

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CARACTERIZAÇÃO DA PELE E DA GELATINA  
EXTRAÍDA DE PELES CONGELADAS E SALGADAS DE  
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

Autora: Adriana Cristina Bordignon  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Luiza R.S. Franco

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro - 2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CARACTERIZAÇÃO DA PELE E DA GELATINA  
EXTRAÍDA DE PELES CONGELADAS E SALGADAS DE  
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

Adriana Cristina Bordignon  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Luiza R.S. Franco

Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Fevereiro - 2010

“O que nós somos é presente de Deus para nós e o que  
nós nos tornamos é presente nosso para Deus”

Autor desconhecido

Dedico com muito amor e carinho

Aos meus pais Geni e Venildo

Aos meus irmãos André, Márcio e Catia

As novas integrantes da família Eliana e Aninha

Ao eterno amigo e namorado Jean

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente em todos os dias na minha vida.

Aos meus familiares pelo apoio, incentivo e carinho durante esta jornada de estudos.

À orientadora e amiga Maria Luiza Rodrigues de Souza Franco, pela sua orientação e dedicação para que esse trabalho pudesse ser concluído.

A todos do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá –UEM, em especial ao Francisco e a Bete, para toda a ajuda, e incentivo.

À Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá –UEM, em especial ao Denílson e a Rose, pela amizade e dedicação.

À professora e amiga Eliane Gasparino que sempre me ajudou em tudo que precisei, para realizar esse trabalho.

Aos funcionários da FEL, por toda a ajuda e cooperação para que esse trabalho fosse concretizado.

À Empresa Gelita do Brasil, por ceder sua estrutura para que o experimento pudesse ser realizado, bem como por todo o apoio e orientação da sua excelente equipe de profissionais.

Em especial ao Edson Minori Yajima, que fez o elo entre a Universidade e a Empresa Gelita, sendo o grande responsável pelo andamento da pesquisa.

A todos os funcionários e amigos do pesqueiro Rancho Verde situado em Umuarama, por ter cedido toda a matéria-prima utilizada.

Aos funcionários do Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa, Marcellie do Prado, Vitória Takeuchi, Guilherme Legnani Galan, Emília Dortta, Laís Fiorilli, e Fernando Euclides da Cunha.

Aos grandes amigos eternos que fiz ao longo desta caminhada, Fernanda Catelan, Mayara Corassa, Jaqueline Romero e Edivaldo

Obrigada!

## BIOGRAFIA

ADRIANA CRISTINA BORDIGNON, filha de Venildo Bordignon e Geni Terezinha Brunheira Bordignon, nasceu em Toledo, Estado do Paraná, no dia 08 de abril de 1983.

Em março de 2005 concluiu a graduação em Engenharia de Pesca, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná –UNIOESTE/PR - Campus Toledo.

Em março de 2007, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá.

Submeteu-se, em fevereiro de 2010, à banca para defesa da Dissertação de Mestrado.

## ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1.0 INTRODUÇÃO.....	01
1.1 <b>Aquicultura Mundial e no Brasil</b> .....	01
1.2 <b>Tilápia do Nilo</b> .....	03
1.3 <b>Aproveitamentos de Resíduos na Aquicultura</b> .....	04
1.4 <b>Caracterização da pele de peixe</b> .....	06
1.5 <b>Abate e remoção da pele</b> .....	14
1.6 <b>Conservação</b> .....	14
1.6.1 Métodos de conservação de peles.....	16
1.6.2 Métodos de conservação de pescados.....	17
1.6.3 Métodos de conservação de peles utilizados para produção de gelatina.....	18
1.7 <b>Gelatina</b> .....	19
1.7.1 Utilização da Gelatina.....	20
1.7.2 Métodos de extração de colágeno para produção de gelatina.....	21
1.7.3 Gelatina a partir de peles de peixes.....	22
1.7.3.1 Métodos de extração de colágeno em função dos métodos de conservação das peles para serem utilizadas no processamento.....	24
1.7.3.2 Métodos de extração de colágeno em função dos diferentes ácidos utilizados no processamento.....	25
1.7.3.3 Métodos de extração de colágeno em função da adição de soluções salinas no processamento.....	26

1.7.3.4	Métodos de extração de colágeno em função da técnica de secagem da gelatina.....	28
1.7.3.5	Métodos de extração de colágeno em função da redução de tempo de processamento.....	28
1.7.3.6	Métodos de extração de colágeno em função da alteração da temperatura de processamento.....	28
1.8	<b>Caracterização da gelatina</b> .....	28
1.8.1	Composição centesimal.....	28
1.8.2	Aminoácidos.....	29
1.8.3	Ácidos graxos.....	31
1.8.4	Força de gel.....	32
1.8.5	Propriedades reológicas.....	33
1.8.6	pH.....	34
1.9	<b>Referências</b> .....	35
2.0	OBJETIVOS GERAIS.....	44
3.0	APROVEITAMENTO DE PELES DE TILÁPIA DO NILO ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) CONGELADAS E SALGADAS PARA A EXTRAÇÃO DE GELATINA EM PROCESSO BATELADA.....	45
3.1	<b>RESUMO</b> .....	45
3.2	<b>ABSTRACT</b> .....	46
3.3	<b>Introdução</b> .....	47
3.4	<b>Materiais e Métodos</b> .....	49
3.5	<b>Resultados e Discussão</b> .....	55
3.6	<b>Conclusões</b> .....	63
3.7	<b>Literatura Citada</b> .....	65
4.0	CARACTERIZAÇÃO DAS GELATINAS EXTRAÍDAS DE PELES DE TILÁPIA DO NILO ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) CONGELADAS E SALGADAS.....	69
4.1	<b>RESUMO</b> .....	69
4.2	<b>ABSTRACT</b> .....	70
4.3	<b>Introdução</b> .....	71
4.4	<b>Material e Métodos</b> .....	73
4.5	<b>Resultados e Discussão</b> .....	81
4.6	<b>Conclusões</b> .....	94
4.7	<b>Literatura Citada</b> .....	96

## LISTA DE TABELAS

	Página
INTRODUÇÃO	
Tabela 1	01
Produção e utilização do pescado capturado da aquicultura Mundial.....	
Tabela 2	10
Valores médios de composição centesimal da pele “ <i>in natura</i> ” da tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	
Tabela 3	29
Classificação dos aminoácidos essenciais e não essenciais.....	
Tabela 4	
Composição da gelatina extraída de peixes elasmobrânquios e teleósteos.....	
APROVEITAMENTO DE PELES DE TILÁPIA DO NILO ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) CONGELADAS E SALGADAS PARA A EXTRAÇÃO DE GELATINA EM PROCESSO BATELADA	
Tabela 1	56
Composição centesimal das peles de tilápia do Nilo após sete dias de conservação por congelamento e salga a seco.....	
Tabela 2	57
Minerais investigados nas peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo após sete dias de conservação.....	
Tabela 3	58
Composição centesimal das gelatinas líquidas, após a extração.....	
Tabela 4	59
Dados de força de gel e viscosidade de gelatinas congeladas e salgadas.....	
Tabela 5	62
Análises microbiológicas das peles de tilápia do Nilo.....	
CARACTERIZAÇÃO DAS GELATINAS EXTRAÍDAS DE PELES DE TILÁPIA DO NILO ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) CONGELADAS E SALGADAS	
Tabela 1	84
Composição centesimal de gelatinas de peles de tilápia do Nilo conservadas pelo congelamento e salga.....	
Tabela 2	
Minerais encontrados nas gelatinas de peles de tilápia do Nilo	

		10
	congeladas e salgadas.....	85
Tabela 3	Composição de ácidos graxos de peles e gelatinas extraídas de peles de tilápia do Nilo.....	86
Tabela 4	Aminograma das peles conservadas por congelamento e salga e das gelatinas extraídas de peles de tilápia do Nilo.....	88
Tabela 5	Dados de Bloom e viscosidade de gelatina em pó, extraídas de peles congeladas e salgadas.....	90
Tabela 6	Coloração das gelatinas em pó extraídas de peles de tilápia do Nilo.....	91

## LISTA DE FIGURAS

		Página
	INTRODUÇÃO	
Figura 1	Produção Nacional de pescado.....	02
Figura 2	(A e B) Fotomicrografia da epiderme com as células epiteliais (e), células mucosas (cm), membrana basal (mb) e pigmento (p), derme superficial (ds).....	07
Figura 3	Fotomicrografia da derme da pele de tilápia: (A) mostrando a escama (e) incrustada na derme profunda (dp) e superficial (ds), sendo esta a lamélula de proteção e inserção da escama; (B) Camadas sobrepostas de fibras colágenas longitudinais e fibras colágenas transversais ou perpendiculares em relação à superfície da pele.....	08
Figura 4	Eletromicrografias da derme da pele de peixe, mostrando as camadas sobrepostas ou as fibras horizontais (fh) e os feixes de fibras colágenas transversais ou verticais (fv) a superfície da pele	08
Figura 5	Pele de tilápia. Camada hipodérmica, tecido subcutâneo ou carnal da pele, constituída por carne e gordura.....	09
Figura 6	Estrutura polipeptídica do colágeno.....	12
	APROVEITAMENTO DE PELES DE TILÁPIA DO NILO ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) CONGELADAS E SALGADAS PARA A EXTRAÇÃO DE GELATINA EM PROCESSO BATELADA	
Figura 1	Peles de tilápias em bandejas plásticas no processo de salga a seco. (A) dispostas em camadas sobrepostas de sal; (B) camada de sal	

		12
	cobrimdo totalmente as peles.....	50
Figura 2	Fluxograma de extração da gelatina de peles de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	52
	CARACTERIZAÇÃO DAS GELATINAS EXTRAÍDAS DE PELES DE TILÁPIA DO NILO ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) CONGELADAS E SALGADAS	
Figura 1	Fluxograma de extração da gelatina de peles de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	76

## RESUMO

As gelatinas comerciais são produzidas a partir de peles, ossos e cartilagens de mamíferos, principalmente bovinos e suínos. Em razão de algumas restrições sócio-culturais de islamitas e judaístas e doenças mundialmente conhecidas como a encefalopatia espongiforme bovina (mal da vaca louca) e febre aftosa, causaram muitos problemas para a saúde humana, assim limitando o uso de gelatinas derivadas. Uma matéria-prima alternativa para a extração de gelatinas seria a pele de peixe, pois além de incentivar o aproveitamento integral de resíduos orgânicos gerados com a filetagem, gera lucros extras para o produtor e reduz o efeito prejudicial ao meio ambiente. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as peles e a gelatina extraída de peles conservadas por salga seca e congelamento de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Após a filetagem da tilápia, retirou-se a pele com auxílio de um alicate e foi submetida ao processo de descarte e posteriormente dividida em dois lotes: T1 - peles congeladas a (-18°C) por sete dias e T2 - peles salgadas com sal marinho a temperatura ambiente por sete dias. As peles foram pré-tratadas em solução de 1:6 (pele/água), em que se adicionou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 10N até obter pH 3,0, por 1h a 24°C. A extração da gelatina foi realizada em banho-maria a 50°C, por 1h e após a extração, realizou-se a filtração à vácuo. Experimento I, após a filtração da gelatina retirou-se uma amostra para realizar análise do perfil molecular e uma amostragem foi congelada a (-18°C) para realizar a composição centesimal da gelatina líquida. As peles após conservação por congelamento e salga apresentaram, 78,13% e 76,46% de umidade, 18,16% e 19,59% de proteína bruta, 2,26% e 1,90% de extrato etéreo e 1,44% e 2,06% de cinzas. Para as gelatinas líquidas de peles congeladas e salgadas, observou-se: 97,68% e 96,08% de umidade, 3,18% e 4,12% de proteína bruta, 0,29% e 0,18% de extrato etéreo e 2,31% e 3,03% de cinzas. Quanto às propriedades reológicas foram observados valores da força de gel de 200g para gelatina de peles salgadas, 12,7g para congelada. A viscosidade foi significativamente maior para a gelatina salgada (19,02mPas) comparada à congelada (9,16mPas). Experimento II, após a filtração da gelatina, esta foi concentrada em evaporadora semi-industrial, gelificada em geladeira, triturada e posta em secadora com ventilação de ar forçado a temperatura ambiente até secagem total e a 50°C por mais 4h. Moída e embalada para a realização das análises de rendimento, composição centesimal, força de gel, viscosidade, hidroxiprolina, ácidos graxos poli-insaturados, coloração, aminoácidos, pH, microbiologia. As gelatinas congeladas e salgadas apresentaram 11,92% e 11,68% de umidade, 84,47% e 85,65% de proteína, 0,047% e 0,025% de extrato etéreo e 2,37% e 2,51% de cinzas. A força de gel e a viscosidade foram maiores para as gelatinas salgadas (200g e 19,02mPas), em relação às gelatinas congeladas (12,7g e 9,16mPas). Ácidos graxos poli-insaturados encontrados foram: ácido palmítico, 45,12% e 46,67%, ácido esteárico, 18,91% e 29,17% e ácido oleico, 35,96% e 24,15%, respectivamente. Para a hidroxiprolina encontrou-se (8,71%) gelatinas congeladas e (8,67%) para as salgadas. A coloração foi mais intensa na gelatina congelada (74,62%) e menos na salgada (53,60%). Valores de aminoácidos encontrados nas gelatinas congeladas e salgadas em maiores proporções foram: a glicina (225,2 e 222,0/1000 resíduos), (alanina 100,7 e 100,4/ 1000 resíduos), prolina (125,9 e 123,4/ 1000 resíduos), respectivamente. O pH para a gelatina extraída de peles congeladas foi de (6,71) enquanto a extraída com peles salgadas (6,48). As análises microbiológicas demonstraram que ambas as gelatinas encontram-se dentro dos limites toleráveis pela legislação para todos os parâmetros analisados. A gelatina que apresentou as melhores

características foi a conservada por salga, pois além de garantir maior estabilidade à pele, reduziu o seu peso, facilitando assim o transporte e sua obtenção para industrialização.

**Palavras-Chave:** tilápia do Nilo, extração de colágeno, composição centesimal, força de gel

## ABSTRACT

Commercial gelatins are produced from the skin, cartilage and bones of mammals, especially cattle and pork. However, because of social and cultural restrictions by Muslims and Jews, who consume gelatin made from alternative sources, and certain diseases such as spongiform encephalopathy (mad cow disease) and foot-and-mouth disease, the use of mammal-based gelatins has been reduced in functional foods, cosmetics and pharmaceuticals. One of the great challenges in the production chain of fish culture is the use of residue from the filleting process. The high volume of residue can have an environmental impact, so there is need to add value to that activity. The objective of this work was to perform the collagen extraction and characterize the gelatin from skins of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different preservation methods. After the tilapia were filleted, the skins were removed using pliers, the meat was removed, and the skins were divided into two lots: T1 – skins frozen at -18°C for 7 days, and T2 – skins salted with sea salt for 7 days and stored at room temperature. The skins underwent several stages of washing prior of the pre-treatment process start, which consisted of a 1:6 solution (skin/water), to which H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was added at 10N until reaching pH 3.0 during 1h at 24°C. Gelatin was extracted in a water bath at 50°C for 1h, and after extraction it was vacuum filtered. Experiment I, after gelatin filtration, a sample was removed to obtain the molecular profile and a remaining portion was frozen at -18°C for later assessment of the proximal composition of liquid gelatin. After freezing and salting preservation, the skins had 78.13% and 76.46% of moisture, 18.16% and 19.59% of crude protein, 2.26% and 1.90% of ether extract, and 1.44% and 2.06% of ash, respectively. For the liquid gelatin of frozen and salted skins, the following were observed: 97.68% and 96.08% of moisture, 3.18% and 4.12% of crude protein, 0.29% and 0.18% of ether extract, and 2.31% and 3.03% of ash. Regarding to rheological properties, gel strength was 200g for salted skin gelatin and 12.7g for frozen skin gelatin. The viscosity was significantly higher for salted gelatin (19.02mP) compared to frozen gelatin (9.16mP). Experiment II, after filtration, the gelatin was concentrated in an industrial evaporator, gelled, triturated, dried in a forced air dryer, and later kept at 50°C for four more hours. The gelatin was ground and packaged for analyses of yield, proximal composition, gel strength, viscosity, hydroxyprolin, polyunsaturated fatty acids, coloration, aminoacids, pH, and microbiology. The frozen and salted gelatins showed 11.92% and 11.68% of moisture, 84.47% and 85.65% of protein, 0.047% and 0.025% of ether extract, and 2.37% and 2.51% of ash, respectively. Gel strength was higher for salted skins (200g) compared to frozen skins (12.7g); viscosity was higher for salted skins (19.02mP) compared to frozen skins (9.16mP). The polyunsaturated fatty acids found were: palmitic acid, 45.12% and 46.67%; stearic acid, 18.91% and 29.17%; and oleic acid, 35.96% and 24.15%, respectively. Hydroxyprolin was found in frozen skins (8.71%) and in salted skins (8.67%). Coloration was higher in frozen gelatin (74.62%) and lower in salted gelatin (53.60%). Respective aminoacid values found in frozen and salted gelatins in the highest concentrations were: glycine (73.75 and 22.20mg/kg), alanine (41.57 and 10.04 mg/kg), arginine (90.06 and 8.20 mg/Kg), proline (3.46 and 12.37 mg/Kg), and lysine (21.53 and 3.07). The pH for gelatin extracted from frozen skins was 6.71, while for gelatin from salted skins, it was 6.48. The gelatin that showed the best characteristics was preserved by salting – in addition to providing more stability to the skin, it reduces weight, facilitating transportation and acquisition for industrialization.

**Key words:** Nile tilapia, collagen extraction, proximal composition, gel strength

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Aquicultura Mundial e no Brasil

A aquicultura mundial vem crescendo nos últimos anos mais rapidamente que qualquer outro setor que produz alimentos de origem animal. Sua produção em 1950 chegou a pouco menos de 1 milhão de toneladas, enquanto em 2006, segundo dados da FAO (2008) a produção deu um salto chegando a 110 milhões de toneladas de pescado para consumo humano, equivalendo a um consumo per capita teórico de 16,7 Kg/ano, sendo este é um dos maiores volumes registrado até o presente momento, como pode ser observados na Tabela 1.

Tabela 1- Produção e Utilização do pescado capturado e da aquicultura mundial

	2002	2003	2004	2005	2006
<b>PRODUÇÃO (Toneladas)</b>					
Captura	8,7	9,0	8,9	9,7	10,1
Aquicultura	24,0	25,5	27,8	29,6	31,6
Total	32,7	34,4	36,7	39,3	41,7
<b>MARINHA</b>					
Captura	84,5	81,5	85,7	84,5	81,9
Aquicultura	16,4	17,2	18,1	18,9	20,1
Total	100,9	98,7	103,8	103,4	102,0
Total da Captura	93,2	90,5	94,6	94,2	92,0
Total da Aquicultura	40,4	42,7	45,9	48,5	51,7
Total	133,6	133,2	140,5	142,7	143,0
<b>UTILIZAÇÃO</b>					
Consumo humano	100,7	103,4	104,5	107,1	110,4
Utilização para fins não alimentares	32,9	29,8	36,0	35,6	33,3
População (bilhões)	6,3	6,4	6,4	6,5	6,6
Consumo pescado per capita (Kg/ano)	16,0	16,3	16,2	16,4	16,7

Fonte: FAO (2008)

Dados relatam que em 1970 o consumo per capita de pescado encontrava-se ao redor de 0,7Kg/ano, em comparação com um consumo de 7,8kg/ano em 2006, apresentando uma taxa média anual de crescimento de 6,9% (FAO, 2008).

O potencial do Brasil para o desenvolvimento da aquicultura é imenso, o país chega produzir por ano um total de 985 mil toneladas de pescado, distribuídos entre pesca oceânica e continental, a extrativista costeira e cultivo de animais aquáticos, sendo este com a participação de 260 mil toneladas. Na Figura 1 constam os percentuais de produção da aquicultura brasileira relatados por Fávero (2003).

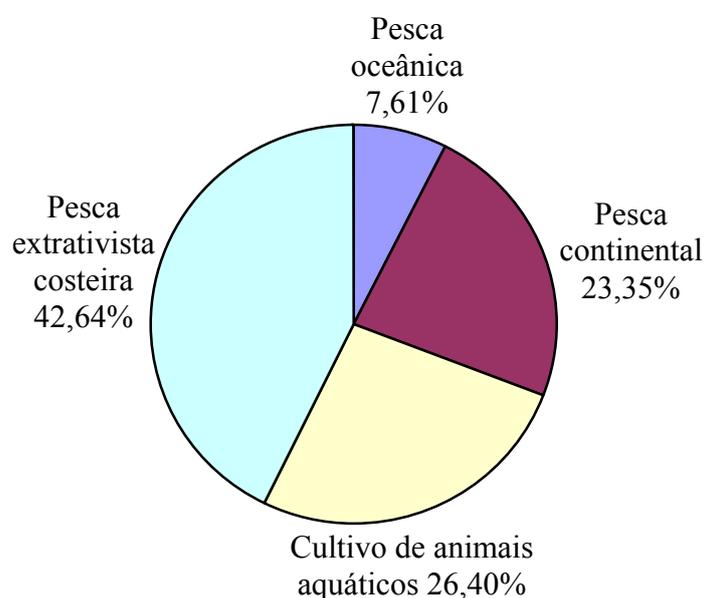


Figura 1 - Produção nacional de pescado  
Fonte: Fávero (2003).

Neste contexto, nos últimos cinco anos a aquicultura brasileira vem apresentando taxas de crescimento anuais médias superiores a 22 % (SEAP, 2007). Outro dado que reporta o potencial de crescimento do consumo de pescado são os dados da Organização Mundial de Saúde, que recomendam um consumo de 12kg/habitante/ano, estando a população brasileira consumindo uma média entre 5 a 10kg/habitante/ano (FAO, 2006). Portanto, deve haver uma maior variação de produtos ou derivados destes, com melhores preços disponíveis para estimular e incentivar a população a consumir mais pescado, sendo realizado através de um bom trabalho de marketing na área.

O Brasil possui inúmeras espécies nativas com grande potencial para exploração pela aquicultura. No entanto, as espécies exóticas dominam a aquicultura brasileira, isso por causa da falta de estudos científicos e tecnológicos (Borghetti et al., 2003).

Dentre as inúmeras espécies utilizadas na aquicultura brasileira a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), é a que vem apresentando maior destaque, por ser a principal espécie produzida, de importância em muitos países por possuir características muito desejáveis como: rusticidade, tolera as águas turvas e rasas; razoável resistência a doenças e a parasitas; crescimento rápido, grande adaptação alimentar, boa conversão alimentar e ganho de peso; carne de bom paladar, textura e facilidade na filetagem e por ser adaptável a uma larga extensão de sistemas de cultivo; desde tanques de pequena escala com alimentação deficiente até sistemas de cultivo intensivos (Blanck, 2008).

## 1.2 Tilápia do Nilo

Um grande avanço para a aquicultura mundial ocorreu com a rápida e crescente intensificação da tilapicultura, neste contexto destaca-se a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). A tilápia é classificada taxonomicamente na classe Osteichthyes, superordem Teleostei, ordem Perciformes e família Chichlidae. Ela apresenta coloração cinza azulada, corpo curto e alto, cabeça e cauda pequena, com listras verticais na nadadeira caudal. Apresenta de 16 a 26 rastros branquiais, o que a torna uma boa espécie filtradora de plâncton. Seu crescimento é bastante intenso podendo chegar até 5Kg. Tolerar grandes variações de temperatura desde 21°C até acima de 35°C, não é uma espécie muito exigente quanto ao oxigênio e vive bem em águas salobras, suportando até 18% de sal, apesar de seus hábitos alimentares a classificam como onívora (Orr 1986).

Segundo Castagnolli (1992), a primeira espécie do grupo das tilápias introduzida no Brasil foi a (*tilapia rendalli*), em 1953, a qual foi obtida no Congo, utilizada para povoamento da represa “Light”, no Estado de São Paulo, e do lago Paranoá, em Brasília. No entanto, a primeira introdução de tilápias do Nilo em território nacional se deu no ano de 1971, através do DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra as Secas) em Pentecostes, Ceará (Castagnolli, 1992; Moreira, 1999). Aproximadamente 100 animais foram importados de Bouaké, na Costa do Marfim. Tal linhagem ficou comumente conhecida como “Nilótica” ou “Bouaké”.

Na década de 1990, ocorreu um grande desenvolvimento de novas tecnologias de exploração e melhor orientação técnica, desde então sua criação vem se expandido, especialmente no Estado de São Paulo e Paraná (Moreira, 1999).

O cultivo desta espécie tem se mostrado como uma das atividades agropecuárias de maior crescimento em nível mundial. Com taxa de crescimento anual de 13,4% entre os anos de 1970 e 2002. A tilápia representa atualmente 6% do total de peixes cultivados mundialmente (FAO, 2004). O interesse pelo cultivo de tilápia no Sul e Sudeste do Brasil cresceu rapidamente nas últimas décadas, atualmente é criada tanto em sistemas semi-intensivos, consorciadas com outros animais ou em policultivo e até mesmo intensivos em “raceways” ou tanques-rede (Kubitza, 2000).

Segundo Vannuccini (1999), a tilápia do Nilo, tem sido etiquetada como o “novo pescado branco”, por apresentar a carne branca de textura firme, sabor delicado e sem odor desagradável, é um animal fácil de filetagem e não apresenta espinhos em forma de ‘Y’ (mioceptos). Outras características que a colocam no pódio das principais espécies cultivadas comercialmente, de acordo com Kubitza (2000), são a facilidade de reprodução e obtenção de alevinos, a possibilidade de manipulação hormonal do sexo, para obtenção dos machos que apresentam maiores rendimentos em relação às fêmeas. É uma espécie que aceita diversos tipos de alimentos e tem capacidade de aproveitar alimentos naturais em viveiros, apresenta boa conversão alimentar e excelente crescimento.

