



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

LEINA MARIA HERCULANO MAIA PINHEIRO

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GELATINA DE BEXIGA NATATÓRIA
DE ROBALO (*Centropomus undecimalis*)

FORTALEZA

2021

LEINA MARIA HERCULANO MAIA PINHEIRO

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GELATINA DE BEXIGA NATATÓRIA DE
ROBALO (*Centropomus undecimalis*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. PhD. Elisabeth Mary Cunha da Silva.

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P72c Pinheiro, Leina Maria Herculano Maia.
Elaboração e caracterização de gelatina de bexiga natatória de robalo (*Centropomus undecimalis*) / Leina Maria Herculano Maia Pinheiro. – 2021.
134 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2021.
Orientação: Profa. Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva .
Coorientação: Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa .
1. Pescado. 2. Colágeno. 3. Hidrocoloide. 4. Parâmetros de qualidade. 5. Aplicação em alimentos. I. Título.

CDD 664

LEINA MARIA HERCULANO MAIA PINHEIRO

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE GELATINA DE BEXIGA NATATÓRIA DE
ROBALO (*Centropomus undecimalis*)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: ___/___/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. PhD. Elisabeth Mary Cunha da Silva (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa (Co-orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Virgínia Kelly Gonçalves Abreu (Membro Externo à Instituição)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof^ª. Dr^ª. Stella Regina Arcanjo Medeiros (Membro Externo à Instituição)
Universidade Federal do Piauí (UFPI)

Prof^ª. Dr^ª. Claísa Andréa Freitas Rabelo (Membro Externo à Instituição)
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Prof^ª. Dr^ª. Marlene Nunes Damaceno (Membro Externo a Instituição)
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula Colares de Andrade (Membro Externo ao Programa)
Universidade Estadual do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial, aos meu filho Túlio e marido Paulo Cesar, motivos pelo qual me deram ânimo e foram bálsamo para o encerramento deste ciclo.

À minha orientadora Professora Dra. Maria Lúcia Nunes (*in memoriam*). Todos nós temos sempre algo a ensinar e a aprender, mas algumas pessoas nasceram para deixar uma marca forte nos outros, a senhora foi definitivamente uma dessas pessoas. Perdê-la no início deste ciclo foi e é ainda muito doloroso, mas só posso agradecer por tanto. Obrigada por saber ser educadora e, principalmente, humana na relação aluno-professor. Um dia estaremos juntas. Até esse dia, levarei comigo seu otimismo e seu sorriso.

À minha segunda orientadora Professora Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva. Meu muito obrigada pela mão estendida em um momento de perda tão difícil. Obrigada também pela orientação, conhecimento, dedicação e pela amizade em mais de 15 anos. Minha sincera gratidão.

Ao co-orientador Professor Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa pela orientação, apoio e toda contribuição para o enriquecimento desta tese. Obrigada.

Aos demais professores participantes da banca examinadora pelas valiosas contribuições.

À bolsista Juliana Maia pela amizade, por ser braço forte nas realizações das análises e por dar incentivo necessário para o andamento da parte prática. Conte comigo sempre.

Aos técnicos de laboratório Luís Bitu, Janevane Castro e Fernando Lima e aos amigos e colegas Thereza, Livânia, Carlota, Júlia, Johnny e Juliene, contar com vocês foi de extrema importância. Meu muito obrigada a cada um.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap) pela ajuda financeira através da bolsa de formação acadêmica.

A todos que de forma direta ou indireta me ajudaram a chegar até aqui. O caminho foi longo, doloroso, mas cheguei. Obrigada.

RESUMO

A elaboração de gelatina de pescado é uma alternativa para diminuição dos resíduos gerados pela indústria pesqueira, minimizando assim, os impactos ambientais. Além disso, apresenta qualidade semelhante às de origem bovina (mais utilizadas na indústria), como também as suínas e as de aves. No entanto, poucos trabalhos avaliam a influência do processo de obtenção da gelatina em suas propriedades finais (força de gel, ponto de fusão, ponto de gelificação e viscosidade). Diante disso, objetivou-se neste trabalho elaborar e caracterizar gelatinas extraídas a partir de bexiga natatória do peixe robalo (*Centropomus undecimalis*). As gelatinas foram extraídas utilizando ácido acético 0,5 M em cinco combinações de tempo e temperatura: 4 °C por 24 h (T1), 24 °C por 48 h (T2), 4 °C por 24 h (T3), 24 °C por 48 h (T4) e 14 °C por 36 h (T5). As gelatinas foram liofilizadas e caracterizadas através dos rendimentos, composição centesimal, valor energético, granulometria, pH, turbidez, cor, propriedades reológicas (força de gel, viscosidade, ponto de gelificação e ponto de fusão), análise termogravimétrica, calorimetria diferencial exploratória, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, microscopia eletrônica de varredura, perfil de aminoácidos e avaliadas em relação ao uso em vários tipos de aplicações alimentícias. Os rendimentos variaram entre 11,63% a 31,23%. A composição centesimal indicou grande potencial para extração de colágeno, com teores de proteínas acima de 84%. O valor energético variou de 3,52 a 3,81 Kcal/g. As gelatinas de robalo apresentaram granulometria de 8 mesh, enquanto a comercial bovina de 10 mesh. Os parâmetros de cor L*, a* e b* indicaram que as gelatinas tenderam ao amarelo claro e se apresentaram mais claras do que a controle (gelatina comercial bovina). O pH esteve na faixa de 4,24 a 4,91. A turbidez variou entre 38,00 % a 85,07 %, enquanto a força de gel classificou todas as gelatinas como de alto bloom. A viscosidade variou de 5,11 cP a 35,61 cP. As temperaturas dos pontos de fusão e gelificação das gelatinas solubilizadas em água destilada (6,67%) foram de 25,83 °C a 28,67 °C e de 17,80 °C a 24,67 °C, respectivamente, onde foi observado que a gelatina T5 apresentou os maiores valores. Os espectros de FTIR das gelatinas obtidas revelaram a presença de todas as bandas (Amida A, B, I, II e III). As morfologias das gelatinas apresentaram formato lamelar. Os termogramas de DSC mostraram que os pontos de fusão das gelatinas liofilizadas aconteceram em temperaturas a partir de 23,6 °C e os termogramas de TGA/DTG denotaram a presença de três eventos endotérmicos, todas apresentaram boa estabilidade térmica. Na análise de componentes principais verifica-se que a extração que utilizou 36 h a 14 °C (T5) foi determinante para obtenção das melhores características reológicas (viscosidade, pontos de fusão e gelificação). A composição dos

