



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

LUÃ CALDAS DE OLIVEIRA

**OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE GELATINA A PARTIR DE PELE DE
TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

Belém - PA
2014

LUÃ CALDAS DE OLIVEIRA

**OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE GELATINA A PARTIR DE PELE DE
TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Éder Augusto Furtado Araújo

Co-orientadora: Profa. Dra. Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro

BELÉM - PARÁ
2014

LUÃ CALDAS DE OLIVEIRA

**OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE GELATINA A PARTIR DE PELE DE
TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

Aprovada em: 10/04/2014

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Éder Augusto Furtado Araujo
(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro
(Co-orientadora)

Prof^a. Dr^a. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço
Membro da banca (FEA/ITEC/UFPA)

Prof^a. Dr. Evaldo Martins Silva
Membro da banca (FEPESCA/IECOS/UFPA)

BELÉM - PARÁ
2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar força e proteção, iluminando meus caminhos e me dando forças para superar os desafios da vida.

Aos meus pais Miguel e Deborah, que sempre acreditaram em mim e sempre fizeram de tudo para que eu pudesse alcançar os meus sonhos. À minha irmã querida Larissa, por me amar e por criticar quando eu estava errado.

À minha amada e companheira Jéssika Barbosa, por estar ao meu lado por todos esses anos, pela paciência e cumplicidade. Seu amor e seu apoio é que me fazem seguir em frente, até mesmo quando eu não acredito em mim mesmo, obrigado por tudo.

À minha “mãe” de longa data, co-orientadora, prof^a Suezilde Ribeiro. Uma mulher incansável, competente e admirada por todos ao seu redor pela fibra, honestidade e excelência no que faz. Tenho a senhora como um modelo, tanto na vida pessoal quanto profissional. Obrigado pelos “puxões de orelha” e pela orientação desde a graduação. Mais do que uma amiga, uma verdadeira mãe.

Ao meu orientador, “pai”, Éder Araújo, pelos conhecimentos transmitidos, pelo bom humor, e pela dedicação a este trabalho. Seu suporte e amizade foram essenciais para que eu pudesse realizar as etapas deste trabalho e ele se tornar algo incrível. Nem todos tem oportunidade de contar com um orientador tão legal, e ainda por cima remista, como eu tive, obrigado.

À banca examinadora, prof^o Evaldo Silva e prof^a Lúcia Lourenço, à imensa contribuição a este trabalho. Obrigado pela disponibilidade e correções que engrandeceram este trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro para realização das análises e deste trabalho como um todo, que foram de suma importância para sua realização.

À UFPA e UNICAMP pela oportunidade de realização das análises e armazenamento das matérias-primas. Também ao programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA, pela oportunidade que me foi dada para que pudesse adquirir o título de mestre.

Aos professores Antônio Manoel, Luiza Meller, Herve Rogez, Rosinelson Pena e Nádia Corrêa, pela ajuda e disponibilidade de equipamentos para realização deste trabalho. Sem a colaboração dos senhores este trabalho não seria possível.

À professora Vanessa Albres Botelho, pelas palavras de incentivo quando eu era aluno especial do programa, que foram essenciais para que eu não desistisse de alcançar meu sonho. A senhora não tem idéia de como me ajudou, muito obrigado, de coração.

Aos técnicos de laboratório Saulo e Socorro da usina. Meu muito obrigado pela ajuda, colaboração e disponibilidade para realização das análises.

À fazenda de piscicultura em Terra Alta, pelo fornecimento de matéria-prima de qualidade, sem o qual não seria possível realizar este trabalho.

À família LAFAMI/LAPESCA/LAOS/LAMEFI, incluindo os meus amigos Renan, Bruno, Mayara, Jaqueline, Paula Mória, Isabella, Allena, Wanessa, Fabiane, Claudia, Milena, Cleidiane, Aline Nakata, Aline Ozana, Lúcia, Adriane Lago, Fabielle, Carlos Monteiro. Obrigado amigos, pelo apoio e ajuda em análises, ou até mesmo para rirmos da vida ou enfrentarmos a fila do R.U. Uma dissertação nunca é fruto do trabalho de uma só pessoa, mas sim da colaboração mútua de diversos companheiros.

Aos amigos de longa data e todas as pessoas que participaram direta e indiretamente dessa jornada que foi o mestrado.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi otimizar a extração de gelatina obtida a partir da pele de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Foram estudadas, primeiramente, onze variáveis: concentração, tempo de imersão e relação peso/peso (P/P) das soluções de NaCl, NaOH e ácido acético, tempo de extração e temperatura de extração em função da variável dependente rendimento total (%). Foi utilizado um planejamento fracionário Plackett Burman (PB). As variáveis que apresentaram efeito significativo foram: relação peso/peso de NaOH e de ácido acético, tempo de extração e temperatura de extração. Elas foram então estudadas através de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) e analisadas através da Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). As outras variáveis, que não apresentaram efeito significativo, tiveram seus valores fixados. As respostas estudadas foram o rendimento total (%), a viscosidade (cP) e o ponto de fusão (°C). A partir daí, foi elaborado um DCCR com vinte e oito ensaios, sendo dezesseis ensaios fatoriais, quatro ensaios no ponto central e oito ensaios nos níveis axiais. Os modelos para todas as respostas obtiveram valor de F superior ao valor tabelado, sendo considerados significativos e preditivos. O valor da falta de ajuste encontrada foi inferior ao valor tabelado para os modelos das três respostas. Os valores de R^2 para os modelos foram de 0,947 para rendimento total, 0,969 para viscosidade e 0,946 para Ponto de fusão. A escolha das condições ótimas de extração se deu na região do ponto central, onde essas condições foram de 1/5 (P/P) NaOH, 1/5 (P/P) Ácido Acético, tempo de extração de 12 horas de temperatura de extração de 60°C. Após isso, foi realizada a caracterização física e físico-química e teor de aminoácidos totais na pele e na gelatina extraída com as condições otimizadas, além de cor instrumental na gelatina. A pele apresentou umidade de 38,11%, teor de lipídeos de 26,56%, teor de proteínas de 30,39%, teor de cinzas de 1,37%, pH de 6,35 e acidez total de 2,28 ±0,06 mL de NaOH/100g de pele. A gelatina apresentou umidade de 9,43%, teor de lipídeos de 1,23%, teor de proteínas de 85,99%, teor de cinzas de 2,99%, pH de 6,12, acidez de 2,94 mL de NaOH/100g de gelatina e atividade de água de 0,436. Além disso, o processo de extração de gelatina apresentou rendimento total de 29,06%. A gelatina apresentou viscosidade de 3,48cP, força do gel (BLOOM) de 124,5g e ponto de fusão de 25,63°C. Também apresentou como parâmetros de cor instrumental L^* (luminosidade) de 74,01, a^* de -10,25 e b^* de 4,17, Cromo de 11,06 e ângulo de tonalidade de -22,14°. O perfil de aminoácidos da pele e da gelatina foram praticamente os mesmos, com exceção da cisteína. Os aminoácidos em maior quantidade na gelatina foram a Glicina, hidroxiprolina e prolina. Esses dois últimos aminoácidos são classificados como iminoácidos, e seu teor de 21,03% é considerado elevado, estando associado a propriedades viscoelásticas superiores.

ABSTRACT

The aim of this study was to optimize the extraction of gelatin obtained from skin tambaqui (*Colossoma macropomum*). Were first studied eleven variables: concentration, immersion time and weight/weight (w/w) solutions of NaCl, NaOH and acetic acid, extraction time and extraction temperature as a function of the dependent variable total yield (%). A fractional planning Plackett Burman (PB) was used. Variables that showed significant effects were: w/w NaOH and acetic acid, extraction time and extraction temperature. They were then studied through a central composite design (CCD) and analyzed by Response Surface Methodology (RSM). The other variables that showed no significant effect, have had their fixed values. The responses evaluated were the total yield (%) viscosity (cP) and melting point (°C). From there a CCRD was produced twenty-eight trials with sixteen factorial trials, four trials at the center point and eight trials on the axial levels. The models for all responses obtained F value higher than the tabulated value, being considered significant and predictive. The value of lack of fit was found lower than the tabulated for models of three responses value. The R^2 values for the models were 0,947 for total yield, 0,969 for viscosity and 0,946 melting point. The choice of the optimal extraction conditions happened at the center point area, where these conditions were 1/5 (w/w) NaOH, 1/5 (w/w) acetic acid, extraction time of 12 hours of temperature extraction of 60°C. After that, the physical and physico-chemical characterization and total amino acid amount of the skin and the gelatin extracted with the optimized conditions was performed, and instrumental color in gelatin. The skin moisture showed 38,11%, fat contents of of 26,56%, protein content of 30,39%, ash content of 1,37%, pH and total acidity of $6,35 \pm 2,28$ 0.06 mL NaOH/100g skin. Gelatin had 9.43% moisture, fat contents of of 1,23%, protein content of 85,99%, ash content of 2,99%, pH 6,12, acidity of 2,94 mL NaOH/100g gelatin and water activity of 0,436. In addition, the process of extracting gelatin showed total yield of 29.06%. The gelatin had a viscosity of 3,48 cP, gel strength (Bloom) 124,5 g and melting point of 25,63 ° C. Also presented as instrumental color parameters L^* (lightness) of 74,01, a^* 4,17 and b^* -10,25, Chroma 11,06 and Hue angle of -22,14°. The amino acid profile of skin gelatin were practically the same, except for cysteine. The amino acids in greater quantity in the gelatin were glycine, proline and hydroxyproline. These last two amino acids are classified as imino acids, and their content of 21.03% is considered high and is associated with higher viscoelastic properties.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Composição centesimal de cortes <i>in natura</i> de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) cultivado (reduzido).....	15
Tabela 2. Composição centesimal de pele de tilápia-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	16

CAPÍTULO II

Tabela 1. Valores reais das variáveis independentes do planejamento experimental fracionário Plackett-Burman e seus respectivos níveis codificados.....	28
Tabela 2. Delineamento Plackett Burman das variáveis (com níveis codificados) com rendimento como resposta.....	29
Tabela 3. Efeitos estimados das variáveis , coeficiente t e significância estatística, no delineamento PB para rendimento do processo de extração.....	30

CAPITULO III

Tabela 1. Definição dos níveis das quatro variáveis estudadas no processo de extração da gelatina da pele de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) no DCCR 2^4	39
Tabela 2. Matriz codificada do planejamento experimental 2^4 para a otimização da extração de gelatina da pele de tambaqui.....	42
Tabela 3. Estimativa dos coeficientes das variáveis de polinômios de segunda ordem (eq. 1) associada a significância para cada resposta estudada.....	43
Tabela 4. Modelo reduzido para rendimento, viscosidade e força do gel em função das variáveis independentes, teste F e R^2	44
Tabela 5. Valores otimizados obtidos com RSM e verificação experimental.....	51
Tabela 6. Teor de iminiácidos presentes na gelatina e na pele de tambaqui (g/100g de proteína).....	52

CAPITULO IV

Tabela 1. Composição centesimal da pele e da gelatina extraída a partir da pele de tambaqui.....	63
Tabela 2. Parâmetros físicos da gelatina de tambaqui.....	65
Tabela 3. Medida de cor instrumental da gelatina.....	66
Tabela 4. Perfil de aminoácidos totais presentes na gelatina e na pele de tambaqui (g/100g de proteína).....	67

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	11
RESUMO	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 PRODUÇÃO PESQUEIRA BRASILEIRA	13
2.2 TAMBAQUI (<i>COLOSSOMA MACROPOMUM</i>)	14
2.3 RESÍDUOS (SUBPRODUTOS) DA INDÚSTRIA DO PESCADO	15
2.4 PELE DE PESCADO	16
2.5 COLÁGENO E GELATINA	17
2.6 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA GELATINA	18
REFERÊNCIAS	20
CAPITULO II	23
RESUMO	23
1 INTRODUÇÃO	24
2 MATERIAIS E MÉTODOS	27
2.1 PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA	27
2.2 EXTRAÇÃO DE GELATINA	27
2.3 DELINEAMENTO PLACKETT BURMAN (PB)	27
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
3.1 DELINEAMENTO PLACKETT BURMAN (PB)	29
4 CONCLUSÕES	32
REFERÊNCIAS	33
CAPITULO III	36
RESUMO	36
1 INTRODUÇÃO	37
2 MATERIAL E MÉTODOS	38
2.1 MATÉRIA-PRIMA	38
2.2 EXTRAÇÃO DO GELATINA	38
2.3 DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL (DCCR)	38
2.3.1. Variáveis dependentes	40
2.3.1.1 Rendimento	40
2.3.1.2 Viscosidade	40

2.3.1.3 Ponto de fusão	40
2.4 DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES ÓTIMAS DE PROCESSO	40
2.5 FORÇA DO GEL E TEOR DE IMINOÁCIDOS NA GELATINA OTIMIZADA	41
2.5.1 Força do gel	41
2.5.2 Teor de iminoácidos.....	41
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
3.1 CONDIÇÕES PARA RESPOSTAS ÓTIMAS	42
3.2 ESTIMATIVA DOS COEFICIENTES DOS MODELOS	43
3.3 GRÁFICOS DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.....	46
3.4 SOBREPOSIÇÃO DOS GRÁFICOS DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E ESCOLHA DO PONTO ÓTIMO	49
3.5 FORÇA DO GEL (BLOOM) NA GELATINA OTIMIZADA.....	51
3.6 TEOR DE IMINOÁCIDOS PRESENTES NA PELE E NA GELATINA OTIMIZADA.....	52
4. CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS.....	54
CAPITULO IV.....	57
RESUMO.....	57
1 INTRODUÇÃO	58
2 MATERIAL E MÉTODOS	59
2.1 PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA	59
2.2 EXTRAÇÃO DA GELATINA.....	59
2.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA PELE DE PEIXE E DA GELATINA.....	60
2.4 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DA PELE DE PEIXE E DA GELATINA	60
2.5 DETERMINAÇÃO DE PH NA PELE E NA GELATINA.....	60
2.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA (AW) DA GELATINA.....	61
2.7 DETERMINAÇÃO DA COR DA GELATINA.....	61
2.8 RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO	61
2.9 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE	61
2.10 DETERMINAÇÃO DO PONTO DE FUSÃO	61
2.11 DETERMINAÇÃO DA FORÇA DO GEL.....	62
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	63

3.2 RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E PROPRIEDADES VISCOELÁSTICAS DA GELATINA.....	64
3.3 COR INSTRUMENTAL.....	66
3.4 PERFIL DE AMINOÁCIDOS	67
4 CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS	70

CAPÍTULO I

APROVEITAMENTO DA PELE DE PESCADO E SUAS APLICAÇÕES: UMA REVISÃO

RESUMO

A finalidade desse capítulo foi a de realizar uma revisão de literatura sobre o aproveitamento de resíduos agroindustriais gerados na área alimentícia, como a pele e outros resíduos da filetagem de peixe, que normalmente são descartados. Esses resíduos possuem nutrientes e/ou servem de matéria-prima para utilização no desenvolvimento de novos produtos. Foi abordada a importância da utilização do resíduo da filetagem de tambaqui e alternativas de utilização na produção de gelatina. Também foi realizado um comparativo com outras fontes de origem animal e verificadas as barreiras e entraves tecnológicos para inserção dessa matéria-prima no processo produtivo.

ABSTRACT

The aim of this chapter was to perform a literature review about the use of agro-industrial waste generated in the food area such as the skin and other wastes from filleting fish, that are normally discarded. These residues have nutrients and / or serve as raw material for use in the development of new products. It was addressed the importance of using the residue from filleting tambaqui and alternative use in the production of gelatin. A comparative was also performed with other animal sources and verified the barriers and technical barriers for insertion of this raw material in the production process.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil se encontrava na 18^o posição na produção mundial de pescado em 2009 e teve um aumento de 0,81% a 0,86% na participação da produção, de 2008 para 2009. A região norte, em 2010, aparece como a 3^a maior região produtora de pescado do Brasil, sendo que a pesca extrativista é responsável pela maior parte da produção. Sendo o Pará o estado que mais produz na região norte. Na comparação entre estados está atrás apenas de Santa Catarina, com relação à produção total (FAO, 2014).

Diversos autores (PRANOTO; LEE; PARK, 2007; RAHMAN; AL-SAIDI; GUIZANI, 2008; TABARESTANI et al., 2010) desenvolveram pesquisas visando aliar o aproveitamento integral dos alimentos com o desenvolvimento de novas tecnologias. Dentro desses estudos, a pele de pescados aparece como matéria-prima para diversos fins, como a extração de gelatina (HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004; NIKOO et al., 2014).

A extração de gelatina já é comumente realizada a partir de ossos, peles e carcaças de bovinos e suínos. Porém, existem alguns fatores contra o uso dessas fontes, como o fato da possibilidade de transmissão de doenças a partir de bovinos ou até mesmo culturas que não aceitam produtos dessa origem (BUENO et al., 2011; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002, 2007). Em busca de alternativas, tem sido estudada a extração de gelatina a partir de diversas espécies de peixes e mariscos. No entanto, estudos sobre extração de gelatina utilizando peixes amazônicos ainda são escassos.