### **1.3 Aproveitamentos de Resíduos na Aquicultura**

Grande parte do pescado produzido e processado por unidades de processamento termina em forma de resíduos industriais, que poderiam ser utilizados para a produção de alimentos nutritivos e de baixo custo, é uma alternativa viável de exploração comercial e reduzindo a geração de resíduos orgânicos (Miranda, 1997). Segundo Stori (2000), o processo de beneficiamento de pescado, pode oferecer a população muito mais do que um alimento com alto valor nutricional, pois fornece uma grande quantidade e variedade de material que tem sido rejeitado, provavelmente em relação da falta de interesse ou conhecimento do setor pesqueiro e de órgãos governamentais, para

que ocorra uma disseminação de novos procedimentos tecnológicos, para um melhor aproveitamento destes resíduos.

Atualmente, algumas alternativas tecnológicas têm sido desenvolvidas, para melhorar o aproveitamento de espécies de baixo valor comercial e de resíduos gerados em unidades de processamento, para aplicação na indústria alimentícia. Há uma considerável quantidade de resíduos gerados ao longo da cadeia produtiva do pescado, que incluem os resíduos desde a produção do peixe até a comercialização do produto final. (Vidotti e Gonçalves, 2006). Durante a produção, em razão da heterogeneidade de crescimento dos peixes, no momento da classificação e despesca, por não atingirem o peso comercial, podem ser descartados, e estes animais acabam sendo eliminados, conseqüentemente, gerando resíduos. No entanto um grande percentual de resíduos é gerado com o processo da filetagem, gerando um grande problema para o produtor bem como para a unidade de beneficiamento (Vidotti e Gonçalves, 2006).

Todavia, os tipos e as quantidades de resíduos gerados na cadeia do pescado, desde a produção, seu beneficiamento ou industrialização, dependem do processamento empregado, espécie de peixe, tamanho do animal, produto final desejado pelo consumidor, entre outros. Dentre as espécies de peixes de água doce no Brasil a mais utilizada para beneficiamento, é a tilápia do Nilo, processada para obtenção de filés frescos ou congelados, sem peles. Para esta espécie, segundo Vidotti e Gonçalves (2006), o rendimento de filé chega em torno de 30% e os 70% restantes são os resíduos gerados que incluem: 14% de cabeça, 35% de carcaça, 10% de pele e 1% de escamas.

Os resíduos gerados, com a cadeia produtiva da piscicultura, principalmente em relação à tilápia após a filetagem, constituem uma diversidade de matérias-primas de alta qualidade que podem ser transformada em diversos subprodutos, destinados à fabricação de diferentes produtos com a aplicação tecnológica apropriada para obtenção de produtos de excelente qualidade nutricional, agregando valor econômico considerável a produção da tilapicultura.

A exemplo dos setores bovinos e avícolas, a tendência de aproveitamento integral do pescado, faz com que este possa ser inteiramente explorado, gerando novos e diversos produtos, agregando valor a todos os resíduos gerados. Um subproduto bastante promissor dentre os produtos que já estão sendo elaborados, é a CMS (Carne mecanicamente separada) que é obtida através de desossa mecânica da carne que se encontra-se aderida à carcaça, ou espinhaço do peixe, e que pode ser separada dos

ossos mediante processo de prensagem, apresenta uma grande variedade na linha de produtos que podem ser comercializados, tais como: “fishburger”, salsichas, empanados e enlatados, tirinhas de peixe, nuggets, entre outros (Marchi, 1997).

A partir da cabeça pode-se desenvolver caldos (Stevanato et al., 2007) e com a carcaça e/ou carcaça com cabeça, desenvolver a farinha aromatizada para o consumo humano (Souza et al, 2008).

Além destes produtos mencionados, existe a possibilidade de utilizar todos os resíduos, independente do seu tipo, para a elaboração de silagem, farinha e óleo de peixe para ração, assim como, segundo Vidotti e Gonçalves (2006), utilizado como compostagem para adubação de solos. Dentre os resíduos de filetagem do pescado, as peles podem ser transformadas em couro, sendo atualmente uma fonte alternativa de renda que pode servir de matéria-prima para a fabricação de carteiras, bolsas, confecções de vestuários, entre outros artefatos (Souza, 2004). Todavia, também pode ser utilizada para a elaboração de gelatina, sendo esta uma excelente forma de aproveitamento de subprodutos dos processamentos de tilápias. Porém, o processo ainda carece de estudos e desenvolvimento, que por sua vez irão determinar características inerentes quanto a espécie, métodos de conservação da matéria-prima (as peles são extremamente sensíveis à deterioração), métodos de extração do colágeno, pH, temperatura, tipo de reagentes que serão utilizados no processo de tratamento, tempo de tratamento bem como de extração, entre outros.

Portanto, conclui-se que dos resíduos oriundos da filetagem, pode-se gerar uma vasta gama de produtos elaborados, que é bastante significativo e de elevada qualidade nutricional, agregando valor à piscicultura e tornando o processamento mais dinâmico, e mais atrativo do ponto de vista econômico. Portanto, dentre os resíduos, a pele do pescado representa em torno de 4,5 a 10% do peso corporal do peixe, sendo, um resíduo quantitativamente significativo, podendo ser beneficiado para a obtenção de couro através de técnicas de curtimento (Souza, 2004), ou mesmo na produção de gelatina através da degradação hidrolítica do colágeno presente na pele (Gimenez. et al., 2004).

#### **1.4 Caracterização da pele de peixe**

##### **a) Morfologia**

A pele representa o tecido externo, resistente e elástico, que envolve o corpo do peixe. Apresenta muitas funções fisiológicas, como: excreção, proteção contra a invasão

bacteriana e agentes exteriores e ainda é responsável pela recepção de estímulos (Souza, 2004). A pele é composta de duas camadas: a epiderme e a derme (Figura 2). Abaixo destas duas camadas e sobre o tecido muscular está presente o tecido subcutâneo ou hipoderme. Quando a pele é retirada do peixe encontra-se com as três camadas citadas (Souza, 2003).

A epiderme das peles dos peixes representa 1% do total da pele bruta. É uma camada delgada com ou sem presença de escamas. Ela é constituída por células epiteliais aplainadas, dispostas com várias subcamadas que contém células produtoras de muco, pigmentos (cromatóforos) e as células claviformes (Figura 2).

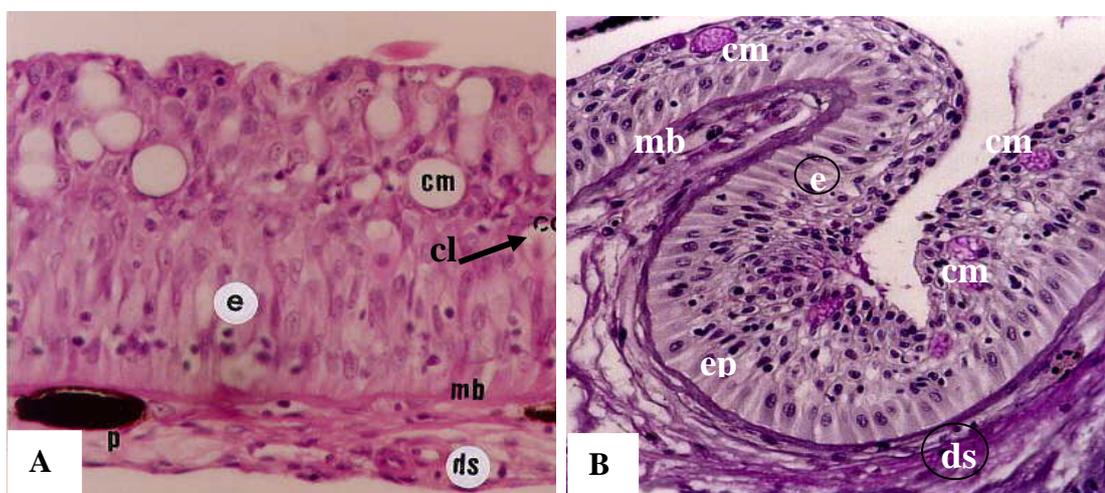


Figura 2 – (A e B) Fotomicrografia da epiderme com as células epiteliais (e), células mucosas (cm), membrana basal (mb) e pigmento (p), derme superficial (ds).

Fonte: Souza (2004).

A derme é formada por uma camada grossa do tecido conjuntivo, e contém numerosas células regeneradoras de tecido epitelial, incluindo as produtoras de escamas, vasos sanguíneos, nervos e cromatóforos (Lagler et al., 1977), além de ser constituída por grossos feixes de fibras colágenas, dispostos paralelamente à superfície da pele e entrelaçados como mostra a (Figura 3), perpendiculares à superfície (Figura 4), que em muitas espécies de peixes atravessam a espessura total da derme (Souza, 2003). É considerada a camada mais importante para a produção da gelatina, uma vez que é nesta camada que se encontra as fibras colágenas que serão hidrolisadas em gelatina. Todavia, também são essas fibras colágenas que reagem com os agentes curtentes para transformar a pele em couro. Além dessas fibras, existem outras, como a elastina e a reticulina, que estão presentes na estrutura dérmica da pele e apresenta grande importância na elasticidade e resistência do couro após, curtimento. A camada

que se encontram as fibras colágenas que serão hidrolisadas em gelatina. Todavia, também são essas fibras colágenas que reagem com os agentes curtentes para transformar a pele em couro. Além dessas fibras, existem outras, como a elastina e a reticulina, que estão presentes na estrutura dérmica da pele e apresentam grande importância na elasticidade e resistência do couro após, curtimento.

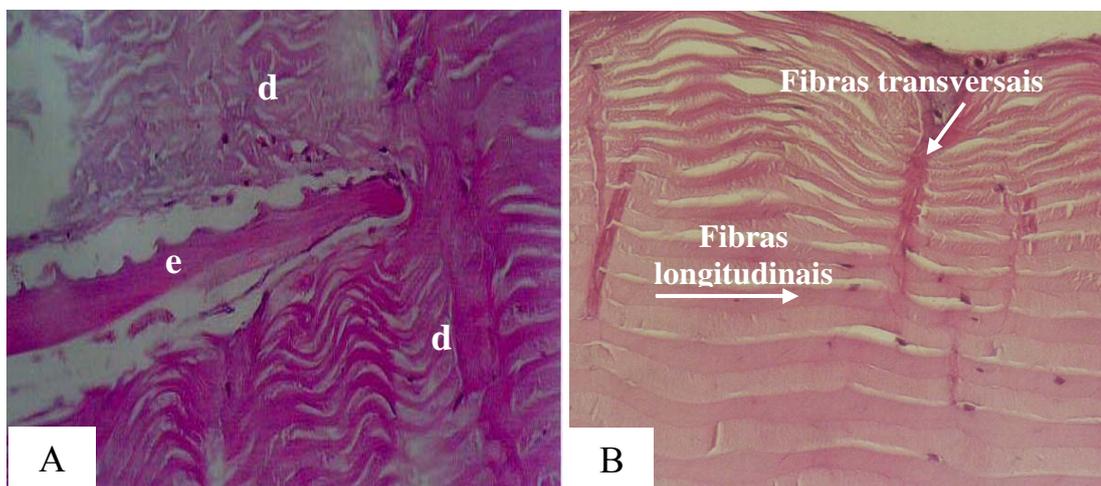


Figura 3 – Fotomicrografia da derme da pele de tilápia: (A) mostrando a escama (e) incrustada na derme profunda (dp) e superficial (ds), sendo esta a lamélula de proteção e inserção da escama; (B) Camadas sobrepostas de fibras colágenas longitudinais e podem ser observados as fibras colágenas transversais ou perpendiculares em relação à superfície da pele.

Fonte: Souza (2003).

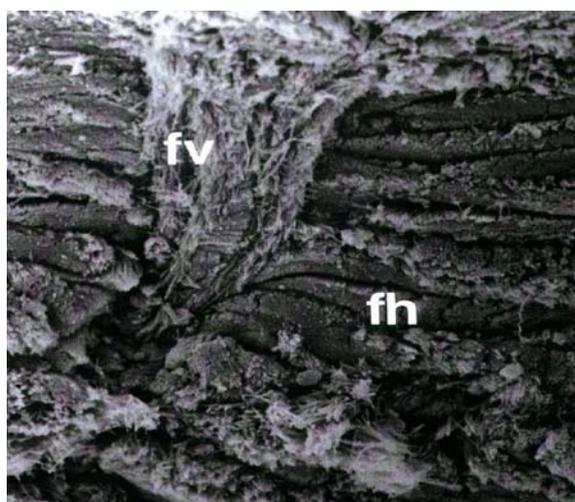


Figura 4 – Eletromicrografias da derme da pele de peixe, mostrando as camadas sobrepostas ou as fibras horizontais (fh) e os feixes de fibras colágenas transversais ou verticais (fv) a superfície da pele.

Fonte: Souza (2003)

O arranjo estrutural das fibras colágenas da derme compacta, bem como a espessura desse extrato, permitem que a pele possua grande resistência a diferentes forças de tração (Souza, 2003; Souza, 2004). Todavia, é também em função da espessura da derme que quantifica a quantidade de fibras colágenas, que está associada à idade do animal e esta, por sua vez, influencia na qualidade do *Bloom* da gelatina.

A hipoderme ou tecido subcutâneo é constituído por um entrelaçamento muito forte à base de fibras largas dispostas quase paralelamente à superfície da pele (Hoinacki, 1989), essa camada é que assegura a união da pele com os músculos do animal. Entre as fibras da hipoderme encontram-se células graxas em maiores ou menores quantidades, dependendo da espécie de peixe (Souza, 2004). Essa camada, também, conhecida como carnal (terminologia do curtume), deve ser eliminada mecanicamente na etapa de descarte para a elaboração da gelatina ou transformação em couro.



Figura 5 – Pele de tilápia. Camada hipodérmica, tecido subcutâneo ou carnal da pele, constituída por carne e gordura.

O colágeno tem como característica a sensibilidade à ação da água quente, transformando-se em gelatina (Figura 9), quando exposto a esta situação. Para a pele de tilápia a 43°C ocorre a desnaturação das fibras colágenas (Souza, 2003). Na derme, também se encontra o material interfibrilar, composto de proteínas globulares, albuminas e globulinas, que apresentam acentuada solubilidade em sistemas aquosos (Souza, 2003).

As peles de peixes diferem dos mamíferos, por estarem cobertas por delgadas epidermes, podendo ou não possuir escamas e não apresentam glândulas sebáceas.

Quanto à derme, que é uma camada localizada abaixo da epiderme também difere dos mamíferos, que nestes, as fibras são dispostas nos sentidos ou direções transversais, diagonais e paralelas à superfície da pele (Hoinacki, 1989; Souza, 2004) e para peixes são camadas sobrepostas de grossos feixes de colágenos, dispostos paralelamente à superfície da pele e feixes disposto perpendicularmente à superfície.

#### b) Composição da pele

A pele é composta de proteínas, lipídios, glicídios, sais minerais, água, etc. A composição das peles varia com a espécie de peixe. A percentagem de água da pele é variável em função da espécie, sexo e idade (Hoinacki, 1989). De acordo com o mesmo autor, o teor de água da pele varia entre 60 e 70%. A água ligada ao tecido desempenha papel importante, pois, as proteínas que perdem muita água são desnaturadas e têm suas propriedades alteradas. Com a desnaturação pela secagem drástica é impossível a reidratação da pele e o seu intumescimento, no mesmo grau apresentado pelas proteínas normais.

As peles em geral possuem em torno de 2% de lipídios em sua composição e em torno de 1% de matéria mineral, sendo os principais elementos encontrados o potássio, o magnésio e o fósforo. Estes minerais combinados sob a forma de cloretos, sulfatos, fosfatos e carbonatos. O ferro encontrado na pele é proveniente da hemoglobina do sangue (Hoinacki, 1989).

Na Tabela 2, constam os valores da composição da pele de tilápia do Nilo em função da categoria de peso, relatado por Souza (2003). A porcentagem de água presente na pele da tilápia do Nilo, segundo Souza (2003), variou de 68,2 a 70,19%, o teor de proteína de 26,59 a 28,66%, o extrato etéreo (gorduras) 1,86 a 3,43% e cinzas de 1,32 a 2,21%.

Furlong et al. (2006) avaliaram as peles do peixe porco (*Balistes capriscus*) e papa-terra (*Meticirrhus littoralis*) e estas apresentaram respectivamente, valores médios de 71,5 e 75,5% de umidade; 16,7 e 18,5% de proteína; 0,5 e 0,7% de lipídios e 1,1 e 0,8% de cinzas.

Tabela 2 – Valores médios de composição centesimal da pele “in natura” da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Classe de peso	Umidade (%)	Proteína (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)
C1=500-600 g	70,19	26,59	1,86	1,32
C2=601-700 g	68,62	26,95	2,00	2,19
C3=701-800 g	68,20	28,66	3,43	2,21

Fonte: Souza (2003).

De acordo com Hoinacki (1989) a pele apresenta 35% de proteínas, sendo 34% de proteínas fibrosas e 1% globulares. Dentre as fibrosas, estão colágeno, elastina e reticulina; e das globulares, as globulinas e albuminas (são solúveis em meio aquoso). As fibras colágenas representam 99% das fibrosas ( Hoinacki, 1989).

Dentre as proteínas fibrosas a mais importante para o processo de curtimento é o colágeno, por transformar a pele em couro. Da mesma maneira para a elaboração da gelatina, independente da espécie animal, é o colágeno a de maior importância. Sendo assim, a seguir será realizada uma abordagem à respeito dessa proteína de grande interesse comercial, em função da sua funcionalidade na série de produtos obtidos a partir de sua utilização.

### c) Colágeno

O termo colágeno é derivado do termo grego, em que KOLLA (cola) e GENO (produção), seu significado mais usual seria a produção de cola animal, a partir de diferentes matérias-primas. O colágeno constitui 1/3 do total de proteínas dos vertebrados, calcula-se que em mamíferos varia entre 20 a 30% dessa proteína corpórea. O colágeno está presente na maioria dos tecidos, encontrando-se principalmente em tendões, músculo, pele, cartilagens, ossos, córneas e sistema vascular (Shimokomaki, 1991).

O colágeno é a principal proteína do tecido conectivo (Ogawa e Maia, 1999), uma escleroproteína baseada em uma cadeia de polipeptídeos que compreende aproximadamente 1.050 aminoácidos. Possui três cadeias de polipeptídeos (Figura 4) de cadeia- $\alpha$ , com rotação no sentido horário e se enovelam formando uma tripla hélice. A cadeia de polipeptídeos contém grandes quantidades de glicina, prolina, hidroxiprolina, e baixo teor de aminoácidos aromáticos (Ogawa e Maia, 1999). O principal tipo de colágeno encontrado nos peixes é o do tipo I (Ogawa e Maia, 1999).

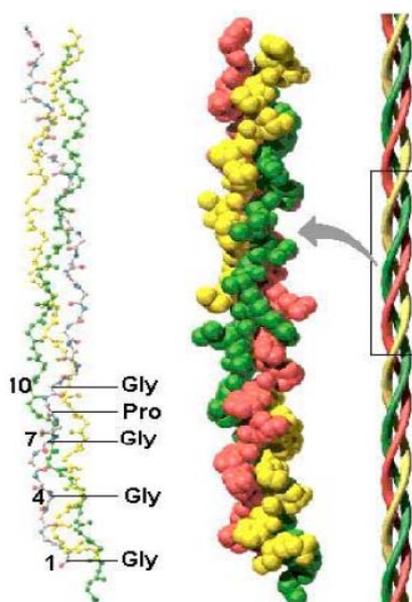


Figura 6. Estrutura polipeptídica do colágeno  
Fonte: Lenhinger (2002).

A superposição de várias triplas hélices produz as fibras de colágeno que são estabilizadas por meio de ligações cruzadas e formam uma estrutura de rede tridimensional. Esta estrutura é a responsável pela insolubilidade do colágeno, que através de uma hidrólise parcial, bastante forte é transformado em colágeno solúvel, resultando a gelatina ou colágeno hidrolisado (Shreve e Brink Jr., 1980).

Sabe-se que já foram descobertos 25 diferentes tipos de colágeno, os quais variam consideravelmente no comprimento de sua tripla hélice (Vuorio e Grombruogie, 1994; Shimokomaki et al 1991, Mayne e Brewston, 1993).

O colágeno do tipo I é o mais abundante, e o maior constituinte da pele, cerca de 80% da base seca da pele de animais adultos, os tendões correspondem a 90% da base seca e ligamentos e ossos a 90% de matéria seca. Na pele, o colágeno apresenta uma camada flexível e disposta de forma entrelaçada aleatorimane (Swan e Torley, 1991).

A unidade molecular do colágeno é o tropocolágeno, formado por um fio proteico extremamente longo (PM 300.000) com 15Å de diâmetro e 2.800Å de comprimento, em que as três hélices entrelaçam entre si, formando uma super-hélice direita. Sua

estrutura não é estabilizada por ponte de H internas e sim pela repulsão dos anéis pirrolidônicos da prolina. O número de ligações C=C da cadeia aumenta de acordo com a idade do animal, o que torna o colágeno mais rígido e menos solúvel (Farfán, 1990)

Estudos recentes sobre as diversas formas de extração do colágeno tem por finalidade aperfeiçoar o método, uma vez que é sabido que este é um dos grandes fatores que afeta as propriedades físico-químicas da gelatina, para que ela não sofra uma extensiva degradação da estrutura da proteína e se obter uma gelificação bastante elevada (Liu et al., (2007).

A extração do colágeno está diretamente relacionada com a rigurosidade do processo de extração e do pré-tratamento, em que o colágeno é parcialmente hidrolisado sem alterar a configuração original de tripla hélice, que depois é desestabilizada por um tratamento térmico subsequente por provocar o rompimento de ligações covalentes e de hidrogênio, o que leva à conversão do colágeno em gelatina (Montero e Gómez-Guillén, 2000).

O colágeno apresenta na sua estrutura a tripla hélice composta por três cadeias de polipeptídeos que se enovelam e formam uma estrutura em 3D. Esta geometria espacial é ideal para formar ligações de hidrogênio (Johnston-Banks, 1990; Nijenhuis, 1997). A hélice de colágeno pode-se desdobrar e torna-se facilmente solúvel, isso depende da temperatura de desnaturação e da quantidade de prolina e hidroxiprolina presente. E a hidroxiprolina é o aminoácido mais importantes, pois ele possui a capacidade de estabelecer pontes de hidrogênio através de seus grupamentos OH (Goméz-Guillén et al., 2002). Os iminoácidos são importantes, pois eles ajudam a estabilizar a conformação ordenada da rede formada pela gelatina (Haug et.al., 2004).

O colágeno de diferentes espécies diferem na sequência de aminoácidos, sendo que, a maior parte contém ao redor de 35% de glicina, 12% de prolina e 9% de hidroxiprolina e outros distribuídos em 17 aminoácidos diferentes (Shreve e Brink Jr, 1980; Hoinacki, 1989). A hidroxiprolina, raramente se encontra em proteínas distintas do colágeno.

A quantidade de hidroxiprolina no colágeno das peles de peixes difere entre as espécies, interferindo na temperatura de retração ou encolhimento da pele de forma a ocorrer a ruptura dos enlaces de hidrogênio da cadeia de colágeno de forma irreversível. Com isso, se dá a desnaturação protéica e, particularmente no colágeno, se verifica a gelatinização, que morfológicamente se manifesta por uma forte contração das fibras no

sentido longitudinal tornando-se, as fibras transparentes e elásticas (Pasos, 2002). Engel (1987) relata que o colágeno bovino sofre desnaturação a 40°C, enquanto que em peixes marinhos que vivem em águas frias é cerca de 15-17°C. Segundo Pasos (2002), nos peixes de águas tropicais a temperatura de retração do colágeno é maior quando comparados aos peixes de águas frias.

### **1.5 Abate e remoção da pele**

Existem algumas formas de abate de peixes, porém, o método mais utilizado é por choque térmico (imersão em água:gelo, 1:1, durante pelo menos 20 minutos) ou termonarcese (Macedo-Viegas e Souza, 2004). Depois os peixes são lavados, podendo ser filetados com ou sem evisceração, decapitados ou não dependendo da técnica aplicada e a retirada da pele antes ou após a retirada do filé. Portanto, em função dessas variações existem vários métodos de filetagem e formas de retirada da pele do peixe. Alguns trabalhos científicos mostram esses métodos e quais proporcionam maior rendimento de filé e conseqüentemente maior percentual de pele, em função da quantidade de músculo que permanece na pele (Souza et al., 1999; Souza, 2002).

A quantidade de carne que permanece aderida à pele depende do método aplicado para a retirada da pele do peixe e a destreza do filetador (Macedo-Viegas e Souza, 2004), sendo necessária a sua remoção independente de seu destino, ou seja, para produção de gelatina ou couro.

Caso haja interesse na utilização da pele, seja para a produção de gelatina ou mesmo aplicação na indústria coureira, deve-se dar uma atenção especial a elas, pois segundo Souza (2004), para uma boa conservação são necessários cuidados para a mínima contaminação durante o abate e seu posterior transporte ao local de conservação e processamento. Recomenda-se que, na esola, as peles sejam separadas imediatamente dos resíduos de filetagem e colocadas sobre plataformas adequadas ou recipientes, evitando maior contaminação com o conteúdo do trato digestório e sangue, meios propícios para o desenvolvimento bacteriano. Logo após a retirada da pele, esta deve ser descarnada (retirado os músculos ou carne da pele) ou já submetida o mais rapidamente possível a um sistema de conservação, para evitar a deterioração da mesma.

