



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA

CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

LUCAS GOMES DA SILVA CATUNDA

**OTIMIZAÇÃO DA OBTENÇÃO DE GELATINA A PARTIR DA PELE RESIDUAL
DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

FORTALEZA

2015

LUCAS GOMES DA SILVA CATUNDA

OTIMIZAÇÃO DA OBTENÇÃO DE GELATINA A PARTIR DA PELE RESIDUAL DE
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Analítica e Físico-química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química com Habilitação Industrial.

Orientador Pedagógico: Prof^a. Dr^a. Maria Mozarina Beserra Almeida

Orientador Vocacional: Prof. Dr^o Men de Sá Moreira de Souza Filho.

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- C361o Catunda, Lucas Gomes da Silva.
 Otimização da obtenção de gelatina a partir da pele residual de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) / Lucas Gomes da Silva Catunda. – 2015.
 49 f. : il. color.
- Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Bacharelado em Química, Fortaleza, 2015.
 Orientação: Profa. Dra. Maria Mozarina Beserra Almeida.
 Coorientação: Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho.
1. Tilápia do Nilo. 2. Gelatina. 3. Colágeno. I. Título.

CDD 540

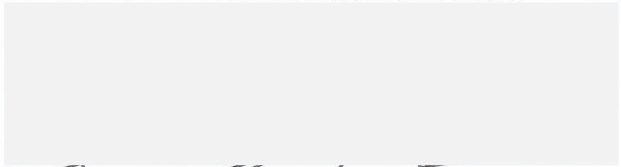
LUCAS GOMES DA SILVA CATUNDA

OTIMIZAÇÃO DA OBTENÇÃO DE GELATINA A PARTIR DA PELE RESIDUAL DE
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

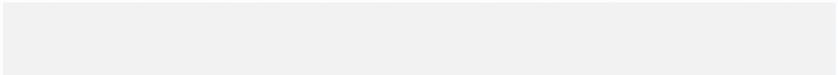
Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Analítica e Físico-química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Química com Habilitação Industrial.

Aprovada em: 29/06/2015.

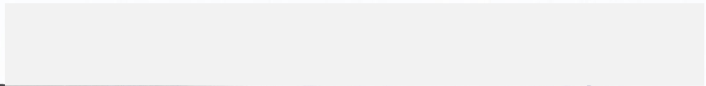
BANCA EXAMINADORA




Prof. Dr. Men de Sá Moreira de Souza Filho
Embrapa Agroindústria Tropical



Profª. Drª. Maria Mozarina Beserra Almeida
Universidade Federal do Ceará (UFC)



Msc. Yana Luck Nunes
Embrapa Agroindústria Tropical



Msc. Ana Ribeiro Cassales
Embrapa Agroindústria Tropical

À minha mãe, Francisca, que se dedica com muito esforço e amor para cuidar de seus três filhos.

Ao meu falecido pai, Francisco Lauro.

Aos meus irmãos, Saulo e Sara.

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, principalmente à minha mãe, por me compreenderem e me ajudarem mesmo eu estando distante do convívio do lar.

Agradeço à Prof^a Dr^a Maria Mozarina Beserra Almeida por aceitar o convite de me orientar neste importante trabalho.

À empresa Valpex pelo fornecimento das peles de tilápia.

À Embrapa Agroindústria Tropical pela oportunidade e pela infraestrutura fornecida para o desenvolvimento deste trabalho.

À todos aqueles presentes na empresa em que tive a oportunidade de conhecê-los, onde contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste projeto e, principalmente, para meu desenvolvimento profissional.

Agradeço, imensamente ao Prof^o Dr^o Men de sá pela oportunidade de trabalho dado a mim, aos meus amigos Victor Cunha e Grazielly Lima, ajudando, na medida do possível, nos empecilhos surgidos durante o trabalho. Seu carisma faz com que seja prazeroso trabalhar ao seu lado.

Agradeço veementemente a doutoranda e minha co-orientadora Yana Luck pela grande ajuda dada a mim no desenvolvimento deste projeto, tirando minhas dúvidas sempre que possível, mesmo que estando distante fisicamente, de forma tão rápida, e me ajudando nos experimentos sempre que podia. Agradeço pelos seus conselhos e pela sua orientação no desenvolvimento desta monografia. Além de grande profissional é uma excelente pessoa.

Agradeço também ao mestrando Hálisson Lucas por estar presente, ajudando-me no desenvolvimento deste trabalho, abrindo mão, as vezes, de seus afazeres para ajudar os meus, sendo um grande profissional e, também, uma excelente pessoa.

Aos meus amigos que estão ou foram PET, ou melhor, minha segunda família, a quem sempre tive prazer em estar por perto, onde me ajudaram a se tornar o que sou hoje.

Aos meus amigos Victor Cunha e Grazielly Lima por não só me ajudarem no desenvolvimento deste trabalho, como também estarem presentes em minha vida desde 2012. Que essa amizade prevaleça nos próximos anos.

Aos meus colegas da turma de Química Bacharelado 2012.1 que até hoje mantenho contato.

RESUMO

A produção de pescado está crescendo mundialmente, onde sua taxa de crescimento é maior em relação ao populacional. A tilápia do Nilo é o pescado mais produzido no mundo e no Brasil, sendo mais utilizado para o consumo alimentício, na produção de filés. Durante o processamento deste produto, resíduos tais como peles, cabeça e ossos são gerados, porém possuem grande potencial para produção de diversos materiais. A pele, por possuir um grande teor de colágeno, é o mais indicado para a produção da gelatina. O colágeno é a principal classe de proteínas existente em animais e humanos, onde dele, a partir da hidrólise térmica, é produzida a gelatina. Pré-tratamentos, ácidos e básicos, são realizados, a fim de produzir um material mais puro. As propriedades mais importantes da gelatina são a força de gel, a umidade, o teor de cinzas e a viscosidade. Tais propriedades sofrem influência do tipo de tratamento empregado. No intuito de obter a gelatina de forma mais eficiente e eficaz, efetuou-se o planejamento experimental fracionado para otimizar o processo de obtenção do material em questão a partir da pele residual de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), observando quais os fatores que influenciam essa extração. Nesse planejamento, variou-se a concentração e o tempo de reação do HCl, NaOH e CH₃COOH, bem como o tempo de extração, a temperatura de extração e a utilização da resina catiônica; avaliando como resposta força de gel, rendimento e teor de cinzas. A melhor amostra foi escolhida com base na maior força de gel, no melhor rendimento, no menor teor de cinzas e no menor tempo total de extração. Analisou-se a melhor amostra termicamente, por TGA e DSC, e em termos de atividade de água, sendo também caracterizada por FTIR. De todas as variáveis estudadas no delineamento, apenas a concentração de ácido acético e seu tempo de pré-tratamento foram estatisticamente significativos para o teor de cinzas, apresentando efeito positivo. A melhor gelatina foi obtida nas seguintes condições: sem pré-tratamento com HCl, 30 minutos de pré-tratamento com NaOH 0,1 M, 30 minutos de pré-tratamento com Ácido Acético 0,1 M, 1 hora de extração a 45°C e sem necessidade de utilizar resina, apresentando essa gelatina uma força de gel de 705,898 de Bloom, 9,84% de umidade e 1,741% de teor de cinzas. Pela análise de TGA, a gelatina apresentou estabilidade até 266,71°C, sofrendo degradação em seguida e possuindo 2,375% de cinzas. Os resultados de FTIR e DSC foram comparados com os da literatura e se mostraram em concordância com as características esperadas. A *A_w* foi de $0,3388 \pm 0,0087$ a $26,34 \pm 0,36$ °C. Portanto, foi possível determinar as melhores condições das variáveis estudadas e suas significâncias no planejamento experimental fracionado para a

obtenção da gelatina. A melhor gelatina obtida apresentou boa estabilidade térmica, alta pureza e baixo teor de umidade e de cinzas, podendo ser aplicado para obtenção de bioblendas poliméricas utilizando amido de milho.

Palavras-chave: Gelatina. Força de gel. Planejamento experimental.

ABSTRACT

Fish production is growing worldwide, and its growth rate is bigger than the population growth rate. The Nile tilapia is the most produced fish species in the world and in Brazil. It is mostly used to food consumption, in the form of fillets. Residues such as skin, head and bones are produced during the processing of fillets, but they have great potential for the production of many materials. The skin is the most suitable for the production of gelatin because it has a large collagen content. Collagen is the major class of proteins existing in both, animals and humans, and has the capacity to produce gelatin by thermal hydrolysis. Acid and base pre-treatments are used to produce a better and purer material. The most important properties of gelatin are gel strength, moisture, ash content and viscosity, and the type of pre-treatment influences these properties. To optimize the obtaining process of gelatin from the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) residual skin was used the fractional factorial design. The concentration and reaction time of HCl, NaOH and CH₃COOH was varied, such as the extraction time and temperature, and the use of resin, to evaluate response factors as gel strength, yield and ash content. The best sample was chosen based on the highest gel strength, better yield, lower ash content and lower total extraction time. The best sample was analyzed by DSC, TGA, FTIR and water activity. Of all the dependent variables, only the concentration of acetic acid and its pre-treatment time were statistically significant for the ash content, having a positive effect. The best gelatin was obtained using the following extraction conditions: without pre-treatment with HCl, 30 minutes of pre-treatment with 0.1 M NaOH, 30 minutes of pre-treatment with Acetic Acid 0.1 M, 1 hour of extraction at 45 ° C and no use of resin. This gelatin showed a gel strength of 705.898 Bloom, 9.84% of moisture and 1.741% of ash content. By TGA analysis, the gelatin was stable up 266,71°C, suffering degradation after that, and having 2.375% of ash content. The DSC and FTIR results were compared with the literature, showing agreement with the expected results. The Aw value was 0.3388 ± 0.0087 at 26.34 ± 0.36 °C. Therefore, it was possible to determine the best conditions of the variables and their significance in fractional experimental design to obtain the gelatin. The best gelatin obtained showed good properties such as high thermal stability, high purity and low moisture content and can be applied to obtain polymeric bioblends using corn starch.