Uma dessas espécies amazônicas que possui produção expressiva é o tambaqui (*Colossoma macropomum*). Ele tem importância comercial elevada, além de que parte de sua produção é proveniente de piscicultura, atividade que ameniza os impactos que a pesca extrativa tem provocado (ALMEIDA; VISENTAINER; FRANCO, 2008; FAO, 2014).

A pele de peixe contém diversos tipos de aminoácidos, apresentando variação na composição conforme a espécie. Apresenta também colágeno, polipeptídeo presente na pele de animais e precursor da gelatina. É possível realizar uma extração desse colágeno, ao mesmo tempo em que ocorre uma conversão dele em gelatina (SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008). Durante a extração do colágeno, as ligações intra e intermoleculares são rompidas e com a

remoção de material não colagenoso é possível obter a gelatina (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004).

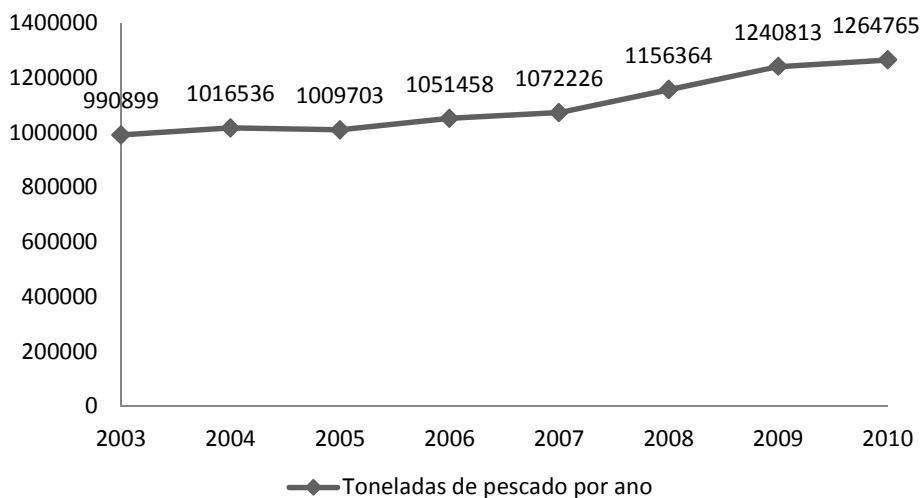
Esse capítulo teve como finalidade realizar uma revisão de literatura a respeito da utilização da pele de pescado, dos resíduos industriais da filetagem de tambaqui, das proteínas do colágeno e da gelatina, assim como do processo de extração de gelatina e das variações inerentes a esse processo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO PESQUEIRA BRASILEIRA

A Indústria do pescado no Brasil, assim como no estado do Pará, tem tido na última década, um crescimento significativo. A produção pesqueira brasileira passou de 990.899 toneladas (em 2003) para 1.264.765 toneladas (em 2010). Isso representou um crescimento de 27% nesse período, como pode ser observado na figura 1 (FAO, 2014).

Figura 1 - Produção brasileira de pescado total (pesca extrativista e aquicultura)



Fonte: FAO (2014)

A participação do tambaqui (*Colossoma macropomum*) na produção brasileira de pescado, em 2003, foi de 8.000 toneladas. Com uma taxa de aumento anual por

volta de 14%, a produção chegou a 46.454 toneladas em 2009, o que representou aproximadamente 3,7% do total produzido no Brasil (FAO, 2014).

2.2 TAMBAQUI (*COLOSSOMA MACROPOMUM*)

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie nativa da Amazônia e suas bacias. Os hábitos alimentares desses peixes adultos estão relacionados à época do ano: na cheia, se alimenta principalmente de plantas e na estação seca pode consumir insetos, caramujos e até pequenos peixes. A Figura 2, mostra a foto do tambaqui.

Figura 2 – Fotografia de tambaqui



Fonte: MENDONÇA et al. (2012)

O tambaqui vem sendo largamente pesquisado por apresentar uma série de fatores que contribuem para a piscicultura: alto valor de mercado e capacidade de adaptação à alimentação variada, adaptado à produção intensiva, o crescimento rápido e o alto valor de seu músculo (ALMEIDA; VISENTAINER; FRANCO, 2008; MENDONÇA et al., 2012).

O tambaqui apresenta composição centesimal característica, dependendo do tipo de corte. A composição centesimal pode variar dependendo da espécie, sexo, época do ano, alimentação, entre outros fatores (BRANDÃO et al., 2004).

Tabela 1 - Composição centesimal de cortes *in natura* de tambaqui (*Colossoma macropomum*) cultivado (reduzido).

Composição (%)	Costela	Lombinho	Posta
Umidade	71,27±1,33	77,49±0,46	77,65±0,54
Lipídeos	7,69±0,04	1,59±0,25	2,18±0,04
Proteína	19,80±0,15	19,63±0,21	18,85±0,09
Cinza	1,12±0,07	1,14±0,02	1,19±0,01
Glicídios	0,12	0,15	0,13
Energia (kcal por 100g)	148,89	93,43	96,54
pH	5,60	5,58	5,61

FONTE: CARTONILHO e JESUS (2011)

Os peixes dessa espécie possuem gordura localizada na cavidade abdominal, acumulada em volta das vísceras (ALMEIDA; VISENTAINER; FRANCO, 2008). Ainda segundo a classificação do autor (ALMEIDA; VISENTAINER; FRANCO, 2008), os cortes apresentados são classificados como “semi-gordos”. A costela aparece como parte mais calórica do peixe, mas em geral apresenta muita diferença na composição centesimal.

O tambaqui “cultivado” tem dimensões menores e possui quantidade de lipídeos totais maior. O fato do animal se encontrar livre de predadores influencia na diminuição do seu tamanho, e à dieta regular no sentido de engorda do peixe faz com que aumente seu teor de lipídeos totais (CARTONILHO; JESUS, 2011).

2.3 RESÍDUOS (SUBPRODUTOS) DA INDÚSTRIA DO PESCADO

Em virtude do grande volume de captura e dos métodos de processamento utilizados, uma quantidade considerável da produção pesqueira acaba como resíduo, uma vez que grande parte das indústrias aproveita apenas o filé do peixe e/ou o que chamam de “corpo limpo”; que é caracterizado como um exemplar sem a cabeça, vísceras, nadadeiras e escamas (SOUZA; INHAMUNS, 2011).

Na etapa de filetagem, o aproveitamento do peixe capturado é de apenas 30% de rendimento, os outros 70% da matéria-prima são resíduos (BUENO et al., 2011). Esse grande volume de material que não é utilizado pode ser utilizado como fonte de proteínas ou lipídeos, uma vez que podem ser aproveitados como fonte de proteínas. O aproveitamento desses resíduos diminui o impacto ambiental, aliado ao

valor agregado que pode ser conferido ao material, até então, subutilizado ou desperdiçado (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007).

2.4 PELE DE PESCADO

Considerada um subproduto, a pele proveniente do processamento muitas vezes é moída juntamente com outros resíduos para servir como alimentação de animais. A pele pode sofrer o processo de curtimento (semelhante ao couro de bovinos) ou ainda passar pelo processo de extração de gelatina. Ambos os processos podem ser utilizados para a obtenção de uma fonte alternativa de renda, além de transformarem um material que poderia ser prejudicial ao meio ambiente em matéria-prima para a fabricação de diversos produtos. Esses processos utilizam o colágeno presente na pele e colaboram para a redução do volume de resíduos gerados que poluem o meio ambiente (BORDIGNON et al., 2012).

Diversos autores vêm estudando peles de diferentes espécies, como tilápia-do-Nilo (SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008) (*Oreochromis niloticus*). Como exemplo de pele de peixe de tilápia, pode ser observada a composição centesimal na tabela 2.

Tabela 2 - Composição centesimal de pele de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)

Componente	p/p (%) – Base úmida
Umidade	67,7 ±0,5
Proteína total	30,6 ±0,9
Lipídios totais	1,1 ±0,1
Cinzas	2,1 ±0,4

Fonte: Songchotikunpan, Tattiyakul, e Supaphol (2008)

A pele apresenta teor de proteína superior ao encontrado no músculo, maior teor de umidade e menor teor de lipídeos. Essa composição pode variar conforme a espécie, podendo haver mais lipídeos e menor umidade em outras espécies. Salienta-se que o teor de proteínas vai estabelecer o máximo que pode ser extraído da pele (BUENO et al., 2011; SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008).

2.5 COLÁGENO E GELATINA

O colágeno, um polipeptídeo encontrado na pele de peixe, é amplamente utilizado em alimentos, indústria farmacêutica, de cosméticos e de embalagem, bem como em algumas aplicações médicas e biotecnológicas. O seu aquecimento em água leva a sua conversão em gelatina solúvel, formando soluções coloidais e gelatinizando, em concentração e temperatura adequadas. A solubilização térmica do colágeno acontece por causa da clivagem de ligações intra e intermoleculares. Além disso, algumas ligações amida nas cadeias elementares de moléculas de colágeno sofrem hidrólise. Como resultado, a gelatina obtida tem peso molecular mais baixo do que o colágeno nativo (KOŁODZIEJSKA et al., 2008).

A gelatina é um polipeptídeo obtido por hidrólise térmica do colágeno. Gelatina tem a capacidade de formar géis físicos (termo reversíveis). A gelatina é uma proteína fibrosa derivada do colágeno (hidrolisado). Gelatina e colágeno são formas diferentes de uma mesma macromolécula.

Segundo autores (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007), existem vários motivos para optar pelo colágeno de fontes de peixes, ao invés da origem suína e bovina. Eles frisam que existe a possibilidade de gelatina bovina transmitir doenças infecciosas. Diante de uma abordagem sociocultural, algumas culturas rejeitam produtos dessa origem por causa de suas crenças religiosas. Em contrapartida, o principal problema de gelatinas de peixes são as suas propriedades reológicas inferiores, que limitam o alcance da sua aplicação (HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004).

Quanto às aplicações, diversos autores já estudaram a utilização da gelatina obtida a partir da pele de peixes para material de parede para microencapsulação de óleo de peixes, biofilmes para embalagens de alimentos, dentre outras. Vale ressaltar que a aplicação é totalmente dependente das propriedades reológicas e das características físico-químicas da gelatina. Por exemplo, uma gelatina com alto valor de viscosidade não pode ser utilizada como material de parede, pois sua estrutura não seria eficiente para a proteção correta do “recheio” (ALFARO et al., 2013; BUENO et al., 2011).

As propriedades geleificantes das gelatinas são fortemente influenciadas pela origem da matéria-prima utilizada no processo, devido ao conteúdo diferente de prolina e de hidroxiprolina no colágeno das várias espécies, que estão associados

com a temperatura da água ou do habitat do animal (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004).

A gelatina, como biopolímero, desperta bastante interesse devido ao seu custo relativamente baixo, por ser abundante e por possuir excelentes propriedades funcionais (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007).

2.6 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA GELATINA

O processo de extração da gelatina pode variar, conforme a espécie ou a utilização futura do produto. Os pré-tratamentos podem ser ácidos, alcalinos ou um processo misto (ARNESEN; GILDBERG, 2006).

O pré-tratamento consiste em um tratamento alcalino e/ou ácido, seguido da extração propriamente dita, realizada com água aquecida. Essa é uma tecnologia comum utilizada para a obtenção de gelatina. Gelatina tem a propriedade funcional única de geleificação e fusão abaixo de 35°C. Isso faz dela um importante ingrediente para as indústrias de alimento e farmacêutica. A indústria de gelatina usa principalmente os ossos e pele de bovinos e pele de suínos como matéria-prima para produção de gelatina (WANG; YANG; REGENSTEIN, 2008).

O ponto isoelétrico da gelatina pode variar em função da sua forma de obtenção, ficando em torno de 4,5 a 5,3 para gelatinas tipo B (pré-tratamento alcalino) e permanecendo entre 7,0 a 9,4 na gelatina tipo A (pré-tratamento ácido) (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

Variações no processo de extração podem ser feitas dependendo das propriedades que são desejadas para o produto final. Essas propriedades como a força do gel (BLOOM) ou a viscosidade, irão determinar qual o uso mais adequado para a gelatina obtida.

Para uso alimentar, as concentrações de ácido ou base (ou dos dois) não podem ser elevadas, de modo a evitar que resíduos desses produtos entrem em contato com o consumidor. Diversos autores relatam que um processo de extração misto (ácido e básico) pode promover a diminuição da concentração de solventes.

O uso de ácido acético no processo de extração mista já foi realizado por diversos autores (AHMAD; BENJAKUL, 2011; ALFARO et al., 2013; BUENO et al., 2011; LIU; LI; GUO, 2008; LIU et al., 2012; NIU et al., 2013). Esses autores relatam que o uso de ácido acético é viável na extração, uma vez que o ácido já está

presente na dieta humana, dentro do vinagre comercial. Não haveria, portanto, quaisquer danos à saúde humana, caso algum resíduo, em baixa quantidade, desse ácido entrasse em contato com pessoas ou fosse consumido em algum produto alimentício.

Para um pré-tratamento básico eficaz, deve ser feito uso de uma base forte, como o hidróxido de sódio. Os autores também citam outros fatores favoráveis ao uso do NaOH: baixo custo, fácil utilização, hidrólise eficiente da gelatina (mesmo em baixas concentrações) (AHMAD; BENJAKUL, 2011; ALFARO et al., 2013; NIU et al., 2013).

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.; BENJAKUL, S. Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 381–388, maio 2011.
- ALFARO, A. DA T. et al. Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food science and technology international**, 10 jun. 2013.
- ALMEIDA, N. M.; VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. Composition of total , neutral and phospholipids in wild and farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*) in the Brazilian Amazon area. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 1747, n. December 2007, p. 1739–1747, 2008.
- ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 3, p. 697–700, mar. 2006.
- BORDIGNON, A. C. et al. Aproveitamento de peles de tilápia-do-nilo congeladas e salgadas para extração de gelatina em processo batelada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 473–478, 2012.
- BRANDÃO, F. R. et al. Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 4, p. 357–362, abr. 2004.
- BUENO, C. M. et al. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian journal of food technology**, v. 14, n. 01, p. 65–73, 17 mar. 2011.
- CARTONILHO, M. M.; JESUS, R. S. Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 4, p. 344–350, 2011.
- FAO, O. DAS N. U. PARA A. E A. FishStatJ - software for fishery statistical time series. p. 321–343, 2014.
- GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 16, n. 1, p. 25–34, 2002.
- GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1133–1143, out. 2007.
- GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, dez. 2011.

HAUG, I. J.; DRAGET, K. I.; SMIDSRØD, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 203–213, mar. 2004.

KOŁODZIEJSKA, I. et al. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 700–706, mar. 2008.

LIU, H.; LI, D.; GUO, S. Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 8, p. 1425–1430, nov. 2008.

LIU, Z. et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 311–317, jan. 2012.

MENDONÇA, P. P. et al. Revista Brasileira de Zootecnia Cuvier , 1818) under different photoperiods. n. 2002, p. 1337–1341, 2012.

MUYONGA, J. .; COLE, C. G. .; DUODU, K. . Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 581–592, jul. 2004.

NIKOO, M. et al. Physicochemical properties of skin gelatin from farmed Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*) as influenced by acid pretreatment. **Food Bioscience**, v. 5, p. 19–26, mar. 2014.

NIU, L. et al. Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 336–341, dez. 2013.

PRANOTO, Y.; LEE, C. M.; PARK, H. J. Characterizations of fish gelatin films added with gellan and κ-carrageenan. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 5, p. 766–774, jun. 2007.

RAHMAN, M. S.; AL-SAIDI, G. S.; GUIZANI, N. Thermal characterisation of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 472–481, maio 2008.

SONGCHOTIKUNPAN, P.; TATTIYAKUL, J.; SUPAPHOL, P. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, n. 3, p. 247–255, 1 abr. 2008.

SOUZA, A. F. L. DE; INHAMUNS, A. J. Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 2, p. 289–296, 2011.

TABARESTANI, H. S. et al. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **Bioresource technology**, v. 101, n. 15, p. 6207–14, ago. 2010.

WANG, Y.; YANG, H.; REGENSTEIN, J. M. Characterization of Fish Gelatin at Nanoscale Using Atomic Force Microscopy. **Food Biophysics**, v. 3, n. 2, p. 269–272, 9 abr. 2008.

CAPITULO II

DETERMINAÇÃO DE VARIÁVEIS NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA DE PELE DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) ATRAVÉS DO DELINEAMENTO PLACKETT BURMAN (PB)

RESUMO

Foi realizado um estudo sobre a extração de gelatina a partir da pele de tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando o planejamento fatorial fracionário Plackett-Burman (PB) com 12 ensaios, para estudar 11 variáveis independentes, somados a três ensaios no ponto central. A variável dependente escolhida foi o rendimento total (%). Foram avaliadas as variáveis que exerceram influência significativa sobre as respostas ($p \leq 0,10$). As variáveis que apresentaram influência significativa sobre o rendimento foram: relação peso pele/solução NaOH, relação peso pele/solução ácido acético, tempo de extração e temperatura de extração.

ABSTRACT

A study about the extraction of gelatin from the skin tambaqui (*Colossoma macropomum*), using the fractional factorial design Plackett-Burman (PB) with 12 trials was conducted to study 11 independent variables, plus the three tests at the center point . The dependent variable chosen was the total yield (%). Variables that have exercised significant influence on the responses ($p \leq 0.10$) were evaluated. Variables that showed significant influence on income were: weight ratio skin/solution NaOH, weight ratio skin/solution acetic acid, extraction time and extraction temperature.

