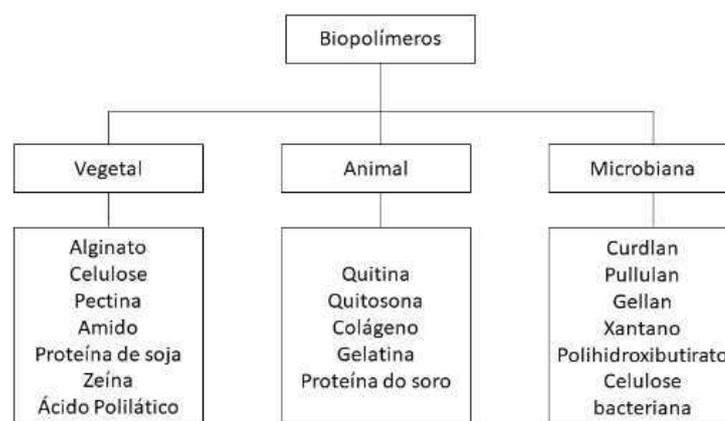


Figura 1. Principais biopolímeros de origem vegetal, animal e microbiana

Fonte: Justino *et al.* (2022) adaptado de Priyadarshi *et al.* (2021).

3.1.1. Gelatina

A gelatina é um biopolímero de origem animal obtida pela hidrólise controlada do colágeno insolúvel presente em peles e ossos de bovinos, suínos e peixes. Em alimentos, a gelatina atua como agente emulsionante e espumante, clarificador, material de embalagem biodegradável e agente de encapsulação (Silva; Bandeira; Pinto, 2014; Gómez-Guillen *et al.*, 2011; Niu *et al.*, 2013; Sun-Waterhouse; Zhao; Waterhouse, 2014). A gelatina é considerada uma opção promissora como matéria-prima para a embalagem de alimentos, proporcionando baixo custo, capacidade de formação de filme, alta disponibilidade e biodegradabilidade (Farris *et al.*, 2011; Santos, 2017).

O colágeno e a gelatina são duas formas diferentes de uma mesma macromolécula (Ghaly *et al.*, 2013). A gelatina consiste de uma mistura de proteínas compostas por aminoácidos de cadeias longas conectadas por ligações peptídicas, obtidas a partir da hidrólise parcial do colágeno (Nurul e Sarbon, 2015; Al-Saidi *et al.*, 2012), porém, ao contrário do colágeno, a gelatina é solúvel em água, na Figura 2 pode-se observar a sua estrutura química (Huang *et al.*, 2016).

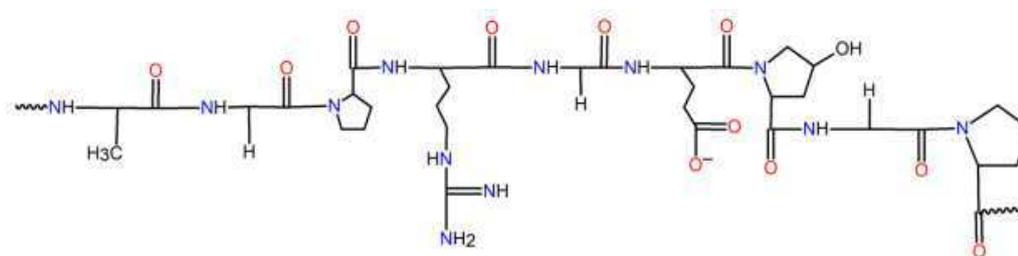


Figura 2. Estrutura química da gelatina

Fonte: Vilches (2019).

A gelatina é uma proteína de origem animal e apresenta a propriedade de formar géis termorreversíveis após ser aquecida, solubilizada e resfriada. Contêm na sua estrutura os aminoácidos glicina, prolina, hidroxiprolina e alanina e apresenta natureza anfótera, estrutura helicoidal de cadeia tripla específica e a sua interação com a água é diferente da encontrada em polímeros sintéticos hidrofílicos (Kasankala *et al.*, 2007; Ahmad e Benjakul, 2011; Moia, 2021).

Muitas pesquisas têm sido realizadas utilizando a gelatina de pele de peixe para elaboração de filmes biodegradáveis com boas propriedades tecnológicas (Silva *et al.*, 2018). As proteínas de pescado apresentam algumas propriedades vantajosas na elaboração de filmes, como habilidade de formar redes, plasticidade, elasticidade e uma boa barreira ao

oxigênio. Porém, apresentam baixa barreira ao vapor de água que pode ser modificada pela adição de plastificantes e/ou aditivos (Zavareze *et al.*, 2012; Moia, 2021).

Como é do interesse do mercado sempre inovar e ter tecnologias que beneficiem o consumidor, mas que também gerem valor agregado para a cadeia de produção, o desenvolvimento de novas embalagens é algo que estará sempre presente, com uma demanda cada vez maior pela sustentabilidade, através do uso de materiais menos agressivos ao meio.

3.1.2. Pectina

A pectina é um polissacarídeo encontrado na parede celular de vegetais superiores, a qual contribui para adesão entre as células, bem como para a integridade e rigidez dos tecidos, e é considerada uma das macromoléculas mais complexas na natureza (Jolie *et al.*, 2010; Fernandes *et al.*, 2014; Viana, 2017; Muñoz-Almagro *et al.*, 2021; Carvalho, 2021)

A estrutura química da pectina é formada de uma cadeia linear principal composta de várias unidades de ácido D-galacturônico que estão unidos covalentemente de ligações α (1,4), que forma a cadeia poligalacturônica. Os grupos carboxílicos dessa cadeia apresentam unidades de L-ramnose por meio de ligações α (1,2), que se encontram ligadas a cadeias laterais, formadas por 15 açucars neutros, principalmente as unidades de galactose e arabinose, como pode ser demonstrado na Figura 3 (Rebello, 2013; Beckman, 2019).

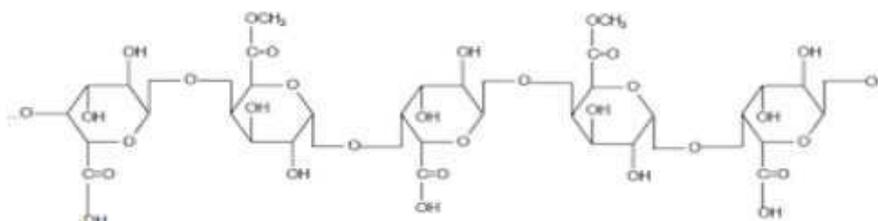


Figura 3. Estrutura química da pectina

Fonte: Vasconcelos (2019).

Por definição, as pectinas são ácidos pécticos com diferentes graus de esterificação e neutralização, as quais são subdivididas em função do grau de esterificação ou metoxilação: pectinas de alta esterificação (ATM) ou pectinas HM (High Methoxylation), superior a 50%; pectinas de baixa esterificação (BTM) ou pectinas LM (Low Methoxylation), inferior a 50%; e pectinas amidadas de baixa esterificação ou pectinas amidadas, que podem apresentar de 25% a 15% dos grupos carboxílicos na forma de grupos carboxiamidas. O grau de metoxilação é definido como a porcentagem de unidades de ácido galacturônico esterificado em relação ao número total de unidades de ácido galacturônico na molécula, sendo que este

parâmetro pode afetar o tipo de aplicação da pectina (Marić *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2021; Carvalho, 2021)

A pectina é largamente utilizada nas indústrias para aumentar a viscosidade além de agir como coloide estabilizante e protetor em alimentos, sendo usada na produção de doces, geleias, bebidas e sucos de fruta concentrados. Outra finalidade deste produto é a prevenção de flotação em alimentos que usam frutas no seu preparo, na estabilidade de produtos panificados, estabilidade proteica, maciez, textura, aumento de volume e o controle da sinérese (Beckmam, 2019).

Ainda, a pectina vem sendo estudada como matéria-prima na produção de uma variedade de produtos, incluindo filmes biodegradáveis e comestíveis, adesivos, substitutos de papel, espumas e plastificantes, agentes de superfície para produtos médicos, materiais para implantes biomédicos e sistemas de liberação de fármacos (Mohnen, 2008; Vasconcelos, 2019)

3.2. Embalagem ativa e inteligente

As embalagens biodegradáveis são películas flexíveis formados por macromoléculas biológicas, como proteínas, polissacarídeos e/ou lipídeos capazes de formar uma matriz coesa e contínua. Estes podem proteger o produto embalado de danos físicos, e/ou biológicos e contaminações por microrganismos. Também, os filmes podem manter a qualidade dos alimentos, servindo como barreira seletiva para transferência de umidade, consumo de oxigênio, oxidação lipídica e perdas de compostos aromáticos voláteis, aumentando o prazo de validade do alimento, sendo importante no armazenamento e na comercialização (Silva *et al.*, 2019).

Tendo em vista que a população tem se importado cada vez mais com a alimentação saudável e preservação ambiental, estudos a respeito dos pigmentos e antioxidantes naturais somado as embalagens biodegradáveis vêm ganhando destaque (Prete, 2020; Leão, 2017; Lima, 2014; Jia *et al.*, 2012). Assim, filmes biopoliméricos que interagem, ao mesmo tempo, com o alimento e o consumidor, são o ponto central desta pesquisa.

A embalagem ativa é uma embalagem planejada que influencia de forma ativa no produto e possui agentes aditivos que interagem com o produto de maneira desejável, por visar o aumento da vida de prateleira do produto, aumentando conseqüentemente o prazo de validade e/ou determinadas características benéficas no alimento. Por outro lado, as embalagens inteligentes indicadoras detectam em tempo real mudanças no pH do alimento,

através da incorporação de extratos vegetais, os quais respondem às variações de pH do alimento ao longo do seu armazenamento (Ghaani *et al.*, 2016; Choi *et al.*, 2017; Pelicioli, 2019).

O conceito de embalagem ativa está desenhado para interagir com o alimento de uma forma positiva, contribuindo para o estender do prazo de validade e/ou para alcançar determinadas características no alimento (Fang *et al.*, 2017). Entre os diversos tipos de embalagens ativas emissoras de compostos estão as com função antioxidante, de grande aplicabilidade para a indústria de produtos lipídicos. São produzidas a partir da incorporação de substâncias antioxidantes, que ao serem liberadas no produto, retardam ou previnem significativamente o início ou a propagação da cadeia de reações de oxidação, mesmo presente em baixas concentrações (Fang *et al.*, 2017; Caetano *et al.*, 2016).

Enquanto isso, as embalagens inteligentes são materiais projetados para detectar em tempo real mudanças no pH do alimento, alterações da temperatura no meio externo ou, ainda, modificações na concentração de gases no espaço livre entre a embalagem e o alimento, sendo que, essas mudanças podem ser associadas com a qualidade do produto (Ghaani *et al.*, 2016; Pelicioli, 2019). As mudanças de cor do filme indicador representam um método simples e visual para detectar alterações de qualidade de produtos alimentares (Choi *et al.*, 2017), através da incorporação de extratos vegetais, os quais respondem às variações de pH do alimento ao longo do seu armazenamento.

3.3. Extratos vegetais

A indústria alimentícia gera uma quantidade elevada de resíduos agroindustriais com grande capacidade de reutilização que, quando desprezados, causam graves complicações, pois a propagação abundante de massa orgânica é capaz de provocar eutrofização no ecossistema aquático, destruição de organismos aeróbios e instabilidade no meio ambiente. Dessa forma, esses resíduos precisam de uma serventia e de cuidados apropriados, já que colocam em risco o meio ecológico e configuram eliminação de matéria-prima e energia com potencial de reaproveitamento (Bonfim; Nogueira; Oliveira, 2023).

Extratos vegetais têm sido aplicados em polímeros como antioxidantes primários naturais e atóxicos para evitar a degradação das cadeias poliméricas por processos oxidativos através da desativação de macro radicais, evitando alterações nas propriedades físicas destes materiais durante o processamento e ao longo do tempo de uso, bem como por efeitos de intempéries. Estes aditivos vegetais evitam a formação de radicais peróxidos, que geram um

ciclo autocatalítico de degradação oxidativa do polímero sob efeito combinado de um agente degradativo e de oxigênio (Rabelo, 2000; Silva *et al.*, 2022).

3.3.1. Bagaço de uva

A uva é uma importante cultura produzida ao redor do mundo e pode ser consumida tanto *in natura* quanto processada. O seu beneficiamento pelo processo de vinificação gera uma quantidade considerável de subprodutos (em torno de milhões de toneladas ao ano), de acordo com alguns autores, constituído principalmente por cascas, polpa e sementes, denominado de bagaço de uva (Bonfigli *et al.*, 2017; Pertuzatti *et al.*, 2020).

Esse resíduo agroindustrial compõe cerca de 25% (p/p) das uvas processadas e geralmente é descartado no solo ou utilizado para consumo animal. No entanto, visando seu aproveitamento, bem como atender aos consumidores que buscam por processos industriais sustentáveis, o bagaço de uva pode ser explorado como uma fonte de recuperação de compostos bioativos, uma vez que, em torno de 60 a 65% do conteúdo fenólico das uvas permanecem no bagaço após o processo de produção de suco ou vinho tinto (Bonfigli *et al.*, 2017; Monteiro *et al.*, 2021; Peixoto *et al.*, 2018; Romanini *et al.*, 2021; Jansen *et al.*, 2022).

O extrato do bagaço de uva se sobressai dos demais quanto à sua composição, onde contém lipídios, proteínas, carboidratos, fenóis, polifenóis e fibras alimentares, sendo que as fibras constituem a maior parte do bagaço. Além disso, minerais como ferro, potássio, zinco, manganês e cálcio estão presentes no resíduo em maior quantidade. Os compostos bioativos como os polifenóis representam os componentes de maior interesse no bagaço de uva, dentre eles destacam-se a vitamina C e as antocianinas. Ainda sobre compostos fenólicos, dentro dessa categoria temos em ordem de quantidade os flavonóis, ácidos fenólicos, as já abordadas antocianinas e os flavanóis (Sousa *et al.*, 2014; Pertuzatti *et al.*, 2020; Sirohi *et al.*, 2020).

Ainda, Sirohi *et al.* (2020), comentam que a casca da uva presente no bagaço apresenta os maiores teores de antocianinas, evidenciando o potencial sustentável desse resíduo para utilização em atividades nobres, como na indústria de cosméticos, alimentos ou de embalagens (Chi *et al.*, 2020).

As antocianinas representam uma das maiores classes dos compostos fenólicos. São pigmentos localizados maioritariamente nas cascas das uvas, responsáveis pela cor do vinho (Silva e Queiroz, 2016). Numerosos estudos demonstram a presença de traços bioativos capazes de promover a saúde humana, possuindo atividade antioxidante, anticancerígena, antiinflamatória, antidiabética e neuro-protetora. Ao contrário de outros flavonoides, as

antocianinas são compostos solúveis em água e sensíveis às condições de pH. (Han *et al.*, 2019; Pinheiro, 2019). Sendo assim, se encaixa no proposto pelo projeto, pois engloba a atividade antioxidante, importante para a embalagem ativa, bem como apresenta sensibilidade às mudanças de pH, o principal fator para uma embalagem inteligente indicadora de pH.

REFERÊNCIAS

- Ahmad, M.; Benjakul, S. (2011). Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time. *Food Hydrocolloids*, 25(2), 381- 388.
- Al-Saidi, G. S. *et al.* (2012). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of extracted gelatin from shaari (*Lithrinus microdon*) skin: Effects of extraction conditions. *International Food Research Journal*, 19 (3), 1167–1173.
- Beckman, K. R. L. (2019). *Caracterização físico-química e extração de pectina da farinha da casca de banana verde tipo cavendish (Musa AAA)*. Palmas, TO, 57p.
- Bolumar, T., Andersen, M. L., & Orlien, V. (2014). Mechanisms of radical formation in beef and chicken meat during high pressure processing evaluated by electron spin resonance detection and the addition of antioxidants. *Food Chemistry*, 150, 422–428. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.161>
- Bonfigli, M.; Godoy, E.; Reinheimer, M.; Scenna, N. (2017). Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace: Experimental results and mathematical modeling. *Journal of Food Engineering*, 207, 56–72.
- Bonfim, C. L.; Nogueira, G. F.; Oliveira, R. A. de. (2023). Indicador Visual de pH Integrado com Extrato de Bagaço de Uva para Monitoramento do Frescor de Alimentos. In: Workshop De Pós-Graduação Em Engenharia Agrícola 7, Campinas. *Workshop*. Campinas: Feagri/Unicamp, 1-5.
- Caetano, K. dos S. (2016). *Utilização de amido, óleo de orégano e extrato de resíduo de abóbora para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos*. Porto Alegre, RG: Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do sul, Brasil.
- Carvalho, M. S. M. (2021). *Extração de Pectina de Casca de Melancia: Produção de Biofilmes e Aplicação de Pectina Cítrica como Cobertura Comestível na Conservação Pós-Colheita de Tomate Cereja*. 76 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Goiás – UEG. Disponível em: https://www.btdt.ueg.br/bitstream/tede/959/2/Disserta%c3%a7%c3%a3o_Maressa_Carvalho_2021%20Corrigida%20%282%29.pdf. Acesso em: 6 dez. 2023.
- Chi, W.; Cao, L.; Sun, G.; *et al.* (2020). Developing a highly pH-sensitive κ-carrageenan-based intelligent film incorporating grape skin powder via a cleaner process. *Journal of Cleaner Production*, 244, 118862.
- Choi, I.; Lee, J. Y.; Lacroix, M.; Han, J. (2017). Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry*, 218, 122–128.
- Das, P., e Tiwari, P. (2018). Valorization of packaging plastic waste by slow pyrolysis. *Resources, Conservation and Recycling*, 128, 69-77.

Demirhan, B., & Candoğan, K. (2017). Active packaging of chicken meats with modified atmosphere including oxygen scavengers. *Poultry Science*, 96(5), 1394–1401. <https://doi.org/10.3382/ps/pew373>

Fang, Z.; Zhao, Y.; Warner, R.; Johnson, S. K. (2017). Active and intelligent packaging in meat industry. *Trend of Dyes in Food Science & Technology*, 61(2), 60-71.

Farris, S.; Schaich, K. M.; Liu, L.; Cooke, P. H.; Piergiovanni, L.; Yam, K. L. (2011). Gelatin–pectin composite films from polyion–complex hydrogels. *Food Hydrocolloids*, 25(1), 61-70.

Ferfera-Harrar, H.; Dairi, N. (2014). Green nanocomposite films based on cellulose acetate and biopolymer-modified nanoclays: studies on morphology and properties. *Iranian Polymer Journal*, 23(12), 917–931.

Fernandes, R.V.B.; Mendes, F.Q.; Botrel, D.A.; Cunha, M.C. (2014). Otimização do processo de extração e caracterização química de pectina de cenoura. *Magistra*, 26(2), 115-123.

Ghaani, M. *et al.* (2016). An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 1-11.

Ghaly A.E., Ramakrishnan, V.V., Brooks M.S., Budge S.M., D. D. (2013). Fish Processing Wastes as a Potential Source of Proteins, Amino Acids and Oils: A Critical Review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 5(4), 107–129.

Goméz–Guillen, M. C.; Gimenez, B.; Lopez–Caballero, M. E.; Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1813-1827.

Han, F. *et al.* (2019) Digestion and absorption of red grape and wine anthocyanins through the gastrointestinal tract, *Trends in Food Science & Technology*, 83, 211–224.

Huang, C. Y. *et al.* (2016). Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis sp.*) by a novel extrusion-hydro-extraction process. *Food Chemistry*, 190, 997–1006.

Jansen, E. T. *et al.* (2022). Avaliação morfológica e atividade antioxidante de fibras ultrafinas de zeína e extrato de bagaço de uva produzidas por electrospeining. In: *Enpós - Encontro de Pós-Graduação*, 24, 1-4.

Jia, N. *et al.* (2012). Antioxidant activity of black currant (*Ribes nigrum L.*) extract and its inhibitory effect on lipid and protein oxidation of pork patties during chilled storage. *Meat Science*, 91, 533–539.

Jolie, R. P.; Duvetter, T., Van Loey, A. M.; Hendrickx, M. E. (2010). Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review. *Carbohydrate Research*, 345(18), 2583-2595.

Justino, H. de F. M. *et al.* (2022). Principais biopolímeros derivados de subprodutos alimentares: uma breve revisão. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 8(7), 14711–01e.

Muñoz-Almagro, N.; Ruiz-Torralba, A.; Méndez-Albiñana, P.; Guerra Hernandez, E.; García-Villanova, B.; Moreno, R.; Villamiel, M.; Montilla, A. (2021). Berry fruits as source of pectin: Conventional and non-conventional extraction techniques. *International Journal of Biological Macromolecules*, 186, 962–974.

Kasankala, L. M. (2007). Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. *Bioresource Technology*, 98, 3338–3343.

Leão, L. L. (2017). *Desenvolvimento de produto potencialmente funcional: hambúrguer de carne de frango adicionado de óleo de buriti*. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais.

Lima, C. B. (2014). *Atividade antioxidante de bioprodutos do cerrado: estabilidade oxidativa e qualidade da carne de frango*. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Maraveas, C. (2020). Production of sustainable and biodegradable polymers from agricultural waste. *Polymers*, 2 (5), 1127.

Marić, M.; Grassino, A.N.; Zhuc, Z.; Barbad, F.J.; Brnčić, M.; Brnčić, S.R. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science & Technology*, 76, 28–37.

Martins, C. C. N. *et al.* (2022). Uso de biopolímeros no recobrimento de papéis para embalagens alimentícias: uma breve revisão. *Research, Society and Development*, 11(7), e26511729844.

Matei, J. C. (2015). *Avaliação da atividade antibacteriana de extratos hidroalcoólicos do bagaço de uva e chá preto*. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Processos Ambientais) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 266-277.

Moia, P. J. S. *et al.* (2021). Efeito dos plastificantes sorbitol e glicerol em filmes de gelatina de pele de tabaqui (*Colossoma macropomum*). *Tecnologia Agroindustrial*, 15(2), 3573-3590.

Monteiro, G.; Minatel, I.; Pimentel Junior, A.; Gome-Gomez, H.; Camargo, J.; Diamante, M.; Basílio, L.; Tecchio, M.; Lima, G. (2021). Bioactive compounds and antioxidant capacity of grape pomace flours. *LWT - Food Science and Technology*, 135, 110053.