Keywords: Gelatin. Gel strength. Experimental design.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	20
Figura 2 - Descarte de resíduos de tilápia	21
Figura 3 - Esquema simplificado dos principais produtos, subprodutos e resíduos gerados durante o processamento do pescado	22
Figura 4 - Estrutura fibrosa de colágeno. À esquerda, colágeno do tendão do rabo de rato. À direita, colágeno do rabo de canguru	24
Figura 5 - Da estrutura primária à quaternária dos colágenos. Passos de formação do colágeno	25
Figura 6 - Dois diferentes instrumentos para medida do Bloom	27
Figura 7 - Fluxograma de limpeza, armazenamento e preparo das amostras de pele de tilápia	31
Figura 8 - Fluxograma de obtenção de gelatina a partir da pele residual de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	35
Figura 9 - Ilustração do texturômetro TA.XT2	37
Figura 10 - Análise termogravimétrica (TGA) e sua derivada (DTG) da gelatina de pele de tilápia.....	42
Figura 11 - Espectros de FTIR da amostra 1 de gelatina e da gelatina de resíduo de CMS de tilápia.....	43
Figura 12 - Curva de DSC da gelatina de pele de tilápia	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Produção mundial de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	18
Gráfico 2 - Produção, em toneladas, de Pescado no Brasil em 2011	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção e utilização mundial de pescado a partir da pesca extrativa e da aquicultura em milhões de toneladas	16
Tabela 2 - Percentual dos diferentes tipos de resíduos em relação ao pescado inteiro e em relação a tilápia	22
Tabela 3 - Valores médios da composição centesimal da pele in natura da tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	23
Tabela 4 - Planejamento experimental fracionado 2^{8-4}_{IV} com três pontos centrais	32
Tabela 5 - Atribuições dadas para cada ponto em cada variável do planejamento experimental fracionado	33
Tabela 6 - Valores médios das caracterizações da gelatina e o tempo total de extração até a obtenção da gelatina concentrada e tratada com resina	39
Tabela 7 – Efeitos das variáveis e os valores de p para cada fator de resposta, aplicando intervalo de confiança de 95% e $\alpha=0,05$	41
Tabela 8 - Principais bandas observadas nas gelatinas analisadas no FTIR	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Pescado no Mundo.....	16
2.1.1	<i>Produção de Tilápia do Nilo no Mundo (Oreochromis niloticus).....</i>	<i>17</i>
2.2	Produção de Pescado no Brasil	18
2.3	Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus)	20
2.4	Resíduo de Produção da Tilápia	21
2.4.1	<i>Composição da Pele de Tilápia do Nilo</i>	<i>23</i>
2.5	Colágeno.....	24
2.5.1	<i>Composição Química e Estrutura Molecular do Colágeno.....</i>	<i>24</i>
2.6	Gelatina.....	25
2.6.1	<i>Pré-tratamento Ácido para Gelatina Tipo A</i>	<i>26</i>
2.6.2	<i>Pré-tratamento Básico para Gelatina Tipo B.....</i>	<i>26</i>
2.7	Propriedades da Gelatina	27
2.7.1	<i>Formação de Gel, Viscosidade e Textura</i>	<i>27</i>
2.7.2	<i>Força de Gel / Bloom.....</i>	<i>27</i>
2.7.3	<i>Umidade x Atividade de Água (Aw)</i>	<i>28</i>
2.8	Das Aplicações da Gelatina	28
3	OBJETIVOS	30
3.1	Objetivo Geral	30
3.2	Objetivos Específicos	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
4.1	Limpeza, Armazenamento e Preparo das Amostras de Pele de Tilápia	31
4.2	Planejamento Fatorial Fracionado da Obtenção da Gelatina.....	32
4.3	Pré-tratamento da Pele de Tilápia	33
4.3.1	<i>Pré-tratamento ácido com ácido clorídrico (HCl).....</i>	<i>33</i>

4.3.2	<i>Pré-tratamento básico com hidróxido de sódio (NaOH)</i>	34
4.3.3	<i>Pré-tratamento ácido com ácido acético (CH₃COOH)</i>	34
4.4	Extração de gelatina da pele de Tilápia	34
4.5	Rendimento da Extração	35
4.6	Umidade	36
4.7	Teor de Cinzas	36
4.8	Força de Gel	36
4.9	Análise Termogravimétrica (TGA) e Análise Termogravimétrica Diferencial (DTG) ..	37
4.10	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	37
4.11	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) ..	38
4.12	Atividade de água (Aw)	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	Rendimento, Teor de Cinzas, Força de Gel e Umidade das amostras em análise	39
5.2	Design experimental	41
5.3	Análise Termogravimétrica (TGA) e Análise Termogravimétrica Diferencial (DTG) ..	42
5.4	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) ..	43
5.5	Atividade de água (Aw)	44
5.6	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	45
6	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

A produção global de pescado tem crescido gradualmente nos últimos 50 anos, com a taxa de crescimento anual de produção de pescado para consumo de 3,2% (FAO, 2014). O Brasil, segundo dados de 2010, está na 19ª colocação na produção total de pescados no mundo, representando apenas 0,75%. A China lidera o ranking, ocupando 37,69% da produção de pescado, enquanto que a Indonésia é o 2º colocado, ocupando 6,92% (MINISTÉRIO DE PESCA E AGRICULTURA, 2011).

O Brasil possui um grande potencial para o crescimento da aquicultura e da pesca extrativa marinha, devido a sua vasta costa litorânea de 8,4 mil quilômetros, aos seus 5,5 milhões de hectares de reservatórios e ao seu clima favorável. O País conta com três mil espécies de peixes, porém as mais cultivadas são as exóticas, como tilápia, carpas e bagres americanos (ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL, 2014).

Na produção aquícola continental, a tilápia (*Oreochromis niloticus*), em 2011, foi a espécie mais cultivada, sendo produzidas 253,8 mil toneladas. As regiões sul e nordeste são as maiores produtoras, representando 41 e 31% da produção do pescado de tilápia, respectivamente (MINISTÉRIO DE PESCA E AGRICULTURA, 2011).

Para o consumo, obtém-se o filé da tilápia que representa 35% do peixe. Os outros 65% representam os resíduos gerados no processo de filetagem (BOSCOLO e FEIDEN, 2007). Tais resíduos possuem um grande potencial para produção de materiais que podem concorrer com produtos gerados por outros insumos.

A pele é um dos resíduos produzidos durante o processo de filetagem, representando 4,5 a 10% do pescado (BOSCOLO e FEIDEN, 2007). Ela possui um grande potencial para a produção de gelatina, já que é rica em colágeno, componente principal para a sua extração.

O colágeno possui em sua estrutura uma cadeia polipeptídica de 1024 aminoácidos. Possui três cadeias de polipeptídeos de cadeia- α , com rotação no sentido horário que formam uma tripla-hélice. A cadeia polipeptídica contém grandes quantidades de glicina, prolina, hidroxiprolina e baixo teor de aminoácidos aromáticos (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

A gelatina é obtida a partir da hidrólise do colágeno, podendo ser obtida de duas formas: pré-tratamento ácido, ou pré-tratamento básico, ou tipo A e tipo B, respectivamente.

Tais tratamentos vão modificando a estrutura do colágeno, que, em seguida, é submetido a elevadas temperaturas para desnaturar as proteínas. Com isso, vão havendo pequenas quebras e as triplas hélices são separadas. Diferentes massas moleculares são obtidas ao variar o tipo de preparação e o tipo de matéria-prima (BORDIGNON, 2010).

A gelatina tem sido empregada nas indústrias farmacêuticas para produção de cápsulas e utilizada na indústria alimentícia para produção de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis. Tais filmes podem substituir filmes plásticos derivados do petróleo (DE CARVALHO; GROSSO, 2006; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2009). Essas e outras aplicações são encontradas, utilizando a gelatina como matéria principal.

Durante a produção de algum material, para o maior aproveitamento na produção, é preciso otimizar o processo. Diferentes tipos de tratamentos realizados no material rico em colágeno acarretam diferentes propriedades na gelatina obtida. Força de gel, rendimento e teor de cinzas podem ser modificados de acordo com mudanças realizadas na produção. Métodos estatísticos são capazes de descrever as melhores condições para obtenção do produto final, bem como determinar quais condições realmente são significantes para a síntese do material.

O trabalho teve como objetivo avaliar as propriedades da gelatina derivada da pele de tilápia do Nilo, dadas as modificações nas variáveis da produção, avaliando a significância destas para a extração da gelatina e determinar quais são as melhores condições para produção dela. E, ainda, caracterizar a amostra que apresentou as melhores propriedades.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pescado no Mundo

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2014), a produção global de pescado vem crescendo consideravelmente nos últimos 50 anos. A taxa de crescimento de produção mundial de pescado para consumo, que é de 3,2%, está superando o crescimento populacional, que é de 1,6%. O consumo *per capita* de pescado em 1960 era de 9,9 quilos. Em 2012, o consumo *per capita* passou para 19,2 quilos. Esse desenvolvimento se deve a tecnologia empregada na produção do pescado, a canais mais eficientes de distribuição e ao crescimento da urbanização e da renda.

A produção total de pescado, em 2012, levando em consideração tanto a pesca extrativa quanto a aquicultura, foi de 158,0 milhões de toneladas. Em 2010, essa produção foi de 148,1 milhões de toneladas. Ou seja, houve um crescimento de 7% na produção mundial em relação à produção em 2010, conforme indica a Tabela 1 (FAO, 2014).

Tabela 1 - Produção e utilização mundial de pescado a partir da pesca extrativa e da aquicultura em milhões de toneladas

Produção	Milhões de toneladas					
	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Pesca Extrativa						
Continental	10,1	10,3	10,5	11,3	11,1	11,6
Marinha	80,7	79,9	79,6	77,8	82,6	79,7
Total	90,8	90,1	90,1	89,1	93,7	91,3
Aquicultura						
Continental	29,9	32,4	34,3	36,8	38,7	41,9
Marinha	20,0	20,5	21,4	22,3	23,3	24,7
Total	49,9	52,9	55,7	59,0	62,0	66,6
Pescado Total	140,7	143,1	145,8	148,1	155,7	158,0
Utilização						
Consumo Humano	117,3	120,9	123,7	128,2	131,2	136,2
Uso não-alimentício	23,4	22,2	22,1	19,9	24,5	21,7
População (bilhões)	6,7	6,8	6,8	6,9	7,0	7,1
Consumo <i>per capita</i>	17,6	17,9	18,1	18,5	18,7	19,2

Fonte: FAO (2014).

Percebe-se, pela tabela 1, que a tendência é de que a produção de pescado a partir da aquicultura ultrapasse a pesca extrativa nos próximos anos.

Em 2010, a produção total de pescado na aquicultura foi de 59,0 milhões de toneladas; enquanto que, na pesca extrativa, a produção foi de 89,1 milhões de toneladas. O maior produtor foi a China com produção de pescado de 63,5 milhões de toneladas ou 37,69% da produção mundial. O Brasil contribuiu apenas com 0,75%, ou seja, 1.264.765 toneladas, ocupando a 19ª posição.

2.1.1 Produção de Tilápia do Nilo no Mundo (*Oreochromis niloticus*)

A criação de tilápias, incluindo a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e outras espécies ciclídeos, é a maior criação de aquicultura do mundo. As tilápias se encontram em mais de 135 países e em diferentes mercados (FAO, 2014) e maior parte da produção vem da aquicultura. A China domina o mercado em termos de exportação e de produção da tilápia, enquanto que Brasil é um dos sete maiores produtores de tilápia do mundo, produzindo 256 mil toneladas do pescado em 2011. (MINISTÉRIO DE PESCA E AGRICULTURA, 2011; ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL, 2014). Em 2003, a produção na China foi de 806.000 toneladas. No Egito, a produção de tilápia do Nilo, naquele ano, foi de 200.000 toneladas. Filipinas, Tailândia e Indonésia produziram 111.000, 97.000 e 72.000 toneladas, respectivamente. Em 2013, foram produzidos 3.436.526,0 toneladas de tilápia do Nilo, apresentando um crescimento exponencial de 1980 até 2013, conforme indica o Gráfico 1 (FAO, 2005).

Existem 77 espécies de tilápia catalogadas e distribuídas em três gêneros: *Tilápia*, *Oreochromis* e *Sarotherodon*. Das espécies citadas, quatro se destacam no mundo: tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), tilápia áurea (*Oreochromis aureus*) e a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*). (OLIVEIRA, SANTOS, *et al.*, 2007).