Palavras-chave: Plackett Burman, gelatina, colágeno, pescado, tambaqui.

1 INTRODUÇÃO

A gelatina é um polipeptídeo derivado da degradação do colágeno, principal proteína encontrada nos tecidos de origem animal (BORAN; REGENSTEIN, 2009). O colágeno produz gelatina com alta qualidade e rendimentos variados quando sofre desnaturação térmica (KASANKALA et al., 2007). A extração de gelatina é comumente realizada a partir de ossos, peles e carcaças de bovinos e suínos (CHOI; REGENSTEIN, 2000), mas tem sido também estudada a extração de gelatina a partir da pele de diversas espécies de peixe e de mariscos, tais como *Otolithes ruber* (KOLI et al., 2011), *Johnius dussumieri* (CHEOW et al., 2007), espécies de carpa (BORAN; REGENSTEIN, 2009), tilápia-do-Nilo (BUENO et al., 2011), tubarão (CHO et al., 2004), salmão entre outros (ARNESEN; GILDBERG, 2007a; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007; KASANKALA et al., 2007; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004a; NIU et al., 2013).

Estudos sobre extração de gelatina proveniente da pele de peixes da Amazônia ainda são escassos, mas justificam o interesse por causa do volume de produção de espécies na região e pelas propriedades relacionadas às gelatinas de peixes de águas tropicais (FAO, 2014). O tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, Characidae, Serrasalminae) é uma das espécies em destaque para o cultivo, estar adaptado às condições da região e pela facilidade para adaptar-se aos ambientes de cultivo. Na região Norte do Brasil, desponta como a principal espécie de peixe cultivada (CARTONILHO; JESUS, 2011).

A extração de gelatina a partir da pele de peixes pode ser uma alternativa viável para o aproveitamento desse subproduto, muitas vezes descartado. O uso comercial da pele para a produção de gelatina permite a obtenção de lucros extras pelas indústrias processadoras e a redução dos efeitos prejudiciais ao ambiente (BORDIGNON et al., 2012). Entretanto, o processo de extração de gelatina envolve um número considerável de variáveis que precisam ser equalizadas para que as mesmas possam favorecer a obtenção do melhor rendimento possível.

O rendimento e a qualidade da gelatina dependem do processo de extração e a forma como é feito o tratamento do colágeno presente nas peles de peixe (KASANKALA et al., 2007; MONTERO; GOMEZ-GUILLEN, 2000). Processos utilizando pré-tratamentos ácidos e básicos tem sido estudados com frequência, uma vez que a intensidade, a duração e a temperatura de extração requerem um

monitoramento para que se obtenham maiores rendimentos e melhores propriedades da gelatina (CHO et al., 2004; HOU; REGENSTEIN, 2006; KASANKALA et al., 2007). Porém, a taxa de conversão do colágeno em gelatina depende de vários parâmetros de processo (temperatura, tempo e pH, das propriedades da matéria-prima e seu pré-tratamento) (KOŁODZIEJSKA et al., 2008).

Durante o pré-tratamento ácido, o ácido desestabiliza a estrutura de tripla hélice de colágeno por perturbar ligações cruzadas lábeis na região telopeptídica. Regiões telopeptídicas são terminais não helicoidais do tropocolágeno, internos à tripla hélice, presentes na estrutura terciária e entre as tríplices hélices da estrutura quaternária. Ligações amida da tripla hélice também são afetadas pelo ácido, bem como as ligações intra e inter-moleculares não-covalentes (BENJAKUL et al., 2010). Assim, o tipo de concentração de ácido, o ácido e o tempo do pré-tratamento exerce influência nas propriedades físico-químicas da gelatina obtida (BORAN; REGENSTEIN, 2009; HOU; REGENSTEIN, 2006).

Dentre os autores que utilizaram método com combinação de pré-tratamento ácido e básico (BORAN; REGENSTEIN, 2009; BUENO et al., 2011; CHEOW et al., 2007; CHO; GU; KIM, 2005; KASANKALA et al., 2007; KOLI et al., 2011; LIU; LI; GUO, 2008), não foi encontrado padrão na escolha de variáveis que compunham o método de extração. Enquanto alguns autores variavam o tipo de ácido ou concentração das soluções (BORAN; REGENSTEIN, 2009; CHEOW et al., 2007; CHO et al., 2004; CHO; GU; KIM, 2005; HOU; REGENSTEIN, 2006) outros variaram proporção peso pele/solução (P/P) (ALFARO et al., 2013; ARNESEN; GILDBERG, 2007b; BUENO et al., 2011; JONGJAREONRAK et al., 2005) ou a temperatura de extração (TABARESTANI et al., 2010). Além disso, as propriedades viscoelásticas da gelatina que eram avaliadas também não eram as mesmas, de um trabalho para outro (AHMAD; BENJAKUL, 2011; ALFARO et al., 2013; BINSI et al., 2009; BORDIGNON et al., 2012; BUENO et al., 2011; CHEOW et al., 2007; CHO et al., 2004; JAMILAH; HARVINDER, 2002; KOLI et al., 2011; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004b; NIU et al., 2013; SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008; WANG; YANG; REGENSTEIN, 2008). Fez-se necessário então, realizar uma triagem das variáveis independentes e dependentes mais importantes e das propriedades viscoelásticas que foram mensuradas em estudos anteriores. Foram

então elencadas onze variáveis independentes dentre as mais relevantes apresentadas nesses estudos.

Nesse sentido as técnicas de delineamento experimental podem ser utilizadas para planificar a execução dos ensaios e analisar os resultados, no sentido de definir as variáveis mais importantes para o processo dentro de uma determinada faixa experimental. Estas técnicas podem ser utilizadas como ferramenta para avaliar os efeitos que as variáveis têm no processo de extração de gelatina a partir da pele de pescados. A ferramenta que mais se adequa para o estudo dos efeitos de um número elevado de variáveis é o delineamento experimental fracionário Plackett Burman (PB), onde todas as onze variáveis independentes podem ser estudadas ao mesmo tempo, com menor custo e em um tempo menor, quando comparado com um delineamento composto central rotacional (DCCR) (WEN; CHEN, 2001).

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de onze variáveis independentes no processo de extração de gelatina a partir da pele de tambaqui (*Colossoma macropomum*) no rendimento do processo, além de combinar isso com melhores propriedades viscoelásticas para uma gelatina comercial (uso na indústria de alimentos), utilizando um delineamento experimental do tipo Plackett Burman (PB).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizados peles oriundas da filetagem de tambaqui (*Colossoma macropomum*) criados em tanque de piscicultura familiar no município de Terra Alta, estado do Pará, região amazônica brasileira. Para o preparo da pele, foram removidas as escamas, e em seguida, as peles foram cortadas em quadrados de 4cm x 4cm, separados em amostras de 60 gramas cada, embaladas em sacos plásticos de policloreto de vinil (PVC), seladas a vácuo e congeladas a -26°C , até o processo de extração. Cada amostra foi descongelada e aberta somente no momento da extração.

2.2 EXTRAÇÃO DE GELATINA

A metodologia utilizada foi a descrita por Montero e Gomez-Guillen (2000), adaptado por Bueno e outros (2011) e com modificações propostas para a espécie estudada. O procedimento foi realizado em triplicata e erlenmeyer de 150mL de vidro. Foram pesadas aproximadamente 20g de pele e lavadas com água corrente. Foi adicionado solução de NaCl e agitou-se à 85rpm à $25,00 \pm 1,00^{\circ}\text{C}$. Foi adicionado solução de NaOH e agitou-se à 85rpm à $25,00 \pm 1,00^{\circ}\text{C}$. Foi adicionado solução de ácido acético e agitou-se à 85rpm à $25,00 \pm 1,00^{\circ}\text{C}$. Imediatamente após cada etapa de pré-tratamento, as peles foram lavadas três vezes em água. Em seguida, foi adicionada água destilada na proporção 1/5 (peso pele/peso solução) e aquecido em banho-maria por determinado tempo. A relação peso pele/solução, duração dos pré-tratamentos, temperatura de extração e tempo de extração foram ajustados conforme o ensaio correspondente ao planejamento PB (tabela 1). Finalmente, foi realizada a filtração em funil de Buchner, com papel filtro Whatman nº 4. O filtrado foi recolhido em bandejas de aço inox, liofilizado por 36 horas, pesado e moído.

2.3 DELINEAMENTO PLACKETT BURMAN (PB)

Foram selecionadas variáveis e suas faixas de trabalho baseadas em dados obtidos da literatura(ALFARO et al., 2013; BUENO et al., 2011; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007), além de variáveis ainda não estudadas, mas que aparentemente são importantes para o processo. Após essa definição, foi realizado um delineamento

experimental fracionário Plackett Burman (PB), para verificar o efeito das variáveis independentes na variável dependente rendimento. Foi escolhido PB-12 (doze ensaios), com 3 repetições no ponto central, totalizando 15 ensaios.

As variáveis independentes escolhidas foram concentração da solução de NaCl (Mol/L) – X1, concentração da solução de NaOH (Mol/L) – X2, concentração da solução de ácido acético (Mol/L) – X3, tempo de imersão da solução de NaCl (minutos) – X4, tempo de imersão de NaOH (minutos) – X5, tempo de imersão de ácido acético (minutos) – X6, relação de peso pele/solução de NaCl – X7, relação de peso pele/solução de NaOH – X8, relação de peso pele/solução de ácido acético) – X9, tempo de extração (horas) – X10 e temperatura de extração (°C) – X11 (Tabela 1).

Tabela 1- Valores reais das variáveis independentes do planejamento experimental fracionário Plackett-Burman e seus respectivos níveis codificados

	Variáveis	Unidade	Nível baixo (-)	Central (0)	Nível alto (+)
	<u>Concentração da solução</u>				
X1	NaCl	Mol/L	0,6	0,8	1
X2	NaOH	Mol/L	0,1	0,2	0,3
X3	Ácido Acético	Mol/L	0,02	0,05	0,08
	<u>Tempo de imersão (minutos)</u>				
X4	NaCl	Minutos	5	07:30	10
X5	NaOH	Minutos	15	30	45
X6	Ácido acético	Minutos	60	120	180
	<u>Relação peso pele/solução</u>				
X7	NaCl	Pele/solução	1 para 6	1 para 8	1 para 10
X8	NaOH	Pele/solução	1 para 6	1 para 8	1 para 10
X9	Ácido acético	Pele/solução	1 para 6	1 para 8	1 para 10
X10	Tempo de extração	Horas	6	10	14
X11	Temperatura de extração	graus célsius (°C)	31	40	50

Como resposta do PB, o rendimento total do processo de extração de gelatina foi calculado baseando-se no peso úmido da pele de tambaqui e expresso em porcentagem (%), conforme a equação. 1(AHMAD; BENJAKUL, 2011):

$$\text{Produção de gelatina (\%)} = \frac{\text{peso da gelatina em pó (g)}}{\text{peso úmido da pele fresca (g)}} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DELINEAMENTO PLACKETT BURMAN (PB)

A Tabela 2 apresenta a matriz do planejamento experimental fracionário codificada com os respectivos níveis.

Tabela 2 - Delineamento Plackett Burman das variáveis (com níveis codificados) com rendimento como resposta

Ensaio	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	Rendimento (%)
1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	23,70 ±0,79
2	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	1,19 ±0,40
3	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	22,70 ±1,95
4	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	45,25 ±0,60
5	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	+1	21,22 ±0,33
6	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	0,30 ±0,03
7	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	0,48 ±0,06
8	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	-1	0,51 ±0,16
9	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	+1	1,19 ±0,04
10	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	-1	0,26 ±0,06
11	-1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	+1	+1	23,98 ±3,59
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	0,50 ±0,04
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,30 ±0,49
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,20 ±0,22
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,09 ±0,22

O efeito estimado, coeficiente t e significância estatística (p) para cada fator da gelatina do rendimento total, obtido após o processo de extração pode ser visualizado na tabela 3. Esses valores foram determinados através do SS residual e Erro puro. Os fatores em negrito indicam que a variável apresentou efeito significativo sobre o rendimento ($p \leq 0,10$).

Tabela 3 - Efeitos estimados das variáveis, coeficiente t e significância estatística, no delineamento PB para rendimento do processo de extração

	Variáveis	Efeitos	p-valor	
			Erro Residual	Erro Puro
X1	Conc. da solução de NaCl	-0,4909	0,9361	0,4522
X2	Conc. da solução de NaOH	8,9713	0,2512	0,0044
X3	Conc. da solução de Ac. Acético	-0,1452	0,9811	0,8098
X4	Tempo de imersão de NaCl	8,9574	0,2517	0,0044
X5	Tempo de imersão de NaOH	1,0716	0,8763	0,2132
X6	Tempo de imersão de Ac. Acético	9,4969	0,2303	0,0039
X7	Relação peso pele/solução NaCl	-7,7437	0,2635	0,0047
X8	Relação peso pele/solução NaOH	-14,1693	0,0868	0,0014
X9	Relação peso pele/solução Ac. Acético	-14,6209	0,0810	0,0013
X10	Tempo de extração	16,9779	0,0748	0,0012
X11	Temperatura de extração	14,8852	0,0778	0,0013

Como o SS residual avalia o efeito levando em consideração todos os ensaios e o Erro Puro avalia apenas os ensaios realizados no ponto central, optou-se em definir como variáveis significativas apenas àquelas que apresentaram significância ($p \leq 0,10$), tanto pelo SS residual como pelo Erro Puro. A Tabela 3 mostra que as variáveis independentes significativas para o SS residual foram: a relação peso pele/solução NaOH, a relação peso pele/solução ácido acético, a tempo de extração e a temperatura de extração; enquanto que as variáveis significativas utilizando erro puro foram: a concentração da solução de NaOH, o tempo de imersão de NaCl, o tempo de imersão de ácido acético, a relação peso pele/solução NaCl, a relação peso pele/solução NaOH, a relação peso pele/solução ácido acético, o tempo de extração e a temperatura de extração. Desta forma apenas as variáveis que apresentaram significância em ambas avaliações foram consideradas significativas.

A variável relação peso pele/solução NaOH (X8) apresenta efeito negativo em relação à resposta, ou seja, um aumento no volume de solução acarreta na diminuição do rendimento total. Pode-se concluir, portanto, que é desejável um menor volume de solução utilizado para obter um maior rendimento do processo.

A variável relação peso pele/solução ácido acético (X9) apresenta efeito negativo em relação à resposta, ou seja, uma diminuição no volume de solução acarreta em um aumento do rendimento total. O ensaio 4 foi o que obteve maior

rendimento, onde X9 encontrava-se no nível baixo de 1/6 (P/P). Valores de rendimento de 10% à 12% foram reportados para a gelatina da pele de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) utilizando o mesmo ácido nas mesmas proporções (NIU et al., 2013), e valores de 30,31% foram reportados para *Pleurogrammus azonus* utilizando o mesmo ácido na proporção 1/3 (P/P) (NALINANON; BENJAKUL; KISHIMURA, 2010).

Nos ensaios 3 e 4, onde se obteve maior rendimento da gelatina da pele de tambaqui, o tempo de extração (X10) foi o maior, com 14 horas (+1). Outros estudos apontam que a tempo é uma variável significativa no processo de extração de gelatina a partir da pele de pescados, como no caso do peixe unicórnio (*Aluterus monoceros*), onde o rendimento total da extração apresentou aumento significativo com o aumento do tempo (AHMAD; BENJAKUL, 2011). Outros valores de rendimento reportados foram de 14,30% e 7,25% para as espécies *Johnius dussumieri* e *Decapterus macrosoma*, respectivamente, com 12 horas de extração (CHEOW et al., 2007).

A temperatura de extração (X11) apresenta efeito positivo em relação à resposta, ou seja, um aumento na temperatura de extração provoca um aumento do rendimento total. O maior rendimento do processo, foi observado para o ensaio 4, onde a temperatura encontrava-se no nível mais alto (50°C). Valores de rendimento foram reportados na gelatina obtida da pele do peixe unicórnio (*Aluterus monoceros*) de 5,23% à 11,54%, onde foi utilizada uma temperatura 45°C (AHMAD; BENJAKUL, 2011). Songchotikunpan, Tattiyakul e Supaphol (2008) realizaram a extração de gelatina da pele de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e, utilizando temperatura de 70°C, obtiveram rendimento de 18,1%. Como o efeito é positivo, sugere-se buscar temperaturas mais elevadas para obter maior rendimento. Entretanto, deve-se ter cuidado com a temperatura, uma vez que faixas de operação muito elevadas podem levar a deterioração do material por desnaturação excessiva e diminuição no rendimento.

4 CONCLUSÕES

O delineamento Plackett Burman possibilitou obter as variáveis com influência significativa sobre as respostas estudadas, dentro da faixa experimental adotada, além de possibilitar a avaliação a repetibilidade e a reprodutibilidade do processo através dos ensaios no ponto central.