- Niu, L.; Zhou, X.; Yuan, C.; Bai, Y.; Lai, K.; Yang, F.; Huang, Y. (2013). Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 336-341.
- Nurul, A. G.; Sarbon, N. M. (2015). Effects of pH on functional, rheological and structural properties of eel (*Monopterus* sp.) skin gelatin compared to bovine gelatin. *International Food Research Journal*, 22(2), 572-583.
- Ongaratto, G. C.; Vital, A. C. P.; Prado, I. N. do. (2022). Embalagens ativas e inteligentes para proteção da carne e seus derivados: Revisão. *Pubvet*, 16(4), 1-11. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v16n04a1091.1-11>.
- Padovan, R. G. (2022). *Avaliação de amido modificado combinado com extrato de bagaço de uva como clarificantes do mosto cervejeiro*. 2022. 44 p. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- Peixoto, C.; Dias, M.; Alves, M.; Calhella, R.; Barros, L.; Pinho, S.; Ferreira, I. (2018). Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. *Food Chemistry*, 253, 132-138.
- Pelicioli, J. (2019). *Produção De Filmes Indicadores Contendo Antocianinas Da Casca Da Batata-Doce (Ipomoea Batatas L.)*. TCC Graduação, Universidade Federal de Santa Catarina.
- Pereira, P. F. D. M. (2017). *Desenvolvimento de filmes à base de biopolímeros para aplicação como embalagens inteligentes*. 74 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Pertuzatti, P.; Mendonça, S.; Alcoléa, M.; Guedes, C.; Amorim, F.; Beckmann, A.; Gama, L.; Américo, M. (2020). Bordo grape marc (*Vitis labrusca*): Evaluation of bioactive compounds in vitro and in vivo. *LWT - Food Science and Technology*, 129, 109625.
- Pinheiro, M. N. dos S. (2019). *Microencapsulação de extrato de bagaço de uva*. 78 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia Universidade do Porto.
- Prete, R. O.; Serafim, R. Â.; Souza, D. D. F. M.; Sakanaka, L. S.; Yamaguchi, M. M. (2020). Caracterização e aplicação de óleo de orégano como antioxidante natural em linguiça suína frescal. *Brazilian Journal of Development*, 6(7), 44109-44118.
- Priyadarshi, R., Roy, S., Ghosh, T., Biswas, D., & Rhim, J. W. (2021). Antimicrobial nanofillers reinforced biopolymer composite films for active food packaging applications-a review. *Sustainable Materials and Technologies*, e00353.
- Rebello, L. P. (2013). *Avaliação de Compostos Fenólicos, Extração e Caracterização da Pectina em Farinha de Casca de Banana (Musa AAA)*, 31.
- Romanini, E.; Rodrigues, L.; Finger, A.; Chierrito, T.; Scapim, M.; Madrona, G. (2021). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from BRS Violet grape pomace followed by alginate-Ca²⁺ encapsulation. *Food Chemistry*, 338, 128101.

Santos, F. H. (2019). Elaboração de embalagens biodegradáveis ativas a partir de resíduos agroindustriais para conservação de alimentos. Dissertação de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

Santos, J. P. Dos. (2017). *Efeito Da Reticulação Química Nas Gelatinas De Peles E Ossos De Tilápia E De Carpa E Na Produção De Filmes Biopoliméricos*. 113 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande.

Silva, L. R. e Queiroz, M. (2016). Bioactive compounds of red grapes from Dão region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(4), 315–321.

Silva, N. S. *et al.* (2018). Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. *CyTA - Journal of Food*, 16, 340-349.

Silva, R. S. G.; Bandeira, S. F.; Pinto, L. A. A. (2014). Characteristics and chemical composition of skins gelatin from cobia (*Rachycentron canadum*). *LWT – Food Science and Technology*, 57(2), 580-585.

Silva, D. J. *et al.* (2022). Avaliação do uso de extrato de bagaço de uva como ecoaditivo antimicrobiano para embalagens alimentícias multifuncionais de polipropileno. Em: *Open Science Research IV*, 1164–1180.

Sirohi, R.; Tarafdar, A.; Singh, S.; *et al.* (2020). Green processing and biotechnological potential of grape pomace: Current trends and opportunities for sustainable biorefinery. *Bioresource Technology Elsevier Ltd*, 123771.

Sousa, E. C.; Uchôa-Thomaz, A. M. A.; Carioca, J. O. B.; *et al.* (2014). Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. *Food Science and Technology*, 34(1), 135–142.

Souza, F. R. A. de *et al.* (2021). Biopolímeros na indústria de alimentos: do aproveitamento de resíduos agroindustriais a produção de biopolímeros. Em: *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 4, 370–388.

Sun-Waterhouse, D., Zhao, M., & Waterhouse, G. I. (2014). Protein modification during ingredient preparation and food processing: Approaches to improve food processability and nutrition. *Food and Bioprocess Technology*, 7(7), 1853-1893

Vasconcelos, J. C. B. (2019). *Avaliação do rendimento da extração de pectina da farinha da casca de banana verde tipo cavendish (musa aaa) utilizando um planejamento fatorial*. 56 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Tocantins – UFT. Disponível em: <https://repositorio.uft.edu.br/bitstream/11612/2168/1/J%3%a9ssyca%20Cipriano%20Barbos%20Vasconcelos%20-%20TCC%20Monografia%20-%20Engenharia%20de%20Alimentos.pdf>. Acesso em: 6 dez. 2023.

Viana, R.M. (2017). Filmes comestíveis à base de combinações de celulose bacteriana e pectina com polpas de frutas. 72 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Ceará.

Vilches, J. L. (2019). *Preparação e caracterização de membranas microfibras de gelatina obtida de resíduo de Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus)*. 87 p. Dissertação (Mestre em Física da Matéria Condensada) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/e874e05c-1907-4959-850a-8ad857dd4449/content>. Acesso em: 6 dez. 2023.

Vitor, R. C. L. (2021). *Elaboração Aplicação De Filme Proteico Em Hamburgueres Caprinos Incorporados De Diferentes Fontes Lipídicas*. 36 p. 2021. Tcc (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Campina Grande.

Xie, F.; Gub, B.; Saunders, S.R.; Ganjyal, G.M. (2021). High methoxyl pectin enhances the expansion characteristics of the cornstarch relative to the low methoxyl pectin. *Food Hydrocolloids*, 110, 106131.

Zavareze, E. R. *et al.* (2012). Biodegradable films based on myofibrillar proteins of fish. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(2), 53-55.

ARTIGO I – DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF INTELLIGENT AND ACTIVE PACKAGING SYSTEM USING GRAPE POMACE EXTRACT AND TILAPIA GELATIN

Submetido a revista: Food Packaging and Shelf Life

Sinthya Kelly Queiroz Morais^{a*} Deyzi Santos Gouveia^a Kassandra Hiandra Felipe^a
Elizabeth Alves de Oliveira^b Thaisa Abrantes Souza Gusmão^a Victor Herbert de Alcântara
Ribeiro^c

^a *Food Engineering Academic Unit, Federal University of Campina Grande, Campina Grande, Paraíba, Brazil;*

^b *Academic Unit of Agricultural Engineering, Federal University of Campina Grande, Campina Grande, Paraíba, Brazil.*

^c *Center for Technology and Natural Resources, Federal University of Campina Grande, Campina Grande, Paraíba, Brazil.*

Sinthya Morais *corresponding author

E-mail: sinthyakelly_18@hotmail.com

Deyzi Gouveia

E-mail: deyzigouveia2012@gmail.com

Kassandra Felipe

E-mail: Kassandra.hiandra@estudante.ufcg.edu.br

Elizabeth Oliveira

E-mail: elizabethalvescg@gmail.com

Thaisa Gusmão

E-mail: thaisa.abrantes@professor.ufcg.edu.br

Victor Ribeiro

E-mail: victor_herbert@hotmail.com

Abstract

The present project aimed to develop and characterize an active and intelligent packaging system using grape pomace extract and tilapia skin gelatin. The extract was analyzed for pH, color, anthocyanins, antioxidant potential, and phenolic compound content. In the gelatin, Bloom analysis was performed. The filmogenic solution was prepared using gelatin, glycerin/pectin, and natural grape pomace extract. The films were characterized by analyses of color, opacity, antioxidant potential, solubility, water vapor permeability (WVP). The data were analyzed using Statistica 7 at a significance level of 5%. In the analyses conducted for the film, Pareto charts showed that the extract positively influenced the parameter a^* , opacity and antioxidant potential. Glycerin/pectin was responsible for increasing the film's solubility and the WVP. Upon a general analysis, it is concluded that the best films were those from trials E2 and E14, as they presented the highest values in antioxidant potential and the a^* parameter.

Keywords: Anthocyanins, Polymeric, Films.

1. INTRODUCTION

The increase in environmental pollution and the serious ecological problems caused by petroleum-derived packaging have raised significant environmental concerns, leading to increased interest in the use of natural polymers for the development of biodegradable packaging (Vejdan *et al.*, 2016; Gomes, 2017).

Biopolymers have been pointed out as substitutes for synthetic polymers in packaging manufacturing, as they are obtained from renewable sources and are biodegradable under specific environments (Pereira, 2017; Vitor, 2021). In this perspective, the use of collagen (gelatin) can be promising for the formation of a biopolymeric packaging (Garcia, 2016).

Collagen is a water-insoluble protein, mainly obtained from the skin of cattle and pigs, widely used for the preparation of protein-based and biodegradable films (Vitor, 2021). In the Brazilian fish market, the most cultivated species in the country is the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), with its fillet being its main commercial product, where the skin constitutes 10% of the waste, which can be utilized as raw material for the production of biodegradable packaging (Vidotti *et al.*, 2011; Bernardino Filho & Xavier, 2019; Bacelar & Murtatori, 2020; Fonseca *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2021).

According to Bittencourt *et al.* (2021) and Jorge (2013), there is a growing trend toward the development of biodegradable packaging, which, in addition to serving as a means of packaging and barrier against physical and/or mechanical impacts, also has additional beneficial activities for the product and consumers.

Active packaging positively interacts with the food, helping to extend the shelf life and/or to achieve certain beneficial characteristics in the food (Fang *et al.*, 2017). On the other hand, intelligent indicator packaging detects real-time changes in food pH by incorporating plant extracts, which respond to variations in food pH throughout its storage (Ghaani *et al.*, 2016; Choi *et al.*, 2017; Pelicioli, 2019).

Among plant extracts, grape pomace stands out as the main agro-industrial residue from wine and grape juice production, composed of peels and seeds, containing various bioactive components of polyphenolic nature, including anthocyanins. Therefore, one of the possible uses of grape pomace is in the development of active and intelligent films through incorporation into the film matrix (Saurabh *et al.*, 2018; Sirohi *et al.*, 2020).

In light of this, this study aims to develop and characterize an active and intelligent packaging system with grape pomace extract (*Vitis vinifera L.*) and residues from tilapia filleting (*Oreochromis niloticus*).

2. METHODOLOGY

2.1. RESEARCH LOCATION

The preparation of purple grape extract, tilapia gelatin and packaging and the physical, chemical, and physicochemical analyses were carried out in the laboratories of the Academic Unit of Food Engineering at the Federal University of Campina Grande, Campina Grande campus – PB.

2.2. RAW MATERIAL

The pomace for the extract preparation was obtained from Isabel cultivar grapes (*Vitis labrusca*) acquired at the Fruit and Vegetable Distribution Center (CEASA) in the city of Campina Grande – PB. To separate the pomace from the pulp, a pulping process was carried out, according to the following steps: initially, the grapes underwent sanitization with 2% sodium hypochlorite for 20 minutes; After this step, to remove excess sanitizer, the grapes were washed under running water and then sent to the pulper (Bonina – NB 10), aiming to separate the pomace from the pulp. The tilapia skin used for gelatin extraction was obtained at the open-air market in Campina Grande – PB. The analytical grade glycerin was obtained

from the Food Engineering Laboratory, and the Chef Club® brand pectin was commercially sourced.

2.3. EXTRACTION OF PURPLE GRAPE POMACE EXTRACT

For the extraction, the methodology described by Selani et al. (2011) adapted by Palacios (2019) was used, where the residue (mixture of seeds, peels, and stems) was subjected to drying in a forced-air oven at 40°C for 24 hours and subsequently macerated. For the extraction of anthocyanins, a solution of 70% ethanol in a ratio of 1:5 (pomace/solvent) was used, under constant mechanical agitation at room temperature and protected from light for 48 hours. The extract was filtered using qualitative filter paper, and the filtrate was concentrated in a rotary evaporator at 50°C. Finally, the concentrate was diluted in distilled water to a final volume of 50 mL.

2.4. QUANTIFICATION OF ANTHOCYANIN CONTENT IN GRAPE POMACE EXTRACT

The anthocyanin content was quantified using the single pH spectrophotometric method, where absorbance was measured in a UV spectrophotometer, with readings taken at a wavelength of 535 nm. The total anthocyanin content was expressed in mg of anthocyanins/100g of the sample. The method involves the quantitative transfer of an aliquot (Valq) of the Concentrated Extract to a 10 mL volumetric flask, with the volume completed with 95% Ethanol – 1.5N HCl solution (85/15), thus forming the Diluted Extract (DE). The absorbance values (DO) were contrasted with the values of the blanks (95% Ethanol - 1.5N HCl solution (85:15)). The calculation of Total Anthocyanin content (AntT) per 100 grams of the evaluated fraction was carried out according to Equation 1:

$$\text{AntT (mg/100 g sample)} = \text{DO} * \text{VE1} * \text{VE2} * 1000 / \text{Valq} * m * 982 \quad (1)$$

Where DO: Optical density of the diluted extract

VE1: Total volume of the concentrated extract

VE2: Total volume of the diluted extract

Valq: Volume of the aliquot used in diluting the concentrated extract

m: Mass of the sample

2.5. COLORIMETRIC AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF GRAPE POMACE EXTRACT

The color was determined using a portable digital colorimeter, which measures the absorption of light by a sample at specific wavelengths. The colorimetric parameters L, a, and

b from the CIELAB scale, defined by the International Commission on Illumination (CIE), were obtained. The parameter L represents lightness (0 totally black and 100 totally white), a* defines the transition from green (-a*) to red (+a*) (green -120 and red +120), and b* represents the transition from blue (-b*) to yellow (+b*) (-120 blue and +120 yellow).

The pH was quantified using a digital pH meter, following the recommendations of method 977.20 described by AOAC (2012).

2.6. TOTAL PHENOLIC CONTENT

The total phenolic content was quantified by the Folin-Ciocalteu method according to Rossi and Singleton (1965), with modifications by Silva et al. (2006). The analysis was performed by spectrophotometric method, using the standard curve with gallic acid, and the results were expressed in terms of gallic acid equivalent (mg GAE/100g extract).

2.7. DETERMINATION OF THE TOTAL ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GRAPE POMACE EXTRACT BY FREE RADICAL SCAVENGING

The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay will be used to evaluate the in vitro antioxidant activity of the grape pomace extract. The extract (1 mL) was mixed with 20 mL of absolute ethanol and centrifuged at 3,000 rpm for 15 minutes. Then, the mixture was filtered, and an aliquot of the filtrate (30 μ L) was allowed to react with 3 mL of DPPH (0.06 mM). The mixture was kept at rest, in the dark, for 30 minutes. The reduction of DPPH was measured at 517nm using a spectrophotometer. The total antioxidant activity (TAA) was calculated using Equation 2:

$$\text{AAT \%} = (\text{abs control} - \text{abs sample} / \text{abs control}) * 100 \quad (2)$$

2.8. EVALUATION OF THE SENSITIVITY OF GRAPE EXTRACT IN DIFFERENT PH RANGES

The sensitivity of the extract was evaluated in pH ranges from 2.0 to 13.0, adding 7 drops of the optimized extract to 10 mL of different acidic and basic aqueous solutions, observing the color change at each pH. The color parameters were determined using the CIELAB scale digital colorimeter and the color change (ΔE) was calculated according to equation 3.

$$\Delta E = \sqrt{\left((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 \right)} \quad (3)$$

Where:

$$\Delta L^* = L^* - L_0^*$$

$$\Delta a^* = a^* - a_0^*$$

$$\Delta b^* = b^* - b_0^*$$

Where L_0^* , a_0^* , and b_0^* are the color parameters at pH 6, used as a reference, and L^* , a^* , and b^* are the color attributes of the films.

2.9. GELATIN EXTRACTION FROM TILAPIA SKIN

To extract the gelatin, the methodology proposed by Molinari (2014) was used, where the skins were thawed and washed again in running water to eliminate any residue. Thus, 250 g of raw material was immersed in a 0.3% hydrochloric acid (HCl) solution for 24h. After this period, the sample was washed to remove excess acid, then 400 mL of distilled water was added, correcting the pH to 6.0 with sodium hydroxide (NaOH), and then subjected to cooking at 60°C, for 6 hours. After cooking, solid residues were removed using a sieve and the supernatant was filtered and then cooled and stored at BOD (approximately 8°C) for gelation.

2.10. CROSSLINKING OF TILAPIA SKIN GELATIN

The gelatin was heated in a water bath at 45 °C until completely dissolved. Then, the sample was cross-linked with gallic acid at 0.02 mol L⁻¹ (Yan *et al.*, 2011), under constant stirring in a water bath (45 °C and 30 min), until complete homogenization. Afterward, it was kept under refrigeration until it gelled. The gelatin was then dried in an air circulation oven at 60°C for 24 hours. Finally, it will be crushed and stored in a desiccator until further use.

2.11. TILAPIA SKIN GELATIN GEL (*BLOOM*) STRENGTH

Bloom was determined using the methodology described by Bueno (2008). In this analysis, gelatin was freeze-dried and then used to prepare an aqueous solution with a concentration of 6.67% (w/w), kept at room temperature for 2 hours, and subsequently in a water bath at 60°C, for 1 hour. The sample was cooled to room temperature for 30 minutes and then distributed in the amount of 40 mL in plastic pots, which were covered with aluminum foil and stored at 10°C in a BOD oven for 18 hours. Finally, to determine the strength of the gel, a texture analyzer (SMS, Surrey, UK), model TA, was used. XT plus, with pre-test, test, and post-test speeds of 1.5 mm/s, 1.0 mm/s and 1.0 mm/s, respectively. Gel force was expressed as the maximum force (g) required to penetrate 4 mm from the surface.

2.12. FACTORIAL PLANNING

The process of obtaining the active and intelligent polymeric film was studied using a full factorial design and the response surface methodology (MSR). A complete factorial design was used, with six axial levels and three repetitions at the central point, totaling 17 tests. The independent variables were: gelatin (g), glycerin (g)/pectin (g) mixture, and grape pomace extract (mL).

Os níveis das variáveis independentes que foram estudadas, ou seja, gelatina (g), mistura de glicerina (g)/pectina (g) e extrato do bagaço de uva (mL), bem como a matriz do planejamento fatorial 2^3 completo, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. As respostas estudadas foram: cor, atividade antioxidante, opacidade, índice de intumescimento, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade.

Levels of the independent variables that were studied, gelatin (g), glycerin (g)/pectin (g) mixture, and grape pomace extract (mL), as well as the matrix of the 2^3 -complete factorial design, are presented in Tables 1 and 2. The answers studied were: color, antioxidant activity, opacity, swelling index, water vapor permeability and solubility.

Table 1. Levels of independent variables

| Levels | Gelatin (g) | Glycerin (g)/Pectin (g) | Extract (mL) |
|-----------------------------|-------------|-------------------------|--------------|
| -α | 1,80 | 0,80 | 0,00 |
| -1 | 2,87 | 1,86 | 6,36 |
| 0 | 4,43 | 3,40 | 15,68 |
| +1 | 6,00 | 4,95 | 25,00 |
| +α | 7,07 | 6,00 | 31,36 |

Table 2. $2^3 + 3$ factorial experimental design for the production of active and intelligent protein film

| Formulations | Coded Values | | | Real Values | | |
|--------------|--------------|-----------------|----------|-------------|-----------------|---------|
| | Gelatin | Glycerin/Pectin | Extract | Gelatin | Glycerin/Pectin | Extract |
| 1 | -1 | -1 | -1 | 2,87 | 1,86 | 6,36 |
| 2 | -1 | -1 | 1 | 2,87 | 1,86 | 25,00 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 2,87 | 4,95 | 6,36 |
| 4 | -1 | 1 | 1 | 2,87 | 4,95 | 25,00 |
| 5 | 1 | -1 | -1 | 6,00 | 1,86 | 6,36 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 6,00 | 1,86 | 25,00 |
| 7 | 1 | 1 | -1 | 6,00 | 4,95 | 6,36 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 6,00 | 4,95 | 25,00 |
| 9 | -1,68179 | 0 | 0 | 1,80 | 3,40 | 15,68 |
| 10 | 1,68179 | 0 | 0 | 7,07 | 3,40 | 15,68 |
| 11 | 0 | -1,68179 | 0 | 4,43 | 0,80 | 15,68 |
| 12 | 0 | 1,68179 | 0 | 4,43 | 6,00 | 15,68 |
| 13 | 0 | 0 | -1,68179 | 4,43 | 3,40 | 0,00 |

| | | | | | | |
|---------------|---|---|---------|------|------|-------|
| 14 | 0 | 0 | 1,68179 | 4,43 | 3,40 | 31,36 |
| 15 (C) | 0 | 0 | 0 | 4,43 | 3,40 | 15,68 |
| 16 (C) | 0 | 0 | 0 | 4,43 | 3,40 | 15,68 |
| 17 (C) | 0 | 0 | 0 | 4,43 | 3,40 | 15,68 |

The different concentrations were subjected to physical, hydrophilic, optical, color, and antioxidant activity analyses to choose the treatment that maintained the best characteristics of polymeric packaging.

2.13. ACTIVE AND INTELLIGENT FILM PREPARATION

The film-forming solution was prepared using gelatin, glycerin, which is the plasticizing agent, and grape pomace extract according to the methodology described by Clemente (2018) with changes, following the factorial design presented above. The gelatin was heated to 60°C on a hotplate with stirring at 640 rpm, and then the pectin + glycerin solution was added, homogenizing this solution for one hour, at a constant temperature. The solution was added with grape pomace extract, where it was homogenized for 30 minutes under stirring. To form the film, the “casting” method was used, spreading the film-forming solution on silicone plates (26 cm in diameter x 4 cm in height). Then, the solution was dried in a drying oven with air circulation, at a temperature of 35 °C, until the water was evaporated. After drying, the films were stored in desiccators at a temperature of 25°C for two days, until analysis was carried out.

2.14. DETERMINATION OF HYDROPHILIC, OPTICAL PROPERTIES, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE FILM

The films were characterized by analyzing color, opacity, swelling index, water vapor permeability, solubility, and antioxidant activity. All analyses were performed in triplicate to ensure greater data reliability.

Color

Colorimetry was evaluated following the methodology of Gennadios et al. (1996) using a digital colorimeter to read the parameters L* (brightness), a* (red/green intensity), and b* (yellow/blue intensity).

Opacity

To evaluate the opacity of the films, the methodology described by Almeida *et al.* (2013) is calculated based on the absorbance of the film at 600 nm divided by the film thickness. The ultraviolet-visible light transmission (UV-Vis) of the film was recorded using

the SP-220 spectrophotometer equipment (Biospectro) and the thickness was measured using a Mitutoyo brand digital micrometer.

Swelling index

The films were sampled in sizes of 4 cm² and kept in a desiccator with silica gel for 4 days. After this period, the samples were weighed and subjected to an immersion process in distilled water at time intervals of 1, 2, 3, 5, and 15 minutes. The calculation of the swelling index was carried out according to the methodology described by Wang *et al.* (2007).

Water vapor permeability (PVA)

The water vapor permeability of the films was determined according to the gravimetric method of ASTM E96/E96M-16 (ASTM, 2016) with adaptations of the Caetano methodology (2016). The films were affixed to circular glass capsules measuring 5 cm in diameter, with dry silica at 35% RH placed inside. Then, the capsules were inserted into desiccators containing a saturated NaCl solution, generating a relative humidity condition outside the capsule of 75% at 25°C. The samples were successively weighed for 7 days every 24 hours. Water vapor permeability was calculated according to Equation 4 where C_i is the angular coefficient of the straight line generated by the silica weight gain as a function of time; X is the thickness (mm) and A is the film area (m²); P_s is the water vapor saturation pressure at 25°C (22.2mmHg); UR_1 is the relative humidity in the desiccator and UR_2 is the relative humidity inside the capsule. The result was expressed in gH₂O.mm/m² .h.mmHg.

$$PVA = ((C_i/a) * X) / (P * (UR_1 - UR_2)) \quad (4)$$

Solubility

Water solubility values were obtained following the method described by Almeida *et al.* (2013), where the films were cut to 4 cm², and the samples were dried in a circulation oven at a temperature of 105°C for 24 hours, until constant weight. Then, the samples were immersed directly in 30 mL of distilled water at 25 °C for 24 hours, then collected and dried again at 105 °C for 24 hours until constant weight. The solubility of the films was calculated using Equation 5:

$$\text{Solubility (\%)} = [(P_i - P_f) / P_i] * 100 \quad (5)$$

Where: P_i and P_f represent the initial and final weights of the dry samples, respectively.