Gráfico 1 - Produção mundial de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Fonte: FAO (2005).

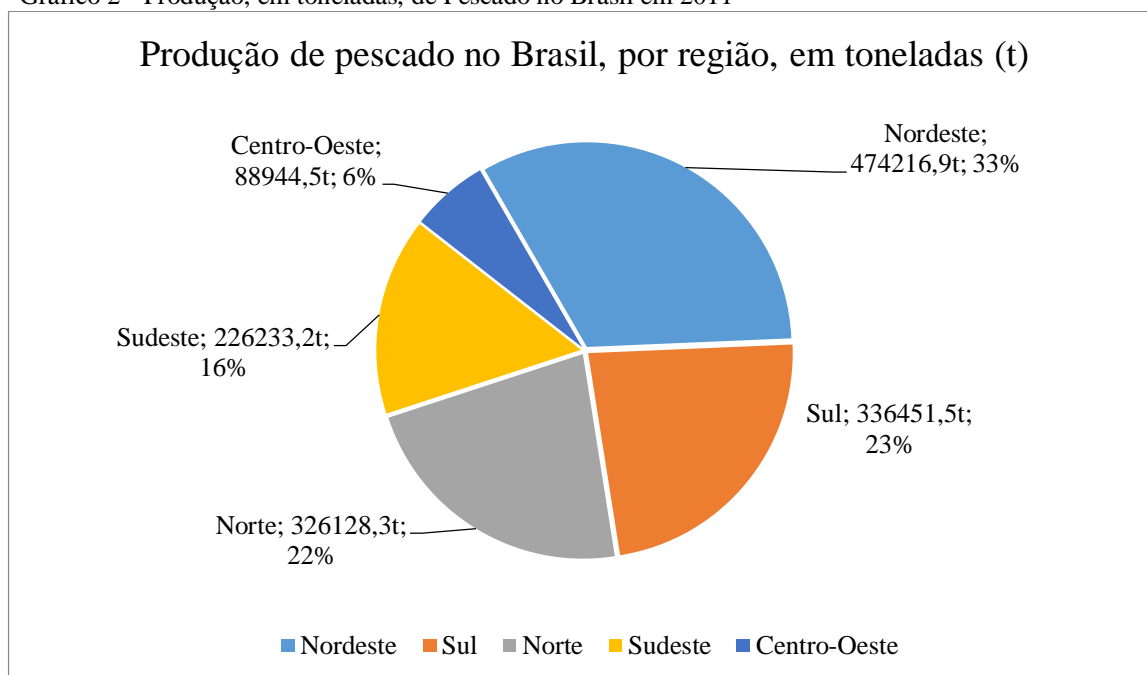
A cultura de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é atribuída a tempos do antigo Egito, remontando há mais de 4000 anos. Sua distribuição ocorreu de forma mais desejável entre a década de 60 até 80 no mundo todo. De acordo com a FAO (2005), ela é a espécie mais produzida em todo o mundo.

2.2 Produção de Pescado no Brasil

De acordo com o Boletim Estatístico de Pesca e Agricultura (2011), a produção nacional de pescado no Brasil em 2011 foi de 1.431.974 toneladas. A pesca extrativa marinha em tal ano continuou sendo a principal fonte de pescado nacional, sendo responsável por 38,7% do total de pescado. Em seguida, a aquicultura continental representou 38,0% da produção nacional. A pesca extrativa continental representou 17,4% da produção nacional, enquanto que a aquicultura marinha representou aproximadamente 6%.

A região nordeste, em 2011, foi a maior produtora de pescado no Brasil, produzindo 474.216,9 toneladas (33%) de pescado. As regiões Sul, Norte, Sudeste e Centro-Oeste produziram 336.451,5 t (23%), 326.128,3 t (22%), 226.233,2 t (16%) e 88.944,5 t (6%), respectivamente, conforme ilustrado no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Produção, em toneladas, de Pescado no Brasil em 2011



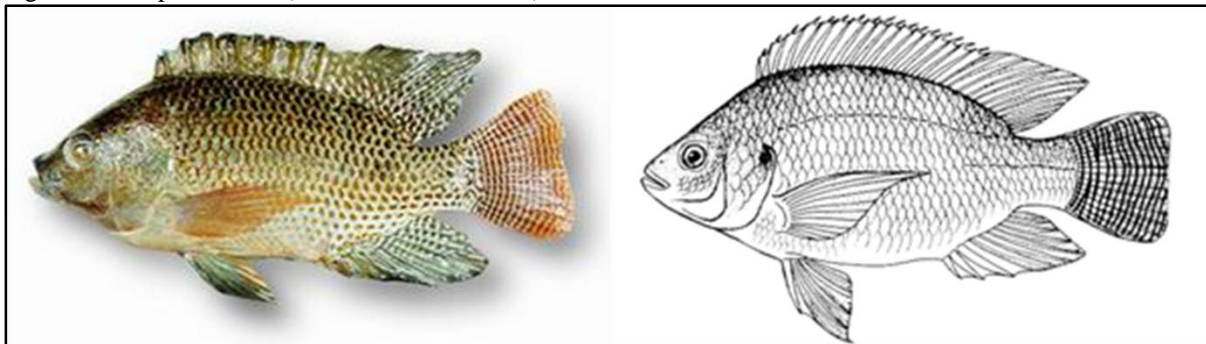
Fonte: MINISTÉRIO DE PESCA E AGRICULTURA (2011).

Analisando os estados brasileiros, o maior produtor de pescado no Brasil, em 2011, foi Santa Catarina, produzindo 194.866,6 toneladas (13,6%) do total produzido no país. Pará foi o segundo maior produtor, com 153.332,3 toneladas (10,7%) e Maranhão foi o terceiro, produzindo 102.868,2 toneladas (7,2%). Ceará foi o 5^a maior produtor de pescado no país naquele ano, produzindo 98.256,8 toneladas (6,9%) (MINISTÉRIO DE PESCA E AGRICULTURA, 2011).

A atividade pesqueira brasileira gera um produto interno bruto (PIB) nacional de R\$ 5,0 bilhões, mobilizando 800 mil profissionais e proporcionando 3,5 milhões de empregos. O Brasil apresenta privilégios para o desenvolvimento da pesca extrativista marinha e da aquicultura, com uma costa litorânea de 8,4 mil quilômetros, 5,5 milhões de hectares de reservatório de água doce, muitas terras disponíveis e climas extremamente favoráveis. Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) (2014), prevê-se que o Brasil se torne o maior produtor de pescado no mundo em 2030. Não obstante, para isso ocorrer, a produção deve ser estimulada por meio das pesquisas tecnológicas. (ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL, 2014)

2.3 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Figura 1 - Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)



Fonte: FAO (2005).

A tilápia do Nilo, mostrada na Figura 1, é a espécie mais cultivada em todo o Brasil (MINISTÉRIO DE PESCA E AGRICULTURA, 2011), sendo proveniente da família Chichlidae. Ela pode chegar a até 5 quilos e sobreviver por 10 anos, tolerando grandes variações de temperatura, que vão de 11-12°C até 42°C, porém a temperatura ideal de criação vai de 31 a 36°C. Seu período de maturidade sexual é de 5 a 6 meses e ela não necessita de muito oxigênio, conseguindo habitar em águas salobras e suportando até 18% de sal. É classificada como um ser onívoro, pois se alimenta de fitoplânctons, plantas aquáticas, pequenos invertebrados, fauna bentônica, detritos e filmes bacteriológicos associados a detritos (FAO, 2005).

Por essas características, a tilápia do Nilo facilmente se adaptou ao Brasil. Devido à alta reprodução, o preço final do produto é reduzido. O sabor leve e as diferentes possibilidades de processamento favoreceram a aceitação desta espécie de origem africana no país (ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL, 2014).

A produção de tilápia representa quase metade do total produzido pela aquicultura brasileira. (ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL, 2014). A tilápia é predominantemente gerada pela aquicultura continental, onde, do total de 544.490,0 toneladas produzidas de pescado nesta modalidade, 253.824,1 toneladas foram apenas de tilápia (46,62%). Já na pesca extrativa continental, em 2011, foram produzidas 9681,6 toneladas de 249.600,2 toneladas de pescado nesta modalidade (3,88%) (MINISTÉRIO DE PESCA E AGRICULTURA, 2011).

2.4 Resíduo de Produção da Tilápia

O filé de pescado é a peça *in natura* mais consumida do peixe. Diante disso, torna-se crucial obter um bom rendimento na filetagem. Para realizá-la, a operação pode ser manual ou mecânica. Na operação automática, a filetadora sofre ajuste antes de iniciar o processo, gerando aumento de rendimento e superfícies de filé mais limpas. Na filetagem manual, os funcionários realizam a filetagem através de um corte superficial ao longo do dorso, contornando a espinha dorsal, retirando, assim a carne em apenas um pedaço. Em seguida, o couro é retirado do filé com o auxílio de uma máquina adequada (BOSCOLO e FEIDEN, 2007).

A regulagem da máquina ou a eficiência manual do operário são fatores que determinam o rendimento do filé. A filetagem também depende do tamanho do pescado, bem como da quantidade das vísceras, pele e nadadeira. A tilápia apresenta cerca de 32% de rendimento do filé e 66% de resíduos na industrialização. Tais resíduos, se não aproveitados, podem trazer sérios problemas ambientais, tornando-se fontes poluidoras dos recursos naturais, poluindo rios, solos e ar (BOSCOLO e FEIDEN, 2007). A Figura 2 exemplifica a forma em que esse resíduo é descartado na natureza.

Figura 2 - Descarte de resíduos de tilápia



Fonte: BOSCOLO e FEIDEN (2007).

Os principais resíduos produzidos durante a filetagem são: cabeça, escama, pele, vísceras e carcaça (esqueleto com carne aderida). O percentual de cada resíduo produzido vai depender da espécie de peixe processada e do produto final obtido pelo frigorífico (KUBITZA e CAMPOS, 2006). A Tabela 2 mostra o percentual dos diferentes tipos de resíduos obtidos a partir da filetagem.