As variáveis relação peso pele/solução NaOH, relação peso pele/solução ácido acético, tempo de extração e temperatura de extração apresentaram influência significativa ($p \leq 0,10$) sobre o processo. As duas primeiras apresentaram efeito negativo, enquanto que as duas últimas apresentaram efeito positivo sobre a resposta, respectivamente. Para que possa ser feita a otimização do processo de extração da gelatina, recomenda-se que seja realizado um delineamento composto central rotacional (DCCR), estudando as quatro variáveis que foram significativas neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.; BENJAKUL, S. Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 381–388, maio 2011.
- ALFARO, A. DA T. et al. Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food science and technology international**, 10 jun. 2013.
- ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource technology**, v. 98, n. 1, p. 53–7, jan. 2007a.
- ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource technology**, v. 98, n. 1, p. 53–7, jan. 2007b.
- BENJAKUL, S. et al. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*). **Journal of the science of food and agriculture**, v. 90, n. 1, p. 132–8, 15 jan. 2010.
- 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, n. 1, p. 132–145, jan. 2009.
- BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Optimization of gelatin extraction from silver carp skin. **Journal of food science**, v. 74, n. 8, p. E432–41, out. 2009.
- BORDIGNON, A. C. et al. Aproveitamento de peles de tilápia-do-nylo congeladas e salgadas para extração de gelatina em processo batelada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 473–478, 2012.
- BUENO, C. M. et al. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **BRAZILIAN JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY**, v. 14, n. 01, p. 65–73, 17 mar. 2011.
- CARTONILHO, M. M.; JESUS, R. S. Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 4, p. 344–350, 2011.
- 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, n. 1, p. 386–391, jan. 2007.
- CHO, S. . et al. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 573–579, jul. 2004.

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, n. 2, p. 221–229, mar. 2005.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and Sensory Characteristics of Fish Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 194–199, 2000.

FAO, Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura. FishStatJ - software for fishery statistical time series. p. 321–343, 2014.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1133–1143, out. 2007.

HOU, P. Z.; REGENSTEIN, J. M. Optimization of Extraction Conditions for Pollock Skin Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 5, p. C393–C398, 31 maio 2006.

JAMILAH, B.; HARVINDER, K. . Properties of gelatins from skins of fish—black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 81–84, maio 2002.

JONGJAREONRAK, A. et al. Isolation and characterization of collagen from bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*) skin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 7, p. 1203–1210, maio 2005.

KASANKALA, L. M. et al. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. **Bioresource technology**, v. 98, n. 17, p. 3338–43, dez. 2007.

KOLI, J. M. et al. Improvement of gel strength and melting point of fish gelatin by addition of coenhancers using response surface methodology. **Journal of food science**, v. 76, n. 6, p. E503–9, ago. 2011.

KOŁODZIEJSKA, I. et al. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 700–706, mar. 2008.

LIU, H.; LI, D.; GUO, S. Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 8, p. 1425–1430, nov. 2008.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Extracting Conditions for Megrim (*Lepidorhombus boschii*) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 434–438, abr. 2000.

MUYONGA, J. .; COLE, C. G. .; DUODU, K. . Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 581–592, jul. 2004a.

MUYONGA, J. .; COLE, C. G. .; DUODU, K. . Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 581–592, jul. 2004b.

NALINANON, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Collagens from the skin of arabesque greenling (*Pleurogrammus azonus*) solubilized with the aid of acetic acid and pepsin from albacore tuna (*Thunnus alalunga*) stomach. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 90, n. 9, p. 1492–500, jul. 2010.

NIU, L. et al. Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 336–341, dez. 2013.

SONGCHOTIKUNPAN, P.; TATTIYAKUL, J.; SUPAPHOL, P. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, n. 3, p. 247–255, 1 abr. 2008.

TABARESTANI, H. S. et al. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **Bioresource technology**, v. 101, n. 15, p. 6207–14, ago. 2010.

WANG, Y.; YANG, H.; REGENSTEIN, J. M. Characterization of Fish Gelatin at Nanoscale Using Atomic Force Microscopy. **Food Biophysics**, v. 3, n. 2, p. 269–272, 9 abr. 2008.

WEN, Z. Y.; CHEN, F. Application of statistically-based experimental designs for the optimization of eicosapentaenoic acid production by the diatom *Nitzschia laevis*. **Biotechnology and bioengineering**, v. 75, n. 2, p. 159–69, 20 out. 2001.

CAPITULO III

DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES ÓTIMAS DE EXTRAÇÃO DA GELATINA DA PELE DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) ATRAVÉS DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi otimizar as condições ótimas de extração de gelatina da pele de tambaqui (*Colossoma macropomum*) através da metodologia de superfície de resposta. Foi utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR) 2^4 , com 8 pontos axiais e 4 pontos centrais para avaliar a influência das relações peso/peso (P/P) NaOH (A), P/P ácido acético (B), tempo de extração (C) e temperatura de extração (D) sobre as variáveis dependentes rendimento total (%), viscosidade (cp) e ponto de fusão ($^{\circ}\text{C}$). As condições ótimas para as faixas experimentais adotadas para cada variável foram A = 1/5, B = 1/5, C = 12 horas e D = 60°C . Os valores preditos para as respostas foram 28,89% para rendimento, 3,49cp para viscosidade e $25,62^{\circ}\text{C}$ para ponto de fusão. Também foi mensurado a força do gel de $124,50 \pm 8,87\text{g}$ e o teor de iminoácidos na gelatina extraída, o que evidenciou que ela possui 21% (prolina + hidroxiprolina).

ABSTRACT

The aim of this study was to optimize the optimal extraction conditions of gelatin skin tambaqui (*Colossoma macropomum*) by response surface methodology. Central Composite Design (CCD) 2^4 , with 8 axial and 4 center points was used to evaluate the influence of relations weight/weight (w/w) NaOH (A), P/P acetic acid (B), time extraction (C) and extraction temperature (D) on the dependent variables Total yield (%), viscosity (cP) and melting point ($^{\circ}\text{C}$). The optimum conditions for the experimental ranges adopted for each variable were A = 1/5, B = 1/5, C = 12 hours, and D = 60°C . Predicted values for the responses were 28.89% for yield, 3.49 cP viscosity and to 25.62°C to melting point. Also measured was the force of $124.50 \pm 8.87\text{g}$ and the gel content of the gelatin extracted imino acids, which showed that it has 21% (proline + hydroxyproline).

Palavras-chave: proteína, colágeno, peixe, rendimento

1 INTRODUÇÃO

Os resíduos principais da produção pesqueira são as vísceras, cabeças, carcaças e peles. Esses resíduos, caso não tenham o destino adequado ou não sejam aproveitados podem causar contaminação ambiental (SOUZA; INHAMUNS, 2011).

Desta forma é fundamental o aproveitamento destes subprodutos promovendo o aproveitamento total da matéria prima e com isso reduzir o impacto ambiental.

Uma alternativa para o aproveitamento das peles de peixes é a extração do colágeno para obtenção de gelatina. O colágeno produz gelatina com alta qualidade e rendimento variado quando sofre desnaturação térmica (KASANKALA et al., 2007). A gelatina, como biopolímero, apresenta algumas características que a torna vantajosa: natureza anfótera, estrutural helicoidal de cadeia tripla específica (não observado em polímeros sintéticos) e a sua interação com a água, que é diferente da encontrada em polímeros sintéticos hidrofílicos (AHMAD; BENJAKUL, 2011; KASANKALA et al., 2007; KOZLOV; BURDYGINA, 1983). Além disso, apresenta custo relativamente baixo de obtenção, por ser abundante na pele e por possuir excelentes propriedades funcionais (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007).

Aplicações como produção de gelatina comercial, biofilme e micropartículas para atomização já foram alvo de estudos envolvendo peles de pescado. Além disso, muitas espécies de diferentes locais no mundo foram alvo de estudos sobre a extração de gelatina a partir da pele de peixe (AHMAD; BENJAKUL, 2011; BUENO et al., 2011; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004), entretanto, são ainda raros estudos envolvendo espécies amazônicas.

Dentre as diversas espécies amazônicas, o tambaqui (*Colossoma macropomum*), pode ser destacado por possuir produção expressiva, ter importância comercial elevada, aliado a que parte de sua produção é proveniente de piscicultura, atividade que ameniza os impactos que a pesca extrativa provoca (ALMEIDA; VISENTAINER; FRANCO, 2008; FAO, 2014).

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma técnica de modelagem matemática que estabelece as equações de regressão para descrever inter-relações entre os parâmetros de entrada e propriedades do produto. Desta forma a MSR será utilizada para avaliar o efeito das variáveis relação peso pele/solução (P/P) de

NaOH, relação peso pele de ácido acético (P/P), tempo (horas) e temperatura de extração (°C) sobre as respostas rendimento total (%), viscosidade (cP) e ponto de fusão (°C) bem como definir as melhores condições do processo para cada variável.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizados peles oriundas da filetagem de tambaqui (*Colossoma macropomum*) criados em tanque de piscicultura familiar no município de Terra Alta, estado do Pará, região amazônica brasileira. Para o preparo da pele, foram removidas as escamas, e em seguida, as peles foram cortadas em quadrados de 4cm x 4cm e embaladas em sacos plásticos de policloreto de vinil (PVC), seladas a vácuo e congeladas a -26°C, até o processo de extração.

2.2 EXTRAÇÃO DO GELATINA

A metodologia utilizada foi a descrita por Montero & Gomez-Guillen (2000), adaptado por Bueno e outros (2011). O procedimento foi realizado em triplicata. Foram pesados aproximadamente 20g de pele e lavadas em água corrente. Foi adicionado solução de NaCl 0,6M (1/5 P/P) à 25,00 ±1,00°C e agitou-se à 85rpm durante 10 minutos. Depois disso, as peles foram lavadas três vezes em água corrente. Foi adicionado solução de NaOH 0,3M à 25,00 ±1,00°C durante 15 minutos e agitou-se à 85rpm. Foi adicionado solução de ácido acético 0,02M à 25,00 ±1,00°C e agitou-se à 85rpm durante 60 minutos. Imediatamente após cada etapa de pré-tratamento, as peles foram lavadas três vezes em água corrente. Foi adicionada água destilada na proporção 1/5 (peso pele/peso solução) e aquecido em banho-maria por determinado tempo. A relação peso pele/solução de NaOH e ácido acético, tempo e temperatura de extração foram ajustados conforme o ensaio correspondente ao delineamento fatorial. Após a extração, o material foi filtrado em funil de Buchner, com papel filtro Whatman nº 4. O filtrado foi recolhido em bandejas de aço inox, liofilizado por 36 horas, pesado e triturado.

2.3 DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL (DCCR)

As variáveis estudadas no DCCR (NaOH (P/P), Ácido acético (P/P); Tempo de extração (horas) e Temperatura de extração (°C) foram definidas

preliminarmente, através de um delineamento Plackett Burman, como aquelas que exerciam efeito significativo sobre o rendimento da extração da gelatina. As variáveis que não mostraram efeito significativo sobre a resposta, concentração molar e tempo de imersão de todas as soluções e NaCl (P/P), foram fixadas em função do menor tempo e custo para o processo.

O DCCR foi utilizado para definição da melhor condição de rendimento total do processo, aliado às condições apropriadas de viscosidade e ponto de fusão para fins comerciais. Levou-se em consideração também que um processo deve ter os menores custos possíveis para produção e baixa complexidade para uma maior viabilidade do processo em escala industrial. Cada ensaio foi realizado em triplicata. A definição dos níveis das variáveis estudadas está descrita na Tabela 1.

Foram realizados 28 ensaios (Tabela 2), sendo 16 ensaios fatoriais (combinação entre os níveis ± 1), quatro ensaios no ponto central (quatro variáveis no nível 0) e oito ensaios nos níveis axiais (uma variável no nível $\pm \alpha$ e três variáveis no nível 0). Para cada resposta foi verificada a significância das variáveis ou interações na equação polinomial descrita na Equação 1. Os modelos foram desenvolvidos ignorando os efeitos que não apresentaram significância e a equação resultante foi encontrada quando os níveis de significância (p) de rendimento, viscosidade e ponto de fusão observados foram iguais ou menores que 5% ($p \leq 0,05$).

$$Y = f(X1,) = \beta_0 + \beta_1(A) + \beta_{11}(A)^2 + \beta_2(B) + \beta_{22}(B)^2 + \beta_3(C) + \beta_{33}(C)^2 + \beta_4(D) + \beta_{44}(D)^2 + \beta_{12}(AB) + \beta_{23}(BC) + \beta_{13}(AC) + \beta_{14}(AD) + \beta_{24}(BD) + \beta_{34}(CD)$$

Eq. 1

Tabela 1 - Definição dos níveis das quatro variáveis estudadas no processo de extração da gelatina da pele de tambaqui (*Colossoma macropomum*) no DCCR 2^4

Variáveis Independentes	Unidade	Símbolo	-2	-1	0	+1	+2
NaOH	P/P	A	1/3	1/4	1/5	1/6	1/7
Ácido Acético	P/P	B	1/3	1/4	1/5	1/6	1/7
Tempo de extração	H	C	12	13	14	15	16
Temperatura de extração	°C	D	50	55	60	65	70

2.3.1. Variáveis dependentes

2.3.1.1 Rendimento

O rendimento da extração foi calculado através da equação 2 e expresso em g de gelatina/100g de pele(ARNESEN; GILDBERG, 2007; BENJAKUL et al., 2010; BINSI et al., 2009; BORAN; REGENSTEIN, 2009).

$$\text{Produção de gelatina (\%)} = \frac{\text{peso da gelatina em pó (g)}}{\text{peso úmido da pele fresca (g)}} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

2.3.1.2 Viscosidade

A viscosidade foi determinada através do seguinte método apresentado(BSI, 1975). A amostra foi colocada em banho a 45°C e transferida para o viscosímetro de Ostwald-Fensk (nº 100). O viscosímetro foi colocado em banho a 60°C e aguardou-se 10 minutos para a estabilização da temperatura, sendo então, determinada e expressa em centipoise (cp).

2.3.1.3 Ponto de fusão

A medida do ponto de fusão foi realizada baseando-se no método descrito por Choi and Regenstein (2000) onde soluções de gelatina a 6,67% foram preparadas e uma alíquota de 5 mL foi transferida para tubos de ensaio. Os tubos foram aquecidos em banho termostatizado a 60°C por 15 min, posteriormente, resfriados em banho de gelo e maturados a 10°C em refrigerador por 17±1 h. A seguir, foram adicionadas, sobre o gel, cinco gotas de uma mistura de 75% de clorofórmio e 25% do corante azul de metileno. O gel foi colocado em banho termostatizado a 15°C e aquecido a 0,5°C a cada 5 min até atingir a temperatura de 30°C. A temperatura do banho foi lida e o ponto de fusão foi determinado, em triplicata, no momento em que as gotas coradas começaram a se mover para o interior do gel.

2.4 DEFINIÇÃO DAS CONDIÇÕES ÓTIMAS DE PROCESSO

Para definição das condições ótimas de processo de cada variável foram realizadas sobreposições dos gráficos de superfície, para cada resposta, para que fossem determinadas as áreas onde se obtém a gelatina com maior rendimento possível, aliado à viscosidade e ponto de fusão adequados para indústria de alimentos.

2.5 FORÇA DO GEL E TEOR DE IMINOÁCIDOS NA GELATINA OTIMIZADA

Nas condições ótimas foi reproduzida a gelatina correspondente e foram mensuradas a força do gel (teste BLOOM) e o teor de iminoácidos para melhor compreensão das propriedades físicas e viscoelásticas da gelatina.

2.5.1 Força do gel

Para determinar a força do gel, o método *Bloom* foi utilizado por Choi and Regenstein (2000). O teste determina a força necessária para empurrar o êmbolo do Reômetro AOAC (12.7mm de diâmetro), por 4mm a partir da superfície do gel de gelatina. A solução de gelatina à 6.67% (peso/volume) foi preparada com água destilada e mantendo-se em banho-maria por 40 minutos, à 45°C. Após isso, a amostra foi imediatamente resfriada em água fria e mantida à 10°C por 17±1 hora em estufa incubadora. Após o processo de maturação concluído, as amostras foram retiradas e movidas imediatamente para o reômetro (Reo Thex SD-700, SunScientific), onde foi realizada a análise. O equipamento já vem com velocidade de penetração de 1.0 mm/s ajustado na sua fabricação. Foi ajustada manualmente a distância de penetração em 4mm dentro da superfície e a força g inicial de 5g.

2.5.2 Teor de iminoácidos

O teor de iminoácidos na gelatina foi determinado utilizando cromatógrafo líquido de alta performance Waters-PICO Tag™, Waters Model 712 WISP (Waters, Watford, Herts, UK), segundo o método proposto por White, Hart, and Fry (1986).

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi realizada por meio do software *STATISTICA 7 for Windows* através da hierarquização dos efeitos, análise de variância e análise de superfície de resposta do modelo proposto ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CONDIÇÕES PARA RESPOSTAS ÓTIMAS

Os resultados do planejamento experimental 2⁴ estão exibidos na tabela 2.