## 1.6 Conservação

O processo de conservação tem por objetivo interromper todos os fatores externos e internos que atuam na decomposição da pele. A conservação proporciona condições adequadas para que este material seja armazenado por um maior período de tempo. A maioria dos processos de conservação está baseada em métodos de desidratação, impossibilitando que ocorra o desenvolvimento de bactérias e a ação enzimática no processo de autólise da própria pele. Todavia, deve-se salientar que dentre os métodos de conservação, pela salga, salgada seca ou secagem, métodos muito utilizados para conservação de peles, não ocorre a destruição das bactérias, mas apenas são criadas condições adversas à sua proliferação (Hoinacki, 1989).

O processo de salga baseia-se no princípio da desidratação osmótica. Os tecidos do peixe vivo atuam como membranas semipermeáveis e após a morte do animal, estas membranas se tornam permeáveis, proporcionando a entrada de sal por difusão, à medida que ocorre desidratação dos tecidos (Ogawa e Maia, 1999), ou seja, ocorre a retirada de umidade tissular, em paralelo à entrada de sal. De acordo com Ogawa (1999), devido à alta pressão osmótica, o protoplasma das células dos microrganismos se desidrata, havendo contração da membrana plasmática, fenômeno este conhecido por plasmólise. Em virtude disso, o crescimento de microrganismo é inibido. Portanto, com a salga aumenta o poder de conservação do pescado, havendo a inibição da atividade enzimática, tanto de enzimas próprias do pescado, como de bactérias.

De acordo com Silva (2000), baixas concentrações de sal na ordem de 1,0% a 3,0%, já exercem uma significativa ação antimicrobiana, em função da diminuição da atividade de água do meio. Quando adicionado 2,0%, inibe o crescimento de algumas bactérias, enquanto a maioria dos bolores e das leveduras são capazes de crescer em concentrações salinas próximas da saturação. No entanto, para desenvolvimento dos microrganismos halófilos são necessárias concentrações de sal superiores a 10%. Portanto, para uma boa conservação, segundo (Silva, 2000), a quantidade máxima de água do produto não deve exceder os 55%. Teores de sal entre 9,0% e 10% praticamente saturam a fase aquosa.

Logo após a captura do peixe, como medida de defesa do animal em relação ao ambiente adverso, ocorre a liberação de muco por glândulas situadas na camada epidérmica de sua pele, que contribui para a deterioração rápida do pescado, uma vez que a maior parte desse muco é constituída pela mucina, uma glicoproteína, que é um

excelente meio de desenvolvimento de microrganismos (Geromel, 1989). Associado a essa ocorrência, as peles após a esfola (retirada do animal), sofrem rápida degradação em função das bactérias que existem no meio e à ação dos seus produtos, bem como sob a ação das enzimas nelas existentes, encontrando condições favoráveis de pH, temperatura e umidade.

A reação das enzimas existentes na pele sobre a própria matéria-prima é denominada autólise. Assim, segundo Hoinacki (1989), nas 24 horas que se seguem à esfola, aumenta acentuadamente a hidrólise do colágeno em consequência da ação autolítica de proteases como a catepsina e a peptidase. Com essa reação, o colágeno é transformado em estruturas mais simples, tendo início a perda de matéria-prima e seu enfraquecimento e empobrecimento, interferindo no material elaborado. Portanto, a pele deve ser submetida a uma técnica de conservação imediatamente a sua retirada do peixe, com o objetivo de manter a estrutura mais intacta possível.

### **1.6.1 Métodos de conservação de peles**

Segundo Hoinacki (1989) e Souza (2004), a conservação das peles pode ser obtida por métodos que não utilizam sal, os que utilizam sal e outros sistemas, considerados de curtimento leve, em caso de utilização das peles para o curtimento. Souza (2004) relata que dentre os métodos de conservação, os mais utilizados para peles de peixes são: congelamento e salga a seco e salmouragem e salga. Dessa forma, a seguir serão descritas as metodologias mais utilizadas conforme relatadas pelo mesmo autor, para conservação das peles de peixes.

As peles dos peixes devem ser submetidas à lavagem para retirar o excesso de sangue e escamas soltas na própria pele, depois deixar escorrer o excesso de água, proporcionando uma drenagem de água das peles. Em seguida, as peles devem ser embaladas em sacos plásticos e submetidas ao congelamento em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ . Pode-se fazer pilhas das peles e colocá-las nas embalagens para congelar. Este procedimento facilita na disposição das embalagens dentro do *freezer*, facilitando seu descongelamento e descarte, porém o método despense muito tempo, a fim da organização destas em “pilhas”.

A salga a seco é outro método de conservação, considerado o mais simples e utilizado. Neste método as peles são colocadas em camadas intercaladas por camadas de sal grosso. Após formada a “pilha” deve-se completar com sal, em locais onde a pele

ainda ficou exposta, em contato direto com o ar. Elas devem estar totalmente cobertas pelo sal. Quando se observar que as peles estão bem desidratadas, deve-se remover o excesso de sal que poderá ser reutilizado, caso não esteja sujo de sangue e colocar as peles sobre estrados de madeira em local arejado.

A salmouragem e salga é o método mais indicado, por ser o procedimento mais completo e perfeito, resultando em cura mais uniforme. As peles devem primeiramente ser submetidas a um pré-descarne e depois lavadas, estando em melhores condições para receber a salmouragem. A concentração de sal deve ser em torno de 24° Baumé (°Bé) e o tempo de permanência na solução deve ser de algumas horas. O ideal é deixar repousar a noite toda na solução. Após esse período as peles devem ser escurridas e submetidas ao método descrito anteriormente, de salga a seco, deixando-se as peles na “pilha” por um tempo inferior ao do método mencionado anteriormente para a salga a seco. Caso não seja possível fazer o pré-descarne por falta de tempo ou mão de obra, poderá ser realizado o mesmo procedimento descrito, porém deve-se tomar mais cuidado para não colocar sal insuficiente e a pele ser atacada por microrganismos.

De acordo com Hoinacki (1989) e Souza (2004), entre os principais fatores que influenciam na conservação das peles com a utilização do sal, devem ser consideradas a quantidade e granulometria correta para aplicação nas peles. A quantidade de sal não deve ser inferior a 40-50% do peso das peles. O sal, quando usado convenientemente e em quantidades adequadas, é um bom agente de cura, mantendo as peles em boas condições para o processamento. As desvantagens deste tipo de conservação se referem às quantidades de sal requeridas por pele, além do aspecto de poluição. Quanto à granulometria, o sal não deve ser refinado ou muito grosso, para evitar a dissolução rápida ou a tempo elevado para essa dissolução, respectivamente.

### **1.6.2 Métodos de conservação de pescados**

Segundo Lessi (1995) relata os métodos de salga para conservação de pescado, que também poderiam ser considerados para a conservação das peles a serem utilizadas para a elaboração da gelatina. De acordo com o autor, os métodos básicos, são a salga seca e salga úmida. A salga úmida pode ser realizada por dois procedimentos que são a salga em salmoura e a salga mista.

A salga seca consiste em colocar os peixes em “pilhas” intercaladas por sal, garantindo que toda a superfície do peixe fique em contato com o sal. A quantidade de

sal a ser utilizada depende do tipo de produto que se quer produzir, variando de 10 a 40% de sal por peso de pescado, de 2 a 20 dias. Este tipo de salga é adequado para pescados magros como bacalhau, merluza, tilápia ou dourado (Macedo-Viegas e Souza, 2004).

Na salga úmida o pescado é imerso em salmoura a certa concentração (variável em função do objetivo do processamento), garantindo a ausência de oxigênio no meio, protegendo a gordura do processo de oxidação (Lessi, 1995; Ogawa e Maia, 1999). A salga úmida é própria para espécies de peixes gordurosos.

Na salga mista, os peixes são colocados entre camadas de sal até o alto do recipiente, que deverá receber uma tampa com um peso colocado sobre ela, para prensar os peixes e garantir que a água exsudada forme a salmoura necessária para cobrir todos os peixes (Lessi, 1995). Essa técnica é muito utilizada para sardinha, manjuba e espécies magras, por proporcionar um grau de proteção contra a oxidação dos lipídios (Machado, 1984).

As mesmas técnicas descritas para aplicação na conservação do pescado ou das peles para o processo de curtimento podem ser utilizadas para a conservação da peles com fins de aproveitamento para a elaboração da gelatina. Segundo Giménez et al. (2005a) relatam o sal marinho também pode ser utilizado no processo de salmouragem na conservação das peles.

### **1.6.3 Métodos de conservação de peles utilizados para produção de gelatina**

O colágeno da pele de peixe usado para extração de gelatina é muito susceptível a deterioração quando comparado com as peles de origem de mamíferos, estas por serem mais estáveis são facilmente conservadas.

Geralmente as peles de peixes são preservadas por congelamento, estudos realizados por Montero et al., (1994), demonstram que a pele mantida sob congelamento a  $-20^{\circ}\text{C}$ , apresentou elevadas propriedades funcionais, mas o efeito do congelamento não foi avaliado na gelatina final.

Segundo Fernández-Díaz, Montero e Gómez-Guillén (2003), a gelatina extraída de pele do bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) conservada por congelamento a  $-12^{\circ}\text{C}$ , obteve uma força de gel menor comparada a gelatina extraída de peles congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Fernández-Díaz, Montero e Gómez-Guillén (2003) relataram que o congelamento de peles de peixes afeta negativamente a composição molecular e as propriedades

reológicas da gelatina, quando os peixes foram armazenados a  $-12^{\circ}\text{C}$ . Um método alternativo de conservação das peles seria a secagem à temperatura ambiente, que por sua vez além reduzir o peso das peles, auxilia na redução de custos de transporte, distribuição e armazenagem.

Giménez et al. (2005b), também avaliando a extração de gelatina, relatam que a secagem de peles com solução de etanol e sal marinho não afeta a força de gel da gelatina. Portanto, a salga além de ser uma maneira eficiente de preservação das peles, apresenta um custo muito inferior ao das peles conservadas por congelamento.

## 1.7 Gelatina

A gelatina é uma proteína, ausente de triptofano, além de ser pobre em tirosina, cistina e metionina, sendo obtida industrialmente a partir da hidrólise controlada da estrutura organizada do colágeno de ossos, cartilagens e peles de animais, em geral imperfeitas e impróprias para a transformação em couro.

Segundo o RIISPOA entende-se por “gelatina comestível” o produto da hidrólise em água fervente de tecidos ricos em substâncias colagênicas (cartilagens, tendões, ossos, aparas de couro) concentrado e secado. De acordo com Montero e Gómez-Guillén (2000), o colágeno e a gelatina, são diferentes formas da mesma macromolécula, sendo possível descrevê-la como colágeno hidrolisado, como mostra a seguir.

A preparação industrial da gelatina envolve a hidrólise controlada para obter a gelatina solúvel através de um dos métodos de tratamento (alcalino ou ácido) da matéria-prima, seguido de desnaturação térmica que se obtém os diferentes tipos de gelatina, com diferentes aplicabilidades em função da necessidade do mercado consumidor e as espécies de matéria-prima e métodos aplicados para a extração. Quando ocorre a desnaturação do colágeno com o controle de temperatura, vai havendo a quebra em pequenos fragmentos e as triplas hélices são separadas umas das outras, onde as massas moleculares variam em função do tipo de preparação e fonte da matéria-prima.

De acordo com Poppe (1997), com a hidrólise do colágeno pode ser formada três cadeias  $\alpha$  independentes, uma sendo cadeia  $\beta$ , uma  $\alpha$  ou apenas uma cadeia  $\gamma$ , sendo que a diferença entre as três formas da gelatina é a massa molar. Segundo o mesmo autor, para a gelatina  $\alpha$  a massa molar varia de 80 a 125 KDa, enquanto para  $\beta$ , de 160 a 250

KDa e a forma  $\gamma$  o valor de 240 a 375 KDa de massa molar, sendo que as massas molares maiores são características de melhores preparações.

A extração da gelatina ocorre com o pré-tratamento do colágeno com água à temperatura acima de 45°C.

Segundo Carvalho (2002), a extração da gelatina a partir do colágeno é realizada com diferentes temperaturas que variam desde 60°C até 90°C e com controle rigoroso de pH visando a maximização da extração e a manutenção de suas propriedades físicas. Também são realizadas extrações em diferentes tempos e são utilizados ácidos sulfúrico ou diferentes ácidos orgânicos (fórmico, acético, propiônico, láctico, málico, tartárico, cítrico em várias concentrações) e/ou adição de soluções salinas (NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub> e MgSO<sub>4</sub>), assim como, em função da técnica aplicada são utilizados também o fosfato de cálcio, carbonato de cálcio (nas extrações alcalinas).

### **1.7.1 Utilização da Gelatina**

A gelatina tem sido utilizada nas indústrias farmacêuticas para fabricar cápsulas e como emulsificador, alimentícia, cosmética e fotográfica. Na indústria alimentícia, sua aplicação se dá como ingrediente para aumentar a elasticidade, consistência e estabilidade de produtos elaborados. É utilizada como clarificante de bebidas, como vinho branco, cervejas, sucos de frutas, espessantes, estabilizadora e texturizadora de iogurtes, sorvetes, cream cheese, queijo cottage, espumas e saladas de frutas (Igoe, 1983; McCormick, 1987).

A gelatina segundo Shreve e Brink Jr. (1980) também tem papel importante na indústria cinematográfica e fotográfica, pois ela reveste a base das películas e constitui a emulsão de sais de prata sensíveis à luz. Schrieber e Gareis (2007), relatam que a gelatina apresenta vários papéis funcionais no processamento de alimentos que podem ser divididos em dois grupos.

O primeiro é associado com as propriedades de gelificação da gelatina, como por exemplo, a força do gel, gelificantes, temperaturas de fusão, viscosidade, espessamento, texturização, e ligação com a água. O segundo grupo refere-se à superfície comportamento da gelatina, como por exemplo, a formação de emulsão, e estabilização, a função de coloide protetor, a formação de espuma e estabilização (como no marshmallow), formação de filme, e adesão / coesão (Schrieber e Gareis, 2007).

A cor, a transparência, facilidade de dissolução e sabor são fatores importantes para determinar a qualidade da gelatina usada nos alimentos e constitui uma sobremesa popular, que é facilmente assimilável e até auxilia a digestão de outras comidas, formando emulsão com gorduras e proteínas (Shreve e Brink Jr, 1980). A gelatina pode contribuir para enriquecimento do conteúdo proteico dos alimentos, além de funcionar como filme externo (cápsulas) (Leuenberger, 1991).

Para tanto, é importante que a gelatina apresente boas propriedades reológicas (viscosidade), força de gel e ponto de fusão, sendo estas afetadas em função da concentração da solução de gelatina, tempo e temperatura de maturação do gel, pH e conteúdo de sal (Choi e Regenstein, 2000).

A sua capacidade termicamente reversível ou de gelificar com a água é o que a torna um hidrocolóide capaz de suprir todas as aplicações desejadas, atualmente no mercado não existe nenhum outro hidrocoloide que apresente todas essas propriedades Shreve e Brink Jr. (1980).

### **1.7.2 Métodos de extração de colágeno para produção de gelatina**

A produção da gelatina pode ser realizada a partir de dois processos principais, onde cada processo é adequado conforme o tipo de matéria-prima utilizada e a aplicação específica da gelatina seja ela, para a indústria farmacêutica, fotográfica, cosmética ou alimentícia. Os processos são o ácido e o alcalino para a extração da gelatina, respectivamente do tipo A e tipo B.

#### **a) Processo ácido para extração da gelatina**

O processo ácido é mais adequado para matérias-primas com fibras de colágeno menos entrelaçadas que são encontrados em peles de suínos e de peixes. Esse processo consiste em submeter às peles em pré-tratamento ácido que é mais suave, ou seja, a matéria-prima é imersa em solução ácida, até que ocorra a penetração dessa solução em todo o material, e à medida que o ácido vai penetrando sobre a estrutura da pele e tratando-a, com água e temperatura controlada, ela começa a inchar de duas a três vezes seu volume inicial (Ledward, 2000), ocorrendo com esse fenômeno a clivagem de ligações não covalentes inter e intra moleculares (Montero et al., 1987). Segundo Poppe (1997) a grande vantagem deste processo é a curta duração do tempo do tratamento, que pode durar apenas algumas horas.

#### b) Processo alcalino para extração da gelatina

O processo alcalino consiste na aplicação da matéria-prima em um pré-tratamento com pH alcalino por um período de várias semanas e vai transformando lentamente a estrutura do colágeno. Esse processo é utilizado em materiais mais espessos que necessitam de uma maior agressividade na penetração dos agentes de tratamento como a osseína ou a raspa bovina. Nesse processo apenas uma pequena porção de grupamentos amida resistem ao tratamento e o colágeno extraído desta maneira é solúvel em água quente (Ledward, 2000).

Estudos mais recentes sobre as diversas formas de extração do colágeno têm por finalidade aperfeiçoar o método, uma vez que é sabido que este é um dos grandes fatores que afeta as propriedades físico-químicas da gelatina, para que ela não sofra uma extensiva degradação da estrutura do peptídeo e proporcione uma maior gelificação (Liu et al., (2007).

### **1.7.3 Gelatina a partir de peles de peixes**

A maioria das gelatinas comerciais é produzida a partir de mamíferos, principalmente bovinos e suínos, porém em razão algumas restrições sócio culturais de islamitas e judaístas; e doenças mundialmente conhecidas como a encefalopatia espongiiforme bovina (vulgarmente conhecida como mal da vaca louca) e febre aftosa, causaram muitos problemas para a saúde humana, assim limitando o uso de gelatinas derivadas (Cho et al., 2005).

Muitos povos procuram novas alternativas para o consumo de gelatinas, procurando produtos produzidos com matérias-primas alternativas. Segundo Norland (1990), a gelatina de peixe tem sido alvo de pesquisas para esse público restrito, além da redução de resíduos de filetagem que seriam descartados para o meio ambiente, evitando a poluição ambiental. A elaboração da gelatina proporciona melhores condições de processamento às indústrias de beneficiamento, agregando valor à cadeia produtiva do peixe, utilizando-se de resíduos do processamento do peixe (pele e ossos), convertendo-os em subprodutos de valor agregado. Mesmo, diante destes fatores, atualmente a produção de gelatina de peixe é insignificante, pois segundo Arnesen e Gildberg (2007), é de apenas 1% de toda a produção anual de gelatina no mundo.

O método de extração do colágeno para elaboração da gelatina a partir de peles de peixe é diferente dos métodos de extração do colágeno para peles de mamíferos, em virtude de suas diferenças nas propriedades físicas e químicas (Kolodziejska et al., 2008), necessitando utilizar temperaturas moderadas e depende do tipo de matéria-prima (espécie de peixe de águas tropicais ou frias), do pré-tratamento aplicado e das condições de extração.

Essa busca por novas alternativas de matéria-prima para a produção de gelificantes e melhoria em métodos de extração de gelatina levou a criação de diversas patentes sobre métodos de produção da gelatina de peixe (Grossman e Bergman 1992; Holzer, 1996), bem como na publicação de vários métodos para a produção de gelatina de peixe (Gómez-Guillén e Montero, 2001; Hafsteinsson e Gudmundsson, 1997; Nagai e Suzuki, 2000).

Segundo Gudmundsson (2002), as gelatinas extraídas a partir de bovinos apresentam maiores temperaturas de fusão e de geleificação. Essas diferenças estruturais ocorrem de acordo com o conteúdo elevado de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina) presente na estrutura do tecido animal, embora a gelatina de peixe de águas tropicais tenha sua composição de aminoácidos bastante semelhante à de bovinos e suínos, por apresentar uma riqueza de glicina, prolina e hidroxiprolina.

A pele de bovinos contém aproximadamente 94 resíduos de hidroxiprolina e 138 resíduos de prolina, dentro de um total de 1000 resíduos de aminoácidos, enquanto à gelatina da pele do bacalhau contém aproximadamente 53 resíduos de hidroxiprolina e 102 resíduos de prolina (Piez e Gross, 1960).

Gelatinas de peixes de água quente, como é o caso da tilápia contém cerca de 70 resíduos de hidroxiprolina e 119 resíduos de prolina por 1000 resíduos de aminoácidos, e apresenta propriedades físicas bastante semelhantes à gelatina de mamíferos (Sarabia et al., 2000).

Uma característica da matéria-prima (peles de peixes), principalmente das espécies que vivem em água fria é o teor de aminoácidos, especificamente o conteúdo de iminoácidos como a prolina e a hidroxiprolina, em relação aos peixes tropicais que apresentam suas propriedades reológicas semelhantes à gelatina de mamíferos (Bueno, 2008). Portanto, essa gelatina pode ser utilizada para diversas aplicações sem que haja a necessidade de realizar grandes modificações estruturais, que não ocorre com a gelatina de peixes de água fria (Gudmundsson, 2002; Kolodziejska et al., 2004). Apresentam

baixo índice de gelificação, o que as torna inadequadas para substituir as gelatinas feitas a partir de mamíferos (Leuenberger, 1991; Norland, 1990).

Quantitativamente, as gelatinas processadas com peixes de água fria provindos de capturas ainda são consideradas preferidas pelas indústrias por causa da maior disponibilidade dessa matéria-prima e a oferta de seus subprodutos como a pele e os ossos (Sakaguchi et al., 1999; Hamada et al., 2001).

Segundo Norland (1990), as gelatinas feitas com peles de peixes de águas frias não formam gel à temperatura ambiente, pois sua temperatura de gelificação é de 8 a 10° C. Esta característica limita sua aplicação na indústria de alimentos como um componente de gelificação, caso não sejam efetuadas algumas modificações em suas propriedades (Kolodzieska et al., 2004).

As propriedades físicas das gelatinas se alteram principalmente em função de trocas na composição aminoacídica hidrofóbica (Montero e Gómez-Guillén, 2000), mas também pela presença de fragmentos de proteínas de menor massa molar, além da fonte ou da espécie, estas propriedades dependem intensamente da preservação da matéria-prima (Gómez -Guillén et al., 2002).

Pesquisas recentes demonstram uma problemática sobre o colágeno de peixe em que este apresenta potencial alergênico e pode se tornar um problema em relação ao uso da gelatina de peixe em produtos comerciais (Hamada, Nagashima e Shiomi, 2001; Sakaguchi et al., 1999). Também Asa (1989) afirma que o pescado é um dos alimentos que mais provoca alergias (Asa, 1989). A carne de peixes, assim como, a sua pele contém o colágeno do Tipo I e estudos recentes apontam pessoas com bastante sensibilidade a este (Sakaguchi, 2000).

### **1.7.3.1 Métodos de extração de colágeno em função dos métodos de conservação das peles para serem utilizadas no processamento**

Os autores Giménez, Gómez-Guillén e Montero (2005b), avaliaram métodos de conservação das peles utilizando a secagem como forma de armazenamento de peles de linguado (*Solea vulgaris*), onde as peles foram secas por: imersão em etanol, imersão na mistura do etanol com o glicerol e sal marinho e foram estocadas por 160 dias a temperatura ambiente. Os autores avaliaram periodicamente a gelatina extraída de peles submetidas aos métodos de conservação durante todo o tempo de estocagem (1, 15, 60,

90 e 160 dias) e observaram a qualidade das gelatinas preparadas de acordo com os pesos molares, as propriedades de viscosidade, geleificação, temperatura e força de gel.

Liu et al. (2007), conservou as peles limpas de catfish (*Ictalurus punctatus*) em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante três meses, outra quantidade da mesma pele foi secada a  $25^{\circ}\text{C}$  em secador de ar a quente até que a umidade da pele fosse inferior a 15%. As peles foram então embaladas em sacos plásticos a temperatura ambiente, durante três meses para a extração da gelatina.

### **1.7.3.2 Métodos de extração de colágeno em função dos diferentes ácidos utilizados no processamento**

Num estudo preliminar com pele de *Lepidorhombus boscii*, a extração feita com ácido láctico demonstrou ser adequada, embora suas características reológicas fossem um pouco inferiores às propriedades de gelatinas extraídas com ácido acético (Giménez et al., 2005a). O ácido láctico parece ser mais eficiente no rompimento das estruturas de colágeno, provavelmente em razão de sua alta constante de dissociação e presença do grupo hidroxila que podem estabelecer pontes de hidrogênio adicionais, as quais contribuem para a desnaturação do colágeno.

O ácido cítrico é amplamente usado para a produção de gelatina de pele de peixes por não introduzir cor ou odor desagradável ao produto (Gimenez et al, 2005a). Segundo Gómez-Guillén e Montero (2001), são obtidas gelatinas com melhores propriedades de gelificação utilizando o ácido acético ao invés de ácido cítrico, pelo fato do anterior ter um tamanho molecular pequeno e baixa constante de ionização, promovendo, assim, um inchamento do colágeno mais adequado antes da conversão em gelatina (Giménez et al., 2005a).

Segundo Gómez-Guillén e Montero (2002), os ácidos acético e propiônico possibilitam a produção de gelatinas com melhor gelificação e propriedades viscoelásticas, especialmente quando as peles são tratadas com NaOH diluído, e o pH ajustado a 4,5-5,0. Também, são obtidos bons resultados com ácido láctico e fórmico para a extração de colágeno ou gelatina. Mas, quando a concentração do ácido usado para a extração é elevada para valores superiores a 0,05M, não se obtém nenhuma melhoria das propriedades reológicas.