Determination of the total antioxidant activity of the film

The antioxidant activity of the film was determined following the same parameters and methodology as in item 2.7.

2.15. COLOR CHANGE (ΔE) OF FILMS

The color change (ΔE) of the indicator films immersed in different pHs was performed using the same method as in topic 2.8, where the ΔE was calculated in comparison with the film exposed to pH 6. This pH was used, as it represents the pH close to tilapia meat since the films will be applied as quality indicators for this raw material, through pH monitoring.

2.16. STATISTICAL ANALYSIS

The experiments were carried out with three replications and the data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) using Statistic 7.0 software and Tukey's test to compare means at a significance level of 5%.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. CHEMICAL AND PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF GRAPE POMACE EXTRACT

The data acquired from the analyses of pH, amount of anthocyanins, antioxidant potential, phenolic content, and color parameters of the grape pomace extract are expressed in Table 3.

Table 3. Chemical, physical-chemical characterization, and color parameters of grape pomace extract

| Sample | pH | Anthocyanins (mg/100 g) | Antioxidant | Phenolics | L | a* | b* |
|---------|--------|----------------------------|------------------|-------------------|---------|---------|--------|
| | | | potential (%) | (mg AGE/100 g) | | | |
| Extract | 3,27 ± | 21,91 ± 0,018 | 90,26 ± 2,13 | 2358,33 ± | 43,23 ± | 33,44 ± | 8,64 ± |
| | 0,08 | | | 37,01 | 1,17 | 0,38 | 0,26 |

Source: Author (2024)

The grape pomace extract showed an acidic pH (3.27 ± 0.08), a similar result (3.56) was obtained by Azevedo *et al.* (2009) when characterizing grape juice from the BRS Violeta cultivar. pH is an important parameter to evaluate, as it mainly influences the form in which anthocyanins are present in the fruit. The variations may arise from the different stages of grape maturation, as the more mature the fruit, the greater the concentration of soluble solids, while pH and acidity tend to decrease (Soares *et al.*, 2020).

The anthocyanin content obtained was 21.91 ± 0.018 mg.100g⁻¹, a value lower than that achieved by Soares *et al.* (2020), who extracted anthocyanins from grape pomace of the Isabel cultivar and obtained, for dilutions 1:1 and 1:2 (mass of grape pomace/mass of water), respectively, anthocyanin contents of 159.27 ± 2.73 mg.100g⁻¹ and 153.19 ± 4.36 mg.100g⁻¹.

However, the value found in the present work is among those found by Freire *et al.* (2020), extracts resulted in $37 \pm 2 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ for Isabel grape and $19.1 \pm 0.6 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ for Rubi grape (*Vitis vinifera*).

According to Cáceres-Mella *et al.* (2020), the amount of anthocyanins present in grapes and, therefore, in the pomace, varies depending on the species, cultivar, maturity, climatic conditions, extraction methodology, among other factors. They play a key role in protecting against oxidative damage. Furthermore, they have potential benefits for human health due to their antioxidant and anti-inflammatory properties (Grosso *et al.*, 2017).

The phenolic content found was $2358.33 \pm 37.01 \text{ mg AGE}/100 \text{ g}$, similar values were demonstrated in the work of Deolindo *et al.* (2017), who obtained values ranging from $2263 \pm 61 \text{ mg AGE}/100 \text{ g}$ to $2403 \pm 151 \text{ mg AGE}/100 \text{ g}$ in Bordeaux grape shell/seed, which is also from the cultivar *Vitis labrusca*. These values vary significantly depending on the amount of peels and seeds, given that the greater the amount of peels and the smaller the amount of seeds, the higher the phenolic content.

The value of antioxidant activity (AAT%) achieved by the DPPH free radical method in the ratio 1:10 (extract/ethanol) was $90.26 \pm 2.13\%$, close values ($87.65 \pm 0.08\%$ to $98.50 \pm 0.58\%$) were found by Sridhar and Charles (2019) when studying antioxidant activities of grape shell, seed, and pulp extracts. According to Franco *et al.* (2018), many factors can significantly influence the final antioxidant capacity, such as raw material composition, processing conditions, and extraction conditions.

The data acquired from the analysis of the color of the grape pomace extract are expressed in Table 3. For parameter L, the grape pomace extract presented a result (43.23 ± 1.17) closer to 0 than 100, characterizing the sample as dark. In relation to coordinate a^* , the extract presented a positive number (33.44 ± 0.38), confirming its reddish color, the parameter b^* also demonstrated a positive result (8.64 ± 0.26), confirming that the extract is closer to the color yellow than blue on a visual scale. Different results were found by Linhares (2020), who, developing dye with waste from red wine and whole grape juice, found the following values for red wine and grape juice, respectively: L equal to 10.25 and 10.7, a^* equal to 7.85 and 10.55 and b^* equal to 14.25 and 15.85. Despite the difference between the values of the parameters L, a^* , and b^* , both studies obtained the same factors: dark sample, reddish color, and color closer to yellow.

The evaluation of color sensitivity at different pHs carried out on grape pomace extract (Table 4) found that there were statistical differences at 1% significance for all parameters analyzed according to pH. For the L parameter (brightness), there were sudden

changes to the detriment of the pH change from pH 11, in which this parameter decreased by around 8 units about pH 6 (real values), which obtained the highest value of L, which indicates that there was some change in the color of the extract at pHs 11, 12 and 13. The highest values for the parameter a* (red (+)/green (-) color) were at pH 2 and 13, while the lowest were at pH 10 and 11, indicating a decrease in the intensity of the red color; since in alkaline pH anthocyanins degrade, turning yellow, that is, increasing the b* value. In relation to the b* parameter (yellow (+)/blue (-) color), there were changes in the extract values, where for pH 2 it was 0.55 and at pH 13 it reached 4.19; From pH 11 onwards, a significant increase in this parameter could be observed, indicating that there was a change in the color of the extract from this pH onwards.

Table 4. Evaluation of the sensitivity of grape pomace extract at different pHs, according to color parameters

| EXTRACT | | | | | | | | | | | | |
|---------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|
| P H | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 38,03 _d | 38,55 ^c _d | 40,5 ^{ab} _c | 40,52 ^a _{bc} | 42,24 _a | 38,57 ^c _d | 38,38 _d | 39,86 ^b _{cd} | 40,97 ^a _b | 34,34 _e | 34,77 _e | 34,91 _e |
| a* | 5,78 ^a | 4,51 ^b | 3,75 ^c | 3,69 ^c | 3,44 ^c _d | 4,8 ^b | 2,97 ^d | 2,34 ^e | 1,74 ^f | 1,81 ^f | 4,48 ^b | 5,52 ^a |
| b* | 0,55 ^d _e | 0,39 ^{de} | 0,36 ^{de} | 0,23 ^{de} | 0,71 ^d | 0,48 ^{de} | 0,14 ^e | 0,42 ^{de} | 1,84 ^c | 3,33 ^b | 3,74 ^a _b | 4,19 ^a |
| Δ E | 4,82 ^b | 3,85 ^{bc} | 1,80 ^{de} | 1,81 ^{de} | 0 ^e | 3,92 ^{bc} | 3,93 ^b _c | 2,634 ^c _d | 2,41 ^{cd} | 8,57 ^a | 7,98 ^a | 8,37 ^a |

Different lowercase letters on the same line indicate statistically significant differences between different pHs using the Tukey test ($p < 0.01$).

Source: Author (2024)

According to the ΔE (color change) parameter, when the value is greater than 5 it indicates that it can be easily visualized by the human eye, while values above 12 imply an absolute difference in color, notable even for untrained panels. (Tassanawat et al., 2007; Li; Yu; Wang, 2009; Alves et al., 2017). Table 4 provides the color change values (ΔE), where it is observed that at pHs 11, 12, and 13 this parameter had a value greater than 5, indicating the color change to the naked eye. Corroborating this statement, in Figure 1, a color change visible to the naked eye can be observed from pH 11.0 for the grape pomace extract.

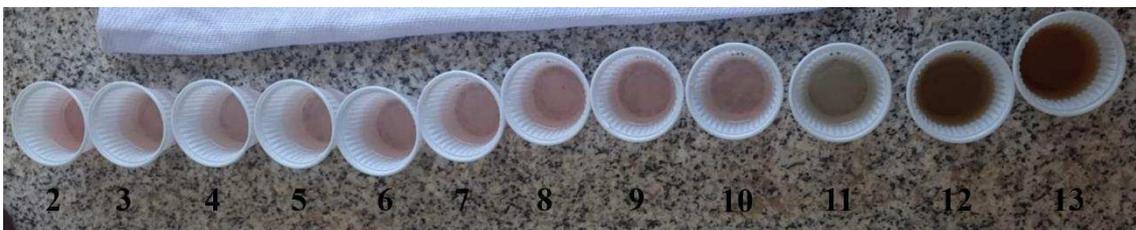


Figure 1. Visualization with the naked eye of the sensitivity of grape pomace extract at different pHs
Source: Author (2024)

Grajeda-Iglesias *et al.* (2017) explain that these changes can be related to the transformation of the chemical structure of anthocyanins, where at pH 2.0–3.0 they are present mainly in the form of yellow saline ions, the solution tends towards red, and at pH 4.0–6.0 their structures gradually transform into quinoids, then the red color decreases; at pH 7.0–9.0 their structures transform into a colorless pseudo-base and the color gradually turns to blue; when the pH value is higher than 9.0, anthocyanins degrade in the strongly alkaline environment and the color changes to greenish yellow. This trend was observed in the present work, where from pH 11 (highly alkaline) there was a change in color to greenish yellow.

3.2. TILAPIA SKIN GELATIN GEL (BLOOM) STRENGTH

Bloom is one of the most important functional properties of gelatin and is directly linked to its resistance to degradation. Generally, the higher the gel strength values, the better the quality of the gelatin. The gelatin obtained in this work from tilapia skin had a gel strength of 33.24 ± 0.97 g. According to Bordignon (2010), gelatins are classified according to gel strength as low, medium, or high *Bloom*. Low *Bloom* gelatins are in the range of 0 – 100 g, medium between 100 – 200 g, and high between 200 – 300 g, or above. In this way, it appears that the *Bloom* of tilapia skin can be classified as low, a similar result was found by Bordignon *et al.* (2019), which produced gelatin from tilapia skin preserved by the freezing method. The authors obtained a value of 12.70 g; while the gelatin from tilapia skin preserved by the sage method obtained a *bloom* of 200.10 g. Close values were obtained by Bueno *et al.* (2011), who, when producing fish gelatin, obtained 202.8 ± 3.7 g of gel strength, indicating that the method of preserving the skins directly influences its functional properties.

According to Fernández-Díaz *et al.* (2003) and Liu *et al.* (2008), the skin preservation method affects the gel strength of fish gelatin, possibly due to the degradation of the gelatin's alpha chains, since it is composed of alpha chains, beta components (dimers of alpha chains), polymers of high molecular weight including gamma components (alpha chain trimmers) and some fragments of lower molecular weight. Furthermore, Shi *et al.* (2022), highlight that gelatins with a greater quantity of alpha chains have greater gel strength. It is noted that freezing tilapia skin degraded the alpha chains, resulting in a reduction in gel strength.

3.3. DETERMINATION OF PHYSICAL, HYDROPHILIC, OPTICAL CHARACTERISTICS, COLOR, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POLYMERIC PACKAGING

In Figure 2, the Pareto charts are displayed for each color analysis parameter with a 95% confidence level for estimating the effects.

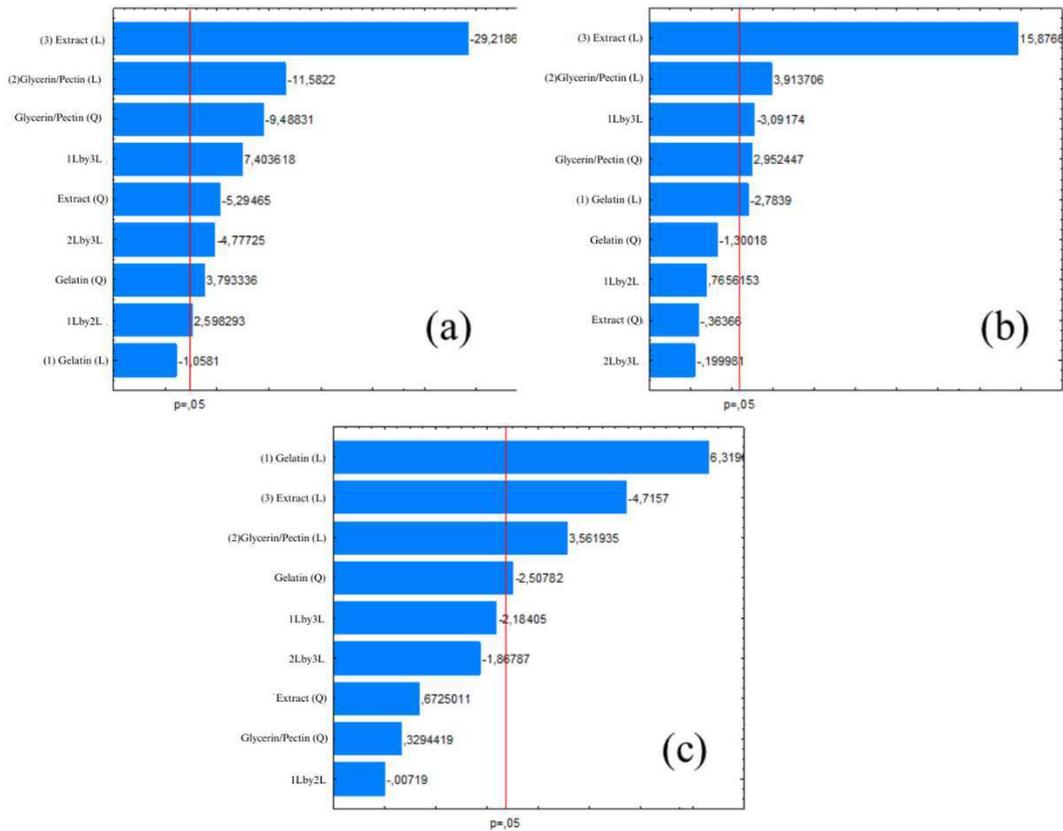


Figure 2. Pareto charts for color parameters: L, a* and b*

Source: Author (2024)

Analyzing the Pareto charts for the color aspect, in the parameter L (Figure 2a), referring to luminosity, it is noted that the concentrations of gelatin, glycerin/pectin, and extract had a negative influence on the luminosity value, since, once there is The more solid they are, the greater the difficulty for light to pass through and, consequently, the darker the sample.

Regarding the parameter a* (Figure 2b), it was evident that the factor that most influenced was the concentration of extract, since the greater the amount of extract added to the film, the more intense the magenta color and the more positive the value of a*, meaning that the sample is closer to red. The glycerin/pectin mixture also impacted the a* value, but in a lower amount than the extract.

Unlike parameter a^* , in parameter b^* (Figure 2c), it is observed that the extract contributed negatively, while gelatin and the glycerin/pectin mixture contributed positively, that is, the higher the concentration of these factors, the greater and more positive will be the value of b^* , meaning that the sample will tend to be yellow.

Similar aspects were found in the work of Meneghetti *et al.* (2021) when studying the incorporation of grape residue into biodegradable films, they found that increasing the concentration of grape pomace extract caused a statistically significant increase ($p < 0.05$) in the a^* values (from 8.24 ± 0.82 to 16.56 ± 1.25) and decrease in b^* values (from -9.29 ± 0.38 to -13.01 ± 1.47). Furthermore, this color difference is directly related to the incorporation of anthocyanins present in the grape pomace extract into the films, that is, the higher the a^* value, the more anthocyanins the polymeric packaging has.

Figure 3 shows the Pareto charts of the values obtained in the opacity, antioxidant potential, and solubility analyses, respectively.

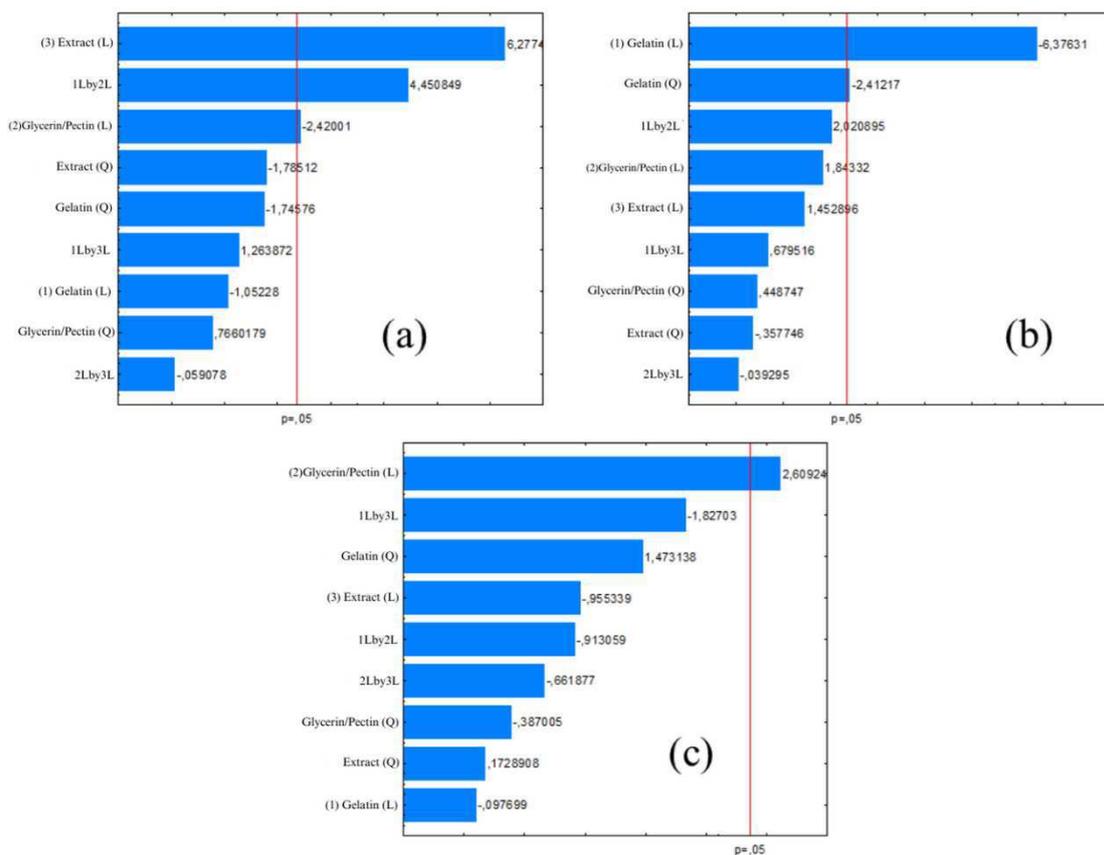


Figure 3. Pareto Charts for Opacity, Total Antioxidant Activity and Solubility parameters
Source: Author (2024)

About opacity (Figure 3a), it was evident from the Pareto chart that the extract was the factor that most positively influenced this aspect of the films since the greater

the value of extract added, the greater the opacity, which is a physical property referring to the ability of a material to block the passage of light, this characteristic must be taken into account since the transparency of films is an important aspect for consumer acceptance. The values obtained for this parameter ranged from $0.65 \pm 0.04\%$ to $1.70 \pm 0.13\%$ (Appendix A). Another study reported the opacity of protein films from tilapia waste with the incorporation of essential oils, nano clay, and gelatin ranging from $16.97 \pm 0.63\%$ and $33.31 \pm 4.19\%$ (Scudeler, 2019). These values are higher than those found in this study. However, they are close to what was found in the films by Silva and Rios (2015), which obtained values ranging from $0.65 \pm 0.01\%$ to $1.92 \pm 0.16\%$ when developing biofilms from grape pomace.

From Figure 3 item (b), it can be stated that gelatin was the agent that most negatively influenced the antioxidant potential of the packaging, since the greater the amount of gelatin present in the films, the lower their antioxidant capacity. In the present work, results were obtained that varied from $10.44 \pm 1.71\%$ to $94.42 \pm 0.21\%$ (Appendix A), since formulations with greater amounts of extract, which, as already mentioned, has a high antioxidant percentage, presented a higher result compared to others that had less amount of extract.

The values obtained for the solubility parameter (Figure 3c) ranged from $32.65 \pm 0.27\%$ to $39.59 \pm 1.2\%$ (Appendix A), similar results were found by Pawlak (2023) when studying smart packaging produced with plant extracts, where obtained $32.15 \pm 2.02\%$ (sample without extract) and $38.64 \pm 3.26\%$ (sample with extract). However, unlike the aforementioned work, which found that the extract influenced solubility, in the present work, when analyzing the Pareto chart (Figure 3c), it was found that the glycerin/pectin mixture had a significant influence, given that the greater the amount of this mixture in the films, the greater its ability to be dissolved in a solvent.

Figures 4 and 5 show the scatter plots of the multiple variables, considering time (h).

The results of the water vapor permeability analysis (PVA) are expressed in the graph in Figure 4. It is observed that, initially, the tests with the highest PVA values were E8 and E12. And the one with the lowest and most constant values over the days was E11. Analyzing all the components of these formulations (Table 2), it can be stated that the high concentration of glycerin/pectin and gelatin used in the film formulations were the preponderant factors for the increase in PVA since they are substances with high affinity for water.

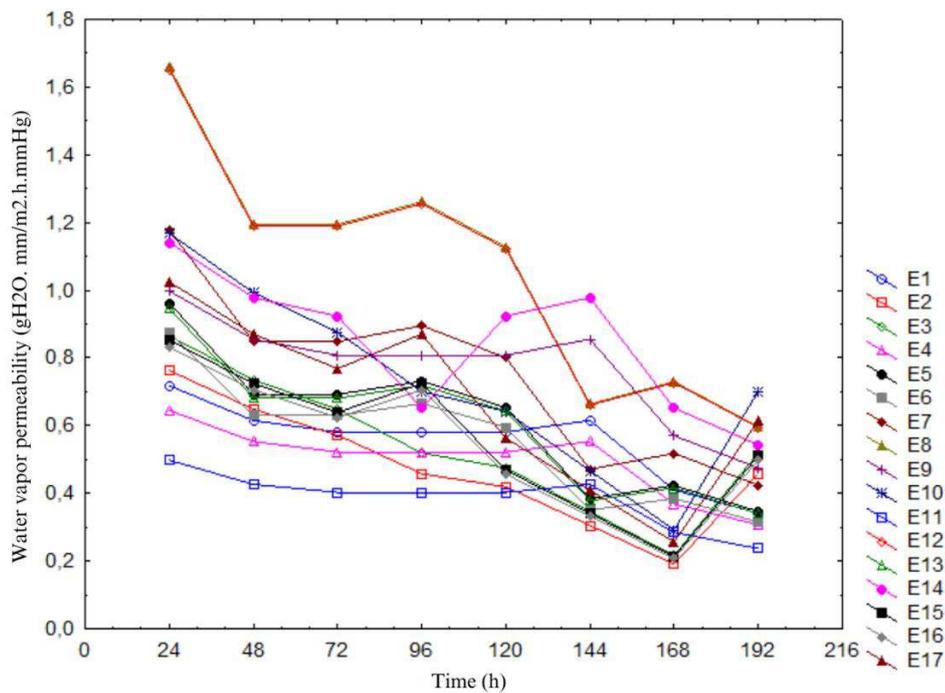


Figure 4. Scatterplots of the multiple variables of the water vapor permeability (PVA) analysis in relation to time (h)

Source: Author (2024)

Similar results were found by Silva (2017) in his work on biodegradable packaging obtained from fish, where he found an increase in permeability to water vapor with increasing values of fish gelatin and plasticizer (glycerol). Furthermore, he stated that the protein macromolecules present in gelatin form hydrophilic groups, while glycerol is a hygroscopic plasticizer, which absorbs moisture from the air and increases the free volume of the molecules, which provides greater permeability to water vapor. Pectin, in turn, is a natural water-soluble gelling agent and thickener. Due to the interaction of these substances that have an affinity with water, permeability to water vapor tends to be high. At the end of 8 days (192 hours), it was noted that E10 presented a higher PVA, where according to Table 2, it was the sample with the highest amount of gelatin in its formulation, meaning that this component was the one that most influenced the increase in gelatin. PVA over time.