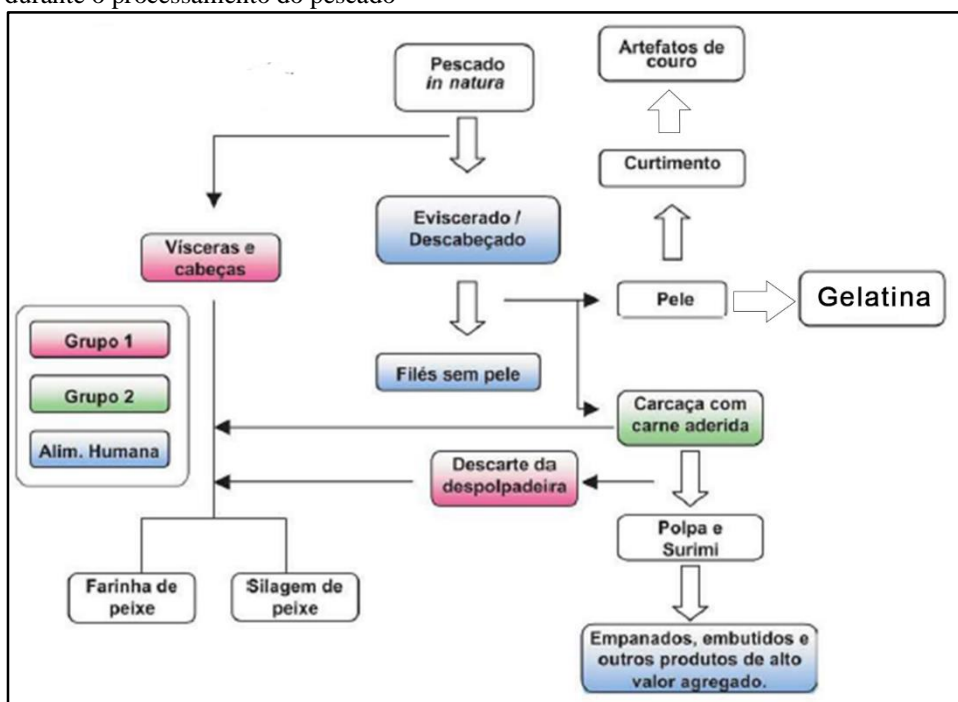
Tabela 2 - Percentual dos diferentes tipos de resíduos em relação ao pescado inteiro e em relação a tilápia

Resíduo	Em Geral (%)	Tilápia (%)
Vísceras	8 – 16%	8 – 12%
Pele limpa	2 – 6 %	3 – 4%
Escamas	2 – 4%	2 – 3%
Cabeça	12 – 25%	14 – 18%
Esqueleto com carne aderida (carcaça)	30 – 35%	28 – 30%

Fonte: KUBITZA e CAMPOS (2006).

Os resíduos de tilápia são extremamente ricos em proteína, podendo servir de ração animal, pasta de tilápia (surimi), embutidos e linguiça (BOSCOLO e FEIDEN, 2007).

Figura 3 - Esquema simplificado dos principais produtos, subprodutos e resíduos gerados durante o processamento do pescado



Fonte: KUBITZA e CAMPOS (2006).

No grupo 1 da Figura 3, tais resíduos não são adequados para produção de produtos destinados a alimentação do homem. Em geral, são utilizados para produção de farinhas e silagens de peixe, destinadas a alimentação animal ou utilização de fertilizantes. Já no grupo 2, os resíduos podem ser submetidos a processos para produção de alimentos destinados ao homem, como empanados, embutidos, linguiças, patês, dentre outros. A partir da pele, poderá ser produzido a gelatina ou realizado o curtimento do couro para produção de bolsas, sapatos, carteiras, dentre outros. A gelatina, para possuir maior valor agregado, é

submetida a processos para transformá-la em materiais com maiores aplicações tecnológicas, tais como filmes biodegradáveis que podem substituir aqueles derivados do petróleo e misturas de gelatina com compostos antimicrobianos ou antioxidantes (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2009).

2.4.1 Composição da Pele de Tilápia do Nilo

A pele é composta por duas camadas: a epiderme e a derme. Abaixo delas e sobre o tecido muscular, encontra-se a hipoderme ou tecido subcutâneo. A derme é a camada principal onde se encontra os feixes de colágenos, presentes de forma paralela à superfície da pele e em muitas espécies de peixes, dispostos por grossos feixes de fibras colagenosas perpendiculares à superfície da pele (BOSCOLO e FEIDEN, 2007). Esta camada é a mais importante para a obtenção da gelatina.

A pele de tilápia é composta por lipídeos, carboidratos, proteínas, sais minerais, água, dentre outros. Sua composição varia com a espécie de peixe. Também, a porcentagem de água da pele depende de alguns fatores, tais como idade e sexo da espécie. Em geral, as peles possuem em torno de 2% de lipídios (BOSCOLO e FEIDEN, 2007).

Conforme consta na Tabela 3, grande parte da composição centesimal da pele *in natura* da tilápia é composta pelo teor de água, apresentando aproximadamente 70% de umidade. O teor de proteínas representa cerca de 27% da massa de pele. Outras composições estão presentes na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores médios da composição centesimal da pele *in natura* da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Classe do peso	Umidade (%)	Proteína (%)	Extrato etéreo (%)	Cinzas (%)
C1=500-600 g	70,79	26,59	1,86	1,32
C2=601-700 g	68,62	26,95	2,00	2,19
C3=701-800 g	68,20	28,66	3,43	2,21

Fonte: SOUZA (2003).

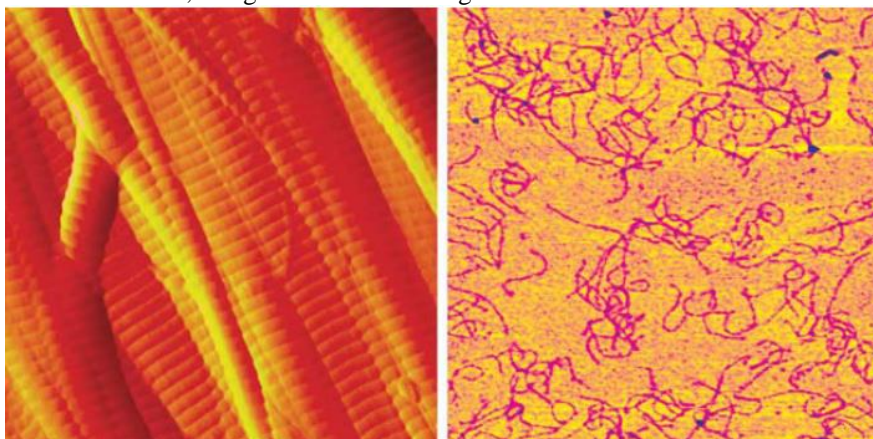
2.5 Colágeno

O colágeno é a principal classe de proteínas existentes em animais e humanos. Ao contrário das proteínas globulares, é composto de estruturas lineares e fibrosas. Não se trata de uma substância uniforme, pois existe em diversos tipos na família das proteínas. Até 2007, foram identificados 27 tipos de colágeno. O colágeno tipo I encontra-se, na maioria das vezes, em peles, ossos e tendões. O colágeno tipo II encontra-se apenas na cartilagem. Já o colágeno do tipo III depende da idade, isto é, peles jovens compõem 50%, porém ao longo do tempo, essa quantidade é reduzida para 5 a 10% (SCHRIEBER e GAREIS, 2007). Outros tipos de colágenos se encontram em quantidades bem menores em relação aos três supracitados.

2.5.1 Composição Química e Estrutura Molecular do Colágeno

Como qualquer outra proteína, o colágeno exhibe estrutura primária, secundária e terciária. Ele também possui a estrutura quaternária similar a outras proteínas oligoméricas que são caracterizadas por múltiplos polipeptídios em série ou em subunidades. O colágeno tipo I, derivado de animais, é o mais utilizado na produção de gelatina. Tal colágeno possui em sua estrutura 1024 aminoácidos que estão ligados em séries com a massa molar total de, aproximadamente, $100.000 \text{ g.mol}^{-1}$ (SCHRIEBER e GAREIS, 2007). O colágeno está presente em diversos seres vivos. Na Figura 4, encontra-se a estrutura fibrosa do colágeno presente tanto no tendão do rabo de rato quanto no rabo de canguru.

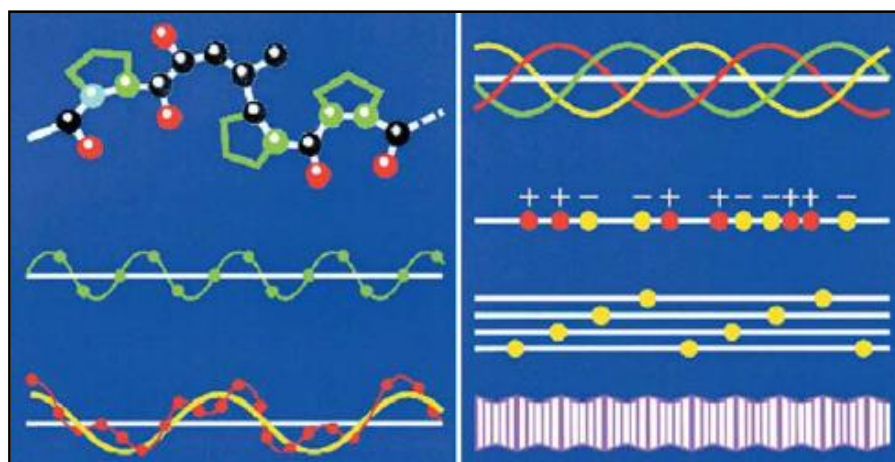
Figura 4 - Estrutura fibrosa de colágeno. À esquerda, colágeno do tendão do rabo de rato. À direita, colágeno do rabo de canguru



Fonte: SCHRIEBER e GAREIS (2007).

O colágeno é composto por 20 aminoácidos: 9 essenciais e 12 não essenciais. A glicina sozinha constitui aproximadamente 33% de todo o componente de aminoácidos. A prolina e a hidroxiprolina juntas constituem 22% e são responsáveis pela estrutura secundária do colágeno. Esses aminoácidos limitam a rotação do polipeptídeo, contribuindo para a estabilidade da tripla-hélice. A tripla-hélice representa a estrutura principal do colágeno. O grupo hidroxila da hidroxiprolina possui grande importância na estabilidade da tripla-hélice. Ela é bem estável a baixas temperaturas, porém adquire instabilidade a temperaturas mais elevadas. Também possui 300 nanômetros de comprimento e 1.5 nanômetros de diâmetro (SCHRIEBER e GAREIS, 2007). Na Figura 5, estão as estruturas principais do colágeno, incluindo os passos de formação do polipeptídeo.

Figura 5 - Da estrutura primária à quaternária dos colágenos. Passos de formação do colágeno



Fonte: SCHRIEBER e GAREIS (2007).

2.6 Gelatina

A gelatina é obtida, principalmente, através da hidrólise térmica. Porém, realiza-se o pré-tratamento utilizando soluções ácidas ou básicas. Tais soluções promovem a quebra parcial das ligações cruzadas e a remoção das proteínas não-colagenosas. Essa quebra realiza a redução na massa molar da gelatina final obtida (SCHRIEBER e GAREIS, 2007). A capacidade de gelificação vai depender da parcial renaturação e da desnaturação das moléculas de colágeno.

A gelatina constitui entre 85 a 92% de proteína. O restante é derivado da quantidade de sais minerais e da umidade. Para obtê-la, são realizadas três etapas: pré-tratamento da matéria-prima, extração a quente da gelatina, e os pós-tratamentos como purificação e secagem. Dependendo do pré-tratamento empregado, dois diferentes tipos de gelatinas são obtidos: gelatina tipo A (tratamento ácido) e gelatina tipo B (tratamento básico). Para gelatinas que são submetidas aos dois pré-tratamentos, ela será denominada tipo A ou B em relação ao último pré-tratamento. Se o último for utilizando solução ácida, a gelatina será do tipo A. Caso o último seja utilizando solução básica, a gelatina será do tipo B.