Gómez-Guillén e Montero (2001) utilizaram o método de extração de gelatina de pele de linguado (*S. vulgaris*) com ácido acético a 0,05M, onde as peles sofreram um leve inchaço e a posterior extração de gelatina em água destilada a 45°C, durante a noite. Norlad (1990) extraiu gelatina a partir de pele de peixe utilizando pré-tratamento com ácido cítrico. No entanto, Montero e Gómez -Guillén (2000) constataram que maiores gelificações foram encontradas em gelatinas obtidos utilizando ácido acético diluído em vez do ácido cítrico, portanto escolheram o ácido acético para tratar a pele do catfish (*Ictalurus punctatus*), onde as peles foram mergulhadas num volume de oito (v/w) de 50 mol/ l ácido acético a 15°C por 18h. A pele tratada foi lavada com água destilada até o pH da solução alcançar 3,5-4,0. A extração da gelatina foi realizada em água destilada em banho-maria a 45°C por 7 h.

Jongjareonrak et al. (2006) extraiu gelatina a partir de peles de catfish, utilizando 0,05mol/l de ácido acético para intumescer as peles que anteriormente haviam sido tratadas com solução alcalina de NaOH. Utilizou ácido acético na seguinte proporção 1:10 (peso/volume), durante 3h em temperatura ambiente 25°C, com uma contínua agitação suave. A pele tratada foi lavada e realizou-se a extração com água destilada na proporção de 1:10 (peso/volume) à 45°C, por 12h, com agitação contínua, enquanto extraía a gelatina.

### **1.7.3.3 Métodos de extração de colágeno em função da adição de soluções salinas no processamento.**

Com a adição de soluções salinas pode ocorrer modificação nas características da gelatina (Elysée-Collen e Lencki, 1996). Segundo Asghar e Henrickson (1982), os eletrólitos em geral, apresentam grande influência sobre as propriedades biofísicas de uma proteína, como: inchamento, solubilidade, gelificação, viscosidade e capacidade de ligação com a água, em diferentes forças iônicas e valores de pH (Hermansson, 1975). Alguns autores acreditam que a interação entre o colágeno e as moléculas íons salinos, ocorrem com a ligação direta dos íons aos peptídeos do colágeno. Outros acreditam que o colágeno se dobra indiretamente através da interação com a água e se liga as moléculas (Asghar e Henrickson, 1982)

Fennema (1977) classifica os íons como estruturas formadoras de água, com base na sua capacidade de alterar a estrutura da molécula, devido à sua capacidade de polarização, modifica assim, a viscosidade da água. Ocorrendo a interação de íons de sais neutros com íons não iônicos, como exemplo: o hidrogênio, ocorrendo a hidratação

liotrófica, que tem a capacidade de alterar a estrutura da água em torno da molécula de colágeno (AsghareHen- Rickson, 1982), provocando o intumescimento ou inchamento da estrutura colagênica.

Os sais podem solubilizar proteínas miofibrilares proporcionando uma melhor remoção dos restos de músculos aderidos às peles, no lado carnal (hipoderme da pele), facilitando a extração do colágeno. Os músculos, caso permaneçam na pele, no momento da extração do colágeno, influenciam nas propriedades viscoelásticas (Giménez et al. 2005). Todavia, para peixes há carências de estudos referentes aos efeitos da adição de sais ao método de extração do colágeno. Mas, alguns trabalhos são encontrados.

Giménez et al. (2005b), estudaram os efeitos sobre as propriedades reológicas e químicas da adição de soluções salinas (NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub> e MgSO<sub>4</sub>) durante o procedimento de lavagem da pele de peixe para a posterior extração da gelatina por um pré-tratamento em meio ácido. Os autores observaram que as peles que foram lavadas com KCl e NaCl, a extração foram superiores em relação às que não foram tratadas com sais. Segundo os autores, os sais proporcionam a abertura da estrutura do colágeno, facilitando o inchamento ou intumescimento pela interação com o ácido acético.

Quando utilizada a concentração de 0,8M de KCl e NaCl ocorre uma melhor extração do colágeno e sua transformação em gelatina solúvel. A gelatina extraída dessa forma apresentou uma maior habilidade de gelificação e maior estabilidade que as provenientes de peles lavadas sem adição de sal. Todavia, quando as peles foram submetidas aos sais contendo magnésio, foi extraída uma menor quantidade de gelatina, provavelmente em decorrência da natureza bivalente deste íon, capaz de formar pontes entre cadeias de colágeno que dificultam a extração de gelatina (GIMENEZ et al., 2005b). Quando os autores utilizaram o MgCl<sub>2</sub>, a gelatina obtida apresentou um menor Bloom, isto ocorreu devido redução da cadeias  $\alpha$  e a gelatina gerada apresentou um alto nível de Mg<sup>2+</sup> (Giménez et al., 2005b).

A capacidade de gelificação da gelatina extraída da pescada (*Merluccius merluccius*) e da truta (*Salmo irideus gibb*) foi visivelmente maior em pH neutro, todavia, quando adicionado o NaCl, diminuiu ligeiramente a gelificação (Montero e Borderias, 1990). De acordo com Hoinacki (1989), o cloreto de sódio tem a função de proteção das fibras colágenas controlando o grau de intumescimento.

Gudmundsson e Hafsteinsson (1997) testaram algumas concentrações de hidróxido de sódio, ácido sulfúrico e ácido cítrico no processamento de gelatinas a partir de pele

de “*Gadus morhua*”. Quando foi utilizada a concentração de 0,1% de ácido sulfúrico e 0,2% de hidróxido de sódio, seguido da adição de 0,7% de ácido cítrico, os autores obtiveram maior produção de gelatina. O pH da solução de gelatina variou entre 2.7 e 3.9, com os valores mais altos obtidos em resposta ao uso de concentrações baixas de ácido cítrico, principalmente combinado a uma alta concentração (0,4%) de hidróxido de sódio e/ou ácido sulfúrico.

#### **1.7.3.4 Métodos de extração de colágeno em função da técnica de secagem da gelatina.**

Após extração e filtragem da gelatina, ela deve ser concentrada e submetida à secagem. Normalmente esse procedimento é realizado em estufa de ar forçado, com controle de temperatura. Todavia, Gudmundsson e Hafsteinsson (1997) liofilizaram a gelatinas. Segundo os autores as gelatinas liofilizadas apresentaram valor de Bloom consideravelmente mais alto, que as gelatinas secas ao ar, isto deve ter ocorrido em função da gelatina seca ao ar ter sofrido maior desnaturação proteica, o que reduziu as propriedades de formação de gel.

#### **1.7.3.5 Métodos de extração de colágeno em função da redução de tempo processamento.**

De acordo com Kolodziejka et al. (2004), é possível reduzir o tempo de extração de gelatina de pele de peixes de água fria, de 12 horas para apenas 30 minutos a 45°C, quando as peles são picadas, ao invés de serem utilizadas inteiras no processo de extração. No entanto, como é difícil cortá-las, deve ser feito um pré-tratamento das peles com ácido acético (1:6), por 2 horas a 15°C, a fim de possibilitar este procedimento (Sadowska et al., 2003).

#### **1.7.3.6 Métodos de extração de colágeno em função da alteração da temperatura de processamento.**

Segundo Cho et al. (2005), é provável que o ajuste da temperatura de extração seja o fator chave no processamento de gelatinas. Os autores afirmaram que com o aumento da temperatura de 60°C para 75°C, provoca uma redução do conteúdo de gelatina e da força de gel.

## 1.8 Caracterização da gelatina

### 1.8.1 Composição centesimal

A composição centesimal é necessária para possibilitar a classificação dos alimentos, pois verifica a identidade e a pureza das substâncias de natureza orgânicas e inorgânicas (Silva e Queiroz, 2006), em função dos teores de água, lipídios, proteínas e minerais. Essa informação auxilia na execução de objetivos como na padronização dos produtos alimentares com base nos critérios nutricionais, além de fornecer subsídio no caráter dietário. É importante também para acompanhar os processos industriais e as pesquisas com componentes químicos e na seleção de equipamentos certos para a otimização econômica-tecnológica do processo (Contreras –Gusmán, 1994).

### 1.8.2 Aminoácidos

A qualidade de uma proteína é medida pela sua habilidade de satisfazer as necessidades de aminoácidos para o corpo humano. Os aminoácidos são classificados em dois grupos: os chamados essenciais que o organismo humano não consegue sintetizar, portanto necessita ser ingerido, e os não essenciais que são os que o organismo consegue produzir em quantidades suficientes a partir dos aminoácidos essenciais (Olívio, 2006). A Tabela 3 mostra a classificação dos aminoácidos.

Tabela 3 - Classificação dos aminoácidos essenciais e não essenciais

Não essenciais	Essenciais
Alanina	Arginina
Asparagina	Histidina
Aspartato	Isoleucina
Cisteína	Leucina
Glutamato	Lisina
Glutamina	Metionina
Glicina	Fenilalanina
Prolina	Treonina
Serina	Triptofano
Tirosina	Valina

Fonte: Lehninger (2002)

Uma característica especial da gelatina é o seu alto teor em aminoácidos de natureza básica e ácida. Cerca de um terço dos aminoácidos ácidos apresentam-se na forma de amida, como glutamina e asparagina (ácido glutâmico e ácido aspártico). Os aminoácidos básicos que contêm enxofre, a metionina é o único presente, porém em pequena proporção (Shreve e Brink Jr., 1980).

A sequência de aminoácidos predominante na gelatina de peixe é Glicina-Prolina-Hidroxiprolina (Poppe, 1997). A gelatina contém níveis relativamente elevados destes aminoácidos: glicina (Gly) 26-34%; prolina (Pro) 10-18%; e hidroxiprolina (Hyp) 7-15% (Veis, 1964; Poppe, 1997). Alanina (Ala) 8-11%; arginina (Arg) 8-9%, ácido aspártico (Asp) 6-7%, e ácido glutâmico (Glu) 10-12% (Hudson, 1994; Poppe, 1997). Estes valores estão classificados em função do tipo de gelatina obtida (tipo A ou B). Embora sua composição seja rica em aminoácidos, a gelatina não pode ser considerada uma proteína nutricionalmente completa, pois não contém o triptofano e é deficiente em isoleucina, treonina e metionina, cisteína e cistina (Potter e Hotchkiss, 1998).

Em relação à composição de aminoácidos entre a gelatina elaborada com diferentes espécies de peixes, não existem grandes variações, embora possa ser observado diferenças no conteúdo de alanina e de iminoácidos e no grau da hidroxilação (Gómez-Guillén et al., 2002).

O teor de metionina é muito variável no colágeno de peixes, essa variação pode ocorrer cerca de três vezes em relação ao colágeno de mamíferos e cerca de 60% em relação ao colágeno do bacalhau. Os aminoácidos glicina e alanina estão presentes em grandes quantidades no colágeno e são bastantes idênticos em peixes e mamíferos (Eastoe, 1955).

Segundo Eastoe (1995), o efeito da conversão de colágeno em gelatina de peixe aumenta ainda mais a proporção dos aminoácidos presentes em grandes quantidades, isso já havia sido observado em colágenos de mamíferos.

O peixe Australiano "*Neoceratodus*" é particularmente interessante, pois possui uma pele com uma temperatura de encolhimento elevado, próximo ao de peles de mamíferos. A composição de aminoácidos é muito próximo dos mamíferos, sendo a serina, treonina e hidroxiprolina reduzida. Esta espécie é da classe *Crossopterygii* e geralmente ela deve estar mais estreitamente relacionada com os vertebrados terrestres (Young, 1950).

De acordo com as condições ambientais e principalmente a temperatura da água, os vertebrados aquáticos foram divididos em grupos sendo separados como elasmobrânquios (tubarões, raias e dogfish), peixes de água fria (bacalhau, halibut, e linguado), peixes de água quente (esturjão, carpa, coelocanths e Threadfins), e finalmente os peixes com bexiga natatória que podem ser considerados como peixes de águas quentes e são capazes de sobreviver a temperaturas bastante elevadas (Courts e Ward, 1977), a Tabela 4, mostra a composição de aminoácidos da gelatina extraída do grupo de elasmobrânquios.

Tabela 4. Composição da gelatina de peixes elasmobrânquios e teleósteos

Aminoácidos	Tubarão	Bacalhau	Carpa	Lungfish
Alanina	119,0	107,0	120,0	126,0
Glicina	333,0	345,0	317,0	327,0
Valina	21,9	19,0	19,0	17,8
Leucina	23,9	23,0	25,0	19,8
Isoleucina	19,4	11,0	12,0	9,6
Prolina	113,4	102,0	124,0	129,0
Fenilalanina	13,9	13,0	14,0	13,7
Tirosina	1,4	3,5	3,2	0,8
Serina	44,5	69,0	43,0	42,1
Treonina	25,8	25,0	27,0	23,6
Cistina	-	<1	<1	
Metionina	10,0	13,0	12,0	3,4
Arginina	50,3	51,0	53,0	53,5
Histidina	7,4	7,5	4,5	4,5
Lisina	24,3	25,0	27,0	23,5
Ácido aspártico	42,6	52,0	47,0	43,9
Ácido glutâmico	65,8	75,0	74,0	76,5
Hidroxiprolina	78,5	53,0	73,0	78,2
Hidroxilisina	4,7	6,0	4,5	6,3
Processo	Ácido	Autoclave	Autoclave	Ácido
Referências	Eastoe (1957)	Piez e Gross (1960)	Piez e Gross (1960)	Eastoe (1957)

(Valores expressos em números de resíduos de aminoácidos por um total de 1000 resíduos).

Fonte: Courts e Ward (1977).

### 1.8.3 Ácidos Graxos

A maioria dos ácidos graxos existentes no pescado é composta de ácidos graxos com 14 a 22 átomos de carbono ( $C_{14}$  a  $C_{22}$ ) podendo ser saturados ou insaturados. Sua composição varia de acordo com a espécie do animal, hábito alimentar, estação do ano, temperatura da água, dieta, habitat, estágio e maturação (Ogawa e Maia, 1999).

Os lipídeos no pescado contém ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa da família  $\omega 3$ , ou n-3, porém estão presente em maior quantidade nos peixes de águas salgadas e frias, devido principalmente à sua alimentação fito planctônica que concentra ácidos graxos como EPA e DHA. Os de água doce também apresentam estes ácidos graxos, mas em quantidade inferior (Belda e Pourchet-Campos, 1991).

#### 1.8.4 Força de gel

A força de gel ou Bloom é uma das propriedades funcionais mais importantes da gelatina (Liu et al., 2007), pois esta diretamente relacionada com a resistência à degradação (Gudmundsson, 2002). Segundo Gudmundsson, (2002), a força de gel nas gelatinas é afetada pelas condições de maturação, ou seja, temperatura e tempo de estocagem. Pode formar géis mais compactos e mais rígidos através do ajuste de pH da gelatina para valores próximos ao seu ponto isoelétrico (Gudmundsson e Hafsteinsson, 1997). Johnston-Bank, (1983), afirma que a qualidade da gelatina é determinada pela força do gel ou valor de Bloom, que podem ser classificados de acordo com os seguintes valores: bloom baixo (<150g), médio (150-220g), ou alto (220-300g).

Alguns autores relatam variações no valor de Bloom entre diferentes espécies de peixes, isto ocorre possivelmente em razão das diferenças na composição de aminoácidos, no tamanho das redes de proteína (Muyonga et al., 2004), bem como o habitat (Norland, 1990), ou da degradação de proteínas que pode ocorrer durante a extração da gelatina (Jongjareonrak et al., 2006).

A degradação de fragmentos de proteínas presentes reduzem a sua capacidade formar corretamente novas cadeias, impedindo assim a nucleação existente (Ledward, 1986), como resultado, as propriedades funcionais de força de gel ou bloom, a capacidade de formar espuma, a estabilidade da espuma e viscosidade de gelatinas podem ser reduzidas.

Alguns autores citam dados de Bloom de gelatinas extraídas em diferentes espécies de peixes, onde o salmão do Atlântico apresenta 108g, o bacalhau 71g (Arnesen e Gildberg, 2007), a corvina 125g, e o “*shortfin scad*” 177g (Cheow et al., 2007), obpargo 105,7g, “*brownstripe red snapper*” 218,6g (Jongjareonrak et al., 2006), jovens e adultos de “*Nilo perch*” 217g e 240g, respectivamente (Muyonga et al., 2004).

Grossman e Bergman (1992) relatam que os géis de gelatina obtidos a partir de peles de tilápia apresentam alto valor de Bloom (263 g).

Os produtos comerciais apresentam uma força de gel na faixa de 50 a 300g para gelatinas a 6,67%, cuja concentração é utilizada para medir a força de gel, que é considerada uma propriedade tecnológica importante para as gelatinas. O aumento no valor de Bloom está associado ao aumento linear da força de gel (Leuenberger, 1991).

### **1.8.5 Propriedades reológicas**

As propriedades reológicas da gelatina são influenciadas pelo tipo de matéria-prima ou espécie, idade do animal e tipo de colágeno, bem como as características dos processos de extração (pH, tempo e temperatura de maturação) e degradação molecular (Ledward, 1986; Leuenberger, 1991). Dentre as propriedades térmicas e reológicas, constam a força de gel ou Bloom, ponto de fusão, distribuição do peso molecular e a composição dos aminoácidos (Johnston-Banks, 1990).

A adequação das propriedades reológicas é necessária para muitas aplicações esta relacionada com suas características químicas. A literatura disponível sugere que as propriedades reológicas de gelatinas de peixe não foram ainda completamente avaliadas com referência ao fluxo de comportamento, porém elas são essenciais no papel vital do processo de fabricação e avaliação da gelatina, pois são indicadores da qualidade do produto final. Dados reológicos são necessários para o cálculo de qualquer processo que envolva fluxo de fluido e apresenta-se como um papel importante na análise das condições de escoamento nas operações de tratamento de diferentes alimentos (Binsi et al., 2007).

A viscosidade é a segunda propriedade física mais importante de gelatinas comerciais (Johnston-Bank, 1983). A viscosidade de soluções de gelatina varia de acordo com fontes da biologia molecular e a distribuição de peso e tamanho molecular das proteínas (Sperling, 1985), é influenciada pela concentração, pela temperatura, pelo tipo de gelatina e por condições do método de extração utilizado (Gusmundsson, 2002).

Para a gelatina de peixe a viscosidade intrínseca reflete no volume hidrodinâmico específico da gelatina dissolvida. Os autores Pouradier e Venet (1952), traçaram a viscosidade intrínseca em duas gelatinas de mamíferos, uma do tipo A e um tipo B, e compararam com a de peixe, e observaram que as gelatinas peixes se comportam como as gelatinas de mamíferos, em relação ao peso molecular e volume hidrodinâmico.

A literatura dos seguintes autores Gómez-Guillén et al. (2002) relata que a gelatina de diferentes espécies de peixes apresenta diferentes propriedades viscoelásticas, embora a composição de aminoácidos pode ser semelhante. Essas propriedades também podem ser afetadas pela concentração, pH, peso molecular, índice relativo de  $\alpha$  e  $\beta$  das cadeias, tempo de maturação e temperatura do gel (Choi e Regenstein, 2000; Gómez-Guillén et al., 2002).

### **1.8.6 pH**

O valor de pH é outro parâmetro que afeta a viscosidade, conforme foi demonstrado por Leuenberger (1991), sendo que valores de pH alcalinos normalmente acarretam grande queda na viscosidade, enquanto em pH ácido, ocorre apenas uma redução moderada da mesma. Esta informação é confirmada por Haug et al. (2004) que relatam valores de pH acima de 10, apresentaram uma redução na viscosidade, e isso se deve à um processo de deamidação e mudanças na densidade de carga para dar um líquido de alta negatividade. O armazenamento de gelatina com valores de pH abaixo de 5 também diminuíram acentuadamente, isto é provavelmente devido ao aumento carga líquida positiva nas cadeias, o que poderia inibir a formação da zona de junção e, portanto, resultar em um declínio ou rigidez do gel, é influenciado pela quantidade de ácido adicionado e álcalis (Haug et al., 2004).

## 1.9 Referências

- ARNESENN, J. A., GILBERG, A. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 53–57, 2007.
- ASA K. Studies of hypersensitivity to fish: a clinical study. **International Archives Allergy and Immunology**, v.29, p.990-4, 1989.
- ASGHAR, A., HENRICKSON, R.L. Chemical, biochemical, functional, and nutritional characteristics of collagen in food systems. **In Advances in food research**, v.28, p. 232-372. London: Academic Press, 1982.
- BELDA, M. C. R., POURCHET-CAMPOS, M. A. Ácidos graxos essenciais em nutrição: uma visão atualizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.11, n.1, p.5-35, 1991.
- BINSI, P.K. et al. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.132-145, 2007.
- BLANCK, D.V. **Polimorfismo no íntron 1-*psf* do gene do hormônio do crescimento em linhagens de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2008. 53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2008.
- BORGHETTI, N.R.B., OSTRENSKY, A., BORGHETTI, J.R. **Aqüicultura: Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo**. Fundação Biblioteca Nacional, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Especial da Aqüicultura e Pesca – SEAP, 2007. Balança comercial brasileira. Disponível em [www.presidencia.gov.br/seap](http://www.presidencia.gov.br/seap). Acessado: novembro 2009.
- BUENO, C.M.M. **Extração e Caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa**. 2008. 133f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas, 2008.
- CARVALHO, R. A. **Elaboração e caracterização de filmes a base de gelatina modificada enzimática e quimicamente**. Campinas, 2002. 227p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2002.

- CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de Água Doce**. FUNEP, Jaboticabal, 1992.
- CHEOW, C. S., NORIZAH, M. S., KYAW, Z. Y., HOWELL, N. K.). Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (*Johnius dussumieri*) and shortfin scad (*Decapterus macrosoma*). **Food Chemistry**, v.101, p.386–391, 2007.
- CHO S.M.; GU Y.S.; KIM S.B.; Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.221-229, 2005.
- CHOI, S. S., REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. **Journal of Food Science**, v.65, p.194–199, 2000.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescado e derivados**. FUNEP, 1994.
- COURTS, A.; WARD, A.G. **The science and technology of gelatin**. Academi Press, 1977.
- ELYSÉE-COLEN, B., LENCKI, R. W. Efect of ethanol, ammonium sulfate, and temperature on the phase behaviour of type B gelatin. **Journal Agricultural and Food Cheistry**, v.44, p.1651-1657, 1996.
- ENGEL, J. Folding and unfolding of collagen triple helices. **Advances in meat Research**, 1987.
- FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2004*. **FAO** Information Division. Rome, Italy, 2007. Disponível em: <[http://www.fao.org/sof/sofia/index\\_en.htm](http://www.fao.org/sof/sofia/index_en.htm)> Acesso em: outubro, 2009.
- FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2006*. **FAO** Information Division. Rome, Italy, 2007. Disponível em: <[http://www.fao.org/sof/sofia/index\\_en.htm](http://www.fao.org/sof/sofia/index_en.htm)> Acesso em: outubro, 2009.
- FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2008*. **FAO** Information Division. Rome, Italy, 2009. Disponível em: <[http://www.fao.org/sof/sofia/index\\_en.htm](http://www.fao.org/sof/sofia/index_en.htm)> Acesso em: outubro, 2009.
- FARFÁN, J.A. **Química da Proteínas Aplicada à Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Editora da Unicamp, 1990.

- FAVERO, M. O Brasil Incentiva a Pesca. **AFFARI – Revista da Câmara Ítalo Brasileira de Comércio e Indústria**. v.57, p 28-31, 2003.
- FENNEMA, O., WHITAKER, J. R., TANNENBAUM S. R. Water and protein hydration. **Food Proteins**, p. 50-90, 1977.
- FERNÁNDEZ-DÍAZ, M. D.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Effect of freezing fish skins on molecular and rheological properties of extracted gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.17, p.281–286, 2003.
- FURLONG, E.B. et al. Caracterização química de pescados empregados para tratamento de Asma brônquica na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.3, p.415-422, 2006.
- GEROMEL, E.J.; FORSTER,R.J. **Princípios fundamentais em tecnologia de pescado**. São Paulo, p.127, 1989.
- GIMÉNEZ B.; TURNAY J.; LIZARBE M.A.; MONTERO P.; GÓMEZ-GUILLÉN M.C. Use of lactic acid for extraction of fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.941-950, 2005a.
- GIMÉNEZ B.; GÓMEZ-GUILLÉN M.C.; MONTERO P.; The role of salt of fish skins in chemical and rheological properties of gelatin extracted. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.951-957, 2005b.
- GIMÉNEZ, B.et al. Storage of dried fish skins on quality characteristics of extracted gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.958–963, 2004.
- GÓMEZ-GUILLÉN M.C. et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.16, p.25-34, 2002.
- GROSSMAN, S., BERGAMAN, M. Process for the production of gelatin from fish skins. **US Patent**. 5,093,474, 1992.
- GUDMUNDSSON M.; HAFSTEINSSON H.; Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. **Journal of Food Science**, v.62, p.37-39, 1997.
- GUDMUNDSSON M.; Rheological properties of fish gelatins. **Journal of Food Science**, v.67, p.2172-2176, 2002.

- HAMADA, Y., NAGASHIMA, Y., SHIOMI, K. Identification of fish collagen as a new allergen. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v.65, p.285–291, 2001.
- HAUG J.I.et. al. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.203-213, 2004.
- HERMANSSON, A. M. Functional properties of proteins for food: flow properties. **Journal of Texture Studies**, v.5, p.425-439, 1975.
- HOLZER, D. Inventor .Gelatin Production. **US Patent**. 5,484,888 (1996).
- HOINACKI, E., MOREIRA, M.V., KIEFER, C.G. **Manual básico de processamento de couro**. SENAI/RS. Estância Velha: Centro Tecnológico do Couro, 1989.
- HUDSON, C.B. Gelatine – Relating structure and chemistry to functionality, in K. Nishihari and E. Doi, **Food Hydrocolloids: Structures, Properties, and Functions**. Plenum, 1994.
- IGOE, R.S. **Dictionary of Food Ingredients**. Van Nostrand Reinhold, 1983.
- JOHNSTON-BANKS, F. A. Gelatin food gels. **Elsevier Applied Science**, p.233–289, 1990.
- JONGJAREONRAK, A. et al. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. **Food Hydrocolloids**, v.20, p. 1216–1222, 2006.
- KOŁODZIESJSKA, I. et al. Modification of the properties of gelatin from skins of Baltic cod (*Gadus morhua*) with transglutaminase. **Food Chemistry**, v. 86, p. 203-209, 2004.
- KOŁODZIESJSKA, I. et al. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**, p.700-706, 2008.
- KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**, 2000.
- LAGLER, K.F. et al. **Ichthyology**, p.104-128, 1978.