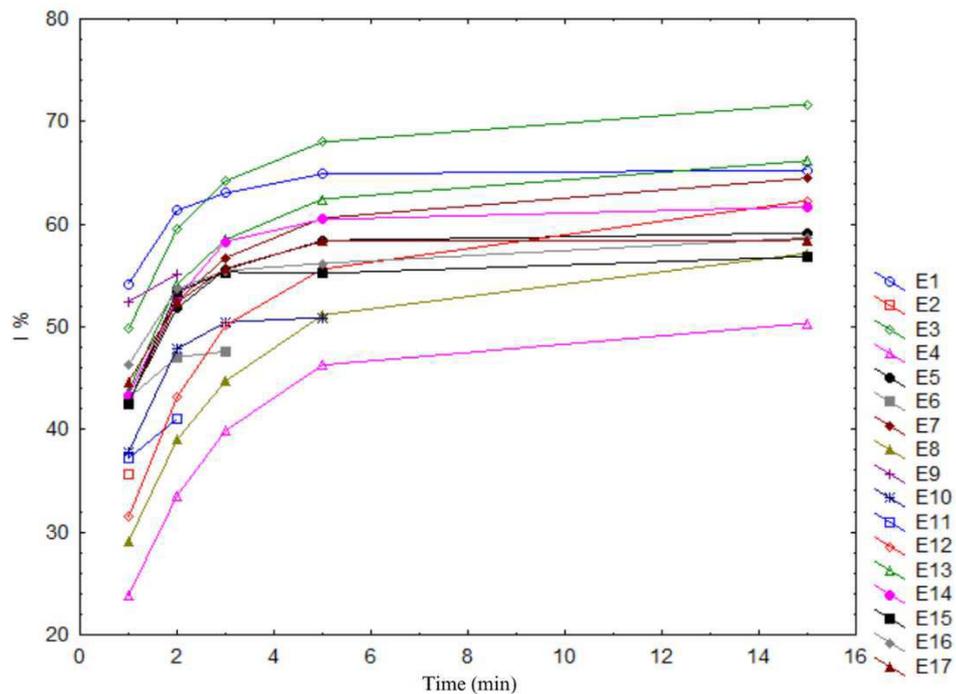


Figure 5. Scatterplots of the multiple variables of the Swelling Index in relation to time (min)
Source: Author (2024)

The swelling index is used to measure the degree of water absorption in the film. It is clear from the graph in Figure 5 that the test with the lowest percentage of swelling was E4, and the one with the highest percentage was E3 since the only difference in the formulations of these tests is the amount of extract, greater in E4. It can be said that this component was what most influenced the increase in the swelling index in the films. Silva *et al.* (2019), when studying biofilms made with fish protein and clove oil, observed that, without taking into account the control sample, the formulation that presented a lower and, in turn, the better swelling value was 4, which had a higher percentage of essential oil (2%). Therefore, it is possible to state that the fibers present in the grape pomace extract, as well as in the essential clove oil, were fundamental in providing stability/resistance to the films.

3.4. COLOR CHANGE (ΔE) OF FILMS

Table 5 shows the data obtained in the analysis of the sensitivity of polymeric films added with grape extract, according to the factorial design presented in item 2.12, at different pHs, based on the color parameters L, a^* , and b^* .

As previously mentioned in item 3.1, the color change (ΔE) will be visible to the naked eye when the value is greater than 5, while above 12 it is noticeable even for untrained panels. Thus, it is clear that packaging E2, E9, E12, E15, and E16 did not obtain ΔE above 5, indicating no color change, while the other films obtained ΔE values greater than 5 in at least

one pH, which would indicate a change in the color of the packaging to the naked eye, which did not occur.

Table 5. Evaluation of the sensitivity of polymeric films added with grape extract, according to the factorial design, at different pHs, based on the color parameters

| E1 | | | | | | | | | | | | |
|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 69,66 | 59,57 | 67,78 | 55,07 | 65,18 | 58,14 | 67,02 | 65,2 | 64,89 | 65,13 | 65,79 | 65,87 |
| a* | 6,82 | 7,06 | 5,75 | 8,89 | 6,08 | 7,8 | 7,83 | 8,39 | 8,28 | 7,27 | 7,54 | 7,06 |
| b* | 8,59 | 10,29 | 9,76 | 10,42 | 9,36 | 11,31 | 10,2 | 10,42 | 10,41 | 10,34 | 10,54 | 10,73 |
| ΔE | 4,61 | 5,77 | 2,65 | 10,55 | 0 | 7,51 | 2,67 | 2,54 | 2,46 | 1,54 | 1,97 | 1,82 |
| E2 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 52,28 | 50,9 | 54,82 | 52,13 | 50,51 | 53,25 | 51,87 | 52,24 | 52,37 | 51,22 | 52,77 | 53,3 |
| a* | 15,24 | 16,41 | 17,54 | 18,03 | 16,02 | 17,66 | 17,21 | 15,89 | 14,33 | 16,4 | 16,48 | 17,12 |
| b* | 7,36 | 7,99 | 8,02 | 7,84 | 8,18 | 8,34 | 7,81 | 7,69 | 8,01 | 7,67 | 8,1 | 8,61 |
| ΔE | 2,1 | 0,58 | 4,57 | 2,59 | 0 | 3,19 | 1,85 | 1,8 | 2,51 | 0,95 | 2,31 | 3,03 |
| E3 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 65,48 | 63,11 | 58,9 | 62,59 | 64,83 | 63,08 | 63,3 | 62,23 | 62,84 | 59,7 | 60,86 | 55,49 |
| a* | 9,32 | 10,13 | 9,55 | 8,37 | 9,99 | 10,65 | 10,14 | 10,05 | 10,05 | 9,85 | 10,06 | 7,27 |
| b* | 15,62 | 16,12 | 15,3 | 15,01 | 16,62 | 16,9 | 16,59 | 16,51 | 16,47 | 15,53 | 15,91 | 15,15 |
| ΔE | 1,36 | 1,79 | 6,09 | 3,2 | 0 | 1,9 | 1,53 | 2,6 | 1,99 | 5,25 | 4,04 | 9,83 |
| E4 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 42,34 | 39,49 | 39,1 | 42,38 | 38,36 | 42,76 | 43,26 | 45,47 | 41,54 | 40,73 | 41,73 | 38,51 |
| a* | 18,86 | 19,91 | 18,85 | 18,27 | 18,22 | 19,6 | 18,17 | 20,45 | 20,01 | 17,49 | 19,6 | 12,55 |
| b* | 7,2 | 8,19 | 7,33 | 8,5 | 6,75 | 8,86 | 7,84 | 9,42 | 8,5 | 6,63 | 9,01 | 9,02 |
| ΔE | 4,06 | 2,49 | 1,14 | 4,38 | 0 | 5,08 | 5,02 | 7,92 | 4,05 | 2,48 | 4,29 | 6,11 |
| E5 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 62,58 | 63,32 | 63,17 | 61,33 | 61,12 | 61,23 | 60,04 | 60,84 | 62,41 | 60,68 | 57,17 | 55,2 |
| a* | 7,42 | 7,19 | 7,31 | 7,15 | 6,43 | 5,14 | 6,44 | 6,47 | 5,77 | 7,44 | 6,02 | 5,93 |
| b* | 16 | 15,95 | 16,11 | 16,32 | 15,2 | 12,59 | 14,98 | 15,36 | 13,95 | 16,57 | 14,32 | 16,69 |
| ΔE | 1,93 | 2,44 | 2,4 | 1,34 | 0 | 2,92 | 1,1 | 0,32 | 1,92 | 1,76 | 4,07 | 6,13 |
| E6 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 57,03 | 49,6 | 50,38 | 49,48 | 48,03 | 52,58 | 47,97 | 51,75 | 50,3 | 48,56 | 40,99 | 53,51 |
| a* | 11,53 | 10,73 | 9,25 | 8,93 | 10,25 | 7,88 | 9,53 | 8,73 | 7,27 | 8,68 | 8,37 | 11,15 |
| b* | 10,63 | 9,39 | 7,95 | 8,09 | 9,03 | 7,88 | 8,65 | 8,02 | 6,51 | 8,3 | 9,53 | 12,02 |
| ΔE | 9,23 | 1,68 | 2,78 | 2,18 | 0 | 5,26 | 0,82 | 4,14 | 4,52 | 1,81 | 7,3 | 6,3 |

| E7 | | | | | | | | | | | | |
|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 57,67 | 54,48 | 53,91 | 55,43 | 53,21 | 62,24 | 50,9 | 52,29 | 53,64 | 52,19 | 53,27 | 42,94 |
| a* | 9,14 | 8,65 | 6,15 | 6,41 | 8,34 | 5,46 | 6,85 | 7,11 | 7,79 | 7,95 | 8,24 | 5,93 |
| b* | 21,72 | 19,06 | 15,61 | 16,11 | 18,43 | 14,35 | 15,8 | 16,61 | 17,53 | 17,41 | 19,58 | 16,99 |
| ΔE | 5,6 | 1,46 | 3,64 | 3,74 | 0 | 10,32 | 3,8 | 2,38 | 1,14 | 1,5 | 1,16 | 10,64 |
| E8 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 55,76 | 40,83 | 40,52 | 39,9 | 44,75 | 45,94 | 39,26 | 39,07 | 42,31 | 42,36 | 41,71 | 40,27 |
| a* | 12,32 | 16,2 | 14,17 | 15,46 | 12,36 | 11,48 | 13,01 | 14,08 | 15,13 | 12,22 | 11,35 | 14,89 |
| b* | 11,25 | 11,23 | 10,16 | 10,93 | 10,36 | 10,51 | 9,51 | 10,26 | 11,89 | 10,63 | 10,76 | 12,11 |
| ΔE | 11,05 | 5,55 | 4,6 | 5,78 | 0 | 1,48 | 5,59 | 5,94 | 3,99 | 2,41 | 3,23 | 5,43 |
| E9 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 63,17 | 62,46 | 60,56 | 60,91 | 59,33 | 61,51 | 63,12 | 59,78 | 60,27 | 61,9 | 60,65 | 62,7 |
| a* | 10,75 | 10,3 | 12 | 10,25 | 10,76 | 11,28 | 11,14 | 12,13 | 12,24 | 11,05 | 11,19 | 9,58 |
| b* | 8,25 | 8,41 | 8,77 | 8,25 | 8,39 | 8,06 | 8,38 | 8,85 | 8,53 | 8,76 | 9,08 | 10,33 |
| ΔE | 3,85 | 3,17 | 1,79 | 1,67 | 0 | 2,27 | 3,82 | 1,52 | 1,76 | 2,62 | 1,56 | 4,07 |
| E10 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 61,38 | 55,52 | 56,41 | 54,72 | 57,66 | 53,32 | 57,61 | 53,62 | 55,82 | 55,32 | 56,5 | 51,03 |
| a* | 10,68 | 13,36 | 14,03 | 12,39 | 12,54 | 12,51 | 11,44 | 12,82 | 12,42 | 12,56 | 12,09 | 9,36 |
| b* | 14,41 | 15,43 | 15,3 | 14,33 | 15,78 | 15,34 | 14,11 | 14,99 | 14,9 | 15,06 | 15,17 | 14,36 |
| ΔE | 4,37 | 2,32 | 2,01 | 3,28 | 0 | 4,36 | 2 | 4,13 | 2,05 | 2,45 | 1,39 | 7,49 |
| E11 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 57,3 | 53,98 | 54,7 | 52,44 | 55,05 | 54,3 | 61,01 | 57,26 | 56,36 | 56,22 | 52,42 | 52,7 |
| a* | 11,14 | 11,73 | 11,63 | 11,87 | 10,43 | 12,3 | 10,84 | 11,55 | 11,89 | 11,52 | 12,39 | 11,31 |
| b* | 9,66 | 9,7 | 9,39 | 9,02 | 9,47 | 9,77 | 9,12 | 9,27 | 9,56 | 9,59 | 9,62 | 10,99 |
| ΔE | 2,37 | 1,69 | 1,25 | 3,01 | 0 | 2,03 | 5,99 | 2,49 | 1,96 | 1,6 | 3,28 | 2,93 |
| E12 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 45,69 | 43,35 | 42,13 | 41,68 | 45,2 | 46,53 | 44,7 | 41,91 | 43,69 | 45,12 | 45 | 40,66 |
| a* | 15,38 | 15,91 | 12,07 | 12,71 | 11,99 | 11,65 | 12,21 | 13,34 | 14,17 | 14,51 | 11,9 | 12,74 |
| b* | 13,89 | 13,12 | 10,03 | 10,87 | 11,4 | 11,94 | 12,3 | 11,83 | 12,42 | 11,48 | 12,5 | 12 |
| ΔE | 4,24 | 4,66 | 3,36 | 3,63 | 0 | 1,47 | 1,05 | 3,58 | 2,84 | 2,53 | 1,12 | 4,64 |
| E13 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 66,2 | 61,33 | 63,3 | 62,1 | 64,27 | 70,19 | 66,11 | 62,44 | 62,6 | 59,64 | 63,93 | 52,42 |
| a* | 3,88 | 2,57 | 2,27 | 2,76 | 2,14 | 1,33 | 2,15 | 2,01 | 2,41 | 2,43 | 1,97 | 3,03 |

| | | | | | | | | | | | | |
|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| b* | 15,95 | 14,03 | 12,65 | 13,4 | 10,98 | 5,64 | 10,03 | 11,77 | 12,9 | 11,64 | 11,27 | 15,73 |
| ΔE | 5,6 | 4,26 | 1,94 | 3,31 | 0 | 8,01 | 2,06 | 2 | 2,55 | 4,69 | 0,48 | 12,8 |
| E14 | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 43,02 | 48,52 | 43,94 | 42,72 | 44,28 | 53,95 | 47,9 | 44,64 | 51,21 | 42,97 | 46,4 | 45,94 |
| a* | 18,41 | 21,29 | 18,64 | 17,51 | 19,51 | 14,74 | 18,22 | 18,09 | 13,73 | 19,15 | 18,11 | 15,1 |
| b* | 8,72 | 9,37 | 7,79 | 8,85 | 8,19 | 8,82 | 8,83 | 10,95 | 8,29 | 8,96 | 8,73 | 8,53 |
| ΔE | 1,75 | 4,75 | 1,01 | 2,61 | 0 | 10,81 | 3,9 | 3,13 | 9,03 | 1,56 | 2,6 | 4,72 |
| E15 © | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 58,2 | 57,58 | 57,23 | 57,11 | 61,65 | 57,35 | 56,79 | 59,49 | 57,9 | 58,69 | 55,24 | 59,28 |
| a* | 13,56 | 14,46 | 15,38 | 14,53 | 14,1 | 15,02 | 14,97 | 14,25 | 15,45 | 14,17 | 13,84 | 13,03 |
| b* | 14,25 | 14,36 | 15,99 | 14,54 | 14,98 | 14,67 | 14,53 | 14,48 | 14,98 | 14,34 | 13,21 | 14,26 |
| ΔE | 3,57 | 4,13 | 4,71 | 4,58 | 0 | 4,41 | 4,96 | 2,22 | 3,99 | 3,03 | 6,65 | 2,7 |
| E16 © | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 57,85 | 57,53 | 58,25 | 57,24 | 62,15 | 57,87 | 57,28 | 58,07 | 58,13 | 57,95 | 57,87 | 58,84 |
| a* | 14,03 | 14,6 | 15,08 | 14,09 | 14,24 | 13,95 | 14,85 | 14,53 | 15,99 | 14,42 | 14,54 | 13,03 |
| b* | 14,45 | 14,6 | 15,21 | 14,39 | 14,91 | 14,8 | 14,99 | 14,44 | 15,48 | 14,51 | 14,9 | 14,19 |
| ΔE | 4,33 | 4,64 | 4 | 4,94 | 0 | 4,29 | 4,91 | 4,12 | 4,42 | 4,22 | 4,29 | 3,6 |
| E17 © | | | | | | | | | | | | |
| pH | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| L | 57,83 | 58,12 | 57,44 | 57,4 | 63,5 | 57,58 | 55,74 | 57,77 | 59,22 | 56,84 | 56,04 | 57,37 |
| a* | 13,87 | 14,56 | 14,76 | 14,95 | 15,02 | 14,48 | 14,94 | 14,59 | 15,62 | 14,67 | 14,16 | 12,58 |
| b* | 14,36 | 14,53 | 14,48 | 14,85 | 15,83 | 14,43 | 14,36 | 14,35 | 15,21 | 14,25 | 13,81 | 13,95 |
| ΔE | 5,97 | 5,55 | 6,21 | 6,18 | 0 | 6,11 | 7,9 | 5,93 | 4,37 | 6,85 | 7,78 | 6,86 |

Source: Author (2024)

By visibly observing all the packages during the sensitivity analysis at different pH's, it was evident that there was no change in color to the naked eye, pointing out that although the purple grape pomace extract responded explicitly to the analysis, the same did not occur with the polymeric films. This indicates that the polymeric matrix that originates the packaging, upon contact with the colorimetric extract, reorganized itself molecularly, interfering with the natural sensitivity that the extract possessed, making it insensitive to changes in pH and making it impossible to use these films as smart packaging.

Different results were found by Nakatsukasa (2021) in his study on the production and characterization of smart films from pomace from grape juice production, where when testing the sensitivity at different pH's of packaging based on cassava starch added with extract grape

pomace aqueous solution, found that there was a change in color both to the naked eye and taking into account the ΔE parameter in all pH's analyzed.

Corroborating these results, Chi *et al.* (2020), in their work on the development of a smart film based on k-carrageenan incorporated with grape skin powder, also observed the color change of the packaging at different pH's, where both changed from pink to purple, in solutions with pH from 2 to 5, ending in blue-green color when the pH reaches 7.

4. CONCLUSION

Regarding the characterization of the purple grape pomace extract, the most important parameters for its possible use as an intelligent and active agent were: the amount of anthocyanins, phenolic compounds, and antioxidant activity. Thus, the extract had a low anthocyanin content when compared to other studies, however, it obtained excellent values for phenolic compounds and antioxidant activity, confirming its potential use for the purposes of this work.

The analyses that have the most influence in characterizing the film as active and intelligent are: antioxidant potential, since the greater this capacity, the better the neutralization of free radicals, preventing oxidation, an undesirable process in food; and the parameter a^* in the color analysis, since the higher the value of this aspect, the greater the amount of anthocyanins present (characteristic red pigment) in the polymeric packaging, thus resulting in an indicator of changes according to the pH of the food, as they are photosensitive pigments. The tests that obtained the best/highest values in the antioxidant potential and the a^* parameter were E2 and E14, which also presented good results in the analysis of PVA and swelling index.

The grape pomace extract obtained a satisfactory result when applied to the sensitivity test at different pHs, where the color of the extract changed from pH 11 onwards. However, about the polymeric packaging added with the extract, there were no color changes visible to the naked eye, despite numerically indicating color changes, in none of the formulations developed in this work, indicating rearrangements at the molecular level that made it impossible to transform beyond the acidic to alkaline medium. Thus, the polymeric film produced with tilapia skin gelatin and added with grape pomace extract has the potential to be applied as active packaging, but there is no evidence of good results when applied as smart packaging.

Authors' Contribution

The manuscript was written through contributions of all authors. Sinthya Morais: Formal analysis, Writing - original draft. Deyzi Gouveia: Conceptualization, Writing - review & editing. Kassandra Felipe: Formal analysis, Data curation. Elizabeth Oliveira: Writing - review & editing. Thaisa Gusmão: Project administration, Supervision. Victor Ribeiro: Writing - Review & Editing, Supervision. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

CRedit authorship contribution statement

Sinthya Morais: Formal analysis, Writing - original draft. Deyzi Gouveia: Conceptualization, Writing - review & editing. Kassandra Felipe: Formal analysis, Data curation. Elizabeth Oliveira: Writing - review & editing. Thaisa Gusmão: Project administration, Supervision. Victor Ribeiro: Writing - Review & Editing, Supervision.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no competing financial interest.

Data Availability

Data will be made available on request.

REFERENCES

- Akatsukasa, Jun (2021). *Produção e caracterização de filmes inteligentes a partir do bagaço da produção do suco de uva*. 43 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Alfaro, A.T (2008). *Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*)*. 130 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- Almeida, D. A., Woiciechowski, A. L., Wosiacki, G., Prestes, R. A., & Pinheiro, L. A (2013). Propriedades físicas, químicas e de barreira em filme formados por blenda de celulose bacteriana e fécula de batata. *Polímeros, Ciência e Tecnologia*, 23(4), 538-546.
- Alves, R. do N. *et al.* (2018). Desenvolvimento e caracterização de filme biodegradável inteligente à base de amido de banana verde e extrato de Brassica oleraceae (repolho roxo). *Hig. aliment*, 117-122.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (2012). *Official methods of analysis of AOAC International (19th ed.)*. Washington, D.C.: AOAC International.
- ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (2016). ASTM E96/E96M-16 *Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*,
- Averilla, J. N. *et al.* (2019). Potential health benefits of phenolic compounds in grape processing by-products. *Food Science and Biotechnology*, 28, 6, 1607–1615.

- Azevedo, F. Q. *et al.* (2009). Caracterização de mosto e suco da uva “BRS Violeta” produzida em Pelotas-RS. In: *XVIII Congresso de Iniciação Científica; XI Encontro de Pós-Graduação-I Mostra Científica outubro*, Pelotas.
- Bacelar, R. G. A.; Muratori, M. C. S. (2020). Utilização de resíduos de filetagem de tilápia na tecnologia de alimentos: uma revisão. *Revista Científica Rural*, 22(2), 263-278.
- BERES, C. *et al.* (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594.
- Bernadino Filho, R., Xavier, L. C. A. (2019). Obtenção, rendimento e caracterização de CMS produzida com resíduos da filetagem de Tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, 9(2), 01-04.
- Bittencourt, V. R. *et al.* (2021). Embalagens ativas como novas abordagens sustentáveis e ambientalmente corretas: uma revisão da literatura. *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2, 217-232.
- Bordignon, A. C. (2010). *Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus)*. 114 f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- Bordignon, A. C. *et al.* (2019). Caracterização das gelatinas obtidas a partir de peles de tilápia do Nilo conservadas pelos métodos de congelamento e salga. *Semina: Ciências Agrárias*, 40, 6, 2581-2592.
- Bueno, C. M, Alvim, I. D, Koberstein, T. C. R. D, Portella, M. C, Grosso, C. (2011). Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, 14(1), 65-73.
- Bueno, C. M. M. (2008). *Extração e caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa*. 133 f. Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Byun, Y., Kim, Y. T., Whiteside, S. (2010). Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α -tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal Of Food Engineering*, 100(2), 239-244. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.04.005>.
- Cáceres-Mella, A. *et al.* (2020). Grape Composition and Climate Change: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 71(4), 377-390.
- Caetano, K. dos S. (2016). *Utilização de amido, óleo de orégano e extrato de resíduo de abóbora para o desenvolvimento de filmes biodegradáveis ativos*. Porto Alegre, RG: Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do sul, Brasil.
- Chi, W., Cao, L., Sun, G., Meng, F., Zhang, C., Li, J., Wang, L. (2020). Developing a highly pH-sensitive κ -carrageenan-based intelligent film incorporating grape skin powder via a cleaner process. *Journal Of Cleaner Production*, 244, 118862. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118862>.