Tabela 2 - Matriz codificada do planejamento experimental 2⁴ para a otimização da extração de gelatina da pele de tambaqui

Ensaio	Níveis das variáveis				Respostas		
	A	B	C	D	Rendimento (%)	Viscosidade (cp)	Ponto de fusão (°C)
1	-1	-1	-1	-1	27,36 ±1,05	4,96 ±0,00	27,75 ±0,35
2	-1	-1	-1	1	31,42 ±0,99	6,39 ±0,00	28,00 ±0,00
3	-1	-1	1	-1	27,58 ±0,46	1,85 ±0,00	25,25 ±0,35
4	-1	-1	1	1	32,75 ±0,23	3,28 ±0,00	26,25 ±0,35
5	-1	1	-1	-1	20,54 ±0,39	4,30 ±0,01	24,75 ±0,35
6	-1	1	-1	1	28,70 ±0,44	5,77 ±0,00	26,75 ±0,35
7	-1	1	1	-1	19,68 ±0,39	1,21 ±0,00	23,25 ±0,35
8	-1	1	1	1	25,22 ±0,21	2,66 ±0,00	25,25 ±0,35
9	1	-1	-1	-1	22,50 ±0,17	5,27 ±0,00	29,25 ±0,35
10	1	-1	-1	1	28,44 ±0,05	2,63 ±0,00	25,75 ±0,35
11	1	-1	1	-1	22,57 ±0,30	5,60 ±0,01	27,75 ±0,35
12	1	-1	1	1	28,64 ±1,36	3,21 ±0,01	24,75 ±0,35
13	1	1	-1	-1	25,20 ±0,07	4,64 ±0,00	27,25 ±0,35
14	1	1	-1	1	31,76 ±0,18	2,00 ±0,00	24,25 ±0,35
15	1	1	1	-1	20,50 ±2,23	4,93 ±0,06	27,25 ±0,35
16	1	1	1	1	31,60 ±0,60	2,50 ±0,01	24,25 ±0,35
17	-2	0	0	0	25,91 ±0,68	5,08 ±0,02	26,75 ±0,35
18	2	0	0	0	26,53 ±1,04	4,37 ±0,02	26,75 ±0,35
19	0	-2	0	0	30,66 ±4,62	4,29 ±0,02	27,75 ±0,35
20	0	2	0	0	26,18 ±1,91	2,80 ±0,02	23,75 ±0,35
21	0	0	-2	0	26,53 ±1,10	5,71 ±0,25	27,25 ±0,35
22	0	0	2	0	28,97 ±1,67	2,70 ±0,01	23,75 ±0,35
23	0	0	0	-2	17,87 ±1,21	4,39 ±0,02	26,75 ±0,35
24	0	0	0	2	29,91 ±0,19	2,97 ±0,05	24,75 ±0,35
25	0	0	0	0	28,32 ±0,18	3,03 ±0,04	25,75 ±0,35
26	0	0	0	0	29,44 ±1,03	3,65 ±0,01	25,75 ±0,35
27	0	0	0	0	29,64 ±0,33	3,65 ±0,00	25,75 ±0,35
28	0	0	0	0	28,61 ±0,97	3,63±0,00	25,25 ±0,35

A= NaOH P/P

B= A. Acetico P/P

C= Tempo de extração

D= Temperatura de extração

3.2 ESTIMATIVA DOS COEFICIENTES DOS MODELOS

As estimativas dos coeficientes das variáveis para cada modelo matemático de cada resposta avaliada estão apresentados na Tabela 3. Os efeitos destacados em negrito indicam que a variável apresentou efeito significativo ($p \leq 0,05$).

Tabela 3 - Estimativa dos coeficientes das variáveis de polinômios de segunda ordem (eq. 1) associada a significância para cada resposta estudada

Variáveis independentes	Rendimento (%)		Viscosidade (cp)		Ponto de fusão (°C)	
	Estimado	p-valor	Estimado	p-valor	Estimado	p-valor
Constante	28,8991	0,0000	3,4891	0,0002	25,6250	0,0000
A	-0,0341	0,8809	-0,0444	0,5244	0,1250	0,0917
AA	-0,6765	0,0096	0,2728	0,0216	0,3125	0,0088
B	-1,1254	0,0002	-0,3391	0,0119	-0,8333	0,0005
BB	-0,1269	0,5792	-0,0206	0,7605	0,0625	0,3081
C	-0,1045	0,6473	-0,6970	0,0015	-0,7083	0,0008
CC	-0,2936	0,2110	0,1427	0,1043	0,0000	1,0000
D	3,1941	0,0000	-0,2983	0,0170	-0,4583	0,0029
DD	-1,2592	0,0001	0,0120	0,8587	0,0625	0,3081
AB	1,9919	0,0000	-0,0059	0,9432	0,1875	0,0577
AC	-0,1122	0,6881	0,8813	0,0014	0,3125	0,0154
AD	0,4214	0,1472	-0,9916	0,0010	-1,1250	0,0004
BC	-0,6892	0,0255	-0,0063	0,9385	0,2500	0,0280
BD	0,6338	0,0373	0,0013	0,9873	0,1875	0,0577
CD	0,1980	0,4816	0,0290	0,7275	0,0625	0,3910

A= NaOH P/P

B= A. Acético P/P

C= Tempo de extração

D= Temperatura de extração

Com relação ao rendimento total, observando a tabela 4, verifica-se que os efeitos significativos foram: NaOH P/P quadrático (AA), Ácido acético P/P linear (B), temperatura de extração linear (D), temperatura de extração quadrática (DD) e as interações AB, BC E BD. Uma regressão, embora significativa do ponto de vista do teste F, pode não ser útil para realizar previsões por cobrir uma faixa de variação pequena dos fatores estudados. Para uma regressão ser significativa não apenas estatisticamente, mas também ser útil para fins preditivos, o valor do teste F para a regressão deve ser no mínimo de quatro a cinco vezes maior que o valor de F tabelado (BOX; WETZ, 1973).

Analisando os dados da Tabela 4, observa-se que o modelo apresentou regressão significativa e preditiva, pois o F da regressão foi 26 vezes maior que o F tabelado. Através da análise de variância (ANOVA), o valor de R^2 , para o rendimento, estava próximo a unidade, indicando que o modelo descreveu

adequadamente o comportamento do processo, explicando mais de 94% da variação dos dados experimentais.

Tabela 4 - Modelo reduzido para rendimento, viscosidade e força do gel em função das variáveis independentes, teste F e R^2

Respostas	Modelo	F-valor		R^2
		Regressão	F.A.	
Rendimento	$28,8991 - 0,6765(AA) - 1,1254(B) + 3,1941(C) - 1,2592(DD) + 1,9919(AB) - 0,6892(BC) + 0,6338(BD)$	90,46	1,83	0,947
Viscosidade	$3,4891 + 0,2728(A) - 0,3391(B) - 0,6970(C) - 0,2983(D) + 0,8813(AC) - 0,9916(AD)$	84,25	0,72	0,969
Ponto de fusão	$25,6250 + 0,3125(AA) - 0,8333(B) - 0,7083(C) - 0,4583(D) + 0,3125(AC) - 1,1250(AD) + 0,2500(BC)$	134,62	2,98	0,946

Regressão: $F_{TAB} = 8,887$ (Rendimento e Ponto de fusão) $F_{TAB} = 8,941$ (Viscosidade)
 Falta de ajuste: $F_{TAB} = 8,675$ (Rendimento e Ponto de fusão) $F_{TAB} = 8,765$ (Viscosidade)

Com relação à viscosidade, observando-se a Tabela 4, verifica-se que os efeitos significativos foram: NaOH P/P quadrático (AA), Ácido acético P/P linear (B), tempo de extração linear (C), temperatura de extração linear (D) e as interações AC e AD. Temperaturas elevadas resultam em géis comerciais com baixas viscosidades, o que significa que há um limite na temperatura utilizada durante a extração de gelatina até que ocorra isso (BOX; WETZ, 1973).

Analisando os dados da Tabela 5, observa-se que o modelo obtido para a viscosidade também apresentou regressão significativa e preditiva, pois o F-valor da regressão foi 43 vezes maior que o F tabelado. Através da análise de variância (ANOVA), o valor de R^2 foi determinado em 0,969, indicando que o modelo definiu o comportamento do processo de forma adequada, explicando mais de 96% da variação dos dados experimentais.

Para o ponto de fusão, a Tabela 3 mostra que os efeitos significativos foram: NaOH P/P quadrático (AA), Ácido acético P/P linear (B), tempo de extração (C), temperatura de extração (D) e as interações AC, AD e BC. Em outros trabalhos, as variáveis tempo e temperatura de extração também apresentaram efeito significativo ($p \leq 0,05$) (BORAN; REGENSTEIN, 2009). Através da análise de variância (ANOVA), o valor de R^2 foi determinado em 0,946, indicando que o modelo definiu o

comportamento do processo de forma adequada, explicando mais de 94% da variação dos dados experimentais.

Em geral, o efeito das variáveis independentes no comportamento da viscosidade e do ponto de fusão é parecido, pois ambos são diretamente influenciados pela quantidade de iminoácidos presentes na gelatina (Prolina e Hidroxiprolina) (MONTERO; GOMEZ-GUILLEN, 2000). A tabela 7 (pag. 10) mostra que esses iminoácidos representam 20,5% do total de aminoácidos presentes na gelatina da pele de tambaqui, o que é considerado uma quantidade elevada por diversos autores (BINSI et al., 2009; JONGJAREONRAK; BENJAKUL, 2006; LIU et al., 2012; NALINANON; BENJAKUL; KISHIMURA, 2010). A forma como as condições de extração afetam as proteínas vão proporcionar mudanças na viscosidade e no ponto de fusão (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002, 2007).

3.3 GRÁFICOS DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

Observa-se na figura 1, 2 e 3 os gráficos em três-dimensões e em duas-dimensões da superfície de resposta para rendimento, viscosidade e ponto de fusão, respectivamente

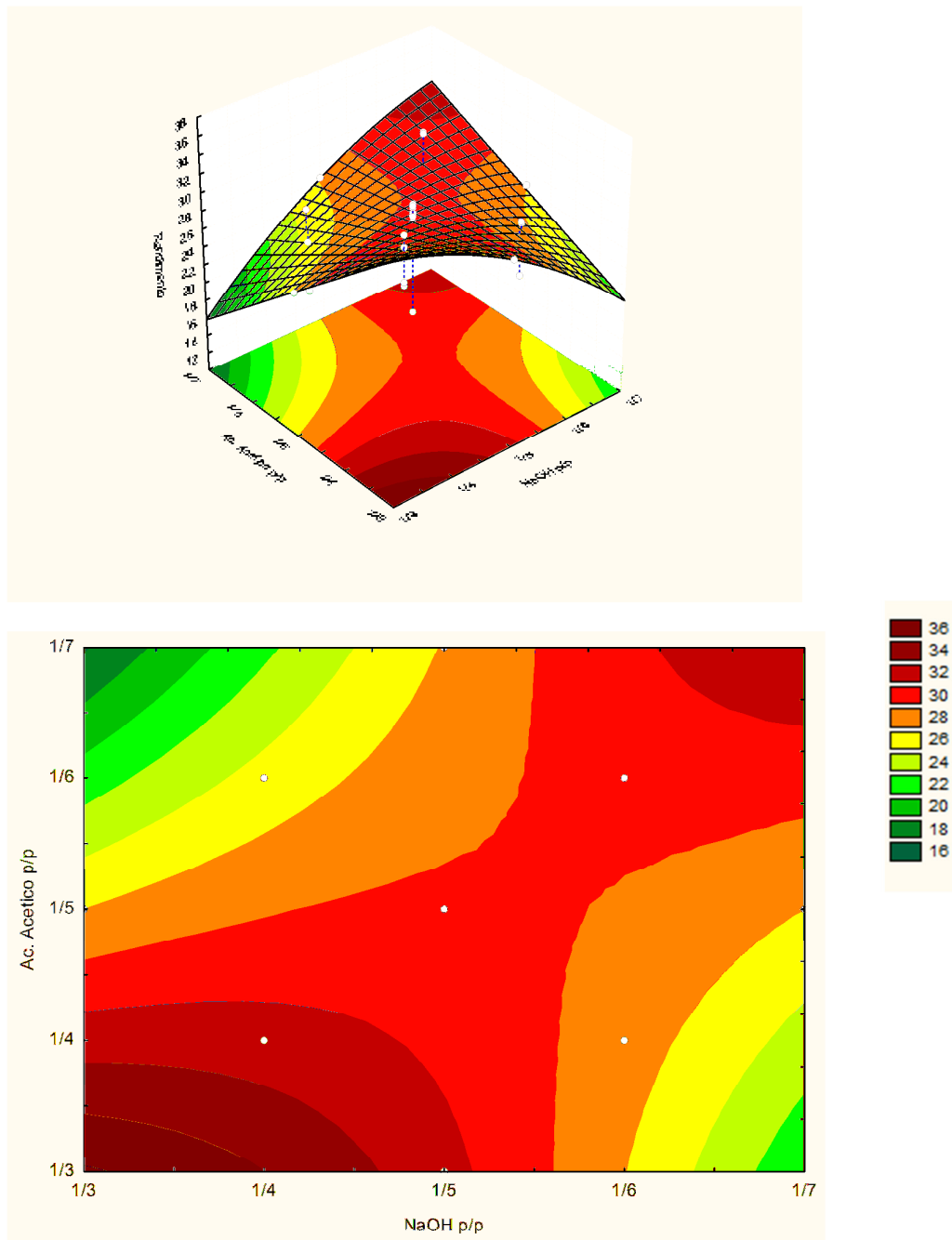


Figura 1 - Superfície de resposta e curva de nível mostrando o efeito de NaOH P/P e Ác. Acético no rendimento total (%) da gelatina extraída da pele de tambaqui.

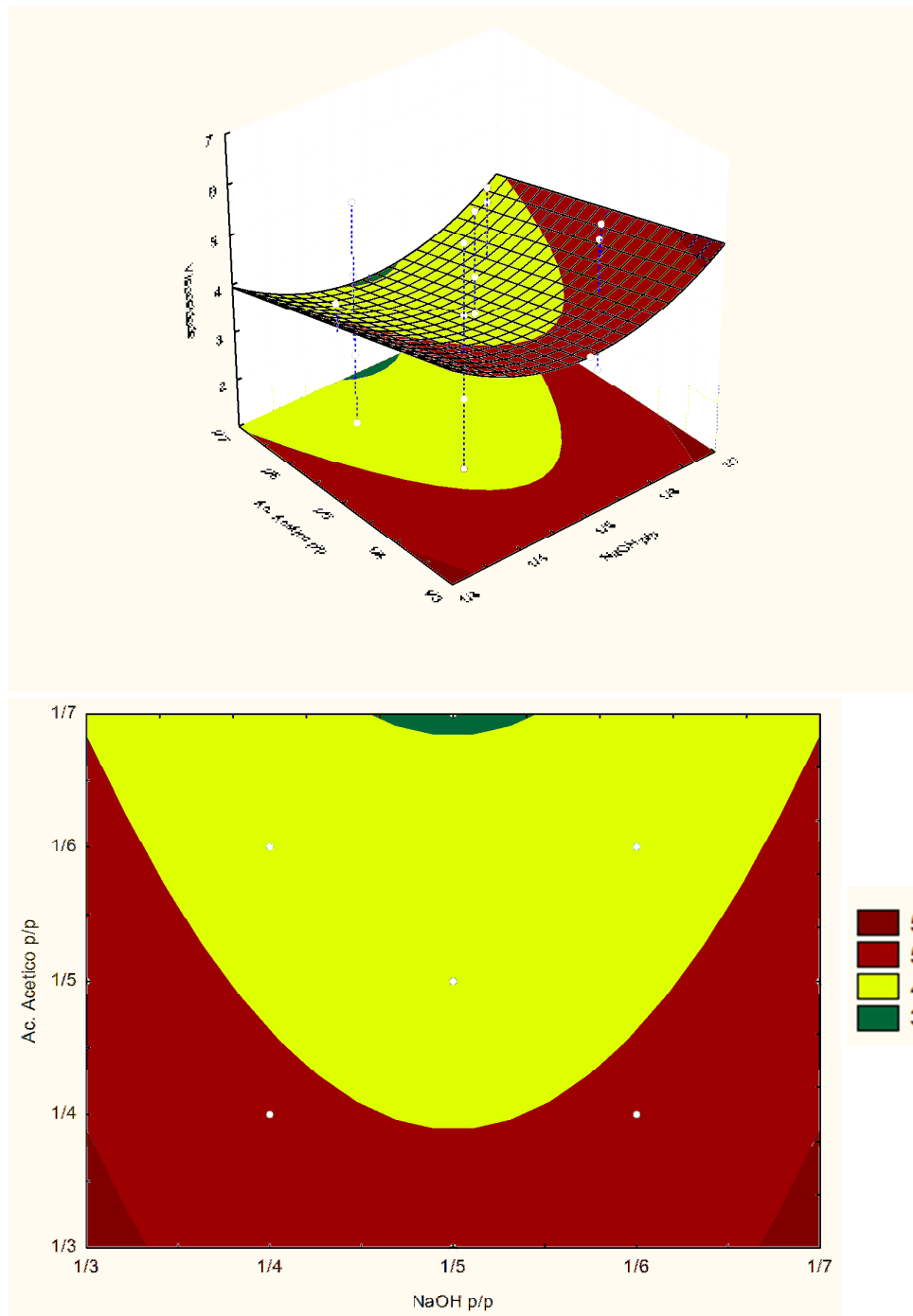


Figura 2 - Superfície de resposta e curva de nível mostrando o efeito de NaOH P/P e Ác. Acético na viscosidade (cp) da gelatina extraída da pele de tambaqui.