2.6.1 Pré-tratamento Ácido para Gelatina Tipo A

A gelatina do tipo A é obtida quando o colágeno é submetido a um tratamento utilizando solução ácida que resulta na quebra das ligações cruzadas fracas, interferindo na massa molar da gelatina obtida. Depois de realizado o tratamento em meio ácido, o pH é corrigido adicionando-se solução alcalina até a neutralização. Em seguida, os sais formados são removidos por processo de lavagem (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

2.6.2 Pré-tratamento Básico para Gelatina Tipo B

A gelatina do tipo B é obtida quando o colágeno é submetido a um tratamento utilizando solução básica. Durante o tratamento, substâncias não proteicas, tais como polissacarídeos e compostos sulfúricos, bem como proteínas não colagenosas (albumina e globulina, por exemplo, que estão em grandes quantidades na carne crua) são dissolvidas. Isso resulta em um material mais puro. Após esse tratamento, a gelatina é neutralizada adicionando ácido. O sal produzido é removido através de numerosas lavagens (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

2.7 Propriedades da Gelatina

As propriedades mais importantes associadas à gelificação são a formação de gel, a texturização e a interação com água (umidade).

2.7.1 Formação de Gel, Viscosidade e Textura

A formação de gel, viscosidade, e textura são propriedades determinadas principalmente pela estrutura, massa molar e temperatura do sistema. A gelatina é uma mistura de cadeias poliméricas de diferentes massas molares, assim, não há como estimar a concentração real da solução, mas sim a dispersão coloidal. A reversibilidade ilimitada do processo de gelatinização é a propriedade mais importante da gelatina (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

2.7.2 Força de Gel / Bloom

O método analítico para medir o poder do gel é o Bloom. O processo para mensurar tal parâmetro foi criado pelo cientista americano Oscar T. Bloom. Os valores de Bloom comerciais variam de 50 a 300. De 200 a 300, a gelatina é denominada de alto Bloom, de 100 a 200 é considerada de médio Bloom e de 50 a 100 é considerada de baixo Bloom. Gelatinas com altos valores de Bloom possuem elevado ponto de derretimento e de gelatinização (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

Figura 6 - Dois diferentes instrumentos para medida do Bloom



Fonte: SCHRIEBER e GAREIS (2007).

A força de gel é medida quando uma probe aplica uma força na superfície da gelatina, penetrando-a até 4 mm de profundidade, conforme ilustrado na Figura 6. O gel é produzido a partir de 6,67% de gelatina e fica armazenado de 16 a 17 horas em um local a 10°C para, em seguida, ser medida sua força de gel. A unidade de Bloom é medida em gramas (GMIA, 2013). A força de gel é influenciada principalmente pela massa molar da gelatina.

2.7.3 Umidade x Atividade de Água (A_w)

A umidade representa o teor de água total, ou seja, mede o teor de água que está tanto ligada quanto livre do material. A atividade de água (A_w) mede apenas o teor de água livre, isto é, apenas a quantidade de água que não está ligada a nenhuma substância e que pode servir para o crescimento bacteriológico.

Grande parte dos microrganismos cresce em meio com A_w entre 0,9 e 0,99. Alguns microrganismos permanecem vivos mesmo em baixa atividade de água, porém não se multiplicam nesse meio (FERREIRA NETO; FIGUEIRÊDO; QUEIROZ, 2005).

Em geral, a gelatina possui naturalmente de 8 a 12% de umidade. Isso é provocado pelo equilíbrio entre a gelatina e o ambiente, que é úmido. Um teor de umidade acima de 16% é um risco, pois torna-se possível o crescimento microbiológico na gelatina, provocando hidrólise das proteínas (SCHRIEBER e GAREIS, 2007).

2.8 Das Aplicações da Gelatina

Da pele de tilápia, é possível obter gelatina que, posteriormente, pode ser utilizada para formação de filmes biodegradáveis. Os filmes biodegradáveis são feitos de biopolímeros derivados de recursos renováveis, podendo ser importantes para reduzir o impacto do lixo plástico derivado do petróleo. Eles podem ser utilizados para embalar alimentos, protegendo estes da luz e da degradação. Pela grande higroscopicidade da gelatina, o filme biodegradável é comprometido ao ser utilizado na embalagem de alimentos com grande umidade, pois o filme pode ser dissolvido ou inchado à medida que absorve água. Combinações de filmes de

gelatina com outros biopolímeros de diferentes características estão sendo desenvolvidas para reverter essa problemática (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2009; LIU et al., 2015).

Estudos indicaram que algumas proteínas apresentaram propriedades antioxidante, antimicrobiana ou anti-hipertensiva, onde algumas dessas propriedades foram encontradas diretamente em gelatinas derivadas da pele de peixe (GOMEZ-GUILLEN et al., 2011).

Os coacervados de gelatina complexados com polímeros aniônicos na forma de microcápsulas possuem grande importância na indústria farmacêutica pelo fato deles poderem encapsular componentes funcionais, protegendo estes da oxidação ou degradação durante o armazenamento. Além disso, a encapsulação pode proteger e controlar a ação dos componentes funcionais do alimento quando ingeridos pelo corpo (GOMEZ-GUILLEN et al., 2011). Essas e outras aplicações podem ser empregadas utilizando a gelatina como matéria principal.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é otimizar, a partir do planejamento experimental fracionado para avaliar a significância das variáveis estudadas, o processo de obtenção da gelatina de pele residual de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), obtendo as melhores propriedades.

3.2 Objetivos Específicos

A partir do planejamento experimental fracionado, determinar quais variáveis serão significativas para a obtenção da gelatina, com base nos fatores de resposta: força de gel, teor de cinzas e rendimento;

Determinar a melhor amostra de gelatina com base no tempo total de extração, na força de gel, no teor de cinzas e no rendimento obtidos no planejamento experimental fracionado.

Realizar outras caracterizações da melhor amostra de gelatina obtida durante o delineamento, fazendo análises de calorimetria exploratória diferencial e análise termogravimétrica (DSC e TGA), de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) e de atividade de água (A_w).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Limpeza, Armazenamento e Preparo das Amostras de Pele de Tilápia

As peles de tilápia (*Oreochromis niloticus*) foram doadas pela empresa Valpex. Ainda possuindo escamas e alguns pedaços de carne, elas foram, inicialmente, descamadas utilizando um liquidificador industrial inox de 10 litros, adicionando-se um pouco de água, de forma a submergir as peles para separar as escamas. As escamas que permaneceram na pele foram removidas manualmente. Em seguida, foi retirado o excesso de carne ainda presente nas peles de forma manual. Subsequentemente, foram lavadas com água corrente e, por final, lavadas com água destilada. Retirou-se o excesso de água contida nas peles utilizando uma peneira. Depois de limpas, foram armazenadas em pacotes e acondicionadas na câmara de congelamento a -17°C .

Para preparar as amostras, as peles foram descongeladas e cortadas para facilitar o momento da pesagem e os posteriores tratamentos. Pesaram-se (Balança analítica, da Bel) 200 gramas de peles para cada amostra, armazenaram-nas em um pacote plástico e acondicionaram-nas na câmara de congelamento a -17°C até serem submetidas a posteriores tratamentos. Todo o procedimento supracitado foi realizado durante o mês de março de 2015. Segue a imagem contendo o fluxograma para a obtenção das amostras de pele de tilápia.

Figura 7 - Fluxograma de limpeza, armazenamento e preparo das amostras de pele de tilápia



4.2 Planejamento Fatorial Fracionado da Obtenção da Gelatina

Antes de realizar o planejamento fatorial completo, realiza-se o planejamento fatorial fracionado no intuito de anular variáveis que não serão estatisticamente significantes para o fator de resposta. Retirando essas variáveis, reduz-se o número de ensaios a serem realizados no planejamento completo que permite dizer as melhores condições, além das atribuídas nos valores codificados, para obter as melhores propriedades da gelatina.

Realizou-se um planejamento fatorial fracionado do tipo 2^{8-4}_{IV} , de 8 variáveis com planejamento de resolução IV (nenhum efeito principal é confundido ou superposto com outros efeitos principais ou qualquer efeito de interação de segunda ordem, porém interações de segunda ordem são confundidas entre si) e 3 pontos centrais, totalizando 19 ensaios (BOX, HUNTER e HUNTER, 2005). Três fatores de respostas foram analisados para testar a significância das variáveis: rendimento, cinzas e força de gel.

O planejamento experimental fracionado e o tratamento estatístico foram realizados utilizando a versão de teste (Trial Version) do programa computacional STATISTICA versão 12.0, da Dell Estatística (Dell Inc.) Tal planejamento está descrito na Tabela 4.

Tabela 4 - Planejamento experimental fracionado 2^{8-4}_{IV} com três pontos centrais

Ensaio	Pré-tratamento HCl (X ₁)	Pré-tratamento NaOH (X ₂)	Tempo de Reação NaOH (X ₃)	Pré-tratamento Ac. Acético (X ₄)	Tempo de Reação Ac. Acético (X ₅)	Extração T (°C) (X ₆)	Tempo de Extração (X ₇)	Tratamento com resina (X ₈)
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	1
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	1
4	1	1	-1	-1	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	-1	1	1	1	-1
6	1	-1	1	-1	1	-1	-1	1
7	-1	1	1	-1	-1	1	-1	1
8	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1
9	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1
10	1	-1	-1	1	1	-1	1	-1
11	-1	1	-1	1	-1	1	1	-1
12	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1
13	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1
14	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1
15	-1	1	1	1	1	-1	-1	-1
16	1	1	1	1	1	1	1	1
17	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0

As concentrações, o tempo de reação, a temperatura e a proporção de resina foram variados conforme indica a Tabela 5, abaixo.

Tabela 5 - Atribuições dadas para cada ponto em cada variável do planejamento experimental fracionado

Variável\ Valores codificados	-1	0	+1
Pré-tratamento HCl (X_1)	0,0 M	0,25 M	0,5 M
Pré-tratamento NaOH (X_2)	0,1 M	0,3 M	0,5 M
Tempo de Reação NaOH (X_3)	30 min	60 min	90 min
Pré-tratamento Ac. Acético (X_4)	0,1 M	0,3 M	0,5 M
Tempo de Reação Ac. Acético (X_5)	30 min	60 min	90 min
Extração T (°C) (X_6)	45 ° C	55 °C	65°C
Tempo de Extração (X_7)	1 h	1h:30min	2h
Tratamento com resina (X_8)	0	1:10	1:5

4.3 Pré-tratamento da Pele de Tilápia

Foram realizados três pré-tratamentos, dois ácidos e um alcalino. A seguir, serão descritos tais pré-tratamentos.

4.3.1 *Pré-tratamento ácido com ácido clorídrico (HCl)*

Em um béquer seco e limpo de 2 litros, adicionaram-se 200 gramas de pele de tilápia descongeladas. Em seguida, adicionou-se 1 litro de solução de ácido clorídrico (HCl) de 0,5 ou 0,25 mol.L⁻¹, mantendo a mistura sob agitação (Agitador mecânico) por 30, 60 ou 90 minutos, a temperatura ambiente. Em seguida, neutralizou-se a pele imersa utilizando uma solução de hidróxido de sódio 6,0 mol.L⁻¹. Após isso, separaram-se as peles da solução neutralizada utilizando uma peneira. Utilizou-se 1 litro de água destilada para lavar as peles, com o objetivo de retirar o excesso sal formado durante a neutralização.