- Choi, I., Lee, J. Y., Lacroix, M., Han, J. (2017). Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry*, 218, 122–128.
- Clemente, J. N. (2018). *Estabilidade oxidativa de hambúrguer de frango em embalagens ativas com extrato de barbatimão e orégano*. 35f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Engenharia de alimentos) - Universidade Federal de Campina Grande – CCTA. Pombal.
- Deolindo, C. T. P., Santos, J. S., Granato, D. (2017). Otimização Da Extração De Compostos Antioxidantes De Casca E Semente De Uva Bordeaux E Bagaço Cervejeiro. In: *Encontro Anual De Iniciação Científica*, 26, 1-4.
- Fang, Z., Zhao, Y., Warner, R., Johnson, S. K. (2017). Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science & Technology*, 61(2), 60-71.
- Fernández-Díaz, M. D., Montero, P., Gómez-Guillén, M. C. (2003). Effect of freezing fish skins on molecular and rheological properties of extracted gelatin. *Food Hydrocolloids*, Lancaster, 17(3), 281-286. DOI: 10.1016/S0268-005X(02)00078-4
- Fontana, A. R., Antonioli, A., Bottini, R. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: Extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(38), 8987–9003.
- Franco, D., Rodríguez-Amado, I., Agregán, R., Munekata, P. E. S., Vázquez, J. A., Barba, F. J., Lorenzo, J. M. (2018). Optimization of antioxidants extraction from peanut skin to prevent oxidative processes during soybean oil storage. *LWT - Food Science and Technology*, 88, 1–8.
- Freire, G. A. S. *et al.* (2020). Teor de antocianinas, cor, textura, características físico-químicas e microbiológicas de leite fermentado adicionado de extrato rico em antocianinas obtido a partir de uvas tintas. *Brazilian Journal of Development*, 6(8), 56192-56205.
- Galanakis, C.M. (2017). *Handbook of Grape Processing By-Products - Sustainable Solutions*. 1ª ed., Academic Press.
- Garcia, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. (2016). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. *Journal of Food Science*, 65(6), 941–944.
- Gennadios, A., Weller, C.L., Hanna, M.A., Froning, G.W. (1996). Mechanical and barrier properties of egg albumen films. *Journal of Food Science*, 61, 585-589.
- Ghaani, M. *et al.* (2016). An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. *Trends in Food Science & Technology*, 51, 1-11.
- Gomes R. V., Melo B. N., Velloso R. M. H. (2017). Síntese e caracterização de bioplásticos a partir de glicerol e óleo de mamona. *Latin American Journal of Energy Research – Lajer*, 4(1), 41 – 51. DOI: 10.21712/lajer.2017.v4.n1.p41-51
- Gómez-Guillén, M. C. *et al.* (2011). Fish gelatin: A renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology*, 22(1), 3-12.

Grajeda-Iglesias, C., Figueroa-Espinoza, M. C., Barouh, N., Baréa, B., Fernandes, A., De Freitas, V., & Salas, E. (2017). Isolation and characterization of anthocyanins from hibiscus sabdariffa flowers. *Journal of Natural Products*, 79(7), 1709–1718. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00958>

Grosso, G. *et al.* (2017). Dietary flavonoid and lignan intake and mortality in prospective cohort studies: Systematic review and dose-response meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 105(6), 1419-1431.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. (2008). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. *Métodos físico-químicos para análises de alimentos*. 4ª ed. (1ª Edição digital), 1020 p.

Jorge, N. (2013). *Embalagens para Alimentos*. 1. ed. São Paulo: Cultura Acadêmica, 198p.

Leão, P. C. de S. (2021). *Isabel*. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/uva-de-mesa/preproducao/caracteristicas-da-especie-e-relacoes-com-o-ambiente/cultivares/uvas-americanas/isabel>. Acesso em: 21 fev. 2023.

Li Q., Yu H., Wang Y. N. (2009). In vivo spectroradiometric evaluation of colour matching errors among five shade guides. *Journal of Oral Rehabilitation*, 36(1), 65-70.

Liu, H., Li, D., Guo, S. (2008). Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatin from fish skins preserved by different methods. *LWT - Food Science and Technology*, 41 (8), 1425-1430. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.09.006

Linhares, M. do S. S. (2020). *Corante Antociânico Extraído de Resíduos da Indústria de Vinho Tinto e Suco Integral de Uva: Caracterização e Estabilidade*. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

Melo, P. S. *et al.* (2015). Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to act as a new source of scavenging of reactive oxygen species. *Food Chemistry*, 181, 160–169.

Meneghetti, B. B. *et al.* (2021). Incorporação do resíduo do processamento de uva em filmes comestíveis e biodegradáveis. In: XXIX Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP, Campinas. *Anais eletrônicos*. Campinas, Galoá. Disponível em: <<https://proceedings.science/unicamp-pibic/pibic-2021/trabalhos/incorporacao-do-residuo-do-processamento-de-uva-em-filmes-comestiveis-e-biodegra?lang=pt-br>> Acesso em: 23 set. 2023.

Molinari, M. C. (2014). *Extraction and characterization of gelatin obtained from subproducts of Tilapia*. 49 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão.

Oliveira, R. G., Mergen, M., Signor, A., Souza, M. L. R. de. (2021). Qualidade nutricional, microbiológica e sensorial da massa de pizza com inclusão de CMS de tilápia do Nilo. *Research, Society And Development*, 10(10), 1-13.

Palacios, M. J. J. (2019). *Antioxidants*. 8, 45.

- Pawlak, C. (2023). *Aplicação de extratos vegetais em filmes poliméricos para sistema de empacotamento inteligente*. Dissertação (Mestrado em Processos Químicos e Biotecnológicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo.
- Pelicioli, J. (2019). *Produção De Filmes Indicadores Contendo Antocianinas Da Casca Da Batata-Doce (Ipomoea Batatas L.)*. TCC Graduação, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.
- Pereira, P. F. D. M. (2017). *Desenvolvimento de filmes à base de biopolímeros para aplicação como embalagens inteligentes*. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Saurabh, C. K., Gupta, S., Variyar, P. S. (2018). Development of guar gum based active packaging films using grape pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 55(6), 1982–1992.
- Scudeler, C. G. S. (2019). *Desenvolvimento e caracterização de filmes biopoliméricos a partir de resíduos de tilápia (Oreochromis niloticus) com incorporação de óleos essenciais, nanoargila e gelatina*. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS.
- Selani, M. M. *et al.* (2011). *Meat science*, 88, 397-403.
- Shi J., Chen L., Wang Y. (2022). A study of the gel strength change of photogelatin in dependence on their content of α components. *Imaging Science and Photochemistry*, 20(6), 462-467. DOI: 10.7517/j.issn.1674-0475.2002.06.462
- Silva, N. da S. (2017). *Aplicação Tecnológica da Gelatina de Peixe em Microencapsulação e Filmes Biodegradáveis*. 99 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pará, Belém.
- Silva, R. S. G., Bandeira, S. F., Petry, F. C., Pinto, L. A. A. (2011). Extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum. *Ciência Rural*, 41, 5, 904-909.
- Silva, S. S., *et al.* (2014). Reticulation of collagen matrix using EDC/NHS: A review from the biomedical engineering perspective. *Materials Science and Engineering*, 41, 1-10. doi:10.1016/j.msec.2014.03.029.
- Silva, T. M. S., Camara, C. A., Lins, A. C. da S., Barbosa-Filho, J. M., Silva, E. M. S., Freitas, B. M., Santos, F. A. R. (2006). Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Meliponinae* subgenus *Ducke*. *Journal of Food Composition and analysis*, 19, 507-511.
- Silva, W.B. *et al.* (2019). Propriedades tecnológicas e antimicrobiana de biofilmes de proteínas de peixe com óleo essencial de cravo. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal Of Agricultural Sciences*, 14(2), 1-9. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v14i2a5642>.
- Soares, I. H. B. T., Nogueira, G. F., Soares, C. T., Oliveira, R. A. de. (2020). Incorporação de Extrato de Bagaço de Uva em Filmes Comestíveis e Biodegradáveis. In: *Congresso Virtual de Iniciação Científica da Unicamp*, 28, 1-5.

Souza, A. V., Lima, G. P. P., Vieites, R. L. (2010). Avaliação nutricional de diferentes variedades de uva (*Vitis* sp). *Naturalia*, 100-109.

Sridhar, K.; Charles, A. L. (2019). In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: estimation methods for ec50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, 275, 41-49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.040>.

Trindade, F. (2010). *Desenvolvimento de biofilmes de gelatina de pele de peixe e aplicação para conservação de frutas*. Relatório Final de Atividades (Programa Institucional de Iniciação Científica). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Francisco Beltrão.

Vejdan, A., Ojagh, S. M., Adeli, A., Abdollahi, M. (2016). Effect of TiO₂ nanoparticles on the physico-mechanical and ultraviolet light barrier properties of fish gelatin/agar bilayer film. *LWT – Food Science and Technology*, 71, 88-95.

Vidotti, R.M., Gonçalves, G.S., Martins, M.I.E.G. (2011). Farinha e Óleo de Resíduos de Tilápia: *Informações Técnica e Econômica*. Jaboticabal: Funep.

Vitor, R. C. L. (2021). *Elaboração Aplicação De Filme Proteico Em Hamburgueres Caprinos Incorporados De Diferentes Fontes Lipídicas*. Tcc (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Campina Grande, Pombal - PB, p. 36.

Tassanawat, S., Phandee, A., Magaraphan, R., Nihitanakau, M., Manuspiva, H. (2007). pH-sensitive PP/clay nanocomposites for beverage smart packaging. In: *Proceedings of the 2nd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems*, p. 478-482.

Wang L. C., Chen X. G., Zhong D., Xu Q. C. (2007). Study on poly (vinyl alcohol)/carboxymethylchitosan blend film as local drug delivery system. *Journal of Material Science: Material in Medicine*, 18(6): 1125-33.

Yan, M., Li, B., Zhao, X., Yi, J. (2011). Physicochemical properties of gelatin gels from walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) skin cross-linked by gallic acid and rutin. *Food Hydrocolloids*, 25, 907–914.

ARTIGO 2 – APLICABILIDADE DE SISTEMA DE EMBALAGEM INTELIGENTE E ATIVA OBTIDA A PARTIR EXTRATO DE BAGAÇO DE UVA E GELATINA DE TILÁPIA

1. Introdução

Em 2022, segundo dados da Associação Brasileira da Piscicultura, foram produzidas mundialmente 6,5 milhões de toneladas de tilápia, sendo o Brasil hoje o quarto maior produtor mundial desse pescado; onde foram produzidas em todo o país 550.060 toneladas, volume que representa 63,93% da produção nacional de peixes de cultivo, com um aumento de 3% sobre as 534.005 toneladas de 2021. A julgar pelas demandas interna e global, a tendência é a expansão continuar, e até se intensificar, nos próximos anos (Anuario Peixe BR, 2023).

A tilápia evidencia-se nutricionalmente quanto à sua composição, uma vez que possui grande quantidade e qualidade de proteínas, vitaminas, minerais, ácidos graxos insaturados, baixo teor de colesterol, bem como a presença de ácidos graxos essenciais: ômega-3, eicosapentaenoico (EPA) e docosaenoico (DHA); os quais estão associados a redução de doenças cardiovasculares, constituindo assim uma opção de consumo mais saudável quando comparada às outras carnes (Sartori & Amancio, 2012; Lyra *et al.*, 2020).

Entretanto, a presença de ácidos graxos poli-insaturados somado a outros fatores, como oxigênio, luz e temperatura impulsionam a oxidação lipídica nesse alimento, diminuindo sua vida útil (Couto e Cestari, 2017). Dessa forma, como ferramenta para evitar ou retardar a oxidação, a indústria de alimentos utiliza a refrigeração e/ou congelamento aliado as embalagens, para a conservação do filé de tilápia. Porém, as embalagens, principalmente as plásticas, estão causando impactos ambientais (Soares *et al.*, 2019).

É interesse do mercado inovar e investir em tecnologias que beneficiem o consumidor, ao mesmo tempo que agregam valor à cadeia de produção. Assim, o desenvolvimento de novas embalagens está sempre em alta, com uma busca cada vez maior pela sustentabilidade, através do uso de materiais menos agressivos ao meio, como é o caso das embalagens biopoliméricas ou biofilmes.

Os biofilmes são preparados a partir de recursos naturais renováveis e além de atuar como uma barreira protetora a elementos externos, danos físicos, biológicos e conseqüentemente aumentar a sua vida útil; também são degradados rapidamente em ambientes específicos. Geralmente, os biofilmes são produzidos a partir de polissacarídeos, proteínas, colágenos, lipídeos e derivados (De Lucena *et al.*, 2017; Pereira, 2020). Muitas pesquisas têm sido realizadas utilizando a gelatina de pele de peixe para elaboração de filmes biodegradáveis (Silva *et al.*, 2018).

Além da biodegradabilidade, o desenvolvimento de embalagens tecnológicas, que interajam de forma mais eficiente com os alimentos e os consumidores, está ganhando força no mercado. Dentre elas, destacam-se as embalagens ativas e as inteligentes, onde a primeira

interage com o alimento a fim de melhorar determinadas características e/ou estender a vida de prateleira do produto; enquanto a outra, têm a função de passar uma informação em tempo real para o consumidor. Entretanto, apesar de possuírem uma função distinta, ambas necessitam da incorporação de substâncias, como por exemplo os extratos vegetais, para realizarem suas funções.

As antocianinas representam uma das maiores classes dos compostos fenólicos. São pigmentos localizados maioritariamente nas cascas das uvas, responsáveis pela cor do vinho (Silva e Queiroz, 2016). Numerosos estudos demonstram a presença de traços bioativos capazes de promover a saúde humana, possuindo atividade antioxidante, anticancerígena, antiinflamatória, antidiabética e neuro-protetora. Ao contrário de outros flavonoides, as antocianinas são compostos solúveis em água e sensíveis às condições de pH. (Han *et al.*, 2019; Pinheiro, 2019).

Assim, este estudo visa avaliar a viabilidade da aplicação de filmes elaborados com gelatina da pele de tilápia e extrato do bagaço e uva em filé de tilápia *in natura*.

2. Metodologia

2.1. Local da pesquisa

A elaboração do produto e as análises físicas, químicas e físico-químicas foram realizadas nos laboratórios da Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos (UAEALI) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus Campina Grande – PB.

2.2. Matéria-prima

A solução filmogênica foi preparada utilizando a gelatina, a glicerina, sendo este o agente plastificante, e o extrato do bagaço de uva de acordo com a metodologia descrita por Clemente (2018). As três formulações testadas foram pré-definidas levando em consideração o Artigo I, no qual foi utilizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), ou seja, um planejamento fatorial completo 2^3 , incluindo 6 pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 17 experimentos. As variáveis independentes foram: Gelatina (g), Glicerina (g) e Extrato do Bagaço de Uva (g). As respostas estudadas foram: cor, opacidade, índice de intumescimento, permeabilidade ao vapor de água, solubilidade e mudança de cor. Onde, concluiu-se que as embalagens que obtiveram maiores valores no potencial antioxidante e no parâmetro a^* , além de apresentarem bons resultados na análise de PVA e índice de intumescimento, foram: E2 e E14, sendo escolhida também a E13, por ser o filme controle. As formulações das embalagens escolhidas estão dispostas na Tabela 1.

Tabela 1. Formulações e valores para a produção do filme proteico ativo e inteligente

| Formulações | Gelatina (g) | Glicerina (g)/Pectina (g) | Extrato (mL) |
|-------------|--------------|---------------------------|--------------|
| E2 | 2,87 | 1,86 | 25,00 |
| E13 | 4,43 | 3,40 | 0,00 |
| E14 | 4,43 | 3,40 | 31,36 |

2.3. Propriedade Mecânicas

Através da metodologia ASTM D882- 02 (ASTM, 2002) as propriedades mecânicas das embalagens tensão de ruptura (MPa), ductibilidade (%), tenacidade (MPa), e módulo de elasticidade (MPa), foram avaliadas. As amostras foram cortadas em tiras de 30 mm de comprimento e 50 mm de largura e acopladas verticalmente a um sistema de garras no texturômetro (TA.XTplus, Stable Micro Systems, Inglaterra). Considerou-se os seguintes parâmetros de distância inicial e a velocidade do probe de 50 mm e 2 mm/s, respectivamente.

**Figura 1.** Análise das propriedades mecânicas das embalagens biopoliméricas

Fonte: Autora (2024)

2.4. Biodegradabilidade das Embalagens Biopoliméricas

A avaliação da biodegradabilidade dos filmes em solo foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Jaramillo *et al.* (2017), com algumas modificações. A terra vegetal foi colocada em bandejas de polietileno (25 × 40 × 13 cm) até uma altura de 10 cm. Os filmes foram recortados (3 cm²) e acoplados em uma tela de suporte, este sistema (tela + amostra +

tela) foi enterrado por completo no sentido horizontal no recipiente que continha a terra. As bandejas foram mantidas em local com temperatura $28 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa $67 \pm 6\%$ e umidade do solo $32 \pm 2\%$ e pesadas, nos dias 2, 5, 7, 10, 12 e 15. Em cada dia de pesagem, foi borrifada água na superfície do solo a fim de manter a umidade do mesmo.

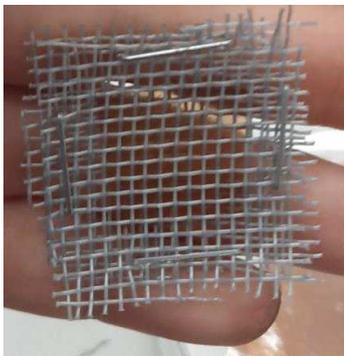


Figura 2. Sistema filme + tela utilizado para a análise de biodegradabilidade
Fonte: Autora (2024)



Figura 3. Sistema bandejas de polietileno + terra vegetal
Fonte: Autora (2024)

2.5. Toxicidade das embalagens biopoliméricas frente ao microcrustáceo *Artemia salina*

A análise de toxicidade frente a *Artemia salina* foi realizada de acordo com a metodologia adaptada de Camilo (2021) e Nguta *et al.* (2011). Preparou-se uma solução salina artificial (contendo respectivamente as concentrações de: 26,3 g/L de NaCl; 0,75 g/L de KCl; 1,47 g/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 5,10 g/L de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 0,21 g/L de NaHCO_3 ; 6,20 g/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), tendo seu pH ajustado entre 8-9 adicionando gotas de NaOH 0,1 mol/L. Os ovos de *Artemia Salina* sp. foram colocados para eclodir na solução salina por 48 horas (0,1g

de cistos por litro de solução salina artificial), com aeração e iluminação artificial constantes a temperatura ambiente.

Para o preparo das soluções das amostras, foi pesada e triturada 0,1g de cada embalagem (2, 13 e 14) e misturada com 5 mL de água destilada e 5 mL da solução salina artificial. Após a eclosão dos ovos, 10 artêmias salinas foram transferidas com o auxílio de pipetas para tubos de ensaio contendo solução salina, água destilada e as amostras a serem testadas em diferentes concentrações, de acordo com a Tabela 2. Cada tubo de ensaio foi realizado em triplicata.

Tabela 2. Concentração e volume das soluções testadas e quantidade de Artêmias salinas

| Tubo de Ensaio | Concentrações das Amostras testadas (ppm) | Volume das Soluções das Amostras Testados (μL) | Água Salina (mL) | Água Destilada (mL) | Quantidade de Artemia Salina sp. (Unidade) |
|-----------------------|--|--|-------------------------|----------------------------|---|
| Controle | 0 | 0 | 5 | 5 | 10 |
| 1 | 250000 | 2500 | 5 | 5 | 10 |
| 2 | 12500 | 1250 | 5 | 5 | 10 |
| 3 | 25000 | 250 | 5 | 5 | 10 |
| 4 | 12500 | 125 | 5 | 5 | 10 |
| 5 | 6200 | 62 | 5 | 5 | 10 |

Posteriormente ao um período de 24 horas, ocorreu a contagem de crustáceos mortos e vivos em cada tubo. Após a contagem calculou-se a média de artêmias salinas mortas por tubo, seguido de sua porcentagem. A DL50 foi estimada a partir da relação linear entre a porcentagem de artêmias salinas mortas por concentração das amostras testadas.

2.6. Avaliação físico-química da carne de tilápia

Para avaliar as características físico-químicas da tilápia foram realizadas as seguintes análises, em triplicata:

Composição Centesimal: Os teores de umidade, cinzas e proteínas serão determinados utilizando a metodologia descrita nos itens nº 950.46.41, 920.153 e 928.08, respectivamente (AOAC, 2012). E o extrato etéreo será determinado seguindo os procedimentos de Bligh & Dyer (1959).

Atividade de água (Aa): de acordo com o método 978.18, descrito pela AOAC (2012), utilizando um aparelho AQUALAB CX-2 (DecagonDevices, Washington, USA).

pH: quantificado com um pHmetro digital, seguindo as recomendações do método 977.20, descrito pela AOAC (2012).

Colorimetria: avaliada utilizando o Colorímetro Konica Minolta, modelo CR-10 para leitura dos parâmetros L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho/verde) e b* (intensidade de amarelo/azul).

Oxidação lipídica (número de TBARS): determinada de acordo com a metodologia de Hodges *et al.* (1999) descrita por Baldin (2016).

Nitrogênio em Bases Voláteis (N-BVT): determinada de acordo com as metodologias descritas na legislação brasileira, com pequenas alterações (BRASIL, 1981, 1999).

2.7. Teste de ativação dos filmes inteligentes em carne de tilápia

O filé de tilápia foi adquirido no mercado local de Campina Grande - PB. As peças de carnes foram cortadas em tamanhos padronizados (7 cm x 4 cm) e depositadas em placas, onde foram depositados sobre a superfície da carne um recorte de mesma medida de plástico PVC, seguido do filme indicador, método conhecido como laminação. Todo o conjunto foi recoberto com filme PVC. As amostras foram mantidas sob refrigeração em geladeira a 10°C, durante 30 dias. A cor da embalagem foi avaliada utilizando o Colorímetro Digital, para leitura dos parâmetros L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho/verde) e b* (intensidade de amarelo/azul); e o pH da carne foi verificado utilizando um pHmetro digital, ambas as análises foram determinadas em intervalos de 10 dias.

2.8. Teste de ativação dos filmes ativos em carne de tilápia

Para avaliar a funcionalidade dos filmes ativos, foram dispostos em bandeja de isopor três peças de tilápia cortadas em tamanhos de 10 cm x 6 cm, sendo duas delas recobertas com o filme ativo e a outra com o controle. Os tratamentos tiveram suas bandejas recobertas com filme PVC e papel alumínio. As amostras foram mantidas sob refrigeração em geladeira a 10°C, durante 60 dias e analisadas a cada 15 dias quanto a oxidação lipídica pela reação ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) pela metodologia descrita por Hodges *et al.* (1999) descrita por Baldin (2016); e nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT) foi analisado de acordo com os métodos descritos na legislação brasileira, com pequenas alterações (BRASIL, 1981, 1999).