- LEDWARD D. A. **Gelation of gelatin**. Functional properties of food macromolecules. Elsevier Applied Science Publishers. p.233–289, 1986.
- LEDWARD, D.A. Gelatin. **Food Hydrocolloids**. p.67-86, 2000.
- LEHNINGER. A.L., NELSON. L.D., COX. M.M. **Princípios de Bioquímica**. 3ed, 2002.
- LESSI, E. **Tecnologia do pescado salgado**. In: Seminário sobre Tecnologia de Salga e Defumação de Pescado, 1995. Campinas: ITAL; CTC, p.14-17, 1995.
- LEUENBERGER B.H.; Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins. **Food Hydrocolloids**, v.5, p. 353-361, 1991.
- LIU H., DING L., SHIDONG G. Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods. **Food Science and Technology**, p.1425-1430, 2007.
- MACEDO-VIEGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R. **Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura**. Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva. TecArt, 2004.
- MACHADO, Z.L. **Tecnologia de produtos pesqueiros: parâmetros, processos e produtos**. Ministério do Interior, Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste. p.277, 1984.
- MAYNE, R., BREWTON,R.G. New members of the collagen superfamily. **Current Opinion in Cell Biology**, v.5, p.883-890, 1993.
- MARCHI, J. F. **Desenvolvimento e avaliação de produtos à base de polpa e surimi produzidos a partir de tilápia Nilótica, *Oreochromis niloticus* L.** 1997, 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1997.
- McCORMICK, R. Exploiting the Novel Properties of Pectin and Gelatin Gels. **Prepared Foods**, v.5, p. 204-205, 1987.
- MIRANDA, M.E.S. **Aceitabilidade do macarrão a base de surimi destinado a alimentação institucional**, 1997. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)- Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1997.

- MONTERO, P., BORDERÍAS, A. J. Gelification of collagenous material from muscle and skin of hake (*Merluccius merluccius L.*) and trout (*Salmo irideusg gibb.*) according to variation in pH and the presence of NaCl in the medium. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, v.191, p.11–15, 1990.
- MONTERO, P. et. al. Plaice skin collagen extraction and functional properties. **Journal of Food Science**, v.60, p.1–3, 1994.
- MONTERO, P., GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. Extracting conditions for Megrim (*Lepidorhombus boscii*) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin. **Journal of Food Science**, v.65, p. 434-438, 2000.
- MORAIS, C. et al. Utilização da fauna acompanhante na captura do camarão setebarbas (*Xiphopenaeus kroyeri*, Heller) para obtenção de farinha mista de polpa de peixe a arroz. **Boletim ITAL**, Campinas, v.20, n.3, p.217-237, 1983.
- MOREIRA H.L.M. **Análise da estrutura de populações e diversidade genética de estoques de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estimadas por microssatélite.** 1999. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Celular)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1999.
- MUYONGA, J.H., COLE, C.G.B., DUODU, K.G. Extraction and physicochemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.581–592, 2004.
- NIJENHUIS, K. Thermoreversible networks: Viscoelastic properties and structure of gels. **Advances in Polymer Science**, p.130, 1997.
- NORLAND, R.E; M. N. VOIGT; J. K. BOTTA. Fish gelatin. Advances in fisheries and biotechnology for increased profability. **Technomic**, p.325-333, 1990.
- OLIVIO, R.; OLIVIO, N. **O mundo das carnes: ciência, tecnologia e mercado.** Imprint, 2006.
- OGAWA, N.B.P.; MAIA, E.L. **Manual de Pesca: ciência e tecnologia do pescado.** Varela, 1999.
- ORR, R.T. **Biologia de Vertebrados.** Peixes e Vertebrados Semelhantes a Peixes. Editora Roca, 1986.

PASOS. L.A.P. Piel de pescado. Disponível em: <http://www.cueronet.com/exoticas/pescado.htm>. Acesso em: novembro 2009.

PIEZ, K. A., GROSS, J. G. The amino acid composition of some fish collagens: The relation between composition and structure. **Journal of Biological Chemistry**, p.995–998, 1960.

POURADIER, J., VENET, A. M. Contribution a l'étude de la structure des gelatins V—De'gradation de la gélatine en solution isoélectrique. **Journal de Chimie Physique de Physico-chimie Biologique**, v.49, p.238, 1952.

RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem animal. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Seção VI – Conservas, Artigo 433, 1997.

SADOWSKA, M. et al. Isolation of collagen from skins of Naltic cod (*Gadus morhua*). **Food Chemistry**, v. 81, p. 257-262, 2003.

SAKAGUCHI, M. et al. Reactivity of the immunoglobulin e in bovine gelatin-sensitive children to gelatins from various animals. **Immunology**, v.96, p.286–290, 1999.

SAKAGUCHI. M, et al. IgE antibody to fish gelatin (type I collagen) in patients with fish allergy. **Journal Allergy Clininal Immunology** v.106 p.279–284, 2000.

SARABIA, A.I. et al. The effect of added salt on the viscoelastic properties of fish skin gelatin. **Food Chemistry**, v.70, p.71–76, 2000.

SHIMOKOMAKI, M. et al. **Cross-links in cartilage collagen fibers**. In Brazilian Congress on Protein. Campinas, 1990. *Proceedings*, Editora da Unicamp. p.422-432, 1991.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R. **Carnes: No Caminho da Pesquisa**. Imprint. p.155, 2001.

SHREVE, R.N.; BRINK. Jr. **Indústrias de Processos Químicos**. Guanabara dois, 4ª ed, 1980.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3ªed. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa, p.235, 2006.

- SILVA, J.A. et al. **Tópicos da tecnologia dos alimentos**. Livraria Varela. p.231, 2000.
- SOUZA, M.L.R. et. al. Estudo de carcaça do bagre africano (*Clarias gariepinus*) em diferentes categorias de peso. **Acta Scientiarum**, v.21. p.637-644, 1999.
- SOUZA, M. L. Comparação de Seis Métodos de Filetagem, em Relação ao Rendimento de Filé e de Subprodutos do Processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.31, n.3, p.1076-1084, 2002.
- SOUZA, M. L. et al.. Histologia da pele de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e testes de resistência do couro. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.25, n. 1, p.37-44, 2003.
- SOUZA, M.L.R. **Tecnologia para processamento das peles de peixe**. Eduem, Coleção Fundamentum. Maringá. 2004.
- SOUZA, M.L.R. et al. Composição centesimal, minerais e ácidos graxos em farinha de carcaça de tilápia aromatizada com inclusão de linhaça. 2008. **Anais Aquaciência**, Maringá, 2008.
- SPERLING, L. H. **Introduction to physical polymer science**. 1985.
- STEVANATO, F.B. et al. Avaliação química e sensorial da farinha de resíduo de tilápias na forma de sopa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27. p.567-571, 2007.
- STORI, F.T. Avaliação dos resíduos da industrialização do pescado em Itajaí e Navegantes como subsídio à implementação de um sistema gerencial de bolsa de resíduos. 2000. 145f. Monografia (Apresentada ao curso de Oceanografia)- Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, 2000.
- SWAN, J.E., TORLEY,P.J. Collagen: struture, functions and uses. Mirinz Meat Industry Research New Zealand Report, p.49, 1991.
- VANNUCCINI, S. El enfoque del nuevo mercado de tilapia: en el mundo Occidental. **Panorama Acuicola**, v.4, n.3, p.22-25, 1999.
- VEIS, A. **The Macromolecular Chemistry of Gelatin**, 1964.

VUORIO, E., GROMBRUOGIE, de B. The family of collagen genes. Revista Biochemistry. V.59, p. 229-234,1994.

VIDOTTI, R.M.; GONÇALVES, G.S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. Instituto de Pesca, 2006. Disponível em: [www.pesca.sp.gov.br](http://www.pesca.sp.gov.br). Acesso em: outubro 2009.

OGAWA, M., MAIA, E.L. **Manual de Pesca- Ciência e Tecnologia do Pescado**. Livraria Varela, 1999.

POPPE, J. Gelatin, In: Thickening and gelling agents for food. **Food Hydrocolloids**, v.11, p.171-180, 1997.

POTTER, N.N; J.H. HOTCHKISS. **Food Science**, 1998.

YOUNG, J. Z. **The Life of Vertebrates**. Oxford University Press, 1950.

## 2. OBJETIVOS GERAIS

Caracterização da gelatina extraída de peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), conservadas por congelamento (-18°C) por 7 dias e salga a seco com sal marinho a temperatura ambiente, por 7 dias;

Caracterizar as peles de tilápia quanto aos aspectos de composição centesimal, minerais, perfil molecular, força de gel, viscosidade, ácidos graxos, aminoácidos e microbiologia;

Avaliar as gelatinas extraídas de peles de tilápia do Nilo conservadas por congelamento e salga a seco, quanto aos parâmetros de composição centesimal e minerais, pH, ácidos graxos, aminoácidos, conteúdo de hidroxiprolina, força de gel, viscosidade, coloração e análises microbiológicas;

### 3. APROVEITAMENTO DE PELES DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) CONGELADAS E SALGADAS PARA A EXTRAÇÃO DE GELATINA EM PROCESSO BATELADA

**RESUMO:** Este estudo teve como objetivo caracterizar as peles e a gelatina extraídas em processo batelada de peles de tilápia do Nilo submetidas a conservação por congelamento e salga a seco com sal marinho. Após a filetagem as peles foram retiradas com alicate, separadas, descarnadas e distribuídas em dois lotes: T1 - peles congeladas (-18°C) por sete dias e T2 - peles salgadas (a temperatura ambiente) por sete dias. Posteriormente as peles foram lavadas, pesadas e pré-tratadas em solução de 1:6 (pele/água) de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a10N (pH 3,0), iniciou-se o pré-tratamento por 1h a 24°C. Extraíu-se a gelatina em banho-maria a 50°C, por 1h e após a extração, realizou-se a filtração e retirou-se uma amostra para o perfil molecular, o restante foi congelado a -18°C e paralelamente uma parte da massa de solução foi concentrada em evaporadora semi-industrial, gelificada, triturada e seca em secadora com ar forçado à temperatura ambiente e depois a 50°C por 4h. Foram realizadas análises físico-químicas para as peles e gelatinas líquidas, análise microbiológica para as peles e perfil molecular para as gelatinas líquidas. As peles congeladas e salgadas apresentaram respectivamente, 78,13% e 76,46% de umidade, 18,16% e 19,59% de proteína bruta, 2,26% e 1,90% de extrato etéreo e 1,44% e 2,06% de cinzas. Para gelatinas líquidas extraídas de peles congeladas e salgadas a umidade foi de 97,68% e 96,08%, proteína bruta 3,18% e 4,12%, extrato etéreo 0,29% e 0,18% e cinzas 2,31% e 3,03%. Os valores observados para força de gel e viscosidade, foram maiores para a gelatina extraída de peles salgadas (200g) e (19,02mPas) quando comparada a gelatina de peles conservadas pelo congelamento (12,7g) e (9,16m Pas). O perfil molecular foi menor na gelatina extraída a partir de peles congeladas, portanto houve perda de  $\beta$  e  $\gamma$ -componentes, que indicam grande degradação do colágeno em função do método de conservação.

**Palavras-Chave:** composição centesimal, perfil molecular, gelatina líquida

**ABSTRACT:** This study had as objective to extract gelatin in a batch process from Nile tilapia skins submitted to different conservation methods (freezing and salting), as well as to obtain their physical-chemical and rheologic characterizations and molecular profile. After skinning, the meat was removed and the skins were divided into two lots: T1 – frozen at  $-18^{\circ}\text{C}$  for 7 days; and T2 – salted for 7 days. The skins were later washed, weighed and pre-treated in a 1:6 water solution (skin/water) with  $\text{H}_2\text{SO}_4$  at 10N (until reaching pH 3.0), for 1h at  $24^{\circ}\text{C}$ . Gelatin was extracted in a water bath at  $50^{\circ}\text{C}$  for 1h; after extraction, the gelatin was filtered and a sample was removed to obtain the molecular profile; the remainder was frozen at  $-18^{\circ}\text{C}$ . At same time, the solution mass was concentrated in an industrial evaporator, gelled, triturated, dried in a forced air dryer, and it was kept at  $50^{\circ}\text{C}$  for 4h. The frozen and salted gelatins showed 78.13% and 76.46% of moisture, 18.16% and 19.59% of protein, 2.26% and 1.90% of ether extract, and 1.44% and 2.06% of ash. For the liquid gelatin of frozen and salted skins, the following were observed: 97.68% and 96.08% of moisture, 3.18% and 4.12% of crude protein, 0.29% and 0.18% of ether extract, and 2.31% and 3.03% ash, respectively. With regard to rheological properties, gel strength was 200g for salted skin gelatin and 12.7g for frozen skin gelatin. Viscosity was significantly higher for salted gelatin (19.02mP) compared to frozen gelatin (9.16mP). The gelatin that showed the best characteristics was extracted from salted skins, which suggests that this method provides more stability to the skin, in addition to the advantage of reducing the skins weight by salting, facilitating transportation and acquisition for industrialization

**Key words:** proximal composition, gelatin, rheological properties, skin preservation

### 3.3 Introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi introduzida no Brasil na década de 1970, provinda da Costa do Marfim (Castagnolli, 1992 & Moreira, 1999) e adaptou-se muito bem ao clima tropical do país, tornando-se a principal espécie cultivada. No ano de 2000 sua produção chegou a 32.460 toneladas, isso corresponde a 30,9 % do total que é produzido pelo setor aquícola brasileiro (Borguetti, 2003).

Apresenta características bastante atraentes para o cultivo, segundo Vannuccini (1999), destaca-se das demais espécies por apresentar carne branca de textura firme, sabor delicado e sem odor desagradável. O principal produto de sua industrialização é o filé, que possui ótima aceitação no mercado consumidor por não apresentar espinhos em forma de ‘Y’ (mioceptos), (Boscolo, 2003). Outras características que a colocam no pódio das principais espécies cultivadas comercialmente, de acordo com Kubitzka (2000), são a facilidade de reprodução e obtenção de alevinos, a possibilidade de manipulação hormonal do sexo, o excelente crescimento e a boa conversão alimentar, grande capacidade de adequar-se à vários sistemas de produção.

Com o processo de filetagem dessa espécie uma quantidade significativa de resíduos orgânicos é gerada chegando a 60 - 70% do seu peso bruto. Nestes valores incluem 14% cabeça, 35% carcaça, 10% vísceras, 1% escamas, 4,5 a 10% de pele. Estes resíduos apresentam alta qualidade para a obtenção de diferentes subprodutos e aproveitamento integral da cadeia produtiva da piscicultura.

Dentre os resíduos, a pele destaca-se pela sua utilização comercial na manufatura do couro e na produção de gelatina, além de gerar lucros extras e reduzir o efeito prejudicial ao meio ambiente, pois estes resíduos normalmente acabam sendo descartados, em consequência da falta de conhecimento e instrução ao produtor (Vidotti & Gonçalves, 2006).

A pele de peixe quando comparada a de bovinos apresenta extrema sensibilidade à degradação, portanto, há necessidade de estudar e aplicar novos métodos de conservação para garantir a qualidade das peles e conseqüentemente dos subprodutos gerados a partir dela (Giménez et al., 2004). A maioria dos processos de conservação de peles baseia-se na desidratação e no congelamento, que impossibilitam o desenvolvimento de bactérias e a ação enzimática do processo de autólise (Souza, 2004), preservando a qualidade da matéria-prima.

A utilização de gelatinas tem sido difundida ao longo dos anos nas indústrias de alimentos, farmacêuticas, cosméticas e fotográficas é utilizada para aumentar a estabilidade, consistência e elasticidade de produtos alimentícios, portanto deve apresentar boas propriedades reológicas, como força de gel, viscosidade e ponto de fusão (Choi & Regenstein, 2000; Gómez-Guillén, 2000).

A gelatina de peixe é uma alternativa para substituir a gelatina tradicional de mamíferos, para uma parcela da população que não se alimenta de produtos derivados de mamíferos, por questões religiosas e de sanidade. Apresenta algumas características diferenciadas, pois tende a formar géis menos estáveis, em função do conteúdo de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina), e propriedades reológicas inferiores às gelatinas convencionais de mamíferos, havendo a necessidade de estudos mais aprofundados sobre suas propriedades (Norland, 1990).

O objetivo do estudo foi realizar a caracterização físico-química, reológica e perfil molecular da gelatina extraída na forma líquida por processo batelada de peles de tilápia do Nilo conservadas por congelamento e salga a seco.

### 3.4 Material e Métodos

#### Matéria-prima

Utilizou-se aproximadamente 80 Kg de peles brutas de tilápia do Nilo, abatidas com peso médio de 600 a 800g, cedidas pelo pesqueiro Rancho Verde, situado no Município de Umuarama –PR.

#### Preparo das peles e métodos de conservação

Após retirada com o auxílio de um alicate, as peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram transportadas em caixas térmicas acondicionadas com gelo até o laboratório, situado na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá - distrito de Iguatemi -PR. As peles brutas (com músculo, gordura e escamas) foram pesadas em balança (Filizola MF) e distribuídas em lotes de 3Kg para cada método de conservação (congelada e salgada), após o descarte realizado com auxílio de uma colher, através da raspagem manual do lado carnal da pele (camada hipodérmica), os lotes foram novamente pesados e quantificados os resíduos sólidos gerados no processo. Retirou-se aleatoriamente, amostragens de 10 peles por lote, para pesagem e medição no sentido longitudinal e transversal, com o auxílio de uma régua. Durante o processo de descarte, as peles foram mantidas em solução de água com temperatura controlada (0 a 5°C), para as peles submetidas ao congelamento. As peles submetidas a salga a seco, o descarte foi realizado a temperatura ambiente.

Após descarte as peles foram conservadas por dois métodos: congelamento em freezer doméstico (-18°C) por sete dias; salga a seco com sal marinho por sete dias a temperatura ambiente. Para esse processo foi colocado sal no fundo de bandejas

plásticas perfuradas e camadas sucessivas de peles de tilápia intercaladas por camadas de sal. Depois de formada as pilhas, foi adicionado sal na superfície das peles, de forma que as mesmas ficassem totalmente cobertas por sal (Figura 1).

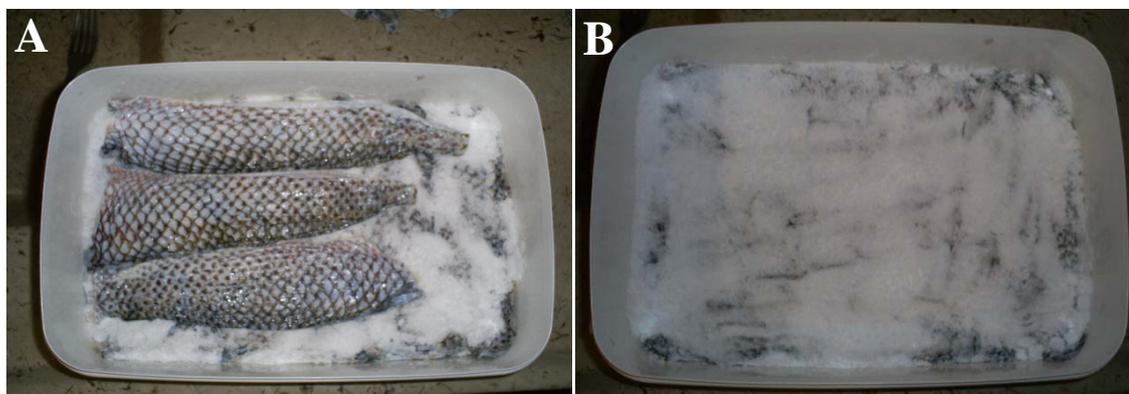


Figura 1 – Peles de tilápia em bandejas plásticas no processo de salga a seco. (A) dispostas em camadas sobrepostas de sal; (B) camada de sal cobrindo totalmente as peles.

#### Extração da Gelatina

A extração foi realizada na planta piloto da Empresa Gelita do Brasil, situada no Município de Maringá –PR.

Na Figura 2 consta o fluxograma utilizado para realizar a extração das gelatinas de peles de tilápia do Nilo. As peles congeladas foram descongeladas (12h em geladeira), as peles salgadas passaram por um processo de dessalga, sendo realizadas quatro lavagens de 10 minutos para a remoção do sal. Antes de iniciar o pré-tratamento, todas as peles foram lavadas durante 10 minutos. Posteriormente, foram pesadas e imersas em solução de água na proporção de 1:6 (pele/água), à temperatura controlada ( $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), com adição de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10N até o pH da solução atingir 2,8-3,2, e assim iniciar o pré-tratamento ácido por 1hora.

Após o pré-tratamento realizou-se uma série de sucessivas lavagens das peles com água limpa, em seguida foi retirada uma pequena amostra de pele, submetendo-a ao teste de fervura, para a verificação do pH. Estas foram lavadas até que o seu pH se estabilizasse entre 4,8 a 5,2. Para o teste de fervura, tomou-se uma pequena amostra de pele após as lavagens, sua massa foi registrada e adicionada em recipiente com uma massa de água correspondente a três vezes a massa de pele, submetendo à fervura durante 30 minutos. Após a estabilização do pH, iniciou-se a extração da gelatina em banho-maria, durante 1 hora, com controle de temperatura ( $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), concentração de sólidos totais com um refratômetro (marca Atago) e do pH da solução. Após a extração realizou-se a pesagem da massa de solução de gelatina extraída e da pele não dissolvida. A solução de gelatina foi filtrada a vácuo com filtro de papel e polpa de celulose. Retirou-se uma amostra para o perfil molecular, outra amostragem foi acondicionado em freezer a ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) até o momento da realização das análises. Paralelamente parte restante da massa de solução foi concentrada em evaporadora industrial, gelificada, triturada e seca em secadora com ar forçado à temperatura ambiente e depois a  $50^{\circ}\text{C}$  por 4 horas, moída e embalada.

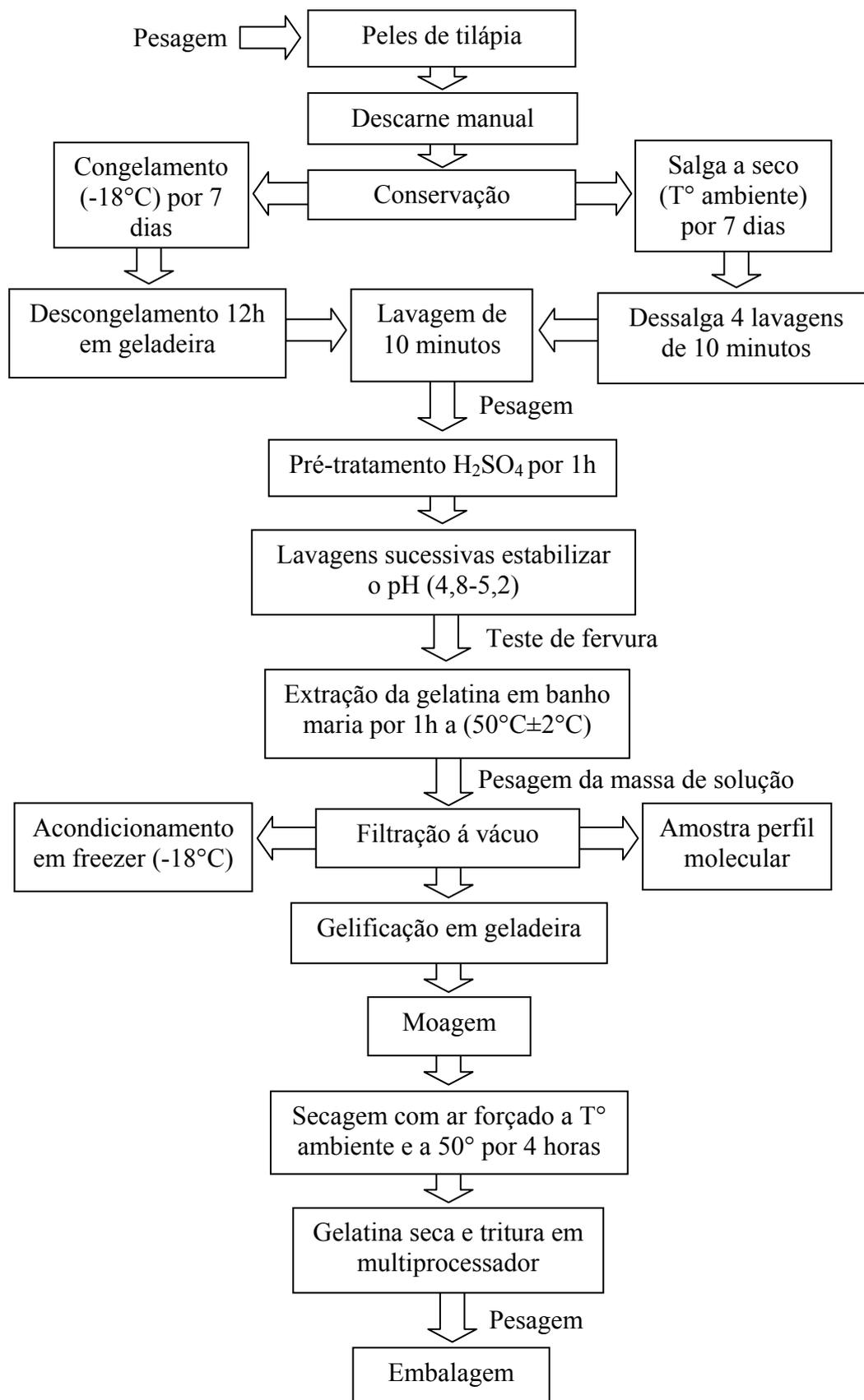


Figura 2 – Fluxograma de extração da gelatina de peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

### Análises de composição centesimal e mineral

Foram retiradas amostras de peles congeladas e salgadas após sete dias de conservação e das gelatinas líquidas congeladas - (18°C) para a realização das análises de composição centesimal e mineral.