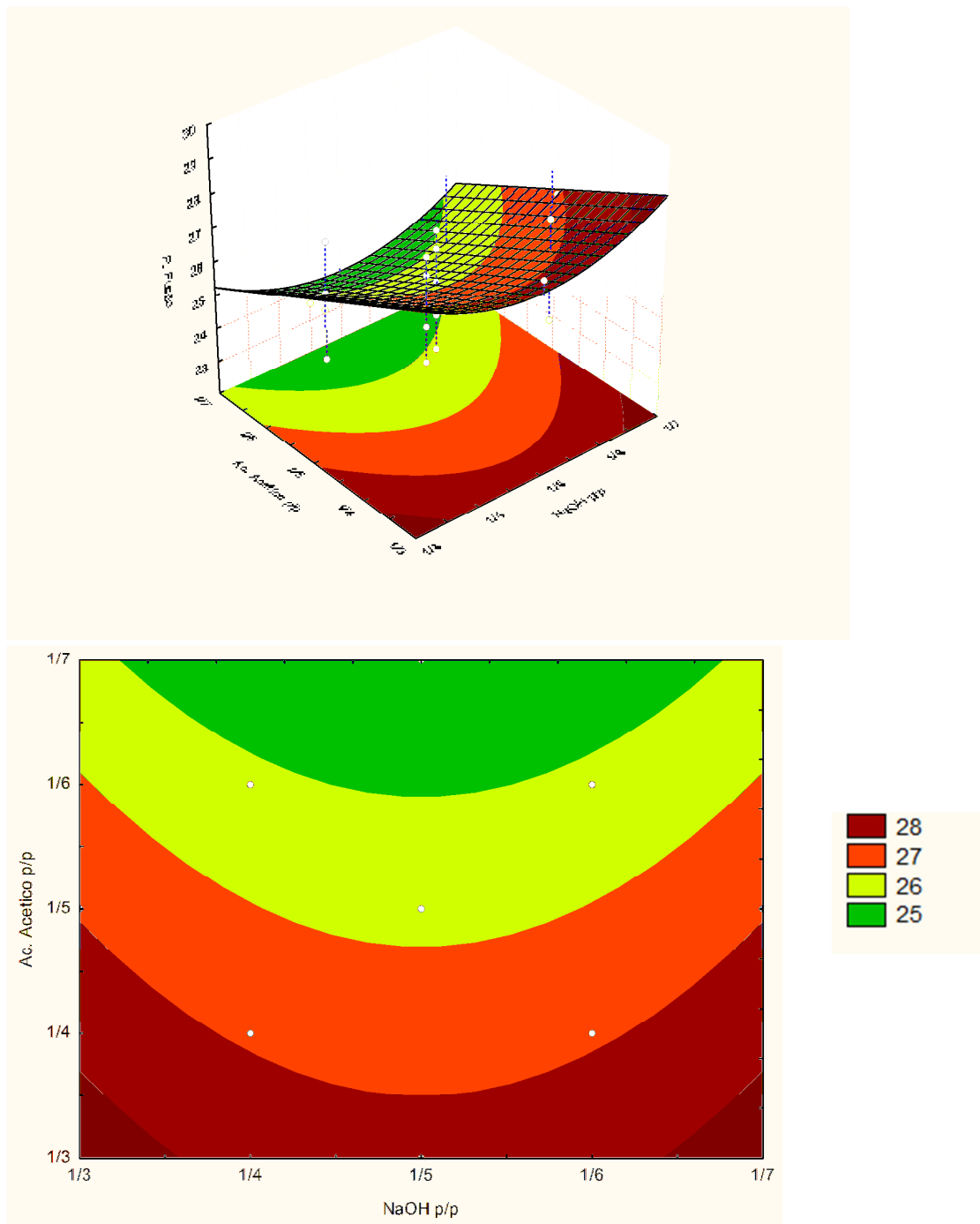


Figura 3 - Superfície de resposta e curva de nível mostrando o efeito de NaOH P/P e Ác. Acético no ponto de fusão (°C) da gelatina extraída da pele de tabaqui.

Na Figura 1, percebe-se que o comportamento do modelo é traduzido na forma de “sela”. Na região de nível baixo (-1), ocorre maior rendimento, assim como na região de nível alto (+1), em ambos os efeitos. Quando um dos efeitos está no nível alto e o outro está no nível baixo, ocorre baixo rendimento. Dentro do que foi obtido experimentalmente, o máximo rendimento foi de 31,76%, não ultrapassando a região delimitada pelos pontos fatoriais (± 1). Outros valores de rendimento foram relatados para extração de gelatina da pele das espécies de tilápia-do-nylo (14,5%) (BUENO et al., 2011), *Johnius dussumieri* (16,5%), *Decapterus macrosoma* (7,26%) (CHEOW et al., 2007), *Catenopharyngodon idella* (10,5%) (KASANKALA et al., 2007) e *Pollachius virens* (8.9%) (KASANKALA et al., 2007).

De acordo com a Figura 2, fica evidenciada a influência do efeito negativo B (Ácido. Acético P/P), uma vez que conforme há diminuição da concentração deste fator, ocorre aumento do rendimento. Todas as regiões apresentadas estão dentro do intervalo recomendado para gelatinas comerciais “normais” (uso na indústria de alimentos) (JOHNSTON-BANKS, 1990). A região da viscosidade de 4cp engloba o ponto central, e está próximo ao encontrado em gelatinas provenientes de pescados estudadas por outros autores (ALFARO et al., 2013; BUENO et al., 2011; NIU et al., 2013).

Analisando a Figura 3, pode-se observar com maior evidência efeito negativo B do que apresentado na viscosidade. Há uma variação maior no rendimento devido à diminuição no efeito B. Maiores temperaturas de fusão estão associadas com melhores propriedades viscoelásticas, até certo limite (HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004). A região do ponto de fusão de 25°C à 26,0°C engloba o ponto central e está próximo ao encontrado por Bueno e outros (2011) para a tilápia-do-nylo. Esse valor de ponto de fusão é maior que na condição otimizada para extração da gelatina da pele das espécies *Otolithes ruber*, *Nemipterus japonicus* e muito próxima a da *Protonibea dicanthus* (KOLI et al., 2011).

3.4 SOBREPOSIÇÃO DOS GRÁFICOS DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E ESCOLHA DO PONTO ÓTIMO

Primeiramente foram avaliados os três gráficos de superfície de resposta separadamente para avaliar as regiões. Os gráficos foram sobrepostos para que se

puddesse fazer uma avaliação conjunta. A sobreposição pode ser observada na figura 4.

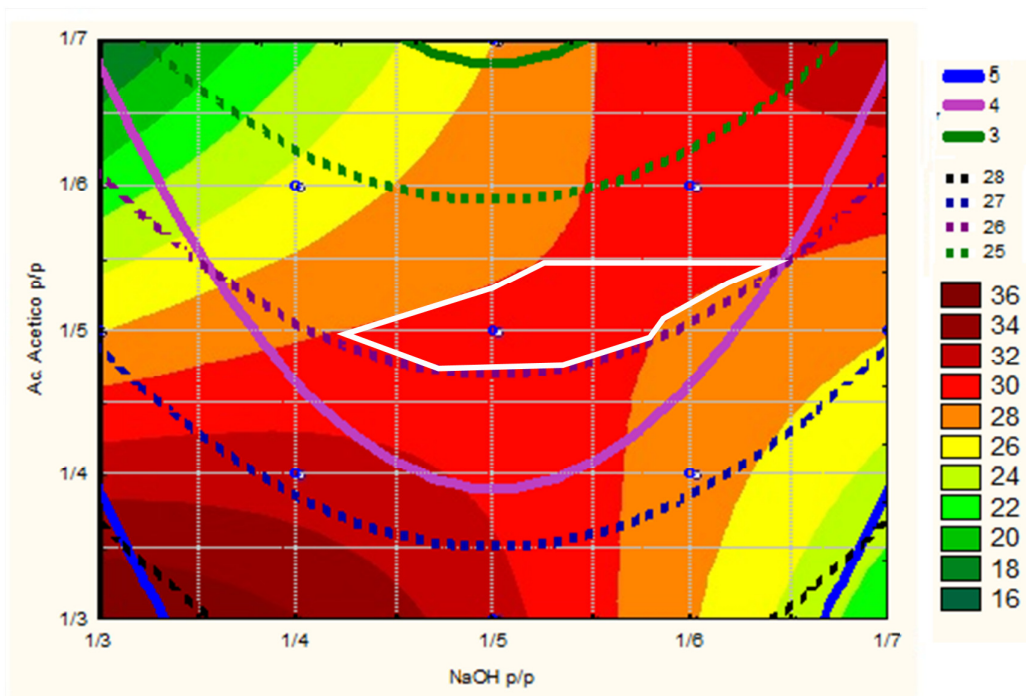


Figura 4 - Sobreposição das curvas de contorno, viscosidade (linha contínua) e ponto de fusão (linha tracejada), e rendimento para NaOH P/P e Ac. Acético P/P na extração de gelatina a partir da pele de tambaqui

Dentro da faixa de trabalho escolhida, que varia 1/3 até 1/7 para A (NaOH P/P) e 1/3 até 1/7 para B (A. Acético P/P), das Figuras 1 a 3, optou-se por trabalhar com a região central.

O rendimento, para a condição selecionada como ótima não foi o máximo valor obtido, uma vez que para o máximo valor de rendimento o valor obtido para a viscosidade não se encontrava na faixa recomendada para gelatinas comerciais. Desta forma optou-se por selecionar a condição central para as três variáveis uma vez que nesta condição o valor do rendimento sofria uma redução de apenas 10%.

Apesar dos valores otimizados não serem os maiores possíveis indicados pela superfície de resposta, eles são os que melhor se compatibilizam, levando em

consideração os custos com produção, a viabilidade do processo e os resultados obtidos por outros autores quanto à gelatina extraída da pele de pescados tropicais (AHMAD; BENJAKUL, 2011; AL-HASSAN; NORZIAH, 2012; BUENO et al., 2011; CHEOW et al., 2007; CHOI; REGENSTEIN, 2000; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007; JAMILAH; HARVINDER, 2002; KARIM; BHAT, 2009; KOLI et al., 2011; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004; NIU et al., 2013; SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008; WANG; YANG; REGENSTEIN, 2008).

Tabela 5 - Valores otimizados obtidos com RSM e verificação experimental

Condições otimizadas				Respostas			
A	B	C	D		Rendimento (%)	Viscosidade (cp)	Ponto de fusão (°C)
1/5	1/5	12	60	Valores preditos	28,89	3,49	25,62
				Valores experimentais	29,00 ±0,64	3,49 ±0,30	25,63 ±0,25
				Erro médio	0,61	0,13	0,19

A= NaOH P/P B = A. Acético P/P C = Tempo extração (horas) D = Temperatura de extração (°C)

Os valores preditos pelos modelos e os valores experimentais apresentaram-se bem próximos, para cada resposta estudada, com valores de erros médios bastante reduzidos, ratificando que os modelos representaram de forma adequada as respostas estudadas no processo de extração de gelatina da pele de tambaqui.

3.5 FORÇA DO GEL (BLOOM) NA GELATINA OTIMIZADA

Foi mensurada a força do gel (BLOOM) na gelatina com condições otimizadas e essa foi de 124,50 ±8,87g. Autores(KARIM; BHAT, 2009) recomendam que a gelatina comercial (uso na indústria de alimentos) tenha de 100g à 300g de força de gel (teste BLOOM), sendo desejável que possua valores entre 250g e 260g. Valores de força do gel foram relatados para a espécie *Nemipterus japonicus* de 140,00 ±4,55g (KOLI et al., 2011), 51,73 ±0,77g para a espécie *Aluterus monoceros* (pré-tratamento com ácido acético e extração de 8 horas)(AHMAD; BENJAKUL, 2011) e 426 ±2,9g para a gelatina da pele de *T. albacares* (pré-tratamento com ácido sulfúrico 6N)(CHO; GU; KIM, 2005). Diferenças nos parâmetros do processo de extração provocam mudanças na força do gel. Ela é influenciada pelo peso

molecular da gelatina e pela composição de aminoácidos(CHOI; REGENSTEIN, 2000; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007; MONTERO; GOMEZ-GUILLEN, 2000).

3.6 TEOR DE IMINOÁCIDOS PRESENTES NA PELE E NA GELATINA OTIMIZADA

O teor de iminoácidos presentes na pele de tabaqui e na gelatina estão descritos na tabela 7.

Tabela 6 - Teor de iminoácidos presentes na gelatina e na pele de tabaqui (g/100g de proteína)

Aminoácido		Pele*	Gelatina*
Hidroxiprolina	HPRO	8,99 ±0,03	9,32 ±0,01
Prolina	PRO	11,16 ±0,01	11,71 ±0,09
Iminoácidos totais	PRO + HPRO	20,15	21,03

*Média de 2 repetições **Erro estimado da análise: 0,15%

A quantidade de prolina + hidroxiprolina classifica o colágeno da pele do tabaqui como colágeno tipo I, sendo esses dois considerados iminoácidos, já que sua estrutura resulta da ligação terminal alfa-amina (NH₂) à cadeia variável alifática(ALFARO et al., 2013). O teor de iminoácidos (Prolina + Hidroxiprolina) é um fator determinante nas propriedades funcionais da gelatina. Geralmente, um elevado teor está associado à propriedades geleificantes superiores(KASANKALA et al., 2007). Também é relatado que a estabilidade do colágeno e da gelatina é proporcional ao teor de iminoácidos e glicina(BINSI et al., 2009; NELSON; COX, 2011). Gelatinas com elevado teor de iminoácidos resultam em alto ponto de fusão e elevado força do gel(HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004). Iminoácidos conferem considerável rigidez à estrutura do colágeno, enquanto que um teor limitado deles pode afetar a propriedades dinâmicas da gelatina(CHEOW et al., 2007; JOHNSTON-BANKS, 1990). O teor de iminoácidos é praticamente o mesmo encontrado na gelatina da pele de tilápia-do-nilo e carpa, o dobro do que foi encontrado nas espécies *Johnius dussumieri* e *Decapterus macrosoma* e 30% superior ao encontrado na espécie *Priacanthus hamrur* (ALFARO et al., 2013; BINSI et al., 2009; CHEOW et al., 2007; KASANKALA et al., 2007).

4. CONCLUSÕES

A gelatina extraída a partir da pele de tambaqui apresentou alto rendimento, associado a viscosidade, força do gel, ponto de fusão e teor de iminoácidos adequados para sua aplicação na indústria de alimentos (gelatina comercial).

A metodologia de superfície de resposta se mostrou uma ferramenta poderosa para otimizar os parâmetros do processo de extração e os resultados podem ser adaptados para extração industrial de gelatina da pele de tambaqui.

As características dessa gelatina a colocam como uma excelente alternativa para a substituição de gelatinas proveniente de suínos e bovinos, e com relação ao último não se corre o risco de contaminação da doença encefalopatia espongiforme bovina (BSE).

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M.; BENJAKUL, S. Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 381–388, maio 2011.
- ALFARO, A. DA T. et al. Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food science and technology international**, 10 jun. 2013.
- AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 108–117, jan. 2012.
- ALMEIDA, N. M.; VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. Composition of total , neutral and phospholipids in wild and farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*) in the Brazilian Amazon area. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 1747, n. December 2007, p. 1739–1747, 2008.
- ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource technology**, v. 98, n. 1, p. 53–7, jan. 2007.
- BENJAKUL, S. et al. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*). **Journal of the science of food and agriculture**, v. 90, n. 1, p. 132–8, 15 jan. 2010.
- 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, n. 1, p. 132–145, jan. 2009.
- BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Optimization of gelatin extraction from silver carp skin. **Journal of food science**, v. 74, n. 8, p. E432–41, out. 2009.
- BOX, G. E. P.; WETZ, J. Criteria for judging adequacy of estimation by an approximate response function. **University of Wisconsin Technical Report, n.9**, 1973.
- BSI. British Standard Institution. **Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods)**. London, 1975.
- BUENO, C. M. et al. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **BRAZILIAN JOURNAL OF FOOD TECHNOLOGY**, v. 14, n. 01, p. 65–73, 17 mar. 2011.
- 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, n. 1, p. 386–391, jan. 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, n. 2, p. 221–229, mar. 2005.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and Sensory Characteristics of Fish Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 194–199, 2000.

FAO, Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura. FishStatJ - software for fishery statistical time series. p. 321–343, 2014.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 16, n. 1, p. 25–34, 2002.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz.). **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1133–1143, out. 2007.

HAUG, I. J.; DRAGET, K. I.; SMIDSRØD, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 203–213, mar. 2004.

JAMILAH, B.; HARVINDER, K. . Properties of gelatins from skins of fish—black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 81–84, maio 2002.

JOHNSTON-BANKS, F. A. Gelatin. In: HARRIS, P. (Ed.). **Food gels. New York, NY: Elsevier Science Publishing Co.**, p. 233–289, 1990.

JONGJAREONRAK, A.; BENJAKUL, S. Effects of plasticizers on the properties of edible films from skin gelatin of bigeye snapper and brownstripe red snapper. p. 229–235, 2006.

KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 563–576, maio 2009.

KASANKALA, L. M. et al. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. **Bioresource technology**, v. 98, n. 17, p. 3338–43, dez. 2007.