2.9. Análise estatística

Os experimentos foram realizados em triplicata, sendo os dados analisados através de Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias a um nível de significância de 1 ou 5%, utilizando do software Sisvar 5.6. A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Kolmogorov-Smirnov, onde todos os dados foram considerados normais.

3. Resultados e Discussão

3.1. Propriedades Mecânicas

Ao observar o resumo da análise de variância das variáveis Tensão de ruptura, Ductibilidade, Tenacidade e Módulo de elasticidade, expostas na Tabela 3, constata-se efeito significativo para todos os parâmetros exceto ductibilidade, em função da variável embalagem. Tensão de ruptura e módulo de elasticidade obtiveram efeito significativo a 1% ($p < 0,01$) enquanto a tenacidade a 5% ($p < 0,05$).

Tabela 3. Resumo da análise de variância para a Tensão de ruptura, Ductibilidade, Tenacidade e Módulo de elasticidade

| Fonte de variação | Grau de liberdade | Parâmetro | | | |
|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------------|------------|------------------------|
| | | Tensão de ruptura | Ductibilidade | Tenacidade | Módulo de elasticidade |
| Embalagem | 2 | 1,873** | 140,522 ^{n. s} | 0,16697* | 450,374** |
| Erro | 6 | 0,108 | 87,183 | 0,018 | 40,642 |
| CV (%) | | 16,13 | 27,42 | 25,58 | 28,23 |
| Média geral: | | 2,04 | 34,05 | 0,522 | 22,586 |

CV (%): Coeficiente de variação experimental; **: Significativo a 0,01 de significância; *: Significativo a 0,05 de significância, ns: Não significativo.

Fonte: Autora (2024).

Os valores para a Tensão de ruptura (TR) obtidos para as embalagens estudadas estão dispostos na Tabela 4. Observa-se que os filmes E13 e E14 não diferiram entre si e obtiveram os melhores valores de TR, o que mostra que mesmo quando concentrações superiores de extrato são adicionadas às formulações, a resistência dos materiais foi mantida, favorecendo a aplicação dos extratos como bioativos em embalagens ativas para alimentos; enquanto a E2 divergiu das demais, sendo considerada a amostra mais frágil. Maryam Adilah e Nur Hanani (2016) em seu trabalho sobre embalagem ativa utilizando gelatina de peixe com óleo de

Morinda citrifolia, obteve valores de TR variando 3,3 – 4,6 Mpa para embalagens contendo 6g de gelatina.

Esse resultado é explicado por Mali *et al.* (2005) e Pérez-Gago e Krochta (2000), em que a tensão na ruptura é influenciada pela concentração de glicerol, polissacarídeo e proteína. Ainda, quando a proteína, nesse caso a gelatina, é adicionada aos filmes, a quantidade de grupos sulfeto aumenta, elevando o número de ligações covalentes na matriz filmogênica e, conseqüentemente, provoca a obtenção de filmes mais resistentes.

A ductilidade ou alongamento representa o grau de deformação que um material suporta até o momento de sua ruptura, sendo os valores obtidos para esse parâmetro presentes na Tabela 4. Observa-se que os filmes não diferiram estatisticamente, entretanto a redução da resistência do filme proporcionou maior extensibilidade, ou seja, um aumento em seu alongamento; sendo esta relação corroborada pela embalagem E2. Tongnuanchan *et al.* (2013) também observaram esta mesma relação em seu estudo, onde a ductibilidade das embalagens produzidas com gelatina da pele de peixe e óleos essenciais variou de 19,59 a 74,68.

Tabela 4. Propriedades mecânicas dos filmes

| Parâmetros | Embalagem | | |
|------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | E2 | E13 | E14 |
| Tensão de ruptura (Mpa) | 1,157 ^b | 2,680 ^a | 2,282 ^a |
| Ductilidade (%) | 41,141 ^{n. s} | 27,483 ^{n. s} | 33,524 ^{n. s} |
| Tenacidade (Mpa) | 0,294 ^b | 0,508 ^{ab} | 0,765 ^a |
| Módulo de elasticidade (Mpa) | 8,4412 ^b | 29,920 ^a | 29,398 ^a |

Diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significativas entre as distintas embalagens pelo teste Tukey ($p < 0,01$ e $p < 0,05$). ns: Não significativo.

Fonte: Autora (2024).

Na Tabela 4 estão dispostos os valores para a tenacidade das embalagens poliméricas, sendo a amostra E14 estatisticamente igual a E13, que não possui diferença estatística com a E2. Como a tenacidade é a capacidade de um material absorver energia até sua ruptura, observa-se que o filme E14 foi o mais eficiente para esse parâmetro, com um valor de 0,765 Mpa.

O módulo de elasticidade, também conhecido como módulo de Young, refere-se à rigidez da embalagem, em que quanto maior este módulo, mais rígido é considerado o material (Oliveira de Moraes *et al.*, 2015). Os valores para esse parâmetro encontram-se dispostos na Tabela 4, onde observa-se que as embalagens E13 e E14 foram estatisticamente iguais, uma vez que ambas possuem a mesma base de formulação, diferindo apenas na presença do

extrato; ou seja, o extrato do bagaço de uva não interferiu no módulo de elasticidade da embalagem. O valor do módulo de Young para o filme E2 (8,44) divergiu dos demais, podendo ser explicado por possuir uma menor quantidade de gelatina e pectina/glicerina em sua formulação, o que torna esta embalagem mais frágil; visto que, quanto menor o valor desse parâmetro, menor é a força necessária aplicada para deformar a embalagem.

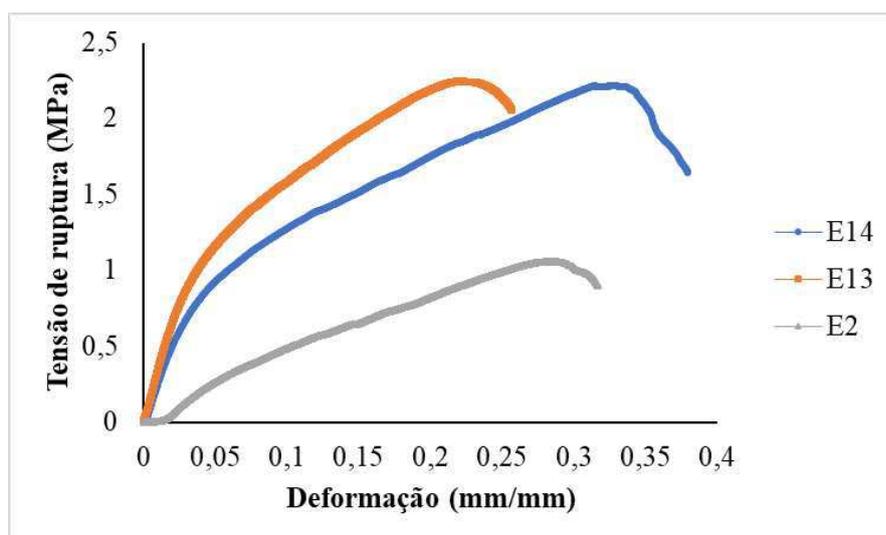


Figura 4. Tensão de ruptura versus deformação das embalagens poliméricas
Fonte: Autora (2024)

A Figura 4 dispõe do gráfico da tensão de ruptura *versus* deformação ou alongamento, observa-se que o filme E2 necessitou de uma menor força empregada para deformar, baixa tensão, indicando a fragilidade do material. As embalagens E13 e E14 por possuírem formulações semelhantes, com um maior teor de gelatina e mistura pectina/glicerina, foram mais resistentes a ruptura, ou seja, necessitou de uma maior tensão empregada para sua deformação e posterior rompimento.

3.2. Biodegradabilidade das Embalagens Biopoliméricas

Um estudo quantitativo da biodegradabilidade dos filmes foi executado a fim de verificar a degradação dos materiais em função do tempo de enterramento na terra vegetal. A partir da Figura 5 observa-se a evolução da biodegradação dos filmes elaborados, a partir da perda de peso da embalagem em função dos dias. O início da decomposição ocorreu após 2 dias de análise, se intensificando a partir do quinto dia, onde as embalagens 2 e 14 perderam em média, respectivamente, 0,019 e 0,018g; enquanto a 13 decaiu apenas 0,013g quando comparadas ao valor inicial. Entretanto, observa-se na Figura 13 que a partir do dia 7 a

embalagem que mais perdeu peso, tanto comparado ao início quanto à aferição anterior, foi a amostra E13 (controle).

A completa biodegradabilidade dos filmes ocorreu em tempos diferentes, as embalagens 2 e 13 degradaram no décimo segundo dia de estudo, enquanto a 14 apenas no décimo quinto dia. Esse fato pode ser explicado pelo peso inicial das embalagens, uma vez que a E14 tinha um peso maior que as demais. Outra explicação deve-se ao fato que estudos demonstraram que o uso de compostos antioxidantes na formulação de filmes biodegradáveis influenciava na atividade microbiana do meio (Piñeros-Hernandez *et al.*, 2017).

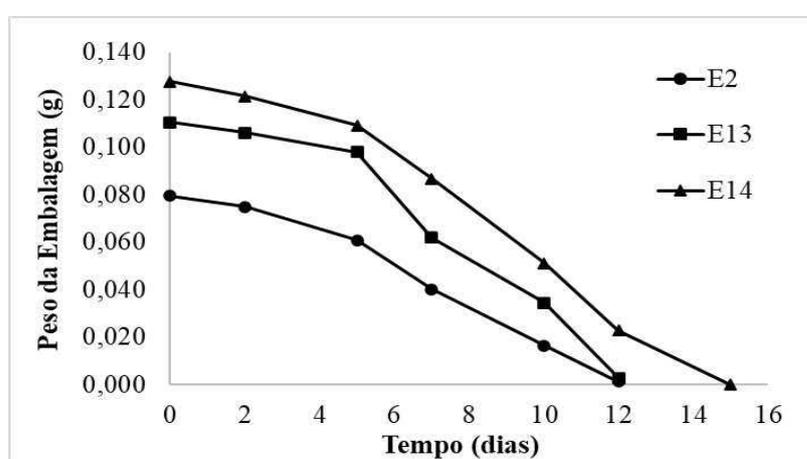


Figura 5. Evolução da biodegradação dos filmes elaborados

Fonte: Autora (2024)

Resultados semelhantes foram obtidos por Boeira (2022) ao estudar a biodegradabilidade de embalagens biopoliméricas produzidas a partir de gelatina e glicerina comerciais, aditivadas com extrato de estigma de milho, onde as embalagens se degradaram completamente aos 10 dias de análise, apesar de que no sétimo dia os filmes com 15% e 25% de extrato apresentaram menor taxa de degradação quando comparado ao filme controle (sem aditivos), indicando que a biodegradação foi retardada pela presença do aditivo.

O tempo de degradação observado neste trabalho bem como no de Boeira (2022), comprova que os resíduos advindos da elaboração dos filmes, bem como aqueles que não fossem utilizados, poderiam ser descartados em hortas urbanas apropriadas, reduzindo os gastos com o beneficiamento de resíduos de embalagens além de preservar o meio ambiente.

3.3. Toxicidade das embalagens biopoliméricas frente ao microcrustáceo *Artemia salina*

A verificação de toxicidade frente a *Artemia salina* é um ensaio biológico utilizado para quantificar a dose letal média (DL50) proveniente da matéria prima estudada, além de ser

rápido, confiável e de baixo custo (Oliveira *et al.*, 2023). Na figura 6 está apresentado a porcentagem de *Artêmias Salinas* mortas em relação as concentrações de cada uma das embalagens poliméricas analisadas. Observa-se que a embalagem 13 (controle) obteve as maiores porcentagens de Artemias mortas em cada uma das concentrações quando comparada com as demais.

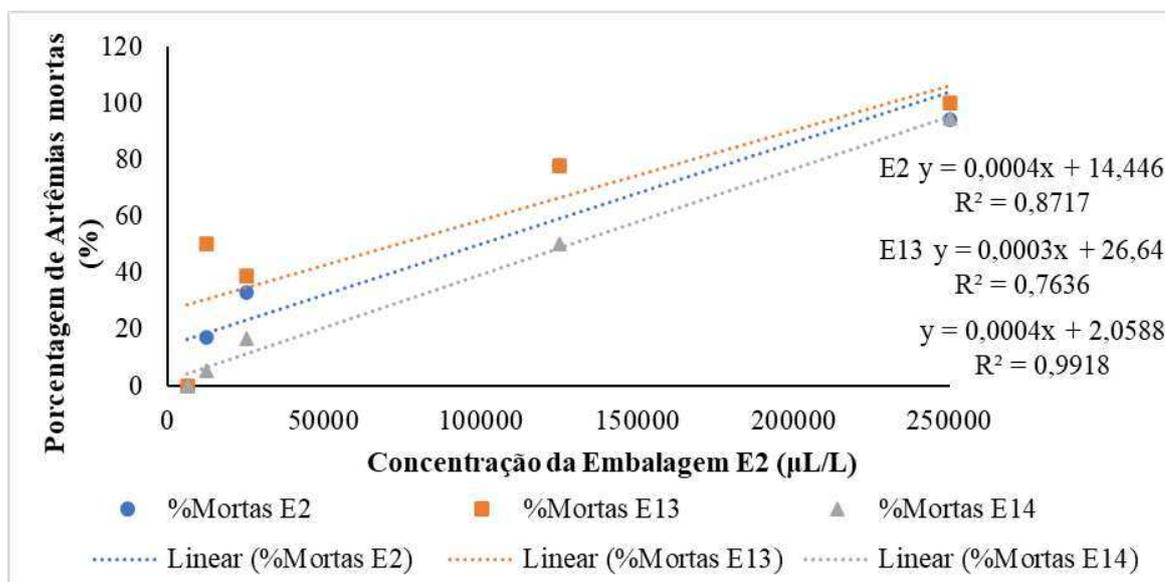


Figura 6. Porcentagem de Artêmias Salinas mortas em relação a concentração das embalagens poliméricas

Fonte: Autora (2024)

A partir da relação Porcentagem de *Artêmias Salinas* mortas *versus* Concentração das embalagens poliméricas, obtemos a equação que é utilizada para calcular o valor da DL50 para cada uma das amostras, valores estes que estão apresentados na Tabela 10. De acordo com a literatura, valores de DL50 acima de $1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$ são considerados atóxicos, possuem baixa toxicidade quando a DL50 for superior a $500 \mu\text{g. mL}^{-1}$; dose letal média entre 100 a $500 \mu\text{g. mL}^{-1}$ são vistos como de moderada toxicidade e muito tóxico quando a DL50 for inferior a $100 \mu\text{g. mL}^{-1}$ (Amarante, 2011; Nguta *et al.*, 2011).

Tabela 5. Valor de Dose letal (DL50) para cada uma das embalagens testadas

| Amostra | DL50 ($\mu\text{g. mL}^{-1}$) |
|---------|---------------------------------|
| E2 | 88.885 |
| E13 | 77.867 |
| E14 | 119.868 |

Fonte: Autora (2024)

Observando a Tabela 10, todas as amostras obtiveram $DL50 > 1000 \mu\text{g. mL}^{-1}$, sendo consideradas atóxicas. Silva *et al.* (2021) ao estudar a toxicidade de extratos dos frutos e

folhas de *Morinda citrifolia* ("Noni") apresentaram valores para DL50 de 562,32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 436,52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ indicando, respectivamente, baixa toxicidade e toxicidade moderada frente a *A. salina*. Já Oliveira *et al.* (2023) ao avaliar a toxicidade dos resíduos do abacaxi utilizando o bioensaio de *Artêmia salina* obteve um teor de DL50 de 2.215,412 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, valor bem superior a 1000 $\mu\text{g. mL}^{-1}$, portanto é considerado atóxico.

3.4. Avaliação físico-química da carne de tilápia

A Tabela 6 apresenta os resultados da avaliação físico-química do filé de tilápia *in natura*. Os produtos cárneos, bem como pescado e derivados, são largamente conhecidos pelo alto teor de umidade, o qual afeta diretamente sua vida útil, sendo de suma importância a avaliação deste parâmetro e assim determinar metodologias adequadas para a conservação desses produtos (Viana *et al.*, 2013). Para o parâmetro citado, a matéria-prima obteve um valor de $76,24 \pm 0,72$.

Tabela 6. Avaliação físico-química do filé de tilápia *in natura*

| Parâmetros | Filé de Tilápia |
|------------------------|------------------|
| Umidade (%) | $76,24 \pm 0,72$ |
| Cinzas (%) | $0,92 \pm 0,72$ |
| Proteínas (%) | $19,69 \pm 0,13$ |
| Lipídeos (%) | $0,92 \pm 0,05$ |
| Carboidratos (%) | $2,23 \pm 0,58$ |
| Atividade de Água (Aa) | $0,98 \pm 0,01$ |
| pH | $5,87 \pm 0,01$ |
| L | $41,05 \pm 0,19$ |
| a* | $0,18 \pm 0,04$ |
| b* | $1,75 \pm 0,02$ |
| TBA (mg MAD/kg) | $0,16 \pm 0,01$ |
| N-BVT (mg N/100g) | $6,82 \pm 0,46$ |

Fonte: Autora (2024)

A determinação do teor de cinzas na carne do pescado é importante para indicar a quantidade total de minerais, tais como potássio e cálcio (Tilami e Sampels, 2018). Já a proteína do pescado, têm sua relevância por possuir um nível de digestibilidade acima dos 95% de acordo com a espécie, devido à uma composição centrada de aminoácidos essenciais, como metionina e lisina. Além disso, possui teor de digestibilidade superior quando comparado a outros produtos de origem animal, como o leite e outras carnes vermelhas (Vargas, 2017; Carmo, 2020). Os valores de cinzas e proteínas obtidos neste estudo foram respectivamente, $0,92 \pm 0,72$ e $19,69 \pm 0,13$.

Os pescados podem ser classificados conforme seu teor de gordura, onde menor que 2% são considerados de baixo teor lipídico, entre 2 e 5%, são considerados pescados equilibrados em conteúdo lipídicos, já quando são maiores que 5%, considera-se um alto teor lipídico (Cordeiro, 2019). Desta forma, o valor de lipídio obtido neste trabalho (Tabela 6) classifica a matéria-prima como de baixo teor de gordura, o que pode influenciar diretamente em sua oxidação lipídica, pois quanto maior o teor deste parâmetro, mais susceptível à oxidação lipídica a carne se torna, e vice-versa.

Os valores médios da composição química da matéria-prima, presentes na Tabela 6, foram semelhantes aos obtidos por Turella (2019) para filé de tilápia, para os parâmetros de umidade ($77,84 \pm 0,65$), cinzas ($1,09 \pm 0,20$), proteínas ($18,35 \pm 1,12$), lipídeos ($1,48 \pm 0,34$) e carboidratos ($1,25 \pm 0,99$). Ainda, de acordo com Ogawa e Maia (1999), a carne do pescado pode conter de 60 a 85% de umidade, aproximadamente 20% de proteína, de 1 a 2% de cinzas e de 0,6 a 36% de lipídios; logo, o filé de tilápia do ensaio atual apresentou composição centesimal em concordância com a literatura.

Segundo Terra (1988), o pH de um alimento influencia na palatabilidade e desenvolvimento de microrganismos, sendo o valor ideal do pH 5,8 a 6,2; o qual implica que a carne está apta para o consumo, pH de 6,4 indica que a carne é recomendada para o consumo imediato e pH acima de 6,4 aponta que a carne está em início de decomposição. Ainda, de acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Riispoa) (Brasil, 2017), o valor de pH da porção muscular interna do pescado deve ser menor que 6,5 e para pescado congelado no máximo 7. Portanto, o valor inicial de pH (Tabela 6) de $5,87 \pm 0,01$; obtido neste trabalho assinala que o mesmo está dentro da legislação e a carne apta para o consumo. Para filés de tilápia *in natura*, Soares (2012), apresentou um valor médio inicial de pH de 5,9; corroborando com este estudo, enquanto Duarte (2017) apresentou pH de 6,14.

A análise de atividade de água (Aa) quantifica a água livre no alimento, a qual propicia o desenvolvimento de microrganismos deterioradores, principalmente em alimentos que possui Aa entre 0,88 e 0,99 (Jatobá e Oliveira Filho, 2017). Silva *et al.* (2022) observou em seu trabalho com filés de tilápia marinados, valores de Aa (0,96-0,97) bem próximos ao apresentado neste estudo ($0,98 \pm 0,01$), conforme expõe a Tabela 6.

A Tabela 6 dispõe dos valores da análise de cor do filé de tilápia *in natura*, em que foi obtido para os parâmetros Luminosidade, a^* e b^* , respectivamente, $41,05 \pm 0,19$; $0,18 \pm 0,04$ e $1,75 \pm 0,02$. Segundo Altemio *et al.* (2022) o parâmetro Luminosidade (L) varia de 0 (preto)

a 100 (branco), produzindo valores altos (cor clara) e baixos (cor escura); o parâmetro a^* varia de -60 (verde) a +60 (vermelho) e o b^* varia de -60 (azul) a +60 (amarelo). Logo, a amostra do presente trabalho possuiu um valor mais próximo do 0 do que de 100, caracterizando-a como escura; enquanto que para os parâmetros a^* e b^* a amostra tendeu ao meio do espectro, estando mais próxima a coloração vermelho-amarelo do que verde-azul. Resultados semelhantes foram encontrados por Wang *et al.* (2018) em seu estudo sobre a cor de filés de tilápia *in natura*, obtendo valores de L, a^* e b^* , respectivamente, 43.46 ± 3.26 ; 1.93 ± 0.23 e 4.79 ± 0.43 .

O pescado é altamente susceptível à deterioração, principalmente devido à sua elevada atividade de água, pH próximo a neutralidade e ácidos graxos insaturados de fácil oxidação, principalmente os poli-insaturados, que representam ótimas condições para crescimento de microrganismos ou oxidação da porção lipídica (Tilami e Sampels, 2018; Matiucci *et al.*, 2021). Uma forma de medir a oxidação lipídica é através da análise de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), através da quantificação do malonaldeído (MDA) que atua como um biomarcador da peroxidação lipídica e prejudica a qualidade sensorial dos produtos cárneos em geral, uma vez que alteram o sabor e o odor dos alimentos (Duarte, 2017; Yahaya *et al.*, 2019).

O valor do TBARS encontrado neste trabalho para a matéria-prima está presente na Tabela 6, onde resultado semelhante ($0,16 \pm 0,02$ mg MAD/kg) foi obtido por Sary (2018) ao analisar filés de tilápia *in natura* alimentados com rações do tipo controle e aditivada com óleo essencial de cravo. Esses valores indicam que os filés analisados estão frescos e aptos para o consumo, uma vez que o processo de oxidação lipídica ainda está no início, não afetando o sensorial do produto.

As bases nitrogenadas voláteis (N-BVT) correspondem a amônia e aminas de cadeia curta, em que sua análise é utilizada como fator para determinar o nível de deterioração do pescado, ocasionada por bactérias deteriorantes durante a armazenagem refrigerada (Silva *et al.*, 2022). O valor de N-BVT dos filés de tilápia *in natura* do presente estudo, exposto na Tabela 6, foi de $6,82 \pm 0,46$; teor abaixo do obtido por Ferrigolo *et al.* (2021) para a mesma matéria-prima ($11,65 \pm 0,88$). Ogawa e Maia (1999), descrevem que os peixes em excelente estado de frescor, possuem um teor de N-BVT de 5 a 10 mg N/ 100g de amostra, e peixes com frescor razoável variam de 15 a 25 mg N/ 100g. Logo, a matéria-prima deste estudo pode ser considerada de alto frescor.