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal – LANA, da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Foram realizadas análises dos teores de umidade, cinzas e extrato etéreo conforme Cuniff (1998). Proteína bruta foi determinada pelo método semi-micro Kjeldahl, descrito por Silva & Queiroz (2006).

Para análise de cálcio e ferro, a leitura foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica descrito por Zhou et al (1998). A determinação do fósforo total foi realizada com fosfomolibdato de amônio por espectrofotômetro conforme Eijsink et al., (1997).

### Perfil molecular

Após a filtração da gelatina retirou-se uma alíquota de 100 ml. A concentração da solução foi ajustada para 0,1%, e analisou-se pela técnica de permeação em gel em um equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência Waters acoplado a um sistema de detecção UV-VIS programado em um comprimento de onda de 214nm e com o auxílio do software Millennium 32. Uma alíquota de 20µL foi injetada com um fluxo de 0,6mL/minuto de tampão de fosfato como fase móvel (fosfato de sódio/sulfato de sódio e ajuste de pH com hidróxido de sódio), com um tempo de corrida de 30 minutos mantido a uma temperatura de 40°C.

### Força de gel

A força de gel ou *Bloom* é a massa em gramas necessárias para penetrar em 4 mm a massa do gel, preparado a uma concentração de 6,67% de gelatina mantida sob refrigeração a 10°C, por 17 horas. A solução de gelatina com 6,67% de sólidos, preparada a partir da amostra de gelatina seca foi preparada em frascos específicos a 60°C para completa dissolução da gelatina e posteriormente resfriado a 10°C. Para a medida da força de gel foi utilizado o medidor de textura (TA-TX2).

### Viscosidade

Para determinação da viscosidade a partir das amostras secas das gelatinas produzidas a 6,67% a 60°C, foi realizada indiretamente, através do tempo de escoamento de 100 ml desta solução através de uma pipeta padrão.

### Análises microbiológicas

Foi realizada no Laboratório de Microbiologia e Microscopia de Alimentos, no Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá – UEM, onde investigou-se o número mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C (NMP/g), contagem de estafilococcus coagulase positiva (UFC/g) segundo APHA (2002) e pesquisa de salmonella spp em 25g, segundo Silva et al., (1997), para as peles sujas (com a camada hipodérmica), após descarte (peles limpas).

## Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos sendo que: T1 = gelatina extraída de peles de tilápia congeladas; T2 = gelatinas extraída de peles de tilápia salgadas. Utilizou-se 3 kg de peles por repetição para a extração da gelatina. Para as análises composição centesimal, minerais, bloom, viscosidade, foram realizadas seis repetições por tratamento. O perfil molecular foi calculado através da média das amostragens. A análise microbiológica foi realizada para avaliar a qualidade da matéria-prima utilizada para a extração da gelatina. Os resultados foram submetidos à análise de variância ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SAEG (2000).

### 3.5 Resultados e Discussão

O peso das peles variou de 5 a 10 g e o comprimento médio foi de 22,75 cm, com relação ao comprimento total 6,54 cm de largura, referente a altura do peixe. O rendimento das peles limpas foi de 42,9% e 57,1% foram resíduos de descarte (músculos, gorduras e escamas).

#### Análise físico-química das peles e gelatinas

Na Tabela 1, constam os resultados das análises de composição centesimal das peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a dois métodos de conservação.

Tabela 1. Composição centesimal das peles de tilápia do Nilo após sete dias de conservação por congelamento e salga a seco

Tratamentos	Umidade (%)	Proteína bruta (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)
Peles congeladas	78,13	18,16	2,26	1,44
Peles salgadas	76,46	19,57	1,90	2,06

Os teores de umidade para as peles congeladas e salgadas foram de 78,13% e 76,46% respectivamente (Tabela 1), estes valores foram superiores aos encontrados por Souza (2004), para as peles de tilápia do Nilo conservadas por congelamento (68,2 a 70,19%). Muyonga et al. (2004) relatou valores de 72,7% a 68,4% respectivamente, para jovens e adultos de “Nilo perch”. Para a corvina e “shortfin scad” os teores de umidade foram respectivamente de 62,3% e 60,4% (Cheow et al., 2007). A umidade elevada neste estudo quando comparadas as outras espécies, pode ter ocorrido em virtude dos processos de lavagens das peles, adotados desde a chegada ao laboratório, até a padronização do processo para a extração da gelatina.

A proteína bruta encontrada nas peles da tilápia do Nilo foi de 18,16% e 19,57%, respectivamente para as peles conservadas por congelamento e salga a seco. Segundo Songchotikunpan et al. (2008), é com base no teor da proteína bruta da matéria-prima, que é possível estimar qual será a máxima produção de gelatina extraída. Muyonga et al. (2004) relataram valores de proteína bruta em peles de animais jovens e adultos de “perch Nilo” de 20,3% e 21,3% respectivamente, valores estes superiores aos obtidos por Souza (2004) de 27,4% para peles de tilápia do Nilo. Cheow et al. (2007) encontraram para as peles de corvina e “shortfin scad”, 24,8% e 24,1% de proteína bruta. Os valores de proteína bruta obtidos neste experimento para peles de tilápia do Nilo, foram inferiores aos relatados na literatura. Essa redução do teor de proteína bruta ocorreu em função de haver uma relação de proporcionalidade entre a umidade e a

proteína da matéria-prima, portanto como a umidade foi elevada, proporcionalmente a proteína bruta apresenta teores mais baixos.

O extrato etéreo das peles salgadas de tilápia do Nilo foi de 1,90% e 2,26% para pele congelada. Estes valores foram inferiores aos relatados por Souza (2004), para a mesma espécie de peixe, cujo valor médio foi de 2,43%. Outro autor trabalhando com a mesma espécie, encontrou 1,1% de extrato etéreo (Songchotikunpan et al., 2008).

O teor de cinzas em peles congeladas foi de 1,44% e nas salgadas 2,06%. Essa variação entre os dois métodos, ocorreu pelo fato de não haver uma remoção total do sal, absorvido pela pele no processo de conservação por salga seca, durante o processo da dessalga. Os valores obtidos no experimento são semelhantes aos relatados por Souza (2004) e Bueno (2008), em que ambos encontraram 1,90% de cinzas em peles de tilápia do Nilo. Songchotikunpan et al. (2008) encontraram para “perch Nilo” 2,1%, valor semelhante ao registrado para peles de tilápia do Nilo, conservada por salga a seco.

Os minerais investigados nas peles estão apresentados na (Tabela 2), em que os teores de cálcio apresentaram valores mais elevados para as peles congeladas (2,45g/100g) quando comparados as peles salgadas (1,073mg/100g) respectivamente.

Os teores de ferro e fósforo, investigados nas peles congeladas foram ligeiramente maiores (0,025mg/100g e 0,024g/100mg) quando comparados as peles salgadas (0,019 mg/100g e 0,019mg/100g). Portanto o método de congelamento pode ter preservado mais os minerais investigados na pele congelada, em relação a salgada.

Tabela 02 - Minerais investigados nas peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo, após sete dias de conservação

Peles	Teor de ferro (mg/100g)	Teor de cálcio (mg/100g)	Teor de fósforo (mg/100g)
Congeladas	0,025	2,452	0,024
Salgadas	0,019	1,073	0,019

A composição centesimal das gelatinas líquidas obtidas após a etapa de extração apresentou variação significativa entre os dois métodos, com exceção da proteína bruta (Tabela 3). Portanto dessa forma não ocorreu perdas significativas de colágeno em função dos métodos de conservação.

As gelatinas líquidas obtidas a partir de peles congeladas apresentaram significativamente maior teor de umidade (97,68%), quando comparadas às salgadas (96,08%). Este teor elevado de umidade, entre as duas gelatinas e quando comparadas a gelatina em pó, ocorre em função das gelatinas estarem na forma líquida e não seca. Portanto apresentam maiores teores de umidade e também ocorre em função do processo de hidrólise ácida, onde as peles são hidratadas por moléculas de água que se ligam a estrutura do colágeno.

Tabela 03 – Composição centesimal das gelatinas líquidas, após a extração

Peles	Umidade (%)	Proteína bruta (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)
Congeladas	97,68 ± 0,30	3,18 ± 1,14	0,29 ± 0,04	2,31 ± 0,30
Salgadas	96,08 ± 1,76	4,12 ± 1,64	0,18 ± 0,14	3,03 ± 0,39
F	4,7*	0,63 <sup>NS</sup>	21,0*	8,15*
C.V.(%)	1,05	42,15	11,84	15,62

<sup>NS</sup>Não significativo (P>0,05) pelo teste F

#### Força de gel e viscosidade

A gelatina extraída a partir de peles salgadas apresentou um valor de força de gela ou *Bloom* de 200g, significativamente superior ao de peles conservadas por congelamento (12,7g). Esses resultados estão diretamente relacionados com as diferenças do peso molecular entre os tratamentos (Tabela 4).

Alguns autores citam estudos com gelatinas extraídas a partir de peles de diferentes espécies de peixes, em que os valores variam de uma espécie para outra. A tilápia “black” segundo Jamilah (2002), apresentou um *Bloom* de 181g, este valor é maior que o relatado por Jamilah (2002), para a tilápia “red” (128g). Songchotikunpan et al. (2008), encontrou para a tilápia nilótica valores de *Bloom* elevados quando comparado as demais espécies (328g). O bacalhau apresentou valor de bloom baixo 70g, isso pode ocorrer em função do conteúdo de hidroxiprolina de espécies de peixes marinhos serem menores, do que o de peixes tropicais, portanto esta diretamente relacionada com a estabilidade do gel.

Tabela 4 - Dados de força do gel e viscosidade de gelatinas congeladas e salgadas

Gelatinas	Bloom (g)	Viscosidade (mPas)
Congeladas	12,7 ± 8,70	9,16 ± 0,85
Salgadas	200,1 ± 31,35	19,0 ± 2,78
F	165,82*	57,15*
C.V.(%)	21,61	14,64

<sup>NS</sup>Não significativo (P>0,05) pelo teste F

A viscosidade da gelatina de peles salgadas foi significativamente mais elevada (19,0 mPas), do que em peles congeladas (9,16 mPas) (Tabela 4). Essa diferença é diretamente proporcional aos valores de força de gel, portanto ocorre com a degradação da cadeia polipeptídica, responsável por uma rede ordenada e menos presente, que pode aumentar a viscosidade.

Songchotikunpan et al. (2008), encontraram para gelatina extraída de peles de tilápia do Nilo, 17,8 mPas de viscosidade, valor este, semelhante ao encontrado para a gelatina extraída de peles salgadas. Jamilah et al. (2002) encontraram dados de viscosidade para gelatinas de peles de tilápia “black” (7,1mPas) e tilápia “red” (3,2mPas), respectivamente.

Segundo Zhou e Regenstein (2004) relataram para gelatina extraída de peles de “Alasca pollock”, a viscosidade variou entre 1,56 e 6,62 mPas e essa variação de acordo com os autores ocorreu em função do método de extração aplicado. Também Sperling, (1985), afirma que a viscosidade de uma solução de gelatina varia de acordo com o peso, tamanho e a distribuição molecular das proteínas. Johnston-Banks (1990), relata uma variação na viscosidade de gelatinas comerciais de 2,0 a 7,0mPas, podendo chegar até 13,0mPas, para as gelatinas com aplicabilidades mais específicas.

### Perfil Molecular

O perfil molecular das gelatinas variou entre os tratamentos, em que foram registrados menores valores para a gelatina obtida a partir de peles congeladas (10.682,75 g/mol) comparada às peles salgadas (18.660,80 g/mol). Isso ocorre por causa das perdas de  $\beta$  e  $\gamma$ -componentes, que indicam grande degradação do colágeno em função do método de conservação. De acordo com Fernández-Díaz et al. (2003), realizando estudos com peles de “dover Sole”, armazenadas congeladas (-12°C), durante 15 dias, relataram que houve grande degradação do colágeno, em função do desaparecimento de polímeros com altos pesos moleculares e surgiu uma quantidade elevada de polímeros com pesos moleculares menores, porém quando as peles foram preservadas na forma fresca e congeladas (-20°C), não foi verificada perdas destes componentes na gelatina.

O método de congelamento das peles proporcionou uma gelatina com elevada concentração de cadeias  $\alpha$  e sub- $\alpha$  em relação à gelatina obtida a partir de peles conservadas por salga, o que conseqüentemente proporciona um menor peso molecular. Comparando os perfis de SDS-PAGE das gelatinas extraídas a partir de peles de “dover

Sole” congeladas (-12°C) não apresentou agregados e a pele conservada (-20° C), apresentou consideravelmente um maior peso molecular em função de apresentar mais agregados na análise de eletroforese (Fernández-Díaz et al., 2003). Neste estudo a gelatina extraída de peles congeladas apresentou um perfil molecular menor que a extraída de peles salgadas, uma possível explicação seria em função do processo de congelamento que forma cristais de gelo, onde a agregação das proteínas ocorre com maior intensidade em temperaturas mais baixas, como foi observado por Fernández-Díaz et al. (2003), investigando o perfil molecular de gelatinas extraídas de peles de “dover Sole” conservadas frescas e por congelamento (-12°C) e (-20°C). Portanto há muitas estruturas covalentes do colágeno que tornam-se mais difíceis de sofrer o rompimento durante a extração e a solubilização de cadeias de dímeros e trímeros com altos pesos moleculares, e as frações menores de colágeno são facilmente extraídas. A média do peso molecular de uma gelatina é largamente responsável pelo seu comportamento de gelificação (Johnston & Banks, 1990).

Muyonga et al. (2004) observou que gelatinas extraídas de peles de “perch Nilo” a temperaturas mais elevadas (70°C), o peso molecular das frações de peptídeos manteve-se elevado, resultando numa clivagem das cadeias de proteínas durante o processo de extração, a razão mais provável para esse ocorrido deve ser em função do curto período de extração da gelatina (1,5 hora), apesar da temperatura de extração estar extremamente elevada.

#### Análise microbiológica da pele

Foi realizada com o principal objetivo de avaliar a qualidade da matéria-prima utilizada para a produção de gelatina, uma vez que já foi observado que a **degradação**

da pele, por fatores físicos, químicos ou microbiológicos são fatores que interferem a qualidade da gelatina final.

As peles sujas (com camada hipodérmica) apresentaram elevada quantidade de coliformes a 35°C e 45°C e contagem de estafilococos coagulase positivo. Após o processo de descarte e lavagem das peles, houve uma redução dos microrganismos presentes, porém, quando as peles foram colocadas em sal marinho por sete dias, observou-se que houve um acréscimo de coliformes totais a 35°C de ( $2,4 \times 10^3$ ), e estafilococcus coagulase positiva ( $1,7 \times 10^3$ ), (Tabela 5). Esta ocorrência pode estar relacionada com o pH do meio, e com a temperatura e a umidade do ambiente podem ter proporcionado um ambiente favorável para o desenvolvimento destes microrganismos.

O NMP de coliformes a 35°C foi de  $< 3$  nas peles congeladas após sete dias e ( $2,4 \times 10^3$ ) nas peles salgadas após sete dias, enquanto que o NMP de coliformes a 45°C observado nos diferentes tratamentos foi de  $< 3$  nas peles congeladas após sete dias, e quatro nas peles salgadas após sete dias e peles sujas, para as peles após descarte foi registrado (9). Em todos os tratamentos o NMP de coliformes a 45°C estava de acordo com a legislação vigente para pescados (Brasil 2001).

Tabela 5 – Análises microbiológicas das peles de tilápia do Nilo

Peles	Coliformes a 35°C (NMP/g)	Coliformes a 45°C (NMP/g)	Estafilococcus coagulase positiva (UFC/g)	Salmonella spp
Suja (com hipoderme)	$2,4 \times 10^3$	4	$3,0 \times 10^3$	Ausente
Após descarte (7 a 10°C)	$4,3 \times 10^1$	9	$2,5 \times 10^2$	Ausente
Congeladas (7dias)	$< 3$	$< 3$	$6,0 \times 10^2$	Ausente
Após descarte em salmoura	$1,1 \times 10^3$	9	$1,0 \times 10^2$	Ausente
Salgadas (7dias)	$2,4 \times 10^3$	4	$1,7 \times 10^3$	Ausente

A contagem de estafilococos coagulase positiva apresentou pouca variação nos diferentes tratamentos. Considerando que o permitido pela legislação brasileira para pescado “in natura” é até ( $10^3$  UFC/g), as contagens bacterianas na pele suja e pele salgada após sete dias foi acima do permitido. Bactérias do gênero estafilococos são tolerantes ao sal em concentrações de 10 a 20%, o que pode ser explicado para o leve aumento nas contagens em peles salgada após sete dias.

Não foi observada a presença de Salmonela nas peles submetidas aos diferentes tratamentos.

### **3.6 Conclusões**

As peles conservadas por salga a seco apresentaram maiores teores de cinzas em relação as peles conservadas por congelamento, isto ocorreu em função da adição de sal como método de conservá-las.

Os minerais encontrados nas peles apresentaram valores baixos, porém dentro dos limites toleráveis, sendo que o cálcio apresentou maiores proporções nas peles conservadas por congelamento.

As gelatinas líquidas obtidas a partir de peles salgadas apresentaram menores teores de umidade, extrato etéreo e cinzas, porém maior teor de cinzas em função da adição de sal, a proteína bruta não variou entre os tratamentos, demonstrando que não ocorreu perdas significativas em função dos métodos de conservação.

A força de gel e a viscosidade foram elevada nas gelatinas extraídas de peles salgadas em relação às congeladas, demonstrando que a salga a seco foi a melhor forma de preservação do material.

O perfil molecular foi menor para a gelatina extraída de peles conservadas pelo

congelamento em comparação a gelatina de peles salgadas, portanto houve a perdas de  $\beta$  e  $\gamma$ -componentes, que indicam grande degradação do colágeno em função do método de conservação.

O processo de descarte reduziu a quantidade de microrganismos presentes nas peles e o sistema de conservação pelo congelamento apresentou melhor resultado microbiológico, por proporcionar uma redução dos coliformes a 35 °C e 45°C, apesar de não ter reduzido os estafilococos. Não houve presença de salmonela nas peles.

### 3.7 Literatura Citada

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>a</sup> ed. 2001.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>a</sup> ed. 2002.

BORGHETTI, N.R.B., OSTRENSKY, A., BORGHETTI, J.R. **Aqüicultura: Uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo**. Fundação Biblioteca Nacional, 2003.

BOSCARDIN-BORGHETTI, N. R.; OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R. **Aqüicultura: uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo**. Grupo Integrado de Aqüicultura e estudos ambientais, 2003.

BOSCOLO, W. R. **Resíduos da indústria de filetagem de Tilápias na alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.** Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.

BUENO, C.M.M. **Extração e Caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa**. 2008. 133p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008.

**BRASIL**. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, 2001. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)> Acessado em novembro, 2009.

CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de Água Doce**. FUNEP, Jaboticabal, 1992.

CHEOW, C. S. et al. Preparation and characterization of gelatins from the skins of sin croaker (*Jhoniussussumieri*) and shortfin scad (*Decapterus macrosoma*). **Food Chemistry**, v.101, n.1, p.386-391, 2007.

CHOI, S. S., REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. **Journal of Food Science**, v.65, p.194–199, 2000.

CUNNIFF, P. A. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16<sup>a</sup>ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists. v.2, 1998.

- EIJSSINK, L. M.; KROM, M. D.; LANGE, G. J. The use of sequential extraction techniques for sedimentary phosphorus in eastern. **Marine Geology**, v.139, p.147-155, 1997.
- FERNÁNDEZ-DIÁZ, M. D. et al. Effect of freezing fish skins on molecular and rheological properties of extracted gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.17, p.281–286, 2003.
- FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2008*. FAO Information Division. Rome, Italy, 2007. Disponível em: <[http://www.fao.org/sof/sofia/index\\_en.htm](http://www.fao.org/sof/sofia/index_en.htm)> Acesso em: 10 janeiro 2009.
- GILSENAN, P. M.; ROSS MURPHY, S. B. Viscoelasticity and thermoreversible gelatin gels from mammalian and piscine collagens. **Journal of Rheology**, v.44, p.871–883, 2000.
- GIMÉNEZ, B. et al. Storage of dried fish skins on quality characteristics of extracted gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.958–963, 2004.
- GÓMEZ-GUILLÉN M.C.et. al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.16, p.25-34, 2002.
- GÓMEZ-ESTACA et al. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. **Journal of Food Engineering**, v.90, p.480-486, 2009.
- GUDMUNDSSON M.; Rheological properties of fish gelatins. **Journal of Food Science**, v.67, p. 2172-2176, 2002.
- HOLZER, D. Inventor. Gelatin Production. **US Patent**. 5,484,888 (1996).
- HOINACKI, E., MOREIRA, M.V. KIEFER, C.G. **Manual básico de processamento de couro**. SENAI/RS; Estância Velha: Centro Tecnológico do Couro, 1994.
- JAMILAH, B.; HARVINDER, K.G.. Properties of gelatins from skins of fish—black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, v.77, p.81–84, 2002.
- JOHNSTON-BANKS, F. A. Gelatin. **Elsevier Applied Science**, p.233–289, 1983.

- JOHNSTON-BANKS, F. A. **Gelatin**. Food Gels, p. 233–289). Elsevier Applied Science, 1990.
- JONGJAREONRAK, A. et al. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.1216–1222, 2006.
- JONGJAREONRAK, A. et al. Chemical compositions and characterisation of skin gelatin from farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*). **Food Science and Technology**, v.43, p.161-165, 2010.
- KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**, 2000.
- MACEDOS-VIEGAS, E.M., SOUZA, M.L.R. Pré processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. Editora Tecart, 2004.
- MONTERO, P., GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. Extracting conditions for Megrim (*Lepidorhombus boschii*) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin. **Journal of Food Science**, v.65, p.434-438, 2000.
- MOREIRA H.L.M. **Análise da estrutura de populações e diversidade genética de estoques de reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estimadas por microssatélite**. 1999. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Celular)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1999.
- MUYONGA, J.H. et al. Extraction and physicochemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.581–592, 2004.
- NORLAND, R.E; M. N. VOIGT; J. K. BOTTA. Fish gelatin. Advances in fisheries and biotechnology for increased profitability. **Technomic**, p.325-333, 1990.
- OCKERMAN, H.W.; HANSEN, C.L, **Animal By-product Processing and Utilization**, **Technomic**. Publishing Lancaster, 2000.
- SAEG. **Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas**. Versão 8,0. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2000.
- SHREVE, R.N.; BINK Jr., J.A. **Indústrias de Processos Químicos**. 4ª ed. Editora Guanabara dois, 1980.

- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3ªed. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.
- SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. Livraria Varela, 1997.
- SIMS, T. J. et al. The chemical basis of molecular weight differences in gelatins. **The Imaging Science Journal**, v.45, p.171–177, 1997
- SONGCHOTIKUNPAN, P. et al. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**. v.42, p. 247–255, 2008.
- SOUZA, M.L.R. **Tecnologia para processamento das peles de peixe**. Eduem, Coleção Fundamentum. Maringá. 2004.
- SPERLING, L. H. **Introduction to physical polymer science**. 1985.
- VANNUCCINI, S. El enfoque del nuevo mercado de tilapia: en el mundo Occidental. **Panorama Acuícola**, v.4, n.3, p.22-25, 1999.
- VIDOTTI, R.M.; GONÇALVES, G.S. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal. Instituto de Pesca, 2006. Disponível em: [www.pesca.sp.gov.br](http://www.pesca.sp.gov.br). Acesso em: outubro 2009.
- WATANABE, M. **Resíduo de cervejaria na ração para recria de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanque-rede, Pirassununga, SP: produção e qualidade**. 2001. 80f. Dissertação (Mestrado em Concentração de Qualidade e Produtividade Animal) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, USP, Pirassununga, 2001.
- ZHOU, H. Y. et al. Metal composition in sediments and tilapia collected from Island water of Hong Kong. **Water Research**. v. 32, p.3331-3340, 1998.
- ZHOU P, REGENSTEIN JM. Optimization of extraction conditions for pollock skin gelatin. **Journal Food Science** v.69, n.5, p.393–398, 2004.