KOLI, J. M. et al. Improvement of gel strength and melting point of fish gelatin by addition of coenhancers using response surface methodology. **Journal of food science**, v. 76, n. 6, p. E503–9, ago. 2011.

KOZLOV, P. V.; BURDYGINA, G. I. polymer reviews. **POLYMER**, v. 24, p. 651–666, 1983.

LIU, Z. et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 311–317, jan. 2012.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Extracting Conditions for Megrim (*Lepidorhombus boschii*) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 434–438, abr. 2000.

MUYONGA, J. .; COLE, C. G. .; DUODU, K. . Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 581–592, jul. 2004.

NALINANON, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Collagens from the skin of arabesque greenling (*Pleurogrammus azonus*) solubilized with the aid of acetic acid and pepsin from albacore tuna (*Thunnus alalunga*) stomach. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 90, n. 9, p. 1492–500, jul. 2010.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger's Principles of Biochemistry*. **W. H. Freeman and Company, 5th Edition**, 2011.

NIU, L. et al. Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 336–341, dez. 2013.

SONGCHOTIKUNPAN, P.; TATTIYAKUL, J.; SUPAPHOL, P. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, n. 3, p. 247–255, 1 abr. 2008.

SOUZA, A. F. L. DE; INHAMUNS, A. J. Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 2, p. 289–296, 2011.

WANG, Y.; YANG, H.; REGENSTEIN, J. M. Characterization of Fish Gelatin at Nanoscale Using Atomic Force Microscopy. **Food Biophysics**, v. 3, n. 2, p. 269–272, 9 abr. 2008.

WHITE, J. A; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of automatic chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170–7, jan. 1986.

CAPITULO IV

CARACTERIZAÇÃO E PERFIL DE AMINOÁCIDOS TOTAIS DA GELATINA EXTRAÍDA DA PELE DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

RESUMO

Foi extraída gelatina a partir da pele de peixe amazônico tambaqui (*Colossoma macropomum*) e desidratada através de liofilização. Acidez total, pH, umidade, lipídeos totais, proteínas totais e cinzas foram avaliadas na pele e na gelatina. Atividade de água (aw), cor instrumental, rendimento de extração, viscosidade, ponto de fusão, força do gel foram avaliados somente na gelatina. Perfil de aminoácidos totais foi avaliado na gelatina por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), através da análise dos aminogramas gerados. Gelatina obteve baixa umidade, baixa atividade de água, mínimo teor de lipídeos, médio teor de proteínas, alto teor de cinzas, pH próximo da neutralidade, baixa acidez, elevado rendimento do processo de extração, força do gel e viscosidade dentro da faixa recomendada para gelatinas comerciais. Ponto de fusão da gelatina ficou próximo ao encontrado para gelatina de pele de peixe por outros autores. O teor de aminoácidos foi praticamente idêntico na pele e na gelatina, provando que o método de extração foi eficiente e os aminoácidos em maior quantidade foram a glicina, prolina e hidroxiprolina.

ABSTRACT

Gelatin was extracted from the skin of Amazonian fish tambaqui (*macropomum Colossoma*) and dehydrated by lyophilization. Total acidity, pH, moisture, total lipid, protein and ash were evaluated in the skin and gelatin. Water activity (aw), instrumental color, extraction yield, viscosity, melting point, gel strength were evaluated only in gelatin. Profile of total amino acids was evaluated in the gelatin by high performance liquid chromatography (HPLC) by analysis of aminograms generated. Gelatin got low moisture, low water activity, minimum lipid content, medium protein content, high ash content, pH close to neutral, low acidity, high yield of the extraction process, gel strength and viscosity within the recommended range for commercial gelatins. Melting point of the gelatin was close to that found for fish skin gelatin by other authors. The amino acid content was practically identical in the skin and gelatin, proving that the method was efficient extraction and amino acids in larger quantities were glycine, proline and hydroxyproline.

Palavras-chave: gelatina, colágeno, pescado, tambaqui, aminoácidos.

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura-FAO (2014), a produção pesqueira mundial em 2013 foi de aproximadamente 160 milhões de toneladas e, do que foi capturado e cultivado no mundo, 30% não foi aproveitado para o consumo direto, sendo utilizado como ração ou desperdiçado como resíduo. Os resíduos principais da produção pesqueira são as vísceras, cabeças, carcaças e peles. Esses resíduos, caso não tenham o destino adequado (ou não sejam aproveitados) podem causar contaminação ambiental, pelo aumento de matéria orgânica em determinado habitat (SOUZA; INHAMUNS, 2011).

Utilizar pele de peixes para a extração de gelatina pode ser uma alternativa viável para o aproveitamento desse subproduto, muitas vezes descartado. Esses resíduos de pescado são ricos nutricionalmente e podem ainda ser aproveitados, gerando outros produtos, sendo portanto uma potencial fonte de geração de renda.

Nos últimos anos, gelatina de peixe tornou-se importante devido à recente procura por gelatina não mamífera. Um dos motivos relacionados a isso foi a crise bovina da encefalopatia espongiforme, e também por razões religiosas e sociais. Além disso, a pele de peixe é um importante subproduto da indústria de transformação de peixe, gerando desperdício e poluição (SAI-UT; JONGJAREONRAK; RAWDKUEN, 2010).

A gelatina é uma mistura heterogênea de elevado peso molecular, proteínas solúveis em água derivados da hidrólise de colágeno (BORAN; REGENSTEIN, 2009). Ela contém quantidades relativamente elevadas de aminoácidos, tais como glicina, prolina, hidroxiprolina e alanina (WANG; AGYARE; DAMODARAN, 2009). Tropocolágeno é a unidade básica de colágeno e é composto por três cadeias de polipeptídios com idêntica ou diferente sequência de aminoácidos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2007). A gelatina, como biopolímero, apresenta algumas características que a tornaram indispensável: natureza anfótera, estrutural helicoidal de cadeia tripla específica (não observado em polímeros sintéticos) e a sua interação com a água, que é diferente da encontrada em polímeros sintéticos hidrofílicos (AHMAD; BENJAKUL, 2011; KASANKALA et al., 2007; KOZLOV; BURDYGINA, 1983). Apresenta custo relativamente baixo, por ser abundante e por possuir excelentes propriedades funcionais (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007).

Existem muitas pesquisas envolvendo a extração de gelatina a partir da pele de peixe, de diferentes espécies em diferentes lugares do mundo (ALFARO et al., 2013; CHEOW et al., 2007; CHO et al., 2004; MONTERO; GOMEZ-GUILLEN, 2000; NIU et al., 2013a), porém estudos a partir de pele de peixes amazônicos ainda precisam ser melhor explorados. Dentre essas espécies, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) tem importância comercial elevada, além de que parte de sua produção já é proveniente de piscicultura, atividade que ameniza os impactos que a pesca extrativa vem provocando no meio ambiente (Almeida, Visentainer, and Franco 2008; FAO, 2014).

O perfil de aminoácidos está diretamente correlacionado com as propriedades viscoelásticas da gelatina. Autores (AL-HASSAN; NORZIAH, 2012; BINSI et al., 2009; CHEOW et al., 2007; KASANKALA et al., 2007; LIU et al., 2012) relatam que é necessário determinar o perfil de aminoácidos presentes na gelatina estudada para uma completa compreensão das propriedades funcionais e caracterização nutricional.

O objetivo deste foi realizar a caracterização físico-química e o perfil de aminoácidos da pele e da gelatina da pele de tambaqui proveniente da filetagem de tambaqui.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizadas peles oriundas da filetagem de tambaquis (*Colossoma macropomum*) criados em tanque de piscicultura familiar no município de Terra Alta, estado do Pará, região amazônica brasileira. Para o preparo da pele, foram removidas as escamas, e em seguida, as peles foram cortadas em quadrados de 4cm x 4cm e embaladas em sacos plásticos de policloreto de vinil (PVC), seladas a vácuo e congeladas a -26°C, até o processo de extração.

2.2 EXTRAÇÃO DA GELATINA

Foram pesadas aproximadamente 20g de pele e lavadas com água corrente. Foi adicionado solução de NaCl (0,6M), na proporção 1/6 (peso pele/peso solução) e foram agitadas a 85rpm à 25,00 ±1,00°C durante 10 minutos. Depois disso, as peles foram lavadas três vezes em água corrente. Foi adicionado solução de NaOH

(0,3M), na proporção 1/5 (peso pele/peso solução) e foram agitadas a 85rpm à 25,00 ±1,00°C durante 15 minutos. Depois disso, as peles foram lavadas três vezes em água corrente. Foi adicionado solução de ácido acético (0,02M) na proporção 1/5 (peso pele/peso solução) e foram agitadas a 85rpm à 25,00 ±1,00°C durante 60 minutos. Depois disso, as peles foram lavadas três vezes em água corrente. Foi adicionada água destilada na proporção 1/5 (peso pele/peso solução) e aquecido à 60°C durante 12 horas. Após isso, foi realizada a filtração em funil de Buchner, com papel filtro Whatman nº 4. O filtrado foi recolhido em bandejas de aço inox, liofilizado por 36 horas, pesado e moído. Esta metodologia foi definida a partir de otimização do processo, utilizando um delineamento composto central rotacional.

2.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA PELE DE PEIXE E DA GELATINA

Foram realizadas análises de acidez total geral, determinada segundo método 920.92 (AOAC)(AOAC, 1997) e o resultado expresso em mL de NaOH 0,1M necessário para neutralizar a acidez de 100g de amostra. A umidade foi determinada segundo método 952.08 (AOAC)(AOAC, 1997). O teor de proteínas foi determinado segundo método Kjeldahl, usando fator de cálculo específico de 5,5(AOAC, 1997). O teor de lipídeos totais foi determinado através do método proposto por Bligh and Dyer (1956). O teor de cinzas (resíduo mineral fixo) foi determinado segundo método 938.08 (AOAC)(AOAC, 1997). As determinações foram realizadas em triplicata.

2.4 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DA PELE DE PEIXE E DA GELATINA

O perfil de aminoácidos totais foi determinado utilizando cromatógrafo líquido de alta performance Waters-PICO Tag™, Waters Model 712 WISP (Waters, Watford, Herts, UK), segundo o método proposto por White, Hart, and Fry (1986).

2.5 DETERMINAÇÃO DE PH NA PELE E NA GELATINA

As amostras de pele foram analisadas quanto ao pH através de pHmetro digital, segundo método oficial 981.12 (AOAC, 1997). Para a gelatina o pH foi determinado utilizando pHmetro digital, com solução de 6,67%, segundo método proposto por Schrieber and Gareis (2007).

2.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DE ÁGUA (AW) DA GELATINA

A atividade de água foi determinada utilizando-se um higrômetro eletrônico aqualab, 3TE - Decagon Devices Inc.,USA.

2.7 DETERMINAÇÃO DA COR DA GELATINA

A cor instrumental foi determinada segundo método CIELAB, utilizando colorímetro portátil MINOLTA modelo CR 310 no espaço CIE (Comission Internacionale de L'Eclairage), segundo método proposto por HUNTERLAB Inc. (2008). O valor do croma C^* foi calculado segundo a equação.1. O valor do ângulo de tonalidade foi calculado de acordo com a equação 2.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$h^* = \frac{(\tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}) \times 180}{\pi} \quad (\text{Eq. 2})$$

2.8 RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO

O rendimento da extração foi calculado através da equação 3 e expresso em g de gelatina/100g de pele, segundo (BINSI et al., 2009).

$$\text{Produção de gelatina (\%)} = \frac{\text{peso da gelatina em pó (g)}}{\text{peso úmido da pele fresca (g)}} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

2.9 DETERMINAÇÃO DA VISCOSIDADE

A viscosidade foi determinada através do método apresentado por BSI 1975. A amostra foi colocada em banho a 45°C e transferida para o viscosímetro de Ostwald-Fensk (nº 100). O viscosímetro foi colocado em banho a 60°C e aguardou-se 10 minutos para a estabilização da temperatura, sendo então, realizada a leitura e o valor expresso em centipoise (cp).

2.10 DETERMINAÇÃO DO PONTO DE FUSÃO

A medida do ponto de fusão foi realizada baseando-se no método descrito por Choi and Regenstein (2000) onde soluções de gelatina a 6,67% foram preparadas e uma alíquota de 5 mL foi transferida para tubos de ensaio. Os tubos foram

aquecidos em banho termostático a 60°C por 15 min. Posteriormente os tubos foram resfriados em banho de gelo e mantidos a 10°C em refrigerador por 17±1 h. Em seguida, foram adicionadas, sobre o gel, cinco gotas de uma mistura de 75% de clorofórmio e 25% do corante azul de metileno. O gel foi então colocado em banho termostático a 15°C e aquecido a 0,5°C a cada 5 min até atingir a temperatura de 30°C. O ponto de fusão foi determinado, em triplicata, no momento em que as gotas coradas começaram a se mover para o interior do gel.

2.11 DETERMINAÇÃO DA FORÇA DO GEL

Para determinar a força do gel, foi utilizado o método *Bloom* proposto por Choi and Regenstein (2000). O teste determina a força necessária para empurrar o êmbolo do Reômetro AOAC (12.7mm de diâmetro), por 4mm a partir da superfície do gel de gelatina. A solução de gelatina à 6.67% (peso/volume) foi preparada com água destilada e mantida em banho-maria por 40 minutos, à 45°C. Após isso, a amostra foi imediatamente resfriada e mantida à 10°C por 17±1 hora em estufa incubadora. Após o processo de maturação concluído, as amostras foram retiradas e movidas imediatamente para o reômetro (Reo Thex SD-700, SunScientific), onde foi realizada a análise. A velocidade de penetração adotada foi de 1.0 mm/s, com distância de penetração ajustada para 4mm dentro da superfície e a força g inicial definida em 5g. As determinações foram realizadas em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

A pele de tambaqui e a gelatina apresentaram os seguintes resultados para a caracterização físico-química, os quais estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição centesimal da pele e da gelatina extraída a partir da pele de tambaqui*

Componentes	Pele		Gelatina	
	B.U.	B.S	B.U.	B.S.
Umidade (%)	38,11 ±0,73		9,43 ±0,06	-
Lipídeos (%)	26,56 ±0,80	42,92 ±1,59	1,23 ±0,17	1,36 ±0,23
Proteína (%)	30,39 ±0,67	49,11 ±1,32	85,99 ±1,10	94,94 ±1,49
Cinzas (RMF) (%)	1,37 ±0,11	2,22 ±0,21	2,99 ±0,27	3,30 ±0,37
pH	6,35 ±0,01		6,12 ±0,08	
Acidez (mL NaOH/100g)	2,28 ±0,06		2,94 ±0,05	
Atividade de água				0,436 ±0,03

*média de 3 repetições

Houve uma diminuição da umidade da pele para a gelatina, principalmente por causa do processo de desidratação por liofilização. O teor de lipídeos teve uma grande diminuição da pele para a gelatina, devido ao processo de extração. A porcentagem de proteínas aumentou, principalmente pelo fato da remoção de água e o teor de cinzas foi maior na gelatina do que na pele.

O teor de proteínas da pele está próximo ao de outras espécies estudadas por autores (ALMEIDA; VISENTAINER; FRANCO, 2008) e, dessa forma, são esperados bons níveis de rendimento de gelatina como nos trabalhos anteriores. Em comparação com dados do músculo, a pele de tambaqui apresenta teor maior de proteínas (CARTONILHO; JESUS, 2011). Umidades de 62,33% e 60,43% foram relatadas para a pele das espécies *Johnius dussumeiri* e *Decapterus macrosoma* (CHEOW et al., 2007) respectivamente, e 52,80% para *Priacanthus hamrur* (BINSI et al., 2009). O teor de lipídeos relatados para a pele das espécies de *Pangasianodon gigas* e tilápia-do-nilo (*O. niloticus*) foram de 1,26% e 1,10%, respectivamente (SAI-UT; JONGJAREONRAK; RAWDKUEN, 2010; SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008). Já o teor de proteína de 21,60% foi relatado para a pele de tilápia-do-nilo (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004) e de 24,80% referente a de

Johnius dussumieri (CHEOW et al., 2007). O teor de cinzas relatado para as peles das espécies de *Katsuwonus pelamis* e *Labeo rohita* foram de 4,39% e 2,03%, respectivamente (SHYNI et al., 2014).

Com relação às gelatinas extraídas da pele de peixes em outros trabalhos, a umidade de 4,16% (B.U.) foi relatada para a espécie *Pangasianodon gigas* (SAI-UT; JONGJAREONRAK; RAWDKUEN, 2010), enquanto que para a tilápia-do-nilo foi relatada de 7,30% (SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008). Foram encontrados baixos teores de lipídeos nas gelatinas extraídas da pele de diversas espécies, como a *Scoliodon sorrakowah* que obteve 0,42%(CHO; GU; KIM, 2005; SHYNI et al., 2014). Esse teores são resultado do pré-tratamento ácido e básico, capaz de reduzir em 25% o teor de lipídeos da pele para a gelatina da pele de tambaqui. Teores de proteína foram relatados para a gelatina da pele das espécies *Priacanthus hamrur* e *Johnius dussumieri* de 94,60% e 69,20% (BINSI et al., 2009; CHEOW et al., 2007). Com relação ao Resíduo Mineral Fixo (cinzas), foram relatados valores de 2,31% para a gelatina da pele de tilápia-do-nilo e 6,0% para a espécie *Lates niloticus* (BORDIGNON et al., 2012; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004), sendo assim os valores percebidos para gelatina. Os parâmetros pH e acidez se apresentam bem próximos aos presentes na pele. Alguns valores de pH relatados para gelatina da pele de peixes variavam entre 4,17 à 4,34, para as espécies atum, tubarão e carpa (SHYNI et al., 2014). CHEOW e outros (2007) afirmam que o pH final da gelatina é consequência do processo de extração, onde o autor utilizou uma base e dois ácidos pode explicar, em parte, o fato de ter obtido metade do valor de pH encontrado para e gelatina de tambaqui.