4.3.2 Pré-tratamento básico com hidróxido de sódio (NaOH)

Adicionaram-se as peles anteriormente tratadas em um béquer seco e limpo de 2 litros ou, para ensaios onde o pré-tratamento se iniciou a partir desta etapa, adicionaram-se 200 g de pele de tilápia descongelada. Adicionou-se 1 litro de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1, 0,3 ou 0,5 mol.L⁻¹, mantendo a mistura sob agitação (Agitador mecânico) por 30, 60 ou 90 minutos, a temperatura ambiente. Subsequentemente, neutralizou-se a mistura com ácido clorídrico (HCl) 6,0 mol.L⁻¹. Com uma peneira, separaram-se as peles da solução neutralizada. Lavaram-se as peles na peneira utilizando 1 litro de água destilada.

4.3.3 Pré-tratamento ácido com ácido acético (CH₃COOH)

Utilizando um béquer seco e limpo, adicionaram-se as peles anteriormente tratadas. Adicionou-se 1 litro de solução de ácido acético (CH₃OOH) 0,1, 0,3 ou 0,5 mol.L⁻¹, mantendo a mistura sob agitação (Agitador mecânico) por 30, 60 ou 90 minutos, à temperatura ambiente. Decorrido o tempo, adicionou-se 500,0 mL de água destilada e neutralizou-se a mistura utilizando hidróxido de sódio 6,0 mol.L⁻¹. Com uma peneira, separaram-se as peles da solução neutralizada. Lavaram-se as peles utilizando 1 litro de água destilada. O material que ficou retido na peneira foi utilizado para realizar a extração da gelatina.

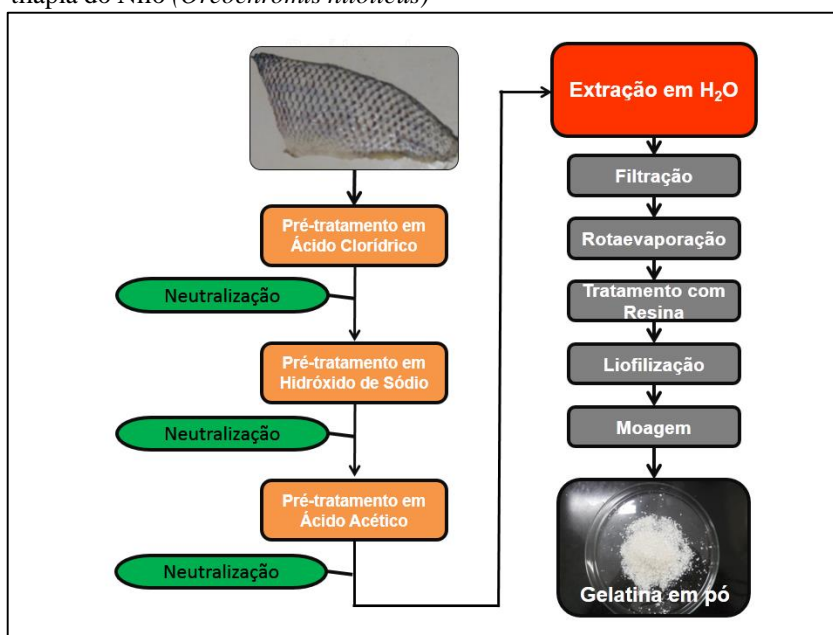
4.4 Extração de gelatina da pele de Tilápia

Após os pré-tratamentos, as peles foram adicionadas em um béquer contendo 1 litro de água pré-aquecida, em Banho-Maria, a temperaturas de 45, 55 ou 65 °C. Ao adicionarem, houve redução natural da temperatura da mistura. Ao atingir a temperatura do pré-aquecimento novamente, contou-se o tempo de extração da gelatina de 60, 90 ou 120 minutos, mantendo a mistura sob agitação. Após isso, foi filtrada utilizando uma peneira coberta com TNT para separar a pele remanescente da gelatina e, em seguida, esta foi filtrada a vácuo com duas camadas de TNT.

O líquido filtrado foi rotavaporado (Rotavapor, da BUCHI). Para algumas amostras, o líquido concentrado no rotavapor foi submetido ao tratamento com resina catiônica recuperada na proporção de 1:5 ou 1:10 de volume da gelatina concentrada. Em seguida, a gelatina foi liofilizada (Liofilizador LP 510 – Piloto). Após a liofilização, pesou-se a massa de gelatina seca. Subsequentemente, a gelatina foi moída utilizando um moinho analítico de corte. O pó obtido foi utilizado para caracterização da gelatina.

Na Figura 8, segue o esquema de obtenção da gelatina a partir da pele de tilápia.

Figura 8 - Fluxograma de obtenção de gelatina a partir da pele residual de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)



Fonte: NUNES (2014).

4.5 Rendimento da Extração

O rendimento é calculado por base na relação entre o peso da gelatina seca obtida após liofilizada e o peso úmido das peles de tilápia utilizadas (ALFARO, 2010). Segue a Equação 1 demonstrando o cálculo do rendimento.

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{peso seco de gelatina}}{\text{peso úmido das peles}} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

4.6 Umidade

Utilizou-se uma balança de infravermelho (ID 50, da Marte) para determinar a umidade da gelatina. A balança foi ajustada para aquecer a gelatina a 105°C, com resolução de 0,001. Pesou-se, aproximadamente, 1,5g da gelatina e aguardou-se a balança indicar a massa final da gelatina (perda de água) e a porcentagem de perda mássica. Efetuou-se a duplicada para cada amostra obtida. A gelatina seca foi embalada, rotulada e armazenada em um dessecador para ser submetido à análise do teor de cinzas.

4.7 Teor de Cinzas

O teor de cinzas foi medido por análise gravimétrica. As cinzas foram obtidas utilizando o Forno Mufla, da Quimis. Pesou-se o cadinho vazio (P_1) anteriormente calcinado em forno mufla e, em seguida, resfriado. Pesou-se, aproximadamente, 1,0 grama de gelatina previamente seca, juntamente com o cadinho vazio (P_2). Após pesado, o cadinho contendo a gelatina foi para o forno mufla e lá foi submetido a temperatura de 600°C por três horas. Em seguida, após esse tempo e resfriado o cadinho, pesou-se a massa do cadinho com as cinzas da gelatina (P_3). A partir da Equação 2, calculou-se o teor de cinzas na amostra. Realizou-se duplicata para cada uma delas.

$$\text{Teor de Cinzas} = 100 \times \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1} \quad (\text{Eq. 2})$$

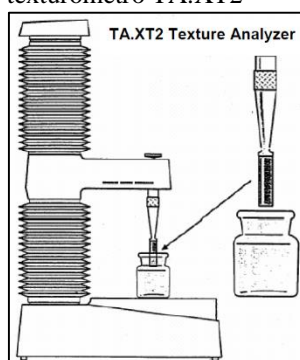
4.8 Força de Gel

A força de gel foi determinada a partir de uma solução a 6,67% (m/v) de gelatina, conforme descrito pelo GMIA (2013) com algumas adaptações. Pesou-se $7,50 \pm 0,01$ g de gelatina em um béquer de 250,0 mL. Em seguida, adicionou-se $105,0 \pm 0,2$ g de água destilada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. A mistura foi mantida em repouso por 1 hora para que ocorresse a hidratação da gelatina. Após isso, a mistura foi levada a um banho-maria a 65°C por 10 minutos até que toda mistura se solubilizasse. Em seguida, com uma pipeta automática,

transferiu-se 40,0 mL da solução de gelatina em dois béqueres de 50,0 mL, cada. A gelatina ficou armazenada na câmara de refrigeração a 4°C durante 18 horas até, em seguida, ser levada ao texturômetro nesta temperatura.

A medida da força de gel foi realizada com as soluções a 4°C em texturômetro (TAXT2i), com probe de 12,5 mm de diâmetro, sendo aplicado até 4 mm de profundidade. Na Figura 9, segue a ilustração do texturômetro utilizado para determinação da força de gel.

Figura 9 - Ilustração do texturômetro TA.XT2



Fonte: GMIA (2013).

4.9 Análise Termogravimétrica (TGA) e Análise Termogravimétrica Diferencial (DTG)

A análise termogravimétrica foi feita utilizando a amostra selecionada a partir do delineamento realizado (Amostra 1). O equipamento utilizado foi o STA 6000, da PerkinElmer. A análise foi realizada em um cadinho de alumina. A razão de aquecimento foi de 10°C.min⁻¹. A atmosfera utilizada no forno foi ar sintético, com vazão de 50 mL.min⁻¹ e a utilizada na balança foi nitrogênio, com vazão de 20 mL.min⁻¹. As análises ocorreram na faixa de temperatura de 20 a 800°C, com a massa de 15 mg da amostra.

4.10 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A amostra previamente selecionada a partir do delineamento, foi submetida a análise de DSC. Utilizou-se o equipamento Q20, da TA Instruments. Em uma panela de alumínio selada hermeticamente, armazenou-se 1,5 mg da amostra. Inicialmente, realizou-se

uma corrida de 0 a 130°C, com uma razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, seguida de um resfriamento a 20°C.min⁻¹ até a temperatura de -50°C. Posteriormente, realizou-se um segundo aquecimento de -50 a 250°C, com uma razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹.

4.11 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos a partir do espectrofotômetro (modelo FTLA 200-102, da ABB-BOMEM), na região de 650 a 4000 cm⁻¹ no modo de ATR. As amostras em pó foram adicionadas ao suporte do equipamento onde foram prensadas e analisadas em seguida.

4.12 Atividade de água (Aw)

A análise foi realizada no equipamento CX-2, da Aqua Lab. A amostra selecionada a partir do delineamento foi encapsulada no equipamento. Foi adicionado a amostra na capsula de forma que aquela ocupasse metade do volume desta. Após o indicativo do término da análise, anotou-se o valor de atividade de água e a temperatura da amostra. Realizou-se quintuplicata da amostra escolhida.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento, Teor de Cinzas, Força de Gel e Umidade das amostras em análise

O rendimento, o teor de cinza, a força de gel e umidade são fatores importantes que determinam a qualidade da gelatina, enquanto que o processo de extração é um fator importante para determinar a eficiência do método para a obtenção da gelatina. Na Tabela 6, consta o tempo total de extração gasto até a obtenção da gelatina concentrada e tratada com resina, bem como os parâmetros supracitados.

Tabela 6 - Valores médios das caracterizações da gelatina e o tempo total de extração até a obtenção da gelatina concentrada e tratada com resina

Parâmetros Ensaio	Valores médios dos parâmetros				Tempo Total de Extração (horas)
	Rendimento (%)	Teor de Cinzas (%)	Força de Gel (g)	Umidade (%)	
1	16,99	1,7241	705,898	9,84	2,00
2	18,04	5,9744	542,818	7,89	5,00
3	8,71	11,9251	415,750	9,83	5,00
4	24,15	12,7009	431,898	8,01	4,00
5	22,27	4,3146	559,332	9,16	5,00
6	16,63	1,9413	628,909	6,82	6,00
7	24,30	4,1327	592,599	7,65	4,00
8	17,15	1,5748	630,706	7,41	5,00
9	22,65	12,4238	469,615	7,46	4,00
10	22,34	6,8172	532,545	8,77	5,00
11	24,54	6,5827	540,983	6,01	3,00
12	10,75	11,1631	520,213	10,05	4,00
13	19,87	9,5307	493,849	7,76	5,00
14	22,22	9,6368	495,539	8,92	4,00
15	20,89	13,1367	466,544	6,77	4,00
16	19,15	9,8935	468,709	7,37	7,00
17	19,10	7,9765	560,755	8,06	5,50
18	24,63	8,5073	573,894	6,64	5,50
19	24,51	6,3639	628,212	6,29	5,50

O rendimento, o teor de cinzas, a força de gel e a umidade apresentaram grandes variações entre as amostras. De acordo com Schrieber e Gareis (2007), gelatinas com força de gel acima de 300 são consideradas gelatinas com alto Bloom. Diante disso, todos os ensaios realizados possuíram Bloom superior a 300, ou seja, gelatinas de alto Bloom.