#### 4. CARACTERIZAÇÃO DAS GELATINAS EXTRAÍDAS DE PELES DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) CONGELADAS E SALGADAS

**RESUMO:** O objetivo do estudo foi realizar a extração de gelatina de peles de tilápia do Nilo, conservadas por congelamento e salga a seco, para avaliar o melhor método de conservação, em função das propriedades reológicas e físico-químicas e rendimento. Após a filetagem, retirou-se a pele com auxílio de alicate e a pele foi submetida ao processo de descarte. Posteriormente dividida em dois lotes: T1 - peles congeladas (-18°C) por sete dias e T2 - peles salgadas com sal marinho a temperatura ambiente por sete dias. As peles foram pré-tratadas em solução de 1:6 (pele/água), adicionando-se H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 10N até obter pH 3,0, por 1 hora a 24°C. A extração da gelatina foi realizada em banho-maria a 50°C, por 1 hora e após a extração, realizou-se a filtração à vácuo e concentrada em evaporadora industrial, gelificada, triturada e seca em secadora com ar forçado e posteriormente a 50°C por 4h. Moída e embalada para a realização das análises de rendimento, composição centesimal, força de gel, viscosidade, hidroxiprolina, ácidos graxos poli-insaturados, coloração, aminoácidos, pH, microbiologia. O maior rendimento foi para a gelatina extraída de peles salgadas (18g/100g) em relação a extraída de peles congeladas (17g/100g). As gelatinas congeladas e salgadas apresentaram 11,92% e 11,68% de umidade, 84,47% e 85,65% de proteína, 0,047% e 0,025% de extrato etéreo e 2,37% e 2,51% de cinzas. A força de gel e a viscosidade foram maiores para as gelatinas salgadas (200g e 19,02mPas), em relação às gelatinas congeladas (12,7g e 9,16mPas). Ácidos graxos poli-insaturados encontrados foram: ácido palmítico, 45,12% e 46,67%, ácido esteárico, 18,91% e 29,17% e ácido oleico, 35,96% e 24,15%, respectivamente. Para a hidroxiprolina encontrou-se (8,71%) gelatinas congeladas e (8,67%) para as salgadas. A coloração foi mais intensa na gelatina congelada (74,62%) e menor na salgada (53,60%). Valores de aminoácidos encontrados nas gelatinas congeladas e salgadas em maiores proporções foram: a glicina 225,2 e 222, alanina 100,7 e 100,4 e prolina 125,9 e 123,4 respectivamente. O pH para a gelatina extraída de peles congeladas foi de 6,71 enquanto a extraída com peles salgadas 6,48. As análises microbiológicas demonstraram que as gelatinas apresentaram limites baixos para coliformes a 35°C/g e estafilococcus coagulase positiva, porém para coliformes a 45°C/g foi superior aos limites estabelecidos pela legislação. Considerando os resultados obtidos, é possível substituir a gelatina de mamíferos por gelatina de peles de tilápia do Nilo, principalmente a extraída de peles conservadas por salga a seco que apresentou as melhores características após a extração.

**Palavras-Chave:** composição química, propriedades reológicas, força de gel, viscosidade

**ABSTRACT:** The objective of the study was to obtain physical-chemical and rheologic characterizations and the molecular profile of gelatin extracted from Nile tilapia skins submitted to different conservation methods (freezing and salting). After filleting the tilapia, the meat was removed and the skins were divided into two lots: T1 – frozen at -18°C for 7 days; and T2 – salted with sea salt for 7 days at room temperature. The skins were washed, weighed and pre-treated in a 1:6 water solution (skin/water) with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> at 10N, until reaching pH 3.0, for 1h at 24°C. Gelatin was extracted in a water bath at 50°C for 1h; after extraction, the gelatin was filtered, concentrated in an industrial evaporator, gelled, triturated, dried in a forced air dryer, and later it was kept at 50°C for 4h. The frozen and salted gelatins showed 11.92% and 11.68% of moisture, 84.47% and 85.65% of protein, 0.047% and 0.025% of ether extract, and 2.37% and 2.51% of ash, respectively. Gel strength was higher for salted skins (200g) compared to frozen skins (12.7g); viscosity was higher for salted skins (19.02mP) compared to frozen skins (9.16mP). The polyunsaturated fatty acids found were: palmitic acid, 45.12% and 46.67%; stearic acid, 18.91% and 29.17%; and oleic acid, 35.96% and 24.15%, respectively. Hydroxyprolin was found (8.71%) in frozen skins and (8.67%) in salted skins. Coloration was higher in frozen gelatin (74.62%) and lower in salted gelatin (53.60%). The respective aminoacid values found in the frozen and salted gelatins were: glycine (73.75 and 69.29 mg/kg), alanine (41.57 and 47.87 mg/kg). The gelatin that showed the best characteristics was preserved by salting – in addition to providing more stability to the skin, it reduces weight, facilitating transportation and acquisition for industrialization.

**Key words:** chemical composition, gel strength, viscosity, molecular profile, collagen extraction

### 4.3 Introdução

A gelatina é uma proteína obtida industrialmente a partir da hidrólise controlada da estrutura organizada do colágeno de ossos, cartilagens e peles de suínos e bovinos. É amplamente utilizada em diversos campos industriais, especialmente nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, por apresentar propriedades químicas e físicas peculiares (Jamilah Harvinder, 2002).

A maioria das gelatinas comerciais é produzida a partir de mamíferos, porém em razão de algumas restrições sócio culturais de islamitas e judaístas; e doenças mundialmente conhecidas como a encefalopatia espongiforme bovina e febre aftosa que causaram problemas para a saúde humana, limitando assim o uso de gelatinas derivadas para uma parte da população (Cho et al., 2005).

Muitos povos consomem apenas gelatinas extraídas de matérias-primas alternativas que não sejam provenientes de mamíferos. Segundo Norland (1990), a gelatina de peixe tem sido alvo de pesquisas para esse público restrito, além da redução de resíduos gerados com a filetagem que são descartados para o meio ambiente, evitando assim a poluição ambiental. A elaboração da gelatina proporciona melhores condições de processamento às indústrias de beneficiamento, agregando valor à cadeia produtiva do peixe.

As gelatinas extraídas a partir de peles de peixes apresentam algumas características diferentes quando comparadas as gelatinas extraídas de mamíferos. Apresentam menores temperaturas de fusão e gelificação, e menor força de gel (Norland, 1990), essas diferenças estruturais ocorrem de acordo com o conteúdo

elevado de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina) presente na estrutura do tecido animal.

As propriedades das gelatinas, e suas diferentes aplicabilidades, são extremamente influenciadas por alguns fatores tais como: características do colágeno da matéria-prima, tipo de pré-tratamento e processo de extração aplicado (Johnston, Banks, 1990), métodos de conservação das peles.

Apresenta grande capacidade termicamente reversível ou de gelificação com a água é o que a torna um hidrocoloide capaz de suprir todas as aplicações desejadas, atualmente no mercado não existe nenhum outro hidrocoloide que apresente todas essas propriedades (Shreve e Brink Jr.,1980).

O colágeno extraído dos peixes apresenta maior susceptibilidade a deterioração quando comparado ao de mamíferos que é mais estável e apresenta maiores facilidades de conservação.

Após a filetagem e retirada da pele, ocorre a rápida degradação microbiana e também por perdas que ocorrem em virtude de ação das enzimas existentes na pele, que acentuam o processo de hidrólise do colágeno, em consequência da ação autolítica de proteases como a catepsina e a peptidase. Com essa reação, o colágeno é transformado em estruturas mais simples, tendo início a perda de matéria-prima e seu enfraquecimento e empobrecimento, interferindo na qualidade da gelatina final (Shreve e Brink.,1980).

Devido a este problema há necessidade de estudar os diferentes métodos de conservação, para proporcionar uma maior estabilidade das peles de peixes para o processo de extração de gelatina.

O objetivo deste experimento foi extrair gelatinas de peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) conservadas pelo congelamento e salga a seco, para avaliar o

melhor método de conservação, em função das propriedades reológicas e físico-químicas e rendimento.

#### 4.4 Material e Métodos

Utilizou-se aproximadamente 80 Kg de peles brutas de tilápia do Nilo, abatidas com peso médio de 600 a 800g, cedidas pelo pesqueiro Rancho Verde, situado no Município de Umuarama –PR.

##### Preparo das peles e métodos de conservação

Após retirada com o auxílio de um alicate, as peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foram transportadas em caixas térmicas acondicionadas com gelo até o laboratório, situado na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá - distrito de Iguatemi -PR. As peles brutas (com músculo, gordura e escamas) foram pesadas em balança Filizola MF e distribuídas em lotes de 3Kg, para cada método de conservação (congelada e salgada).

O descarte foi realizado com auxílio de uma colher, através da raspagem manual do lado carnal da pele (camada hipodérmica). Durante o processo de descarte as peles foram mantidas em solução com água e para as peles que foram conservadas por congelamento a temperatura da água foi controlada na faixa de 0 a 5°C. Para as peles submetidas à salga a seco realizou-se o descarte numa temperatura de 25°C.

As peles após descarte foram conservadas por dois métodos: congelamento em freezer doméstico a – 18°C, por sete dias e salga a seco com sal marinho, por sete dias a temperatura ambiente (25°C) para esse processo foi colocado sal no fundo de bandejas plásticas perfuradas e camadas sucessivas de peles de tilápia intercaladas por camadas

de sal. Depois de formadas as pilhas, foi adicionada uma camada de sal na superfície das peles, de forma que as mesmas ficassem totalmente cobertas por sal.

#### Extração da gelatina

A extração foi realizada em escala semi-industrial na planta piloto da Empresa Gelita do Brasil, situada no Município de Maringá –PR.

Na Figura 1, consta o fluxograma utilizado para realizar a extração da gelatina de pele de tilápia do Nilo. Antes de iniciar o processo de extração da gelatina, as peles congeladas foram descongeladas por aproximadamente 12h em geladeira. As peles salgadas passaram por um processo de dessalga, foram realizadas quatro lavagens sucessivas de 10 minutos, para a remoção do sal.

Antes de iniciar o pré-tratamento ácido, todas as peles de todos os tratamentos foram lavadas durante 10 minutos para uma padronização do método. Posteriormente, foram pesadas e imersas em solução de água numa proporção de 1:6 (pele/água), à temperatura controlada ( $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), com adição de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10N até o pH da solução atingir 2,8-3,2, a partir desta faixa de pH, iniciou-se a contagem do pré-tratamento por 1hora.

Após o pré-tratamento realizou-se uma série de sucessivas lavagens das peles com água limpa. Em seguida retirou-se uma pequena amostra de pele, submetendo-a ao teste de fervura para a verificação do pH. Estas foram lavadas até que seu pH estabilizasse na faixa de 4,8 a 5,2. Para o teste de fervura, tomou-se uma pequena amostra de pele após as lavagens, sua massa foi pesada e adicionou-se água correspondente a três vezes a massa de pele, submetendo à fervura durante 30 minutos. Após a estabilização do pH na faixa mencionada, iniciou-se a extração da gelatina em

banho-maria, durante 1 hora, com controle de temperatura ( $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), concentração de sólidos totais com um refratômetro (marca Atago) e do pH da solução. Após a extração realizou-se a pesagem da massa de solução da gelatina extraída e da pele não dissolvida. A solução de gelatina foi filtrada à vácuo com filtro de papel e polpa de celulose, e foi acondicionada em geladeira para gelificar durante uma noite. Posteriormente a gelatina gelificada foi moída em moedor de carne (tipo Becaro), e foi secada em secadora semi-industrial, distribuída em bandejas de inox com circulação de ar forçado a temperatura ambiente para realização da secagem total do gel e a  $50^{\circ}\text{C}$  por mais 4 horas. A gelatina seca foi triturada em multiprocessador, pesada, embalada e armazenada em local seco até o momento da realização das análises.

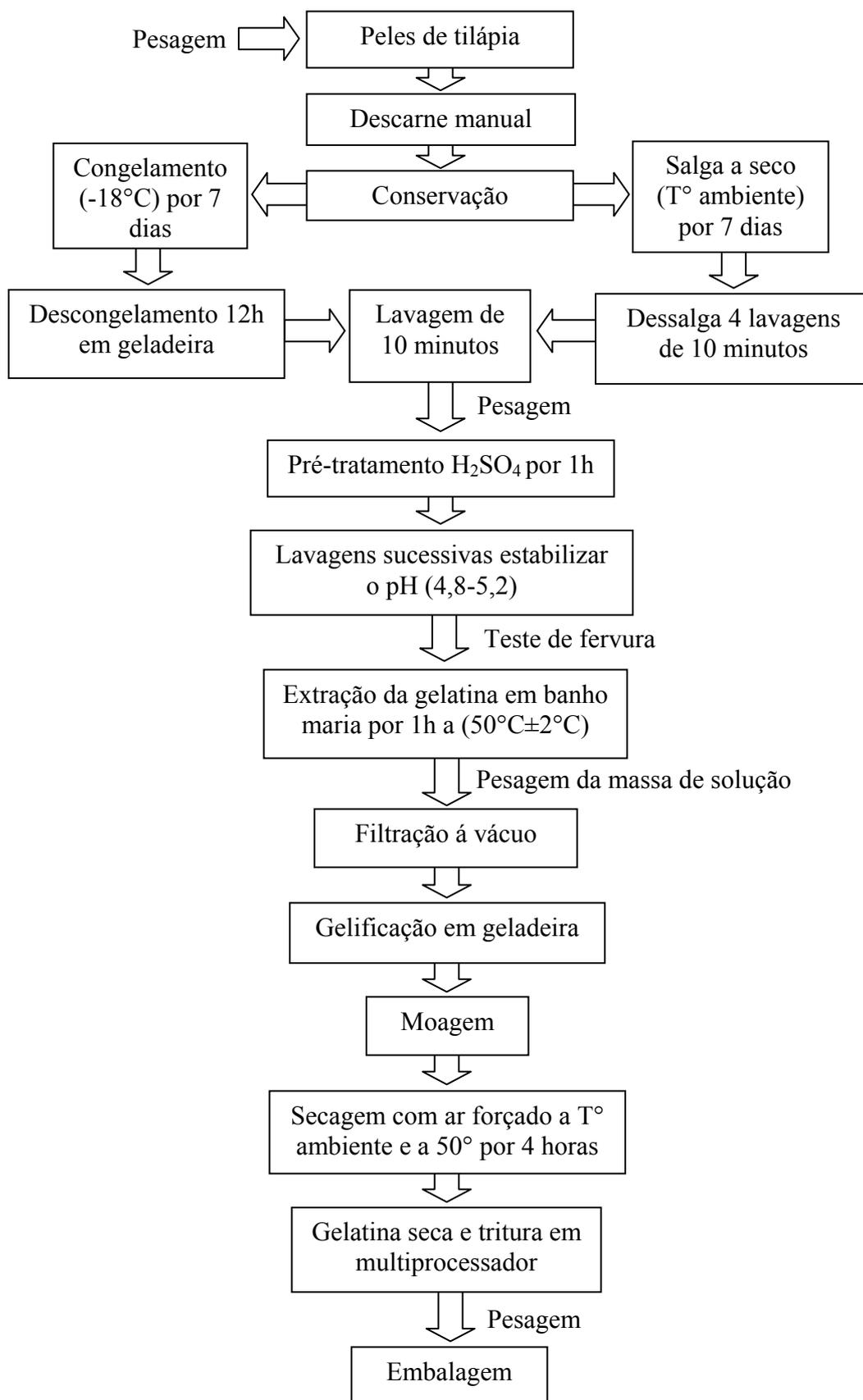


Figura 1. Fluxograma de extração da gelatina de peles de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

### Análise de rendimento

O rendimento de extração da gelatina foi avaliado considerando a massa de gelatina produzida com base na massa de pele úmida.(gramas de gelatina por 100g de pele úmida).

### Análise da composição centesimal e mineral

Foram retiradas amostras de peles congeladas e salgadas, após sete dias de conservação e das gelatinas secas para a realização das análises de composição centesimal e mineral.

As análises foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos e Nutrição Animal – LANA, da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Foram investigados os teores de umidade, cinzas e extrato etéreo, segundo Cuniff (1998). A proteína bruta foi determinada pelo método semi-micro Kjeldahl, descrito por Silva & Queiroz (2006).

Para análise de cálcio e ferro, a leitura foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica descrito por Zhou et al. (1998). A determinação do fósforo total foi realizada com fosfomolibdato de amônio por espectrofotômetro conforme Eijsink et al, (1997).

### pH da gelatina

O pH foi medido numa solução concentrada de 6,67% de gelatina, dissolvida em 100ml de água deionizada. A solução de gelatina foi preparada em banho maria a 60°C, até a total diluição da gelatina no meio. O pH foi medido com a solução em temperatura ambiente, com o auxílio de um pHmetro.

### Análises de ácidos graxos totais

Foram realizados no laboratório de Química da Universidade Estadual de Maringá – UEM, em que os lipídios totais foram extraídos através do método de Bligh & Dyer (1959) e posteriormente foram transesterificadas, de acordo com a metodologia ISO (1978), em que os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados em cromatógrafo gasoso (modelo Varian 3380), equipado com um detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida CP - 7420 (Select FAME) (100m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno e 0,25 $\mu$ m de cianopropil). O fluxo de H<sub>2</sub> (gás de arraste) foi de 1,0 mL/min, com 30mL/min de N<sub>2</sub> (*make up*); e 30 e 300mL/min, para o H<sub>2</sub> e ar sintético, para a chama do detector. O volume injetado foi de 2,0 $\mu$ L, utilizando *split* 1:80, sendo as temperaturas do injetor e detector de 220 e 240°C, respectivamente, enquanto a coluna de 165°C durante 18min e elevada a 235°C com taxa de 4°C/min, mantida por 24,5min.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada de acordo com valores descritos na literatura. As concentrações foram determinadas através da integração das áreas dos picos pelo Software (Varian Workstation Star, versão 5.0), e os resultados expressos em porcentagens de área relativa (Visentainer, 2003 ; Stránsky et al.,1997; Silva ,2000).

### Análise de Aminoácidos

As proteínas constituintes foram hidrolisadas com ácido clorídrico 6N, durante 24 horas. A Hidrólise com HCl , em bloco de reação térmica. Secagem com nitrogênio criogênico, neutralização com acetato de sódio trihidratado, adição de PITC para derivatização dos aminoácidos liberados pela hidrólise e adição do diluente aos cristais

de aminoácidos derivatizados. Detecção a 254nm após a cromatografia em fase reversa em gradiente linear binário (White, 1986 & Hagen, 1989).

### Hidroxirolina

A hidroxiprolina é quantitativamente determinada através da hidrólise da amostra de gelatina com solução de ácido clorídrico com constante ebulição sob refluxo, sendo posteriormente filtrada e diluída. A hidroxiprolina é oxidada com peróxido de hidrogênio e a coloração rósea que se desenvolve na solução após a adição de 4-dimetilaminobenzaldeído é medida por espectrofotômetro.

### Força de gel

A força de gel ou *Bloom* é a massa em gramas necessária para penetrar em 4 mm a massa do gel, preparado a uma concentração de 6,67% de gelatina mantida sob refrigeração a 10°C, por 17 horas. A solução de gelatina com 6,67% de sólidos, preparada a partir da amostra de gelatina seca foi preparada em frascos específicos a 60°C para completa dissolução da gelatina e posteriormente resfriado a 10°C. Para a medida da força de gel foi utilizado o medidor de textura TA-TX2.

### Viscosidade

Para determinação da viscosidade a partir das amostras secas das gelatinas a 6,67% a 60°C, é realizada indiretamente, através do tempo de escoamento de 100ml desta solução através de uma pipeta padrão.

### Caracterização da cor da gelatina em solução

A cor da gelatina foi analisada através da leitura de transmitância em espectrofotômetro Hach (modelo DR/2000), em comprimento de onda de 450nm, com a gelatina em solução, numa concentração de 6,67%.

#### Caracterização da cor da gelatina em pó

Realizou-se a leitura da coloração através de colorímetro digital, (modelo D65) utilizando uma escala L\*, a\* e b\* do sistema CIELab, desenvolvido por (Hunter, 1975). O valor de L\* é o croma associado à luminosidade, que indica a claridade da amostra, varia de preto (0) a branco (100), e a\* e b\* são cromaticidades dadas nas coordenadas e indica a direção da cor, em que o a\* é o croma que varia de verde (-a) ao vermelho (+a), encontrados no eixo X e b\* que varia do azul (-b) ao amarelo (+b), encontrados no eixo Y (Houben et al, 2000).

#### Análises microbiológicas

Foi realizada no Laboratório de Microbiologia e Microscopia de Alimentos, no Departamento de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá – UEM, onde investigou-se o número mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C (NMP/g), contagem de estafilococcus coagulase positiva (UFC/g) segundo APHA (2002) e pesquisa de salmonela segundo Silva et al., (2000) para as gelatinas secas.

#### Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dois tratamentos sendo que: T1 = gelatina extraída de peles de tilápia congeladas: T2 = gelatinas extraída

de peles de tilápia salgadas. Utilizou-se 3 kg de peles por repetição para a extração da gelatina. Para as análises de rendimento, composição centesimal, minerais, bloom, viscosidade, coloração, foram realizadas seis repetições por tratamento. Para as análises microbiológicas, aminograma, ácidos graxos totais e hidroxiprolina não foi realizada análise estatística. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico SAEG (2000).

#### **4.5 Resultados e Discussão**

##### Rendimento de gelatina

O rendimento médio encontrado neste estudo foi de 17g/100g para gelatina extraída a partir de peles congeladas e 18g/100g para a gelatina extraída de peles salgadas.

Songchotikunpan et al. (2008) extraiu gelatina de peles de tilápia do Nilo a 70°C por 1,5 hora e encontrou um rendimento de 18,1g/100g, valor bastante semelhante ao obtido neste estudo para gelatina extraída de peles salgadas.

Bueno (2008) trabalhou com gelatinas de peles de tilápia do Nilo congeladas (-18°C) por duas semanas e extraídas a (70°C e a 50°C), obteve um rendimento de 10,2g/100g e 18,3g/100g. Comparando o método de conservação utilizado por Bueno (2008) em relação ao experimento observa-se que o rendimento da gelatina de peles congeladas por sete dias deste estudo foi muito próximo (17g/100g) os relatados por Bueno (2008). O mesmo autor relata que o menor rendimento encontrado no seu estudo, deve-se as perdas que ocorreram com o material durante o processo de secagem em estufa, e também a diferenças de temperatura de extração.

Rendimentos menores foram observados em outros estudos para gelatinas extraídas de peixes marinhos, tais como para o salmão do Atlântico (15,3g/100g) e para o bacalhau (11,8g/100g) segundo Arnesen & Gildberg (2007), e “shortfin scad” de 14,3g/100g (Cheow et al., 2007).

Os maiores rendimentos foram observados para gelatinas extraídas de peles de tilápia do Nilo, quando comparada as gelatinas de peixes marinhos, isto ocorre por causa das variações da composição centesimal das peles, conteúdo de colágeno presente, quantidade de componentes solúveis na pele, idade dos animais, espécie, e a variação do método de extração (Muyonga et al., 2004; Jongjareonrak et al., 2006).

De acordo com Jamilh & Harvinder (2002), diferenças entre rendimentos podem ocorrer, em função da perda do colágeno extraído, ou pela hidrólise incompleta. Foegeding et al. (1996), relata que menores quantidades de gelatina extraída está relacionada com o grau de ligações cruzadas através de ligações covalentes, que podem causar uma redução na solubilidade do colágeno.

#### Composição centesimal e mineral

A composição centesimal das gelatinas extraídas de peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo consta na Tabela 01. Não houve diferença estatística para umidade, proteína, extrato etéreo e cinzas. As gelatinas congeladas e salgadas apresentaram uma umidade de 11,92% e 11,68%, respectivamente. Songchotikunpan et al. (2008) relatou teores de 7,3% de umidade em gelatina de peles de tilápia do Nilo e Binsi et al. (2007), 4,2% de umidade para a gelatina de “bigeye snapper”. Provavelmente, essas diferenças ocorreram em função dos diferentes métodos de lavagem e conservação aplicada as peles antes de iniciar o processo de extração da gelatina e principalmente em relação ao tempo de secagem das gelatinas após a extração.

Não houve diferença significativa no teor de proteína bruta entre as gelatinas obtidas a partir das peles submetidas aos dois diferentes métodos de conservação das peles. Os valores de proteína bruta foram 84,47% para gelatinas de peles congeladas e 85,65% para gelatinas de peles salgadas. Esses valores foram inferiores aos encontrados por Jongjareonrak et al. (2009) para gelatina de peles de “catfish” (89,1%) e Songchotikunpan et al. (2008) para gelatina de peles de tilápia do Nilo (89,4%).

Binsi et al. (2007) encontrou para gelatinas extraídas de peles de “bigeye snapper” valores de proteína bruta de 94,6%, valores muito superiores aos obtidos neste estudo. Muyonga et al. (2004) encontrou para gelatinas extraídas de peles de jovens de “perch Nilo” (87,4%) e adultos (87,9%). Comparando os dados dos autores citados com os descritos neste experimento, pode-se observar que quanto maior forem os teores de umidade encontrados na gelatina, conseqüentemente o teor de proteína bruta será menor, isto ocorre em conseqüência da relação direta entre os dois parâmetros investigados.

Os resultados de extrato etéreo foram extremamente baixos para a gelatina de tilápia do Nilo com peles congeladas (0,047%) e salgadas (0,025%) dados relatados na Tabela 1. Jongjareonrak et al. (2009), encontrou valores mais elevados de extrato etéreo (0,7%), para gelatina de “catfish”, isto pode ter ocorrido em conseqüência da espécie utilizada apresentar maior teor de gordura comparada a espécie deste estudo. A tilápia é considerada um peixe de baixo teor de gordura em relação ao “catfish”. Songchotikunpan et al. (2007), relatou teores de extrato etéreo de 0,3% para gelatina de peles de tilápia do Nilo.

Quanto às cinzas não houve diferenças significativas entre as gelatinas congeladas (2,37%) e a salgadas (2,51%) extraídas de peles de tilápia, essa proximidade de valores encontrado, ocorreu em função das peles salgadas passarem por uma etapa

de sucessivas lavagens para retirar o excesso de sal, para que não houvesse a interferência de sais na composição da gelatina. Songchotikunpan et al. (2007) encontrou 2,1% de cinzas na gelatina de peles de tilápia do Nilo, valores semelhantes aos citados neste estudo.

Tabela 1. Composição centesimal de gelatinas de peles de tilápia do Nilo conservadas pelo congelamento e salga.