3.2 RENDIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E PROPRIEDADES VISCOELÁSTICAS DA GELATINA

O valor do rendimento total e os parâmetros das propriedades viscoelásticas da gelatina estão presentes na tabela 2, logo a seguir.

Tabela 2 - Parâmetros físicos da gelatina de tambaqui.

Parâmetro	Unidade	Valor
Rendimento	gelatina seca/pele úmida (%)	29,06 ±0,86
Viscosidade	Centipoise (cp)	3,48 ±0,30
Força do gel	BLOOM (g)	124,5 ±8,87
Ponto de fusão	(°C)	25,63 ±0,35

O rendimento total da extração é considerado elevado por alguns autores (BORAN; REGENSTEIN, 2009; TABARESTANI et al., 2010). Outros valores de rendimento foram relatados para extração de gelatina da pele das espécies de tilápia-do-nilo (14,5%) (BUENO et al., 2011), *Johnius dussumieri* (16,5%), *Decapterus macrosoma* (7,26%) (CHEOW et al., 2007), *Catenopharyngodon idella* (10,5%)(KASANKALA et al., 2007) e *Pollachius virens* (8.9%) (KASANKALA et al., 2007).

A viscosidade é um importante fator para o valor comercial da gelatina. A gelatina de tambaqui apresentou valor para viscosidade dentro do intervalo de 2,00cp e 7,00cp, o que tem sido recomendado para gelatinas comerciais (JOHNSTON-BANKS, 1990). A viscosidade da gelatina da pele de tambaqui situa-se no intervalo encontrado para tilápia-do-nilo, que foi de 3,00cp à 9,00cp (ALFARO et al., 2013; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004; NIU et al., 2013b).

Quanto à força do gel, recomenda-se que a gelatina comercial tenha de 100g à 300g de BLOOM, sendo desejável que possua valores entre 250g e 260g (KARIM; BHAT, 2009). O valor encontrado para a gelatina da pele de tambaqui se encontra dentro do intervalo recomendado. Foi relatado na gelatina da pele da espécie *Johnius dussumieri* valor de 124,94g (KASANKALA et al., 2007), e na *Decapterus macrosoma* 176,92g (CHEOW et al., 2007). A força do gel é a mais importante propriedade física presente na gelatina. Ela é influenciada principalmente pela composição de aminoácidos na gelatina e estabilizada pelas pontes de hidrogênio que se forma entre as hidroxilas e a água presente na gelatina (KOLI et al., 2011). Observando-se a Tabela 4, constata-se que o teor de iminoácidos (prolina + hidroxiprolina) é de 21%, indicando boas propriedades viscoelásticas. Além da força do gel, o ponto de fusão também é influenciado pela composição dos aminoácidos, principalmente dos iminoácidos (BENJAKUL et al., 2010; HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004).

O ponto de fusão da gelatina da pele de tambaqui está muito próximo ao encontrado para gelatina da pele de peixe-gato, que foi de 23°C à 27°C (LIU; LI; GUO, 2008). Também foram relatados ponto de fusão de 24,0°C à 26,0°C na tilápia-do-nylo (BUENO et al., 2011). Esse parâmetro pode sofrer alterações, devido a muitos fatores, como a composição dos aminoácidos e o método de extração da gelatina (CHEOW et al., 2007; KASANKALA et al., 2007; LIU et al., 2012; NIU et al., 2013b). As gelatinas de peixes tropicais apresentam melhores propriedades físicas que peixes de águas frias, como uma maior quantidade de prolina e hidroxiprolina, com maior propensão em formar hélices mais compactas, que resulta em maiores temperaturas de fusão e melhores propriedades viscoelásticas (HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004). Como os teores de iminoácidos foram elevados (tabela 4), isso está de acordo com um elevado ponto de fusão da gelatina da pele de tambaqui.

3.3 COR INSTRUMENTAL

Os resultados da análise de cor instrumental podem ser visualizados na Tabela 3.

Tabela 3 - Medida de cor instrumental da gelatina

Cor (Hunter)	Valor
L* (Luminosidade)	74,01 ±3,27
a* (verde-vermelho)	-10,25 ±0,38
b* (azul-amarelo)	4,17 ±0,42
c* (croma)	11,06
h* (ângulo de tonalidade graus)	-22,14

c* = croma h* = ângulo de tonalidade

A cor instrumental depende da matéria-prima que é extraída e se é a primeira, segunda ou terceira extração. Em geral, a cor não influencia nas propriedades funcionais. A análise de cor resultou em valores de L* 20% menores e valores de b* 70% menores que as gelatinas da pele das espécies *Johnius dussumieri* e *Decapterus macrosoma*, em média. Valores de L* abaixo de 50 representam cores escuras enquanto que para valores acima de 50, indicam gelatinas de coloração clara. Os valores de a* e b* resultaram próximos de zero, demonstrando que esses eixos têm pouca influência na formação da cor da gelatina estudada. O valor de croma (c*) está ligado diretamente à concentração de cor, onde valores próximos de

zero significam coloração cinzenta. O ângulo de tonalidade (h^*) define tonalidade em si, e, no caso de ser negativo, apresenta uma tendência a coloração escura (CHEOW et al., 2007; HUNTERLAB INC., 2008, 2012). A combinação dos eixos L^* a^* b^* correspondeu de forma adequada à cor perceptível da gelatina da pele de tambaqui, esbranquiçada e levemente cinza.

3.4 PERFIL DE AMINOÁCIDOS

Os resultados para a determinação do perfil de aminoácidos totais presentes na pele de tambaqui e na gelatina estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Perfil de aminoácidos totais presentes na gelatina e na pele de tambaqui (g/100g de proteína)

Aminoácido		Pele*	Gelatina*
Aspartato	ASP	5,88 ±0,00	5,53 ±0,05
Glutamato ou ácido glutâmico	GLU	9,88 ±0,08	9,78 ±0,11
Hidroxiprolina	HPRO	8,99 ±0,03	9,32 ±0,01
Serina	SER	3,29 ±0,00	3,16 ±0,02
Glicina	GLY	21,20 ±0,03	22,13 ±0,11
Histidina	HYS	0,77 ±0,00	0,66 ±0,00
Taurina	TAU	0,00	0,00
Arginina	ARG	8,58 ±0,28	8,72 ±0,00
Treonina	THR	2,62 ±0,08	2,45 ±0,03
Alanina	ALA	9,29 ±0,07	9,65 ±0,02
Prolina	PRO	11,16 ±0,01	11,71 ±0,09
Tirosina	TYR	0,97 ±0,01	0,77 ±0,00
Valina	VAL	3,13 ±0,02	2,90 ±0,04
Metionina	MET	1,41 ±0,01	1,40 ±0,06
Cisteína	CYS	0,29 ±0,02	0,00
Isoleucina	ILE	1,77 ±0,03	1,71 ±0,02
Leucina	LEU	3,21 ±0,01	3,25 ±0,01
Felilalanina	PHE	2,83 ±0,03	2,74 ±0,00
Lisina	LIS	4,09 ±0,01	3,92 ±0,06
TOTAL		99,34	99,76
Iminoácidos totais	PRO + HPRO	20,15	21,03

*Média de 2 repetições

Pode-se observar na Tabela 4 que os aminoácidos presentes na pele e na gelatina são praticamente os mesmos, com exceção da cisteína. O método de extração pode não ter sido eficaz na extração de cisteína ou o método de detecção

não conseguiu fazer a sua quantificação na gelatina. Não foi realizada a quantificação do aminoácido triptofano devido à metodologia empregada.

Observando-se o perfil de aminoácidos, percebe-se que o método de extração da gelatina foi eficiente e as condições escolhidas para a extração se mostraram adequadas para a espécie estudada. Os aminoácidos predominantes esperados (KASANKALA et al., 2007). foram os que normalmente constituem o colágeno proveniente de pescados, como a glicina, a prolina e a hidroxiprolina

A prolina + hidroxiprolina são considerados iminoácidos, já que sua estrutura resulta da ligação terminal alfa-amina (NH_2) à cadeia variável alifática (ALFARO et al., 2013). O teor de iminoácidos é um fator determinante nas propriedades funcionais da gelatina, pois um elevado teor está associado à propriedades geleificantes superiores (KASANKALA et al., 2007). Também é relatado que a estabilidade do colágeno e da gelatina é proporcional ao teor de iminoácidos e glicina (BINSI et al., 2009; NELSON; COX, 2011), ambos presentes em elevadas quantidades na gelatina da pele de tambaqui. Gelatinas com elevado teor de iminoácidos resultam em alto ponto de fusão e elevado força do gel (HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004). Iminoácidos conferem considerável rigidez à estrutura do colágeno, enquanto que um teor limitado deles pode afetar a propriedades dinâmicas da gelatina (CHEOW et al., 2007; JOHNSTON-BANKS, 1990). Teores de iminoácidos foram relatados em gelatina da pele de outras espécies como os 19,5% encontrados na gelatina da pele de tilápia-do-nilo e carpa, 9,85% nas espécies *Johnius dussumieri* e *Decapterus macrosoma* e 15% na espécie *Priacanthus hamrur*. Os mesmos autores relatam que teores de iminoácidos acima de 15% são considerados elevados porque as propriedades viscoelásticas são superiores (ALFARO et al., 2013; BINSI et al., 2009; CHEOW et al., 2007; KASANKALA et al., 2007).

Foram obtidos também teores expressivos de arginina, alanina e glutamato. A arginina é precursora da prolina, logo, entende-se que a presença dela é um desmembramento da prolina e hidroxiprolina. A arginina pode ser utilizada como fonte de óxido nítrico para o organismo e é necessária para a síntese da creatina no organismo, importante fonte de energia para a contração muscular (UDENIGWE et al., 2012).

A alanina é precursora do glutamato e ambos fazem parte do metabolismo natural do peixe. Eles são metabolizados durante o ciclo de Krebs (ou ciclo do ácido tri-carboxílico) e podem estar presentes devido à composição natural da pele de tambaqui. Outra possibilidade é a formação desses aminoácidos durante o abate: o peixe para se debater precisa de energia e provoca a glicólise para produção do piruvato e oxaloacetato, ao mesmo tempo em que produz glutamato (NELSON; COX, 2011).

4 CONCLUSÕES

Apesar da pele de tambaqui apresentar elevado teor de lipídeos, isso não representou um empecilho para a extração de gelatina. Pode-se, inclusive, propor que futuros trabalhos estudem formas de aproveitamento desse teor elevado de lipídeos que a pele contém. O teor de cinzas na gelatina foi superior ao encontrado na pele. O pH e a acidez foram praticamente os mesmos na pele e na gelatina. A atividade de água de 0,436 é adequada para produtos desidratados por liofilização.

A avaliação da cor instrumental traduziu com fidelidade a cor real da gelatina. Trabalhos futuros podem estudar se existe correlação entre a cor e parâmetros físicos ou propriedades viscoelásticas da gelatina.

O rendimento do processo de extração foi elevado. Quanto à viscosidade, a gelatina de tambaqui está dentro da classificação de gelatina comercial, indicando pelo menos a utilização dela na indústria alimentícia. Para força do gel, a gelatina também obteve classificação para uso como gelatina comercial, assim como o ponto de fusão. Esses dois últimos parâmetros exibiram boas propriedades viscoelásticas devido à elevado teor de iminoácidos.

O perfil de aminoácidos totais foi praticamente o mesmo na pele e na gelatina extraída, com exceção da cisteína. Isso comprova que o processo de extração foi efetivo para essa espécie. Além desses, foram detectados na gelatina de tambaqui teores expressivos dos aminoácidos arginina, alanina e glutamato.

REFERÊNCIAS

AHMAD, M.; BENJAKUL, S. Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 381–388, maio 2011.

ALFARO, A. DA T. et al. Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food science and technology international**, 10 jun. 2013.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 108–117, jan. 2012.

ALMEIDA, N. M.; VISENTAINER, J. V.; FRANCO, M. R. B. Composition of total , neutral and phospholipids in wild and farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*) in the Brazilian Amazon area. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 1747, n. December 2007, p. 1739–1747, 2008.

AOAC. Official methods of analysis. 16^a ed., 3^a rev. **Association of Analytical Communities. Washington, DC. AOAC International**, 1997.

BENJAKUL, S. et al. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*). **Journal of the science of food and agriculture**, v. 90, n. 1, p. 132–8, 15 jan. 2010.

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, n. 1, p. 132–145, jan. 2009.

BLIGH, E. G.; DYER, W. G. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can.J.Biochem.Physiol**, v. 37, p. 911–917, 1956.

BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Optimization of gelatin extraction from silver carp skin. **Journal of food science**, v. 74, n. 8, p. E432–41, out. 2009.

BORDIGNON, A. C. et al. Aproveitamento de peles de tilápia-do-nilo congeladas e salgadas para extração de gelatina em processo batelada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p. 473–478, 2012.

BSI. British Standard Institution. **Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods)**. London, 1975.

BUENO, C. M. et al. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal Of Food Technology**, v. 14, n. 01, p. 65–73, 17 mar. 2011.

CARTONILHO, M. M.; JESUS, R. S. Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 4, p. 344–350, 2011.

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, n. 1, p. 386–391, jan. 2007.

CHO, S. . et al. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 573–579, jul. 2004.

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, n. 2, p. 221–229, mar. 2005.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and Sensory Characteristics of Fish Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 194–199, 2000.

DAMODARAN, I. S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Fennema's food chemistry. (pp. 923–973). London: CRC Press. Wang,, 2007.

FAO, Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura. **FishStatJ - software for fishery statistical time series**. p. 321–343, 2014.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (*Ugni molinae* Turcz). **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1133–1143, out. 2007.

HAUG, I. J.; DRAGET, K. I.; SMIDSRØD, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 203–213, mar. 2004.

HUNTERLAB INC. **Applications Note: CIE L * a * b * Color Scale**. v. 8, n. 7, p. 1–4, 2008.

HUNTERLAB INC. **Measuring Color using Hunter L, a, b versus CIE 1976 L*a*b***. p. 1–4, 2012.

JOHNSTON-BANKS, F. A. **Gelatin**. In: HARRIS, P. (Ed.). **Food gels**. New York, NY: Elsevier Science Publishing Co., p. 233–289, 1990.

KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 563–576, maio 2009.

KASANKALA, L. M. et al. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. **Bioresource technology**, v. 98, n. 17, p. 3338–43, dez. 2007.

KOLI, J. M. et al. Improvement of gel strength and melting point of fish gelatin by addition of coenhancers using response surface methodology. **Journal of food science**, v. 76, n. 6, p. E503–9, ago. 2011.

KOZLOV, P. V.; BURDYGINA, G. I. polymer reviews. **POLYMER**, v. 24, p. 651–666, 1983.

LIU, H.; LI, D.; GUO, S. Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 8, p. 1425–1430, nov. 2008.

LIU, Z. et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 311–317, jan. 2012.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Extracting Conditions for Megrim (*Lepidorhombus boscii*) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 434–438, abr. 2000.

MUYONGA, J. .; COLE, C. G. .; DUODU, K. . Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 581–592, jul. 2004.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger's Principles of Biochemistry**. W. H. Freeman and Company, 5th Edition, 2011.

NIU, L. et al. Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 336–341, dez. 2013a.

NIU, L. et al. Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 336–341, dez. 2013b.

SAI-UT, S.; JONGJAREONRAK, A.; RAWDKUEN, S. Re-extraction, Recovery, and Characteristics of Skin Gelatin from Farmed Giant Catfish. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 4, p. 1197–1205, 23 jul. 2010.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine handbook: Theory and Industrial Practice**. Weinheim, 1st edition. Wiley-VCH GmbH & Co, 2007.

SHYNI, K. et al. Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 68–76, ago. 2014.

SONGCHOTIKUNPAN, P.; TATTIYAKUL, J.; SUPAPHOL, P. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, n. 3, p. 247–255, 1 abr. 2008.

SOUZA, A. F. L. DE; INHAMUNS, A. J. Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 2, p. 289–296, 2011.

TABARESTANI, H. S. et al. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **Bioresource technology**, v. 101, n. 15, p. 6207–14, ago. 2010.

UDENIGWE, C. C. et al. Low molecular weight flaxseed protein-derived arginine-containing peptides reduced blood pressure of spontaneously hypertensive rats faster than amino acid form of arginine and native flaxseed protein. **Food Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 468–475, maio 2012.

WANG, S.; AGYARE, K.; DAMODARAN, S. Optimisation of hydrolysis conditions and fractionation of peptide cryoprotectants from gelatin hydrolysate. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 620–630, jul. 2009.

WHITE, J. A; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of automatic chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170–7, jan. 1986.