A taxa de umidade da gelatina varia de 6 a 12%, onde, se este valor for acima de 16%, ocorre o crescimento bacteriológico (SCHRIEBER e GAREIS, 2007). Todas as amostras também apresentaram umidade dentro desta faixa, reduzindo a probabilidade de proliferação bacteriana.

O teor de cinzas variou de 1,72 a 13,14% pelo delineamento. O teor de cinzas já encontrado para gelatina de pele de tilápia do Nilo de base seca foi de 2,2% (ALFARO; SILVA, 2010). Já para gelatinas comerciais, o teor de cinzas, para o Tipo A e B, é de 2% (GMIA, 2012). Apenas as amostras 1, 6 e 8 apresentaram teor de cinzas abaixo dos valores acima. Cabe, a partir do delineamento, determinar quais variáveis estão influenciando no teor de cinzas.

Rendimentos de 18%, a partir da pele de tilápia do Nilo (BORDIGNON, 2010) a 7,81%, a partir da pele de tilápia vermelha (*Oreochromis nilotica*) (JAMILAH; HARVINDER, 2002), são obtidos dependendo das condições do método. Os rendimentos obtidos variaram muito entre as amostras, porém todos os obtidos estão acima do que foi obtido por Jamilah e Harvinder (2001). De acordo com Souza (2013), o teor de proteínas presente na pele de tilápia é de, aproximadamente, 27%. Alguns ensaios apresentaram rendimentos próximos ao teor de proteínas da pele, indicando que o teor de colágeno é extremamente elevado na pele, porém as outras propriedades deles não foram satisfatórias para classifica-los como os melhores do delineamento. Cabe, a partir do dele, determinar quais variáveis estão influenciando no rendimento.

Dentre os parâmetros supracitados, o ensaio que combina as melhores características é o primeiro (sem pré-tratamento com HCl, 30 minutos de pré-tratamento com NaOH 0,1 M, 30 minutos de pré-tratamento com Ácido Acético 0,1 M, 1 hora de extração a 45°C e sem necessidade de utilizar resina), pois ele apresentou a maior força de gel, o menor teor de cinzas e o menor tempo total de extração. O rendimento da primeira amostra não foi o maior dentre outros ensaios, porém seu tempo de extração pode compensar o rendimento de gelatina dentre aqueles que obtiveram rendimentos maiores. Tal amostra foi submetida a caracterizações de FTIR, DSC, TGA e atividade de água.

5.2 Design experimental

Realizou-se o planejamento experimental fracionado do tipo 2_{IV}^{8-4} , com oito variáveis, mais 3 pontos centrais, totalizando, 19 ensaios. No modelo em questão, não foi analisada a interação entre duas variáveis, foram analisados apenas os fatores principais. Para o delineamento, foram analisados o grau de efeito de cada variável no fator de resposta. Realizou-se o teste-p para determinar se ela é significativa ou não, com intervalo de confiança de 95%. Na Tabela 7, encontra-se o resultado dos efeitos das variáveis em cada fator de resposta e o nível de significância.

Tabela 7 – Efeitos das variáveis e os valores de p para cada fator de resposta, aplicando intervalo de confiança de 95% e $\alpha=0,05$

Fator resposta Variável	Rendimento		Teor de Cinzas		Força de Gel	
	Efeito	p	Efeito	p	Efeito	p
(1)Pre-tratamento HCl	-1,225845	0,518783	-0,508542	0,458392	0,845812	0,966571
(2)Pré-tratamento NaOH	-1,419798	0,463455	2,343326	0,052316	-45,13794	0,127577
(3)Tempo de reação NaOH	1,790354	0,37447	-1,893773	0,076964	22,05831	0,342646
(4)Pré-tratamento Ac. Acético	1,769622	0,378909	4,362052	0,01598	-64,98906	0,068062
(5)Tempo de reação Ac. Acético	0,364254	0,839008	2,854226	0,036175	-68,66306	0,061614
(6)Temperatura de extração	5,49785	0,073506	0,980799	0,220944	-36,61531	0,177159
(7)Tempo de extração	-0,813314	0,657774	-1,280769	0,148682	-15,81544	0,46974
(8)Tratamento com resina	-3,807495	0,137407	1,312133	0,143093	-28,87281	0,247729

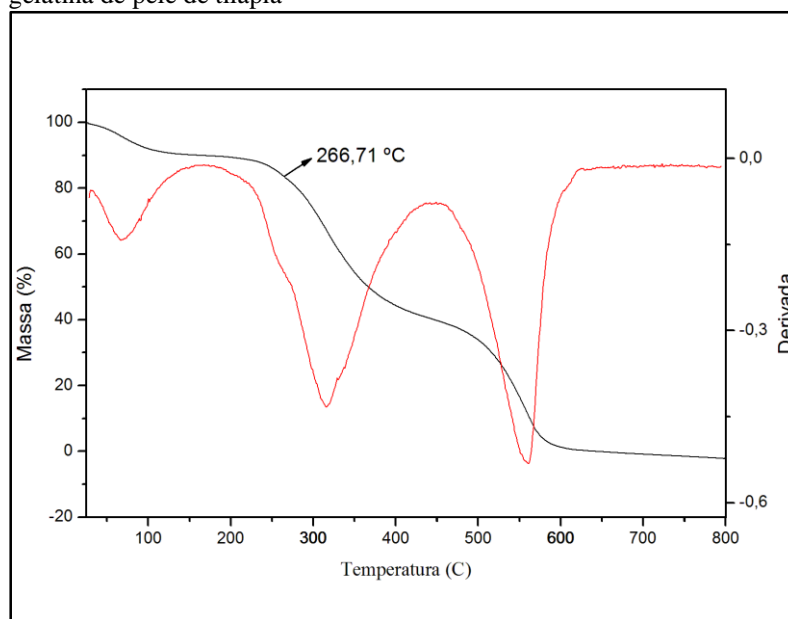
Pelos testes feitos, apenas o pré-tratamento utilizando ácido acético e seu tempo de reação foram significativos para o teor de cinzas. Os efeitos para os dois casos são positivos, porém a concentração do ácido acético possui o efeito maior em relação ao tempo de reação dele. Em suma, quanto maior for a concentração e o tempo de reação do ácido acético, maior será o teor de cinzas, diminuindo a qualidade da gelatina. Todos os outros parâmetros foram não significativos para a extração. Durante a extração utilizando o ácido acético, percebia-se que quanto maior era a concentração e o tempo de reação com ácido acético, mais desintegrado ficavam as peles de tilápia. Isso dificultava o processo de neutralização e de lavagem. Além disso, utilizava-se apenas 1 litro de água destilada, sendo as

vezes insuficiente para a completa lavagem das peles. Os efeitos de outras variáveis para todos os parâmetros em análise não foram significativos ($p > 5\%$). Nesse caso, é provável que a faixa de valores utilizada para avaliar as variáveis escolhidas não tenham sido adequadas.

5.3 Análise Termogravimétrica (TGA) e Análise Termogravimétrica Diferencial (DTG)

Obteve-se a análise termogravimétrica e sua derivada da amostra 1 que está esquematizada na Figura 10.

Figura 10 - Análise termogravimétrica (TGA) e sua derivada (DTG) da gelatina de pele de tilápia



As duas análises relevam a degradação da massa em torno de 70°C. Tal degradação é decorrente da perda de água contida na gelatina (umidade). Tal perda foi condizente com a umidade da amostra 1 determinada na balança de infravermelho (9,84%).

É possível analisar a temperatura on-set (T_{set}) da gelatina em 266,71°C. Conclui-se que a gelatina possui boa estabilidade térmica suportando grandes temperaturas. Após este valor, a perda de massa é acelerada, observada pelas duas curvas, tanto na TGA, quanto no DTG, da figura acima. Neste caso, a gelatina está sofrendo degradação, decorrente da perda de aminoácidos.

Após a última curva, é observado uma continuidade no valor da taxa de massa, decorrente do teor de cinzas da gelatina. Tal valor, de 2,375%, é próximo ao valor obtido no teor de cinzas por análise gravimétrica.

5.4 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Obteve-se o espectro da amostra 1 que está esquematizado na Figura 11. Tal espectro foi comparado com o obtido pela gelatina derivada do resíduo de carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia do Nilo (NUNES, 2014). Na Tabela 8, estão as principais bandas observadas nos dois espectros.

Figura 11 - Espectros de FTIR da amostra 1 de gelatina e da gelatina de resíduo de CMS de tilápia

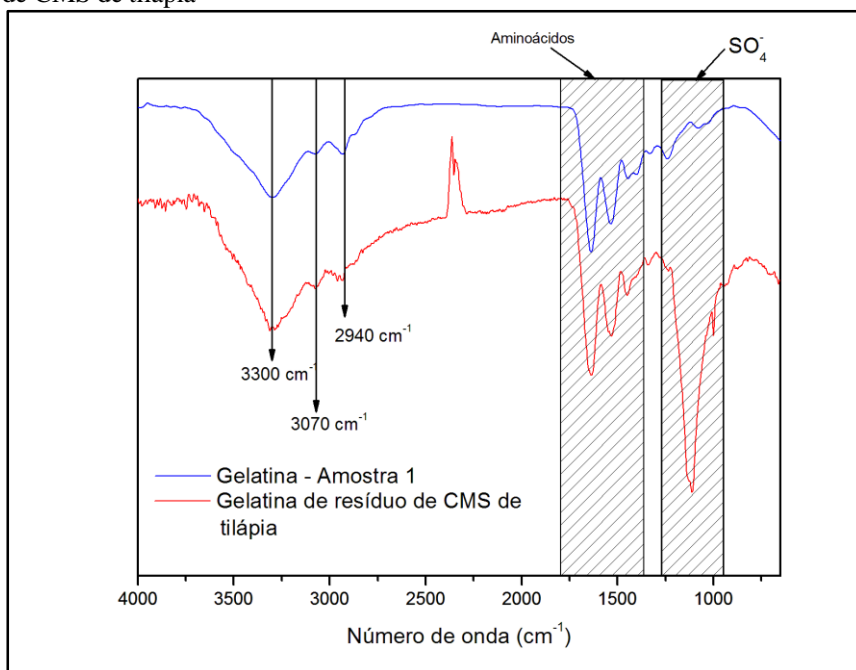


Tabela 8 - Principais bandas observadas nas gelatinas analisadas no FTIR

Número de onda (cm ⁻¹)	Tipo de deformação
3300	ν O—H
3070	ν C—H de alkenos
2940	ν C—H alifáticos
1640	δ_{as} NH ₃ ⁺
1540	δ_s NH ₃
1450	ν_{as} CO ₂ ⁻
1110	SO ₄ ²⁻

Todas as bandas, com exceção do sulfato, estão presentes nas duas amostras. A banda 3300 cm^{-1} é decorrente do estiramento do grupo O—H, a banda em 3070 cm^{-1} corresponde ao estiramento de C—H em alcenos, enquanto que a banda em 2940 cm^{-1} corresponde ao estiramento C—H de alifáticos. A banda em 1640 cm^{-1} representa a deformação angular assimétrica da ligação N—H, enquanto que em 1540 cm^{-1} corresponde a sua deformação angular. A banda em 1450 cm^{-1} corresponde ao estiramento simétrico do íon carboxilato. Apenas na gelatina de CMS de tilápia, encontra-se a banda de 1110 cm^{-1} . Isso se deve a presença do íon de SO_4^{2-} , resultante dos sais inorgânicos presentes na gelatina (NUNES, 2014).