Tratamentos	Umidade %	Proteína bruta %	Extrato etéreo %	Cinzas %
Gelatina de pele congelada	11,92 ± 2,78	84,47 ± 5,59	0,047 ± 0,036	2,37 ± 0,55
Gelatina de pele salgada	11,68 ± 1,01	85,65 ± 2,31	0,025 ± 0,241	2,51 ± 0,29
F	0,03 <sup>NS</sup>	0,18 <sup>NS</sup>	2,72 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>
C.V.(%)	16,79	4,77	10,95	17,30

<sup>NS</sup>Não significativo (P>0,05) pelo teste F

Jongjareonrak et al. (2009), encontraram baixo teor de cinzas (0,33%) em gelatinas extraídas de peles de “catfish”, resultados estes inferiores comparados aos de tilápia. Todavia, Jongjareonrak et al. (2006) observaram que o teor de cinzas para a gelatina de “bigeye snapper” de 3,2% e para “brownstripe red snapper” de 1,9% respectivamente. Teores superiores e inferiores aos relatados no estudo com a tilápia.

Segundo Jongjareonrak et al. (2010), geralmente, a gelatina extraída da pele tilápia do Nilo apresenta elevado teor de proteína e baixa umidade, gordura e cinzas em virtude da eficiente remoção da gordura e minerais da pele durante o processo de extração da gelatina.

Na Tabela 2, constam os teores de cálcio das gelatinas de peles congeladas e salgadas que não diferiram entre os tratamentos, enquanto ferro foi significativamente superior para gelatinas de peles salgadas (0,4986 mg/100g) comparados as gelatinas de peles congeladas (0,2667 mg/100g). Segundo Ogawa & Maia, (1999), as variações que ocorrem em teores de minerais em peixes está diretamente relacionada com a qualidade

da água ambiente e a alimentação, onde os animais aquáticos controlam sua pressão osmótica, através de sais inorgânicos presentes na água.

Normalmente, pescados de carne vermelha, apresentam alto teor de ferro em relação aos de carne branca como é o caso da tilápia. Quando comparados aos bovinos, os peixes apresentam maiores teores de cálcio e sódio. Portanto, é possível associar todas essas informações e relacioná-las diretamente com a pele do peixe, pois é através dela que o animal permanece exposto no ambiente (Ogawa e Maia, 1999). Na pele estão presentes vasos sanguíneos que irrigam a estrutura dérmica, conseqüentemente o sangue é um composto rico em hemoglobina que por sua vez está ligada ao ferro no transporte de oxigênio.

Tabela 2 -Minerais encontrados nas gelatinas de peles de tilápia do Nilo congeladas e salgadas

Tratamentos	Teor de cálcio (mg/100g)	Teor de ferro (mg/100g)
Gelatina de pele congelada	117,17 ± 10,77	0,2667 ± 0,078
Gelatina de pele salgada	106,64 ± 36,56	0,4986 ± 0,037
F	45,76 <sup>NS</sup>	2,50*
C.V.(%)	32,28	69,92

<sup>NS</sup>Não significativo (P>0,05) pelo teste F

#### Ácidos graxos nas gelatinas

Foi encontrado um total de 23 ácidos graxos para as peles e apenas três ácidos graxos para as gelatinas como pode ser observado na Tabela 3. O ácido palmítico (16:0),apresentou valores de 24,69% para peles congeladas e 24,24% para as peles salgadas, as gelatinas apresentaram valores mais elevados deste ácido (congelada= 45,12%) e (salgada = 46,67%).

Dentre os ácidos graxos da série n-3, o ácido graxo alfa-linolênico (18:3n-3), precursor dos ácidos graxos de cadeia muito longa eicosapentaenóico (EPA - 20:5n-3) e docosahexaenóico (DHA - 22:6n-3) da série n-3 apresentou um valor de 2,31% para as peles após congelamento e 2,09% para as peles após salga.

Para os ácidos graxos EPA e DHA as porcentagens nas peles foram de 0,35% para peles congeladas e 0,43% para peles salgadas, e para as gelatinas extraídas das respectivas peles os valores foram 0,74% e 0,75%.

Grandes concentrações do ácido esteárico (18:0) foram observadas tanto nas peles congeladas (8,54%) como nas salgadas (8,69%), respectivamente para as gelatinas (18,90%) e (29,16%). O ácido oleico também merece destaque por apresentar elevadas quantidades nas peles congeladas (33,46%) e salgadas (30,82%), e nas gelatinas (35,96%) e (24,15%), respectivamente. Valores dos ácidos graxos encontrados nas gelatinas, foram muito superiores aos investigados nas peles.

Tabela 3- Composição de ácidos graxos de peles e gelatinas extraídas de peles de tilápia do Nilo

Ácidos graxos	Peles Conservadas		Gelatina seca	
	Congelamento (%)	Salga (%)	Peles congeladas (%)	Peles Salgadas (%)
14:0	2,10	2,29		
14:1n-9	0,22	0,23		
16:0	24,69	24,24	45,12	46,67
16:1n-9	0,57	0,62		
16:1n-7	4,76	4,61		
16:1n-5	0,20	0,20		
17:0	0,40	0,41		
17:1n-9	0,21	0,24		
18:0	8,54	8,69	18,90	29,16
18:1n-9	33,46	30,82	35,96	24,15
18:1n-7	3,42	3,98		
18:2n-6	9,54	10,14		
18:3n-6	0,50	0,48		
20:0	0,54	0,56		
18:3n-3	2,31	2,09		
20:1n-9	0,56	0,48		
21:0	0,22	0,24		
20:2n-6	0,58	0,70		
20:3n-6	1,60	2,63		
20:5n-3	0,35	0,43		
24:1n-9	0,83	1,09		
22:4n-3	0,75	0,95		
22:6n-3	0,74	0,75		

Valores expressos em média.

### Aminograma

Para as peles conservadas por congelamento e salga a seco, os aminoácidos encontrados em maiores proporções foram: a glicina (67,6 e 58,1), a alanina (30,2 e 26,3), seguido da prolina (38,3 e 32,5) e a arginina (26,6 e 23,3) respectivamente (Tabela 4). O elevado conteúdo de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina), pode ser explicado por causa da estrutura do tecido animal, conter grandes proporções desses aminoácidos, pois são importantes para manter a elasticidade das articulações, dos ligamentos, da cartilagem e da própria pele que reveste o animal.

Para as gelatinas extraídas a partir de peles conservadas por congelamento e salga a seco os aminoácidos encontrados em maiores proporções foram semelhantes aos relatados para as peles, em que a glicina apresenta 225,2 e 222,0, prolina 125,9 e 123,7, alanina 100,7 e 100,4, e a arginina 83,5 e 82,0 em 1000 resíduos de aminoácidos. Estes valores mostram que aplicando diferentes formas de conservação nas peles de tilápia, não interferiu no teor de aminoácidos que compõem a cadeia do colágeno. Tanto para as peles quanto para as gelatinas a glicina foi o aminoácido que apresentou maiores porcentagens, isso ocorre devido ao tipo de estrutura que forma a cadeia, onde a cada duas posições de aminoácidos, está presente um resíduo de glicina no interior da hélice do colágeno, seguido da prolina e da hidroxiprolina.

Jongjareonrak et al, (2010), extraiu gelatina de peles resfriadas do catfish (*Pangasianodon gigas*) e encontrou 106 de alanina e 124 de prolina em 1000 resíduos de aminoácidos, valores estes semelhantes aos encontrados neste estudo para tilápia do Nilo, para o teor de glicina o valor encontrado no estudo do catfish (359), foi superior ao encontrado para a tilápia do Nilo, nas duas formas de conservação.

Gómez-Estaca et al. (2009), fazendo um estudo comparativo entre duas gelatinas comerciais, um extraída de pele de mamífero e a outra de atum, encontrou

respectivamente os seguintes aminoácidos em maiores proporções: alanina (113 e 119), glicina (342 e 336) e prolina (127 e 107) por 1000 resíduos de aminoácidos.

Os valores de prolina encontrado em mamíferos foi muito próxima aos obtido na gelatina extraída de peles congeladas de tilápia do Nilo, enquanto para o atum este valor foi muito inferior.

O teor de iminoácidos em gelatinas de mamíferos é bastante elevado segundo Norland (1990), a prolina e hidroxiprolina são bastante importantes porque determinam as propriedades reológicas e a força de termoestabilidade da gelatina, pois promovem a formação da tripla hélice, em consequência da formação de zonas de junção por ligações de hidrogênio que formam várias interações inter e intra molecular, e são importantes para a estabilização do gel.

Tabela 4 -Aminograma das peles conservadas por congelamento e salga e das gelatinas extraídas de peles de tilápia do Nilo

Aminoácidos	Peles Conservadas		Gelatinas extraídas das peles	
	Congelamento	Salga	Congeladas	Salgadas
Ácido aspártico	18,4	17,0	54,8	53,2
Ácido glutâmico	29,8	27,6	95,6	92,8
Serina	11,1	9,8	34,0	33,1
Glicina	67,6	58,1	225,2	222,0
Histidina	2,7	2,5	7,1	6,5
Arginina	26,6	23,3	83,5	82,0
Treonina	8,5	7,8	25,2	24,5
Alanina	30,2	26,3	100,7	100,4
Prolina	38,3	32,5	125,9	123,7
Tirosina	2,3	2,3	4,4	4,3
Valina	70	6,2	18,8	171
Metionina	5,5	4,8	16,7	165
Cistina	3,3	1,9	7,0	3,7
Isoleucina	4,1	3,7	9,9	9,6
Leucina	9,9	8,8	25,5	25,1
Fenilalanina	6,7	5,9	19,2	19,0
Lisina	10,3	9,3	31,2	30,7
Soma aminoácidos	282,3	247,8	884,7	864,0

Resíduos/1000 resíduos de aminoácidos

## Hidroxirolina

Os valores de hidroxiprolina encontrados neste estudo foram de 8,67% para a gelatina extraída de pele conservada por salga e 8,71% para a gelatina de peles congeladas. Boran e Regeinsten (2009), encontraram uma concentração de hidroxiprolina na gelatina da carpa prateada de 10,9%, que foi superior aos obtidos em relação às outras espécies de peixes.

O teor de iminoácido encontrado neste estudo foi inferior ao encontrado em gelatina de pele suína de (19,3%) e em gelatinas comerciais extraídas com peles de bovinos (13,7%). Cheow et al.(2007) relatou para gelatina de corvina e “shortfin scad” valores de 11,8% e 10% de hidroxiprolina respectivamente, esses resultados estão semelhantes aos encontrados para tilápia do Nilo. A hidroxiprolina é muito importante, pois ajuda a estabilizar termicamente a tripla hélice do colágeno, principalmente em animais, como os peixes que necessitam manter sua temperatura corporal baixa. (Wards e Courts, 1977).

## Bloom e viscosidade

A gelatina extraída a partir de peles salgadas apresentou um valor de bloom de 200g, significativamente maior do que a de peles conservadas por congelamento 12,7g, esses resultados estão diretamente relacionados com as diferenças do peso molecular entre os tratamentos (Tabela 5).

Alguns autores citam estudos com gelatinas extraídas a partir de peles de diferentes espécies de peixes, onde os valores variaram de uma espécie para outra. A tilápia “black” segundo Jamilah (2002), apresentou 181g de bloom, valor próximo ao

encontrado neste estudo. A tilápia vermelha apresentou um menor valor de bloom 128g, quando comparados com a tilápia nilótica e a “black” (Jamilah, 2002). O bacalhau apresentou um valor de bloom baixo (70g), isso pode ocorrer em função do conteúdo de hidroxiprolina de espécies de peixes marinhos serem menores, que o de peixes tropicais, portanto esta diretamente relacionada com a estabilidade do gel. Segundo Gómez-Guillén et al. (2002) o “megrim” e o linguado, apresentaram elevados valores de bloom, respectivamente 340g e 350g.

Tabela 5. Dados de Bloom e viscosidade de gelatina em pó, extraídas de peles congeladas e salgadas

Gelatinas	Bloom (g)	Viscosidade (mPas)
Peles congeladas	12,7 ± 8,70	9,16 ± 0,85
Peles salgadas	200,1 ± 31,35	19,02 ± 2,78
F	165,82*	57,15*
C.V.(%)	21,60	14,63

<sup>NS</sup>Não significativo (P>0,05) pelo teste F

A viscosidade da gelatina de peles salgadas foi significativamente mais elevada 9,02 mPas, do que em peles congeladas 9,16 mPas (Tabela 5). Essa diferença é diretamente proporcional aos valores de *Bloom*. Essa diferença ocorre em razão da degradação da cadeia polipeptídica, responsável por uma rede ordenada e menos presente, que pode aumentar a viscosidade.

Songchotikunpan et al.(2008), encontrou para gelatina extraída de peles de tilápia do Nilo, 17,8 mPas de viscosidade, valor este, semelhante ao encontrado para a gelatina extraída de peles salgadas. Jamilah et al. (2002) encontrou dados de viscosidade para gelatinas de peles de tilápia “black” e “red” (7,1 e 3,2mPas, respectivamente).

Segundo Zhou e Regenstein (2004) para gelatina extraída de peles de “Alasca pollock”, a viscosidade encontrada variou entre 1,56 e 6,62 mPas, essa variação ocorreu em função do método de extração aplicado. Segundo Sperling, (1985), a viscosidade de

uma solução de gelatina varia de acordo com o peso, tamanho e a distribuição molecular das proteínas. Segundo Johnston-Banks (1990), a viscosidade de gelatinas comerciais varia de 2,0 a 7,0mPas, podendo chegar até 13,0mPas, para as gelatinas com aplicabilidades mais específicas.

#### Caracterização da cor das gelatinas em solução

As amostras de gelatina em solução apresentaram diferenças significativas para a coloração. A gelatina extraída de peles congeladas apresentou uma coloração mais amarela-esverdeada comparada a salgada. Através da análise de coloração da gelatina em solução, realizada pela leitura da transmitância em espectrofotômetro, pode-se observar na Tabela 6, que a gelatina de peles congelada apresentou um maior valor de cor (74,62%), em relação à gelatina de pele salgada (53,60%), essa diferença pode ter ocorrido em função do comprimento de onda não estar apropriado para a cor da gelatina de peixe, já que o comprimento de 450nm é método utilizado para gelatinas tradicionais, como bovina e suína. Como essa gelatina de peixe ficou com uma coloração esverdeada, o pico de transmitância pode ter se deslocado. Como se trata de transmitância, problemas de filtração da gelatina podem levar a distorção dos resultados.

A coloração da gelatina em pó foi analisada instrumental, utilizando a escala L\*, a\*, b\*, em que para a luminosidade (L\*) não houve diferenças significativas entre os dois tratamentos aplicados, portanto apresentaram pouca claridade (Tabela 6).

Tabela 6 - Coloração das gelatinas em pó extraída de peles de tilápia do Nilo

Gelatinas	L*	a*	b*
Peles congeladas	37,54 ± 4,05	-1,10 ± 0,56	5,27 ± 1,60
Peles salgadas	39,67 ± 2,25	0,56 ± 0,63	9,23 ± 1,47
F	1,05 <sup>NS</sup>	18,85*	16,50*
C.V.(%)	8,50	8,50	21,22

L: luminosidade; a: intensidade cor vermelha; b: intensidade cor amarela

<sup>NS</sup>Não significativo (P>0,05) pelo teste F

Houve diferenças significativas nas gelatinas extraídas de peles congeladas e salgadas para o croma  $a^*$  e  $b^*$ . Como a croma  $a^*$  apresentou valor negativo para gelatinas extraídas de peles congeladas (-1,10%), significa que tendeu mais para a coloração verde, ou seja, a gelatina apresentou uma coloração mais esverdeada quando comparada à gelatina de peles salgadas (0,56%) que apresentava uma coloração amarelo clara. Para a croma  $b^*$  os valores encontrados foram positivos, porém significativamente diferentes entre os tratamentos, em que a gelatina de peles salgadas apresentou uma coloração amarela mais intensa (9,23%), que a gelatina extraída de peles congeladas (5,27%).

Jongjareonrak et al. (2006) analisou a coloração em gelatinas feitas com peles de “catfish”, relatou uma luminosidade de 20,43% respectivamente para coloração mais intensa (amarela) e menos intensa (amarelo esverdeado). A coloração da gelatina geralmente, é influenciada pelas matérias-primas utilizadas, porém é independente do método aplicado.

#### pH da gelatina

O valor de pH encontrado para a gelatina extraída a partir de peles congeladas foi 6,71 enquanto a gelatina extraída de peles salgadas foi 6,48, estes valores encontrados foram semelhantes entre si, e enquadram-se dentro do intervalo esperado, pois ao término da extração realizou-se a correção do pH, de uma faixa menos ácida para uma mais neutra, como forma de preservar o material.

### Análises microbiológicas

Segundo o Codex Alimentarium (2003) estabelece padrões mundiais para caracterização microbiológica de gelatinas, ausência de *E. coli* e salmonela em 25g de gelatina.

As gelatinas extraídas a partir de peles congeladas e salgadas apresentaram uma contagem de coliformes totais a 35°C de  $2,4 \times 10^3$  (NMP/g), porém quando comparados com a legislação, não se encontra limites que estabelecem o NMP/g que pode ser tolerado em gelatinas.

Para coliformes a 45°C/g em gelatinas extraídas de peles congeladas foi de  $2,8 \times 10^1$  (NMP/g) e na gelatina de pele salgada  $< 3$  (NMP/g), valores considerados baixos, porém superiores aos toleráveis pela Anvisa (2001), que estabelece limite tolerável de até 1 para coliformes a 45°C/g.

Análises de *Estafilococcus Coagulase Positiva*, tanto para a gelatina de peles congeladas quanto para a gelatina de peles salgadas foram de  $1,0 \times 10^2$  (UFC/g), estes resultados são considerados baixos, porém a legislação para gelatinas não estabelece limites toleráveis.

Como o experimento foi realizado em escala semi-industrial numa planta piloto, houve uma grande preocupação em adotar todas as condições higiênico-sanitárias possíveis desde o processamento da matéria-prima até a gelatina final, porém neste processo adotado a gelatina não foi esterilizada, quando comparada a uma processada em escala industrial que contempla a etapa de esterilização.

#### 4.6 Conclusões

O menor rendimento observado foi para a gelatina extraída a partir de peles congeladas quando comparada à salgada, provavelmente em função de algumas perdas do material durante o processo de secagem.

Não houve diferenças significativas para a análise de composição centesimal: umidade, proteína bruta, cinzas e extrato etéreo investigado nas gelatinas extraídas de peles de tilápia conservadas por congelamento e salga a seco.

O teor de cálcio nas gelatinas não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, porém o teor de ferro foi ligeiramente maior para a gelatina extraída de peles salgadas.

Nas gelatinas, foram encontrados apenas três tipos de ácidos graxos (palmítico, esteárico e oleico), isso não significa que não existam outros ácidos graxos presentes na composição da gelatina, porém apresentam quantidades muito pequenas, não apresentando picos de leitura.

As gelatinas apresentaram valores elevados de glicina, prolina e alanina, aminoácidos que compõem a base da estrutura do colágeno, assim como elevado conteúdo de iminoácido nas peles e na gelatina.

O teor de hidroxiprolina foi semelhante entre as gelatinas extraída de peles conservadas por salga e congelamento.

O Bloom e a viscosidade foram maiores para a gelatina extraída de peles salgadas, portanto esta gelatina apresentou maior força de gel durante a gelificação, provavelmente em razão da ação do sal durante o processo de conservação que demonstrou maior preservação do material, quando comparado ao congelamento.

A coloração, demonstrou que a gelatina extraída de peles congeladas apresentou uma coloração amarelo-esverdeada, quando comparada à salgada que apresentou maior

intensidade para a cor amarela. A coloração não influencia nas propriedades funcionais da gelatina.

A análise microbiológica demonstrou que as gelatinas apresentaram limites baixos para coliformes a 35°C/g e estafilococcus coagulase positiva, embora não há na legislação limites toleráveis para gelatinas. Porém a contagem de coliformes a 45°C/g foi superior aos limites estabelecidos pela Anvisa.

#### 4.7 Literatura Citada

- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, disponível no site [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acessado em setembro 2009.
- APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4ª ed. 2002.
- ARNESEN, J. A.; GILDBERB, A. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource Technology**, v.98, p.53–57, 2007.
- ASGHAR, A., HENRICKON, R.L., Chemical, biochemical, functional, and nutritional characteristics of collagen in food systems. **Advances in Food Research**, v. 28.p. 232–372, 1982.
- BINSI, P.K et al. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.132-145, 2007.
- BLIGH, E. G., DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, n.18, p.911-917, 1959.
- BORAN G., REGENSTEIN, J.M. Optimization of Gelatin Extraction from Silver Carp Skin. **Journal of Food Science**,v.74, 2009.
- BSI (British Standards Institution), **Methods for Sampling and Testing Gelatin (physical and chemical methods)**. BSI,1975.
- BUENO, C.M.M. **Extração e Caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa**. 2008. 133p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2008.
- CHEOW, C. S. et al. Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (*Johnius dussumieri*) and shortfin scad (*Decapterus macrosoma*). **Food Chemistry**, v.101, p.386–391, 2007.
- CHO S.M.et al. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.221-229, 2005.

- Codex Alimentarius Commission.** Guidelines for the Production, Processing, Labelling and Marketing of Organically Produced Foods. 2003.
- COURTS, A.; WARD, A.G. **The science and technology of gelatin.** Academi Press, 1977.
- CUNNIFF, P. A. Official methods of Analysis of AOAC international. 6<sup>a</sup> ed. Arlington: **Association of official Analytical Chemists**, CD-Rom, 1998.
- EASTOE, B.Y. J. The Amino Acid Composition of Fish Collagen and Gelatin, 1956.
- EIJSINK, L. M.; KROM, M. D.; LANGE, G. J. The use of sequential extraction techniques for sedimentary phosphorus in eastern. **Marine Geology.** v.139, p.147-155, 1997.
- FURLONG, E.B.; BASTOS, A.L. BAISCH, A.L.M. Caracterização química de pescados empregados para tratamento de Asma brônquica na Região Sul do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n<sup>o</sup>3, p.415-422, 2006.
- FOEGEDING, E., LANIER, T. C., HULTIN, H. O. Characteristics of edible muscletissue. **Food chemistry.** p.879–942, 1996.
- GÓMEZ-GUILLÉN M.C.et. al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.16, p.25-34, 2002.
- HAGEN. FROST B, AUGUSTIN, J. Precolumn Phenylthiocyanate Derivatization and Liquid-Chromatography Of Amino-Acids In Food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists** p.912-916, 1989.
- ISO** – International Organization for Standardization. Geneve, Method ISO 5509, 1978.
- JAMILAH, B.; HARVINDER, K.G. Properties of gelatins from skins of fish –black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, v.77, p.81-84, 2002.
- JONGJAREONRAK, A.et al. Skin gelatinfrom bigeye snapper and brownstripe red snapper: chemical compositions andeffect of microbial transglutaminase on gel properties. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.1216–1222, 2006.

- JOHNSTON-BANKS, F. A. **Gelatin**. Food Gels, p. 233–289). Elsevier Applied Science, 1990.
- LEUENBERGER B.H.; Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins. **Food Hydrocolloids**, v.5, p.353-361, 1991.
- LIU H., DING L., SHIDONG G., Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods. **Food Science and Technology**, p.1425-1430, 2007.
- MUYONGA J.H.et al. Extraction and physicochemical characterization of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.18, n. 4, p.581-592, 2004.
- NORLAND, R.E. **Fish gelatin**. Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability. Publishing Lancaster, p.325–333, 1990.
- OCKERMAN, H.W. HANSEN C.L. **Animal By-product Processing and Utilization**, Publishing Lancaster, 2000.
- OGAWA, N.B.P.; MAIA, E.L. **Manual de Pesca: ciência e tecnologia do pescado**. Varela, 1999.
- SAEG. **Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas**. Versão 8,0. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2000.
- SHREVE, R.N.; BRINK. Jr. **Indústrias de Processos Químicos**. Guanabara dois, 4ª ed, 1980.
- SHI, J. et al. A study of the gel strength change of photogelatin in dependence on their content of a components. **The Science and Technology of Gelatin**, p.7–11, 2002.
- SILVA, A. J. I. **Composição lipídica e quantificação dos ácidos graxos poliinsaturados EPA (20:5n-3) e DHA (22:6n-3) de peixes de água doce**. 2000. Tese (Doutorado). Campinas, 2000.
- SILVA, J.A. et al. **Tópicos da tecnologia dos alimentos**. Livraria Varela. p.231, 2000.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos**. 3ªed. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.

SPERLING, L. H. **Introduction to physical polymer science**. 1985.

STRÁNSKY, K. et al. Standard equivalent chain length values of monoenic and polyenic (methylene interrupted) fatty acids. **Journal of High Resolution Chromatography**, v.30, p.143-158, 1997.

VISENTAINER, J. V. **Quantificação dos ácidos graxos poliinsaturados alfa-linolênico (LNA), eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) em,tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas a diferentes tratamentos com óleo de linhaça**, 2003. Tese (Doutorado em Química) – Universidade federal de Viçosa. Viçosa, 2003.

ZHOU, H. Y. et al. Metal composition in sediments and tilapia collected from Island water of Hong Kong. **Water Research**. v. 32, p.3331-3340, 1998.

ZHOU P, REGENSTEIN JM. Optimization of extraction conditions for pollock skin gelatin. **Journal Food Science** v.69, n.5, p.393–398, 2004.

WARD, A.G.; COURTS, A. **The Science and Technology of Gelatin**. Academic Press, 1977.

WHITE J.A., HART R.J., FRY J. Evaluation Of The Waters Pico-Tag System For The Amino-Acid-Analysis of Food Materials. **Journal of Automatic Chemistry**, p.170-177, 1986.