3.5. Ativação dos filmes inteligentes em carne de tilápia

Ao interpretar a análise de variância das variáveis de pH, L, a*, b* e ΔE (Tabela 7) foi possível observar que foram constatados efeitos significativos ($p < 0,01$) para todos os parâmetros na variável tempo, enquanto para embalagem apenas o ΔE não teve efeito significativo. Para a relação tempo *versus* embalagem não houve significância para o parâmetro ΔE; para o pH e b* houve significância a 5% e para o L e a* a 1%.

Tabela 7. Resumo da análise de variância para pH, parâmetros de cor (L, a* e b*) e mudança de cor (ΔE)

| Fonte de variação | Grau de liberdade | Parâmetro | | | | |
|------------------------|-------------------|-----------|-------------|-----------|-----------|------------------------|
| | | pH | L | a* | b* | ΔE |
| Tempo | 3 | 3,428** | 154,995** | 110,393** | 65,929** | 642,348** |
| Embalagem | 2 | 0,182** | 1.722,579** | 565,195** | 105,743** | 15,599 ^{n. s} |
| Tempo*Embalagem | 6 | 0,322* | 190,575** | 24,045** | 5,956* | 3,855 ^{n. s} |
| Erro | 24 | 0,018 | 8,128 | 1,9 | 1,831 | 9,269 |
| CV (%) | | 2,17 | 4,64 | 13,36 | 10,18 | 24,84 |
| Média geral: | | 6,225 | 61,393 | 10,316 | 13,288 | 12,256 |

CV (%): Coeficiente de variação experimental; **: Significativo a 0,01 de significância; *: Significativo a 0,05 de significância, ns: Não significativo.

Fonte: Autora (2024)

O teste de ativação do filme polimérico em filé de tilápia *in natura* foi realizada a fim de testar sua eficácia como embalagem inteligente. Na Figura 7, estão dispostos os gráficos que denotam efeito de regressão para o parâmetros pH da carne de tilápia, colorimétricos (L, a* e b*) e mudança de cor (ΔE) do filme em detrimento do tempo de armazenamento.

No item (a) exposto na Figura 7, têm-se que o pH aumentou de forma quadrática para todas as amostras durante os dias analisados, comprovando o efeito da regressão polinomial, visto que esta é uma característica natural da carne de tilápia ao longo do seu processo de deterioração, que tende à progredir a um pH alcalino. Segundo Ogawa & Maia (1999), o aumento do valor do pH durante o armazenamento é decorrente do acúmulo das bases nitrogenadas voláteis (N-BVT), formadas a partir de atividades autolíticas e bacterianas.

Em relação a luminosidade (L), exposta no item (b) da Figura 7, houve decréscimo deste parâmetro para todas as embalagens durante o tempo de estudo, ocorrendo assim, efeito de regressão polinomial. Este fato pode ser explicado pela absorção da umidade presente na matéria-prima durante o armazenamento, a qual diluiu o extrato presente, afetando tanto a luminosidade quanto os parâmetros a*, b* e consequentemente o ΔE (Figura 7).

Para o parâmetro de cor vermelha (a^*), disposta no item (c) da Figura 7, constatou-se efeito de regressão quadrática para as embalagens, durante os dias analisados, E2 ($R^2 = 0,85$) e E14 ($R^2 = 0,93$), uma vez que elas possuem o extrato do bagaço da uva em sua composição. Para a amostra E13 não houve diferença significativa, se mantendo constante durante os 30 dias de análise, resultado já esperado pois essa embalagem é a controle, ou seja, sem extrato de antocianinas.

Disposto no item (d) da Figura 7, o parâmetro de cor amarela (b^*) apresentou efeito de regressão polinomial para as embalagens, durante os dias testados, onde houve a diminuição deste parâmetro ao fim dos dias. Resultado diferente do esperado para as embalagens E2 e E14, onde ao apresentar mudança de pH para o alcalino, haveria aumento da coloração amarela, o qual não ocorreu neste estudo.

A mudança de cor (ΔE), exposto no item (e) da Figura 7, apresentou efeito de regressão quadrática para as embalagens, durante os dias analisados. Sendo assim, houve um efeito significativo no ΔE , o qual possuía valores acima de 12,83. Segundo alguns autores (Tassanawat *et al.*, 2007; Li: Yu: Wang, 2009; Alves *et al.*, 2017), quando o valor do ΔE é superior a 5 indica que o mesmo pode ser facilmente visualizado pelo olho humano, enquanto os valores acima de 12 implicam uma diferença absoluta de cor, notável mesmo para painéis não treinados. Logo, a mudança de cor deveria ter sido visível facilmente, entretanto não foi o que ocorreu neste estudo.

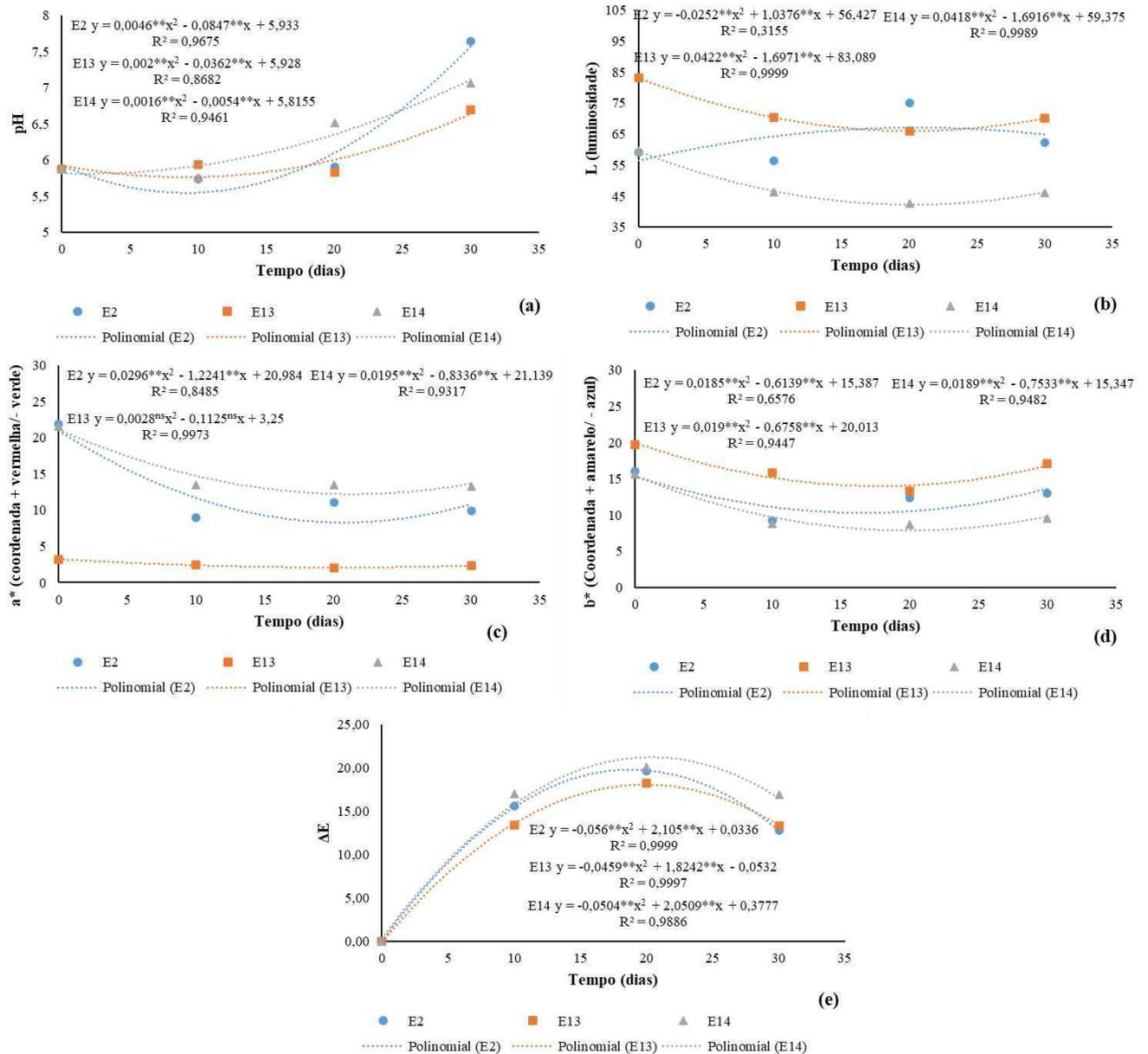


Figura 7. pH da carne de tilápia, parâmetros colorimétricos (L, a* e b*) e mudança de cor (ΔE) do filme indicador durante os 30 dias de armazenamento refrigerado

Fonte: Autora (2024)

A Tabela 8 dispõe dos valores do pH da carne de tilápia, parâmetros colorimétricos (L, a* e b*) e mudança de cor (ΔE) do filme indicador durante os 30 dias de armazenamento refrigerado. Para o parâmetro pH, em relação ao tempo, após 10 dias, não houve diferença significativa entre as amostras, enquanto ao vigésimo dia a amostra E14 diferenciou significativamente das demais. Por fim, aos 30 dias de análise todas foram diferentes estatisticamente, sendo a E13 o menor valor de pH, seguida da E14 e E2; respectivamente, 6,70, 7,06 e 7,64.

Ao verificar cada uma das embalagens durante o tempo de armazenamento (Tabela 8), observa-se que dos valores de pH para a amostra E2 apenas a última aferição diferiu estatisticamente das demais; o mesmo ocorreu com a E13. Enquanto a amostra E14 apresentou diferença estatística aos 20 e 30 dias de análise, sendo este último o maior valor de pH.

Soares (2012) ao avaliar a estimativa da vida útil do filé de tilápia do nilo armazenada em gelo, observou que o pH da tilápia inteira variou de 5,9 a 7,11, ao décimo oitavo dia de estudo. Valores semelhantes aos obtidos nesse estudo, onde o pH da amostra E2 diferenciou de 5,87-7,64; E13 de 5,87-6,70 e E14 de 5,87-7,06; uma vez que as alterações no pH, advindas da desnaturação de proteínas e formação de bases voláteis de baixo peso molecular, ocorrem mesmo em condições de refrigeração ou congelamento (El-Hanafy *et al.*, 2011; Dang *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019; Ferrigolo *et al.*, 2021).

Tabela 8. Valores do pH da carne de tilápia, parâmetros colorimétricos (L, a* e b*) e mudança de cor (ΔE) do filme indicador durante os 30 dias de armazenamento refrigerado

| Parâmetro | Tempo (dias) | Embalagem | | |
|--|--------------|----------------------|----------------------|---------------------|
| | | E2 | E13 | E14 |
| pH | 0 | 5,87 ^{aB} | 5,87 ^{aB} | 5,87 ^{aC} |
| | 10 | 5,74 ^{aB} | 5,94 ^{aB} | 5,76 ^{aC} |
| | 20 | 5,91 ^{bB} | 5,83 ^{bB} | 6,52 ^{aB} |
| | 30 | 7,64 ^{aA} | 6,70 ^{cA} | 7,06 ^{bA} |
| L (luminosidade) | 0 | 59,08 ^{bB} | 83,11 ^{aA} | 59,47 ^{bA} |
| | 10 | 56,32 ^{bB} | 70,27 ^{aB} | 46,35 ^{cB} |
| | 20 | 75,05 ^{aA} | 66,08 ^{bB} | 42,54 ^{cB} |
| | 30 | 62,20 ^{bB} | 70,11 ^{aB} | 46,13 ^{cB} |
| a* (coordenada + vermelha/ - verde) | 0 | 21,89 ^{aA} | 3,24 ^{bA} | 21,55 ^{aA} |
| | 10 | 8,98 ^{bB} | 2,43 ^{cA} | 13,52 ^{aB} |
| | 20 | 11,04 ^{aB} | 2,07 ^{bA} | 13,5 ^{aB} |
| | 30 | 9,95 ^{bB} | 2,36 ^{cA} | 13,27 ^{aB} |
| b* (coordenada + amarelo/ - azul) | 0 | 16,02 ^{bA} | 19,77 ^{aA} | 15,64 ^{bA} |
| | 10 | 9,20 ^{bC} | 15,88 ^{aBC} | 8,83 ^{bB} |
| | 20 | 12,42 ^{aB} | 13,36 ^{aC} | 8,74 ^{bB} |
| | 30 | 13,01 ^{bAB} | 17,06 ^{aAB} | 9,51 ^{cB} |
| ΔE | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 10 | 15,59 | 13,44 | 16,98 |
| | 20 | 19,64 | 18,24 | 20,10 |

| | | | |
|----|-------|-------|-------|
| 30 | 12,83 | 13,34 | 16,91 |
|----|-------|-------|-------|

Diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significativas entre as distintas embalagens pelo teste Tukey ($p < 0,01$). Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de armazenamento (dias) para cada tratamento pelo teste Tukey ($p < 0,01$).

Fonte: Autora (2024)

O parâmetro L (Tabela 8), em relação ao tempo, apresentou diferenças significativas entre as amostras, durante todos os dias de análise, onde a embalagem E13 possuiu o maior valor inicial e final deste parâmetro, uma vez que o mesmo não possuía o extrato do bagaço de uva, que interferiu diretamente na luminosidade das amostras. Ao verificar a embalagem durante o tempo de armazenamento, observa-se que os valores de luminosidade para a amostra E2 variaram pouco entre si, onde apenas o valor da terceira leitura (75,05) variou dos demais. O mesmo ocorreu com a E13 e E14, onde o dia 0 diferiu estatisticamente dos demais dias de análise.

Para a coordenada de cor a^* (vermelha), disposta na Tabela 8, no dia 0 e 20 não houve diferença estatística para as amostras E2 e E14, ambas com o extrato de antocianinas. Enquanto a embalagem E13 diferiu das demais em todos os dias de análise, dado que a mesma não possuía extrato, ou seja, embalagem controle; logo ao pontuar cada amostra nos dias de armazenamento, a E13 não divergiu estatisticamente, se mantendo constante. Um mesmo processo ocorreu para as amostras E2 e E14, onde o maior valor de a^* foi no dia 0, respectivamente, 21,89 e 21,55; ocorrendo a perda da coloração avermelhada durante o processo de armazenamento.

O parâmetro de cor amarela (b^*) (Tabela 8), apresentou diferenças significativas entre as amostras durante todos os dias de análise, onde a embalagem E13 possuiu o maior valor inicial e final deste parâmetro e diferiu significativamente das demais durante os dias 0, 10 e 30; ao vigésimo dia de análise o filme E2 foi estatisticamente igual ao E13. A amostra E13 se sobressaiu das demais para o b^* , pois não possui o extrato do bagaço de uva, interferindo diretamente nos valores deste parâmetro. Ao verificar a embalagem durante o tempo de armazenamento, percebe-se que todas apresentaram a mesma característica, a qual os dias de análise 10 e 20, obtiveram os menos valores de b^* para cada uma das amostras.

Para a mudança de cor (ΔE), exposta na Tabela 8, não houve efeito significativo. E, apesar dos altos valores obtidos, não apresentou mudança de cor ao olho nu. Logo, as embalagens poliméricas aditivadas com extrato do bagaço de uva não podem ser utilizadas como embalagem inteligente indicadora de pH.

Resultados diferentes foram obtidos por Arenas (2012) em seu estudo sobre embalagens inteligentes a partir de amido e incorporados com extrato de resíduo vinícola aplicado em peixe durante armazenamento refrigerado (4 °C), observou durante os dias de análise, uma variação do parâmetro L bem como uma diminuição da coordenada vermelha (a*), aumento da coordenada amarela (b*) e um valor de ΔE acima de 12; que segundo a literatura já citada anteriormente, indica a total mudança de cor visível até para painéis não treinados. Logo, o fator que influenciou a não mudança de cor deste estudo foi a matriz polimérica proteica.

3.6. Teste de ativação dos filmes ativos em carne de tilápia

Ao verificar a análise de variância das variáveis TBARS e N-BVT (Tabela 9) foi possível observar que foram constatados efeitos significativos ($p < 0,01$) para ambos os parâmetros nas variáveis tempo, embalagem e tempo *versus* embalagem.

Tabela 9. Resumo da análise de variância para TBARS e N-BVT

| Fonte de variação | Grau de liberdade | Parâmetro | |
|------------------------|-------------------|-----------|--------------|
| | | TBARS | N-BVT |
| Tempo | 4 | 2,036** | 48.018,826** |
| Embalagem | 2 | 0,163** | 2.006,831** |
| Tempo*Embalagem | 8 | 0,087** | 2.415,580** |
| Erro | 30 | 0,07 | 0,749 |
| CV (%) | | 8,09 | 1,13 |
| Média geral: | | 0,6 | 76,886 |

CV (%): Coeficiente de variação experimental; **: Significativo a 0,01 de significância.

Fonte: Autora (2024)

O teste de ativação do filme polimérico em filé de tilápia *in natura* foi realizada a fim de testar sua eficiência como embalagem ativa. Na Figura 8, estão dispostos os gráficos que indicam efeito de regressão para o parâmetros TBARS e N-BVT da carne de tilápia em função do tempo de armazenamento.

Houve feito de regressão polinomial ao longo dos dias para ambos os parâmetros e embalagens, onde o coeficiente de determinação (R^2) foi acima de 0,92; indicando um ótimo ajuste desse modelo. Ao fim dos 60 dias de análise a embalagem E14 foi a mais eficaz em retardar tanto a oxidação lipídica (método de TBARS) quanto o aumento das bases nitrogenadas voláteis (N-BVT), seguida da E2 e E13. Resultado esperado, uma vez que a embalagem controle (E13) não possuía o extrato ativo.

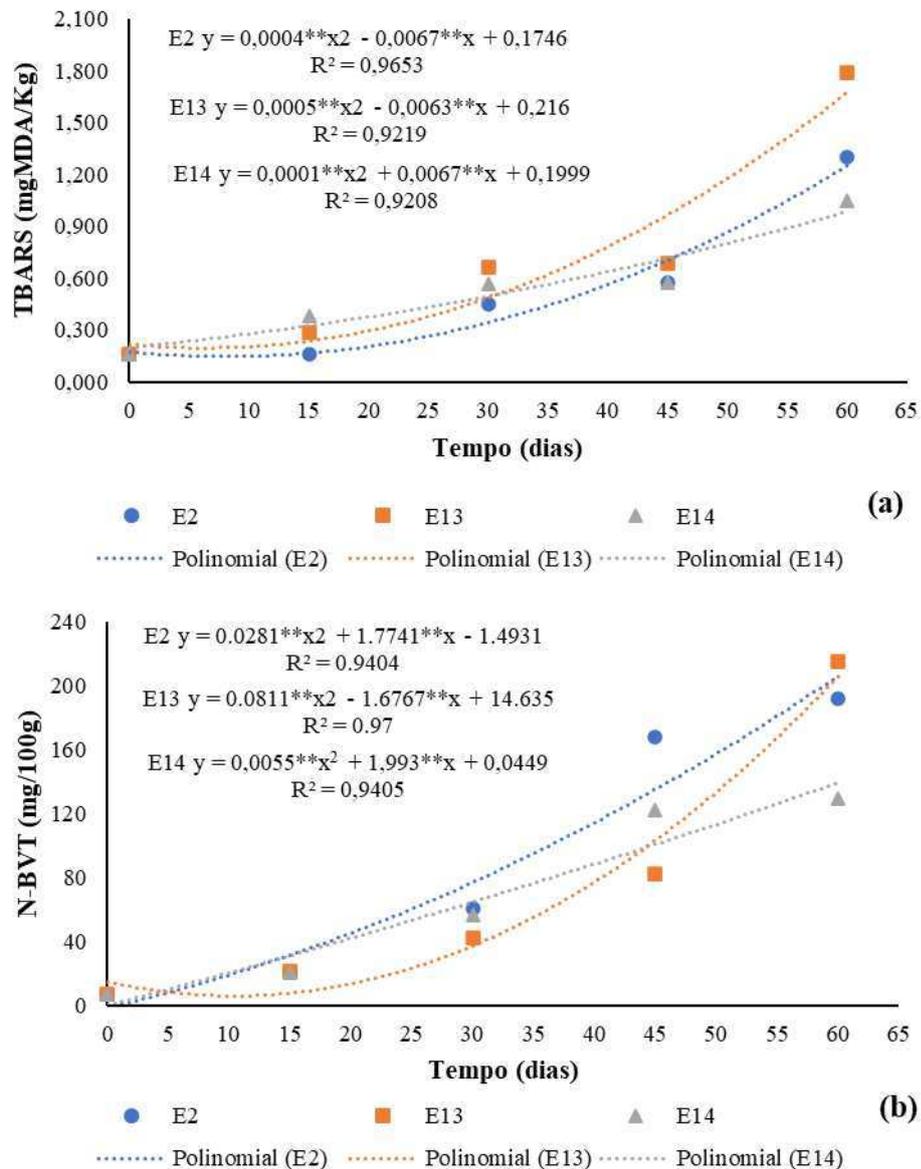


Figura 8. TBARS e N-BVT em filé de tilápia in natura embalado com filmes ativos e controle durante os 60 dias de armazenamento refrigerado

Fonte: Autora (2024)

A Tabela 10 contém os valores de TBARS e N-BVT em filé de tilápia *in natura* embalado com filmes ativos e controle, durante armazenamento refrigerado. Para o parâmetro TBARS, ao verificar cada amostra dentro dos dias de análise, nota-se que houve um aumento gradativo, o que já era esperado por conta do processo oxidativo que ocorre durante o armazenamento; onde dos 45 aos 60 dias de análise intensificou essa oxidação, a qual foi observada para todas as amostras.

Ainda, de acordo com a Tabela 10, percebe-se que os valores das amostras a partir do décimo quinto dia de análise divergiram entre si, onde aos 60 dias de análise houve a maior variação, em que a amostra que mais oxidou foi a E13 (embalagem controle) e a de menor

valor foi a E14, a qual a embalagem possui a maior quantidade do extrato antioxidante, indicando a sua eficiência frente a oxidação lipídica.

A literatura diverge sobre o valor máximo de TBARS para que o alimento seja considerado seguro e aceitável para o consumo. Lorenzo *et al.* (2014) estabelece um valor máximo de 1,5 mg MDA/Kg por amostra, enquanto Yahaya *et al.* (2019) 1,0 mg MDA/Kg amostra. Observa-se na Tabela 10 que após os 60 dias de armazenamento refrigerado todos os tratamentos superaram o limite máximo definido por Yahaya *et al.* (2019), enquanto que apenas a amostra E13 (controle) ultrapassou o valor citado por Lorenzo *et al.* (2014), comprovando mais uma vez a eficácia frente a oxidação lipídica das embalagens contendo o extrato ativo antioxidante.