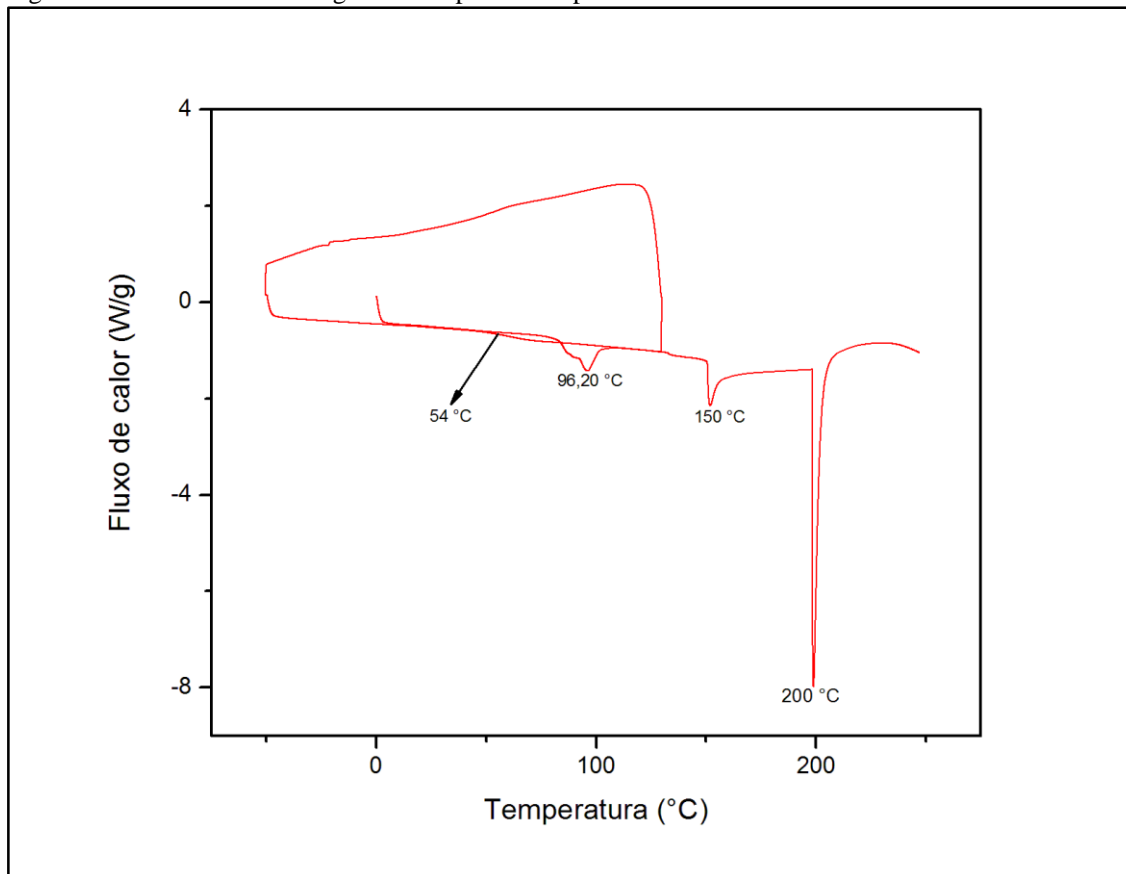
Todos esses estiramentos, com exceção do sulfato, indicam a presença de aminoácidos que compõem a gelatina.

5.5 Atividade de água (A_w)

Feito a quintuplicada, obteve-se a média e seu desvio padrão da atividade de água de $0,3388 \pm 0,0087$ e da temperatura de $26,34 \pm 0,36\text{ }^\circ\text{C}$. A maioria dos microrganismos cresce em água com atividade de 0,90 a 0,99. A maioria das leveduras e fungos miceliais cresce com atividade entre 0,86 a 0,88 (FERREIRA NETO; FIGUEIRÊDO; QUEIROZ, 2005). Portanto, não há possibilidade de crescimento bacteriológico, mediante a atividade de água encontrada na gelatina.

5.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Figura 12 - Curva de DSC da gelatina de pele de tilápia



Ao realizar duas corridas, são observados os seguintes comportamentos: observa-se na primeira corrida uma transição vítrea seguida de uma transição de tripla-hélice, isto é, a fusão. Na segunda corrida, observa-se apenas uma transição vítrea. Tais transições sofrem influência pela quantidade de água ou plastificantes presentes que, em maior quantidade, faz com que a fusão ocorra em diversas etapas e que essa, às vezes, se sobreponha à transição vítrea. Em geral esse comportamento é observado em gelatinas com atividade de água superior a 0,300 (SOBRAL; HABITANTE, 2001).

Na primeira corrida, observou-se um evento de transição vítrea a 79,23°C, seguida de um evento endotérmico em 96,2°C, referente à fusão das regiões de tripla-hélice da gelatina.

Efetuiu-se a segunda corrida, iniciada em -20°C. Observou-se um evento de transição vítrea, indicado na temperatura de 54 °C. A diferença entre as duas temperaturas de transição vítrea se deve a incapacidade de recomposição das zonas de junção (responsáveis

pela cristalização da gelatina) da gelatina após a primeira corrida. Diante disso, a gelatina permanece amorfa, não sendo evidenciado evento de fusão na segunda corrida. Também, diante disso, a temperatura de transição vítrea é deslocada para a esquerda.

Observou-se o evento de degradação parcial da gelatina em 150 °C, decorrente da reação de escurecimento. A 200 °C, ocorre outro fenômeno de degradação da gelatina, porém tal degradação ocorreu de forma mais acentuada, evidenciado pelo tamanho do pico na Figura 12.

6 CONCLUSÃO

No planejamento experimental fracionado, por base no teor de cinzas, no rendimento, na força de gel e na umidade, foi possível determinar as melhores condições da variáveis, dentre as 17, para a obtenção da gelatina (sem uso de HCl, 30 minutos de reação com NaOH 0,1 M, 30 minutos de reação com Ac. Acético 0,1 M, 1 hora sob extração a 45°C e sem tratamento com resina). Determinou-se, a partir do planejamento, as melhores condições para a obtenção de uma boa gelatina, e essa gelatina apresentou boas propriedades de estabilidade térmica, boa pureza, e baixo teor de umidade e de cinzas, que garantem melhor aplicabilidade para produção de bioblendas poliméricas a partir da gelatina de pele de tilápia com amido de milho (NUNES, 2014).

Estatisticamente, determinou-se que apenas a concentração de ácido acético e seu tempo de reação com a pele de tilápia são significantes para o teor de cinzas ($p < 0,05$), apresentando efeito positivo, ou seja, quanto maior a sua concentração e seu tempo de reação, maior será o teor de cinzas na gelatina. Pelo teste-p, analisou-se que todas as outras variáveis, com exceção das duas supracitadas, não foram estatisticamente significativas para os fatores de respostas analisadas, não sendo possível avaliar seus efeitos nas propriedades da gelatina. Foi possível, portanto, otimizar o processo de obtenção da gelatina a partir da pele residual de Tilápia.

REFERÊNCIAS

- ALFARO, A. T.; SILVA, E. F. Propriedades reológicas da gelatina obtida a partir de pele de tilápia Rheological properties of gelatin from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 4, p. 555–561, 2010.
- ALFARO, A.T. Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*). 2008. 130 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas
- ASSOCIAÇÃO CULTURAL E EDUCACIONAL BRASIL. **1º Anuário Brasileiro da Pesca e Aquicultura**. Florianópolis, p. 136. 2014.
- BORDIGNON, Adriana Cristina. **Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis Niloticus*)**. 2010. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.
- BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. **Industrialização da Tilápia**. 20ª. ed. Toledo: GFM Gráfica & Editora, 2007. 172 p.
- BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. **Statistics for Experimenters: Design, Innovation, and Discovery**. 2ª. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.
- DE CARVALHO, R. A.; GROSSO, C. R. F. Properties of chemically modified gelatin films. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 01, p. 45–53, 2006.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/en>. Acesso em: 24 Maio 2015.
- FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, p. 223. 2014. (978-92-5-108275-1/1020-5489).

FERREIRA NETO, C. J.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. D. M. Avaliação sensorial e da atividade de água em farinhas de mandioca temperadas. **Ciências Agrotécnicas**, v. 29, n. 4, p. 795–802, 2005.

GMIA. **Gelatin Handbook**. GMIA. [S.l.], p. 7. 2012.

GMIA. Standard Methods for the Testing of Edible Gelatin. **GMIA**, Julho 2013. Disponível em: <http://www.gelatin-gmia.com/images/GMIA_Official_Methods_of_Gelatin_Revised_2013.pdf>. Acesso em: 13 Junho 2015.

GOMEZ-GUILLEN, 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, 2011.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, p. 3–16, 2009.

HOINACKI, E., MOREIRA, M.V., KIEFER, C.G. **Manual básico de processamento de couro**. SENAI/RS. Estância Velha: Centro Tecnológico do Couro, 1989.

JAMILAH, B.; HARVINDER, K. G. Properties of gelatins from skins of fish - Black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, v. 77, p. 81–84, 2002.

KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L. O Aproveitamento dos subprodutos do processamento de pescado. **Panorama da Aquicultura**, n. 94, Março/Abril 2006.

LIU, D. et al. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. **Food chemistry**, v. 172, p. 836–43, 1 abr. 2015.

MINISTÉRIO DE PESCA E AGRICULTURA. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**. Brasília, p. 60. 2011.

NUNES, Yana Luck. **Preparação e caracterização de bioblendas poliméricas a partir de gelatina bovina e de tilápia com amido de milho**. 2014. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Engenharia de Materiais, Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

OLIVEIRA, E. G. D. et al. **Produção de Tilápia: Mercado, espécie, biologia e recria**. Embrapa. Teresina, PI, p. 12. 2007. (0104-7633).

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine Handbook Theory and Industrial Practice**. 1^a. ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007.

SOBRAL, P. J. A; HABITANTE, A. M. Q. B. Phase transitions of pigskin gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 377–382, 2001.

SOUZA, Maria Luiza Rodrigues de. **PROCESSAMENTO DO FILÉ E DA PELE DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*): ASPECTOS TECNOLÓGICOS, COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, RENDIMENTO, VIDA ÚTIL DO FILÉ DEFUMADO E TESTES DE RESISTÊNCIA DA PELE CURTIDA**. 2003. 169 f. Tese (Doutorado em aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. **Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal**. Instituto de Pesca. São José do Rio Preto, p. 19. 2006.