Tabela 10. Valores de TBARS e N-BVT em filé de tilápia *in natura* embalado com filmes ativos e controle, durante armazenamento refrigerado

| Parâmetro | Tempo (dias) | Embalagem | | |
|----------------------|--------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | E2 | E13 | E14 |
| TBARS (mg MAD/kg) | 0 | 0,161 ^{aD} | 0,161 ^{aD} | 0,161 ^{aD} |
| | 15 | 0,159 ^{bD} | 0,289 ^{aC} | 0,380 ^{aC} |
| | 30 | 0,447 ^{bC} | 0,660 ^{aB} | 0,564 ^{aB} |
| | 45 | 0,574 ^{bB} | 0,683 ^{aB} | 0,572 ^{bB} |
| | 60 | 1,3 ^{bA} | 1,789 ^{aA} | 1,045 ^{cA} |
| N-BVT (mg N/100g) | 0 | 6,81 ^{aE} | 6,81 ^{aE} | 6,81 ^{aE} |
| | 15 | 20,31 ^{aD} | 21,69 ^{aD} | 20,23 ^{aD} |
| | 30 | 60,62 ^{aC} | 42,34 ^{cC} | 56,96 ^{bC} |
| | 45 | 168,30 ^{aB} | 82,63 ^{cB} | 122,08 ^{bB} |
| | 60 | 192,4 ^{bA} | 215,36 ^{aA} | 129,89 ^{cA} |

Diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significativas entre as distintas embalagens pelo teste Tukey ($p < 0,01$). Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de armazenamento (dias) para cada tratamento pelo teste Tukey ($p < 0,01$).

Fonte: Autora (2024).

Ainda não há certeza sobre como ocorre o mecanismo de ação dos antioxidantes em embalagens ativas no combate à formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Portanto, não é verossímil afirmar se o mecanismo de ação ocorre através da migração de moléculas antioxidantes, inativando os radicais livres; ou se pela eliminação de moléculas oxidantes da carne para o filme ativo (Camo, 2011; Turella, 2019). O que se pode comprovar de forma evidente é que o uso das embalagens ativas com incorporação do extrato do bagaço de uva (tratamentos E2 e E14) foram eficientes no combate da oxidação lipídica em filés de tilápia.

Uma das formas de se quantificar o grau de frescor de pescado é através da medição de bases nitrogenadas como a amônia, trimetilamina e dimetilamina. O pescado refrigerado é deteriorado por ação bacteriana, resultando na produção destes compostos nitrogenados. O teor destas substâncias é quantificado através do teor do Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (N-BVT), que aumentam em função da deterioração do produto (Huss, 1988; Almeida *et al.*, 2006; Soares, 2012).

Ao analisar o parâmetro N-BVT (Tabela 10), para cada amostra dentro dos dias de análise, nota-se que assim como o TBARS, ocorreu uma elevação gradual durante os dias de estudo, processo natural que ocorre na carne de tilápia ao verificar, nota-se que houve um aumento, gradativo, o que já era esperado por conta do processo oxidativo que ocorre durante o armazenamento; onde dos 45 aos 60 dias de análise intensificou essa oxidação, a qual foi observada para todas as amostras.

Conforme a Tabela 10, verifica-se que as amostras não divergiram entre si até o décimo quinto dia, entretanto houve diferenças significativas a partir do terceiro ensaio, estendendo ao próximo, onde a amostra controle (E13) obteve os menores valores de N-BVT, seguido da E14 e E2. Aos 60 dias de análise, as amostras também divergiram significativamente, no entanto a amostra E13 obteve o maior valor de bases voláteis nitrogenadas 215,36 mg N/100g, enquanto as amostras contendo o extrato ativo (E2 e E14), obtiveram respectivamente, 192,4 e 129,89 mg N/100g. Pode-se concluir que apesar da amostra controle possuir os menores valores de N-BVT nas análises anteriores, ao fim do estudo as amostras ativas foram mais eficientes em retardar essa degradação, sendo a embalagem E14, consideravelmente melhor.

A legislação brasileira preconiza que o limite máximo das bases nitrogenadas voláteis (N-BVT) permitido é de 30 mg N/100g (Brasil, 2017). Logo, de acordo com os valores dispostos na Tabela 10, a partir dos 45 dias de análise todas as amostras já não estavam aptas para o consumo, indicando a sua degradação.

Soares (2012) em seu estudo com filés de tilápia armazenados em gelo, atingiu teores de N-BVT que variaram de 5,58 a 31,55 mg N/100g, respectivamente, nos dias 0 e 18. Prabhakar *et al.* (2019) analisaram o teor de N-BVT em filés de carpa rohu (*Labeo rohita*) armazenado sob condições limitadas de refrigeração (5 e 0°C) e congelado (-5°C) por 42 dias, e obtiveram um valor inicial de N-BVT de $4,57 \pm 0,321$ mg N/100g, após o 42º dia de armazenamento a 5, 0 e -5°C foi de $46,56 \pm 0,994$, $28,69 \pm 0,231$ e $10,09 \pm 0,115$ mg N/100g, respectivamente. Concluindo assim, que a temperatura influencia no processo de formação das bases voláteis nitrogenadas, visto que, nos filés a 5°C ocorreu à maior ação enzimática, microbiana e de

autólise; efeito semelhante ao qual ocorreu nesta pesquisa, uma vez que os filés foram armazenados refrigerados.

4. Conclusão

As embalagens biopoliméricas E13 e E14 se sobressaíram frente a E2 nos testes de propriedades mecânicas, uma vez que se mostraram mais rígidas, menos deformáveis e mais fortes até o momento da ruptura. O fator principal que influenciou nesse resultado foi a formulação dos filmes, visto que E13 e E14 possuem a mesma quantidade de gelatina e mistura pectina/glicerina, sendo maior que o presente na amostra E2. Em relação a biodegradabilidade das embalagens, observa-se que aos 12 dias de ensaio as amostras E2 e E13 se degradaram totalmente, enquanto a E14 foi após 15 dias; justificado pois seu peso inicial era maior que as demais. A toxicidade dos filmes foi analisada, sendo as amostras E2 e E14 consideradas atóxicas enquanto a embalagem E13 possui baixa toxicidade, uma vez que a mesma não possui extrato de antocianinas, caracterizado como atóxico.

A composição centesimal, o pH e a atividade de água (*Aa*) do filé de tilápia *in natura* estava de acordo com os valores encontrados na literatura, assim como os valores de TBARS e N-BVT que confirmaram o frescor da amostra. Em relação a ativação dos filmes inteligentes em carne de tilápia, pode-se concluir que o pH aumentou, tendendo ao alcalino, durante os 30 dias de análise; entretanto, não houve mudança de cor dos pigmentos da embalagem, apenas a degradação do mesmo, uma vez que todos os parâmetros de cor (L, a* e b*) diminuíram durante o armazenamento. Por fim, para o teste de ativação dos filmes ativos em carne de tilápia, observa-se que ao fim dos 60 dias de análise, as embalagens aditivadas com extrato do bagaço de uva foram eficazes ao retardar a oxidação lipídica e o aumento das bases voláteis nitrogenadas, sendo a embalagem E14 considerada a mais eficiente.

REFERÊNCIAS

- Almeida, N.M.; Batista, G. M.; Kodaira, M.; Lessi, E. (2006). Alterações pos mortem em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo. *Ciência Rural*, 36(4), 1288-1283.
- Altemio, A. D. C.; Lyra, B. I. P.; Esteves, C. S.; Andrade, R. R. C.; Aranha, C. P. M.; Martelli, S. M. (2023). Reaproveitamento de matérias-primas oriundas da filetagem para produção de carne mecanicamente separada de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização física e química. *Peer Review*, 5(19), 202–218. DOI: 10.53660/884.prw2510.

Alves, R. do N. *et al.* (2018) Desenvolvimento e caracterização de filme biodegradável inteligente à base de amido de banana verde e extrato de Brassica oleraceae (repolho roxo). *Hig. aliment*, 117-122.

Amarante, C. B., Müller, A. H., Póvoa, M. M. & Dolabela, M. F. (2011). Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). *Acta Amazônica*, 41 (3), 431-434.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. (2012). *Official methods of analysis of AOAC International (19th ed.)*. Washington, D.C.: AOAC International.

ASTM - AMERICAN SOCIETY STANDARD TESTING AND MATERIALS (ASTM). (2002). ASTM D882-02: *Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting*. Philadelphia.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. (2012). ASTM D882-12: *Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*. West Conshohocken,.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. (2016). ASTM E96/E96M-16 *Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*.

Bligh E. G., Dyer W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Bioch.* 37, 911-917.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (1981). Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria nº 01, de 07 de outubro de 1981. *Aprova os Métodos Analíticos para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes, Constituindo-se em Métodos Microbiológicos e Métodos Físicos e Químicos*. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (1999). Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. *Métodos analíticos físico químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura*. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2017). Decreto nº 9.013, de 29 mar 2017. *Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF. 108p.

Baldin, J. C. (2016). *Avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante do extrato de jabuticaba (Myrciaria cauliflora) microencapsulado adicionado em linguiça frescal e mortadela*. 100 p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/74/74132/tde-03052016-082922/>. Acesso em: 06 fev. 2024.

Boeira, C. P. (2022). *Embalagem ativa de base biológica: filme com extrato de estigma de milho para conservação de carne bovina refrigerada*. 127 p. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.

Camilo, F. F. (2021). Utilização do bioindicador *Artemia salina* na avaliação toxicológica em extratos vegetais de *Allium sativum* com presença de praguicidas. *Revista Saúde e Meio Ambiente*, 12(1), 31-45.

Camo J, Lores A, Djenane D, Beltran JA, Roncales P. (2011). Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. *Meat Science*. 88(1), 174-8.

Carmo, F. S. C. (2020). *Caracterização físico-química e aceitabilidade sensorial do filé de tilápia-do-Nilo, quando criada em diferentes ambientes*. 48p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina.

Clemente, J. N. (2018). *Estabilidade oxidativa de hambúrguer de frango em embalagens ativas com extrato de barbatimão e orégano*. 35 p. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Engenharia de alimentos) - Universidade Federal de Campina Grande.

Cordeiro, D. D. (2019). *Método de Índice de Qualidade (MIQ): Determinação do Prazo de Vida Útil de Corvinas (*micropogonias furnieri, linnaeus, 1766*) Inteiras Estocadas em Gelo*. 45p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural.

Dang, H. T. T. *et al.* (2018). Influence of processing additives, packaging and storage conditions on the physicochemical stability of frozen Tra catfish (*Pangasius hypophthalmus*) filets. *Journal of Food Engineering*, 238, 148-155.

De Lucena, C. A. A., Da Costa, S. C., Eleamen, G. R. D. A., Mendonça, E. A. D. M., & Oliveira, E. E. (2017). Desenvolvimento de biofilmes à base de xilana e xilana/gelatina para produção de embalagens biodegradáveis. *Polimeros*, 27, 35–41. <https://doi.org/10.1590/0104-1428.2223>

Duarte, F. O. S. (2017). *Caracterização da carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida à dietas suplementadas com óleo de peixe*. 195 p. 2017. Tese de Doutorado. Tese (Dissertação em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás.

El-Hanafy, A. E. A.; Shawky, H. A.; Ramadan, M. F. (2011). Preservation of *Oreochromis niloticus* fish using frozen green tea extract: impact on biochemical, microbiological and sensory characteristics. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35, 639-646.

Ferrigolo, F. R. G. *et al.* (2021). Qualidade físico química e sensorial de filés de peixes de água doce. *Ciência e Tecnologia do Pescado: Uma Análise Pluralista*, 3, 166-176. <http://dx.doi.org/10.37885/210805756>.

Han, F. *et al.* (2019). ‘Digestion and absorption of red grape and wine anthocyanins through the gastrointestinal tract’, *Trends in Food Science & Technology*, 83, 211–224.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. (2008). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. *Métodos físico-químicos para análises de alimentos*. 4ª ed. (1ª Edição digital), 1020 p.

Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207(4), 604- 611.

Huss, H.H. (1988). El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. In:FAO. Manual de Capacitación Preparado por el Programa de Capacitación FAO/DANIDA en *Tecnología Pesquera y Control de Calidad*. Roma: FAO, 29.

Jatobá, R.F. e Oliveira Filho, P.R.C. (2017). Silagem biológica elaborada com resíduos de filetagem de saramunete (*Pseudupeneus maculatus*). *Rev. Bras. Eng. Pesca*, 10(1). 58-68, <https://doi.org/10.18817/repesca.v10i1.1170>.

Li Q, Yu H, Wang YN. (2009). In vivo spectroradiometric evaluation of colour matching erros among five shade guides. *Journal of Oral Rehabilitation*. 36(1), 65-70.

Mali, S. *et al.* (2005). Mechanical and thermal properties of yam starch films. *Food Hydrocolloids*, 19(1), 157-164.

Maryam Adilah Z.A., Nur Hanani Z.A. (2016). Active packaging of fish gelatin films with *Morinda citrifolia* oil, *Food Bioscience*, 16, 66-71, ISSN 2212-4292, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.10.002>.

Matiucci, M. A.; Rocha, J. D. M.; Chambó, A. P. S.; Alves, L. F. De S.; Silva, A. A.; Oliveira, G. G.; Corrêa, S. S.; Silva, A. F. da; Gasparino, E.; Goes, E. S. dos R.; Souza, M. L. R. de. (2021). Antioxidant action of natural pigments in smoked Nile tilapia fillets. *Research, Society and Development*, 10(13), e79101320464. DOI: 10.33448/rsd-v10i13.20464.

Medina-Jaramillo, C.; Ochoa-Yepes, O.; Bernal, C.; Famá, L. (2017). Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts, *Carbohydr Polym*. 176, 187-194.

Nguta, J. M.; Mbaria, J. M.; Gakuya, D. W.; Gathumbi, P. K.; Kabasa, J. D.; Kiama, S. G. (2011). Biological screening of Kenyan medicinal plants using *Artemia Salina* L. (*Artemiidae*). *Pharmacologyonline* 2, 458-478.

Lorenzo J. M., Batlle R., Gomez M. (2014). Extension of the shelf-life of foal meat with two antioxidant active packaging systems. *Lwt-Food Science and Technology*. 59(1),181-8.

Ogawa N. B. P., e Maia E.L. (1999). *Manual de Pesca: ciência e tecnologia do pescado*. São Paulo: Varela, 430p.

Oliveira de Moraes, J. *et al.* (2015). Conductive drying of starchfiber films prepared by tape casting: Drying rates and film properties. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 356–366.

Prabhakar, P. K.; Srivastav, P. P.; Pathak, S. S. (2019). Kinetics of total volatile basic nitrogen and trimethylamine formation in stored rohu (*Labeo rohita*) fish. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28(5), 452-464.

Peixe BR. (2023). *Anuário Peixe BR da Piscicultura de 2023*. Disponível em: <https://www.embrapa.br/cim-centro-de-inteligencia-e-mercado-emaquicultura/publicacoes/anuario-peixebr-da-piscicultura> . Acesso em: 26 de nov. de 2023.

Pereira, D. G. de M. (2020). *Desenvolvimento e caracterização de uma embalagem ativa com incorporação de Salicornia ramosissima: Testes de biodegradação e de libertação controlada*. 58 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Alimentos, Universidade do Algarve.

Perez-Gago, M. P.; Krochta, J. M. (2000). Drying temperature effect on water vapor permeability and mechanical properties of whey protein-lipid emulsion films. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 60-74.

Pinheiro, M. N. dos S. (2019). *Microencapsulação de extrato de bagaço de uva*. 78p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia Universidade do Porto.

Piñeros-Hernandez, D., Medina-Jaramillo, C., López-Córdoba, A., & Goyanes, S. (2017). Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 63, 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.034>

Sartori, A. G. O., e Amâncio, R. D. (2012). Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 19(2), 83-93. <http://dx.doi.org/10.20396/san.v19i2.8634613>

Sary, C. (2018). *Óleos essenciais de cravo (eugenia caryophyllus) e canela (cinnamomum zeylanicum) em dietas para tilápia do nilo (oreochromis niloticus)*. 92p. Tese (Doutorado) - Curso de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá.

Sirohi, R.; Tarafdar, A.; Singh, S. *et al.* (2020). Green processing and biotechnological potential of grape pomace: Current trends and opportunities for sustainable biorefinery. *Bioresource Technology Elsevier Ltd*.

Silva, L. R. e Queiroz, M. (2016) 'Bioactive compounds of red grapes from Dão region (Portugal): Evaluation of phenolic and organic profile', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(4), 315–321.

Silva, N. S. *et al.* (2018). Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. *CyTA-Journal of Food*, 16, 340-349.

Silva, N. L.; Santos, A. A. L.; Oliveira, A. R. C.; Santos, M. de S.; Silva, R. O.; Silva, K. O. (2023). Triagem fitoquímica e estudo da atividade antioxidante e toxicidade das folhas e dos frutos de morinda citrifolia l. ("NONI"). *BIOFARM - Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management*, 17(4), 996–1014. Disponível em: <https://revista.uepb.edu.br/BIOFARM/article/view/2316>. Acesso em: 6 fev. 2024.

Silva, E. D. C. da; Amaral, R. P. C.; Oliveira Filho, P. R. Campagnoli de. (2022). Avaliação da tecnologia do ultrassom sobre aspectos físico-químicos e nutricionais de marinados de filés

de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arquivos de Ciências do Mar*, 55(1), 67-77. <http://dx.doi.org/10.32360/acmar.v55i1.72047>.

Soares, K. M. de P. (2012). *Método do índice de qualidade (miq) na estimativa da vida útil da tilápia do nilo (oreochromis niloticus), nas formas inteira, eviscerada e em filé, armazenada em gelo*. 110p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

Tassanawat, S; Phandee, A; Magaraphan, R; Nihitanakau, M; Manuspiva, H. (2007). pH-sensitive PP/clay nanocomposites for beverage smart packaging. In: *Proceedings of the 2nd IEEE International, Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems*, 478-482.

Terra, N. N. (1988). *Carne e seus derivados: tecn. de controle de qualidade*. NBL editora.

Tilami, S.K. e Sampels, S. (2018). Nutritional value of fish: lipids, proteins, vitamins, and minerals. *Rev. Fish. Sci. Aquac.*, 26(2), 243-253. <https://doi.org/10.1080/23308249.2017.1399104>.

Tongnuanchan, P.; Benjakul, S.; Prodpran, T. (2013). Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. *J. Food Eng.* 117, 350–360

Turella, C. C. B. (2019). *Desenvolvimento e avaliação de filmes incorporados de extratos naturais e determinação da oxidação em filés de tilápia*. 101 p. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás.

Vargas, B. K. (2017). *Avaliação Microbiológica, Físico-química e Sensorial de Filés de Traíra (hoplias malabaricus) Comercializados na 236ª Feira do Peixe de Porto Alegre- RS*. 47p. Monografia (Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Viana, Z.C.V.; Silva, E.; Fernandes, G.B. & Santos, V.L.C.S. (2013). Composição centesimal em músculo de peixes no litoral do estado da Bahia/Brasil. *Rev. Ciênc. Méd. Biol.* 12(2), 157-162.

Wang L. C.; Chen X. G.; Zhong D.; Xu Q. C. (2007). Study on poly (vinyl alcohol)/carboxymethylchitosan blend film as local drug delivery system. *Journal of Material Science: Material in Medicine*. 18(6), 1125-33.

Wang, Z-C. *et al.* (2018). Influence of postmortem treatment with nitric oxide on the muscle color and color stability of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. *Nitric Oxide*. 76, 122-128. <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2017.09.009>.

Wang, Z-C. *et al.* (2019). Effective inhibition and simplified detection of lipid oxidation in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets during ice storage. *Aquaculture*, 511, 634-641.

Yahaya W. A. W., Abu Yazid N, Azman N. A. M., Almajano M.P. (2019). Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of Malaysian Herbs as Components of Active Packaging Film in Beef Patties. *Antioxidants*. 8(7).

Zetty-Arenas, A. M. (2012). *Filme biodegradável à base de fécula de mandioca como potencial indicador de mudança de pH*. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3137/tde-12032013-150645/>. Acesso em: 06 dez. 2024.

APÊNDICE

APÊNDICE A. VALORES DAS ANÁLISES DE COR, OPACIDADE, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E SOLUBILIDADE DAS EMBALAGENS

Tabela 11. Valores dos Parâmetros analisados de acordo com as formulações testadas.

| Embalagem | Formulações | | | | Parâmetros | | | | |
|-----------|-------------|-----------------------|---------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | Gelatina | Glicerina/ Pectina | Extrato | L | a* | b* | Opacidade | Antioxidante | Solubilidade |
| 1 | 5,74 | 3,72 | 12,72 | 81,89 ^a | 6,57 ^g | 8,85 ^h | 1,21 ^{bcd} | 86,26 ^{ab} | 32,66 ^d |
| 2 | 5,74 | 3,72 | 50,00 | 62,50 ^f | 26,27 ^a | 10,79 ^g | 1,70 ^a | 94,35 ^a | 38,16 ^{abc} |
| 3 | 5,74 | 9,90 | 12,72 | 78,05 ^b | 9,69 ^{ef} | 15,62 ^{def} | 0,69 ^{fg} | 94,02 ^a | 39,59 ^a |
| 4 | 5,74 | 9,90 | 50,00 | 47,89 ^h | 26,13 ^a | 11,08 ^g | 0,89 ^{defg} | 93,93 ^a | 38,72 ^{ab} |
| 5 | 12,00 | 3,72 | 12,72 | 73,80 ^{cd} | 8,06 ^{fg} | 20,65 ^b | 0,65 ^g | 75,69 ^{cd} | 37,87 ^{abc} |
| 6 | 12,00 | 3,72 | 50,00 | 64,00 ^f | 18,05 ^c | 15,25 ^{def} | 1,11 ^{bcd} | 24,35 ^f | 34,30 ^{bcd} |
| 7 | 12,00 | 9,90 | 12,72 | 71,52 ^{de} | 10,09 ^{ef} | 26,00 ^a | 0,73 ^{efg} | 50,10 ^e | 37,85 ^{abc} |
| 8 | 12,00 | 9,90 | 50,00 | 56,52 ^g | 22,43 ^b | 16,91 ^d | 1,45 ^{ab} | 70,66 ^d | 37,58 ^{abc} |
| 9 | 3,60 | 6,80 | 31,36 | 75,64 ^{bc} | 14,54 ^d | 6,97 ⁱ | 1,05 ^{cdef} | 94,22 ^a | 37,96 ^{abc} |
| 10 | 14,14 | 6,80 | 31,36 | 75,53 ^{bc} | 10,85 ^e | 14,39 ^f | 1,06 ^{cdef} | 28,23 ^f | 38,50 ^{abc} |
| 11 | 8,86 | 1,60 | 31,36 | 68,98 ^e | 14,38 ^d | 11,95 ^g | 1,45 ^{ab} | 94,22 ^a | 34,16 ^{cd} |
| 12 | 8,86 | 12,00 | 31,36 | 55,73 ^g | 22,34 ^b | 18,62 ^c | 1,25 ^{bcd} | 94,43 ^a | 37,16 ^{abcd} |
| 13 | 8,86 | 6,80 | 0,00 | 82,39 ^a | 3,78 ^h | 20,71 ^b | 0,65 ^g | 10,44 ^g | 38,38 ^{abc} |
| 14 | 8,86 | 6,80 | 62,72 | 50,683 ^h | 24,11 ^{ab} | 10,97 ^g | 1,45 ^{ab} | 94,35 ^a | 34,49 ^{bcd} |
| 15 © | 8,86 | 6,80 | 31,36 | 71,16 ^{de} | 15,16 ^d | 16,12 ^{de} | 1,15 ^{bcd} | 77,34 ^{bcd} | 36,88 ^{abcd} |
| 16 © | 8,86 | 6,80 | 31,36 | 72,09 ^{de} | 14,37 ^d | 15,14 ^{ef} | 1,09 ^{bcde} | 80,56 ^{bc} | 36,28 ^{abcd} |
| 17 © | 8,86 | 6,80 | 31,36 | 70,4 ^e | 15,46 ^d | 16,41 ^{de} | 1,37 ^{abc} | 82,05 ^{bc} | 35,96 ^{abcd} |

Diferentes letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas entre as formulações para cada parâmetro pelo teste Tukey ($p < 0,01$).