aminoácidos para a gelatina com melhores características reológicas (T5) variou de 0,21 g/100 g a 23,84 g/100 g, com predominância da glicina. As gelatinas de bexiga natatória de robalo apresentam potenciais para produção industrial e para uso em diversas aplicações alimentícias, como em sobremesas em geral, chocolates, iogurtes e outros.

Palavras-chave: pescado; colágeno; proteína; hidrocoloide, parâmetros de qualidade; aplicações em alimentos.

ABSTRACT

The development of fish gelatine is an alternative to reduce the waste generated by the fishing industry, thus minimizing environmental impacts. In addition, it presents a quality similar to those of bovine origin (most used in the industry), as well as pork and poultry. However, few studies have evaluated the influence of the gelatine production process on its final properties (gel strength, melting point, gelling point and viscosity). The gelatins were extracted from sea bass swim bladder using 0.5 M acetic acid at five time and temperature combinations: 4 °C for 24 h (T1), 24 °C for 48 h (T2), 4 °C for 24 h (T3), 24 °C for 48 h (T4) and 14 °C for 36 h (T5). The gelatins were lyophilized and characterized by yield, proximate composition, energy value, particle size, pH, turbidity, color, rheological properties (gel strength, viscosity, gelling point and melting point), thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry, spectroscopy in infrared by Fourier transform, scanning electron microscopy, amino acid profile and listed for use in various types of food applications. Yields ranged from 11.63% to 31.23%. The proximate composition indicated great potential for collagen extraction, with protein contents above 84%. The energy value ranged from 3.52 to 3.81 Kcal/g. Sea bass gelatins had a particle size of 8 mesh, while the commercial bovine gelatine had 10 mesh. The color parameters L*, a* and b* indicated that the gelatins tended to light yellow and were lighter than the control (commercial bovine gelatin). The pH ranged from 4.24 to 4.91. Turbidity ranged from 38.00 %T to 85.07 %T while gel strength was rated as high bloom for all gelatins. The viscosity ranged from 5.11 cP to 35.61 cP. The melting and gelling point temperatures of gelatins solubilized in distilled water (6.67%) were 25.83 °C to 28.67 °C and 17.80 °C to 24.67 °C, respectively, where it was observed that T5 gelatin had the highest values. For the Dunnett test, the control used was commercial bovine gelatin. The FTIR spectra of the gelatins obtained revealed the presence of all bands (Amide A, B, I, II and III). The morphologies of the gelatins showed a lamellar shape. The DSC thermograms showed that the melting points of freeze-dried gelatins occurred at temperatures from 23.6 °C and the TGA/DTG thermograms showed the presence of three endothermic events, all of which showed good thermal stability. Principal component analysis showed that extraction using 36 h at 14 °C (T5) was crucial for obtaining the best rheological characteristics (viscosity, melting points and gelling). The amino acid composition for gelatin with better rheological characteristics (T5) ranged from 0.21 g/100 g to 23.84 g/100 g, with a predominance of glycine. Sea bass swim bladder gelatins showed their potential for industrial production and for using in various food applications, such as desserts in general, chocolates, yogurts and others.

Keywords: gelatin; swim bladder; characterization; rheological properties; food applications.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ducto pneumático e bexiga natatória de um peixe teleósteo	27
Figura 2 -	Anatomia externa e bexiga natatória de robalo (<i>Centropomus undecimalis</i>)	29
Figura 3 -	Estrutura polipeptídica do colágeno	31
Figura 4 -	Fontes de colágeno	33
Figura 5 -	Processos de obtenção da gelatina ácida e alcalina a partir do colágeno	40
Figura 6 -	Fluxograma do processo de produção de gelatina comercial	40
Figura 7 -	Esfera cromática CIE Lab	50
Figura 8 -	Processo de obtenção da gelatina de bexiga natatória de robalo	53
Figura 9 -	Gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos, liofilizadas e moídas e gelatina comercial bovina (controle) em pó e sem sabor	73
Figura 10 -	Curvas de viscosidade das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos (T1; T2; T3; T4; T5 e GCB) durante o resfriamento (40 °C a 7 °C) e durante o aquecimento (7 °C a 40 °C)	78
Figura 11 -	(a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T1)	81
Figura 12 -	(a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T2)	81
Figura 13 -	(a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T3)	82
Figura 14 -	(a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T4)	82
Figura 15 -	(a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T5)	82
Figura 16 -	(a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C da gelatina comercial bovina (GCB) ..	83

Figura 17 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T1)	85
Figura 18 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T2)	85
Figura 19 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T3)	85
Figura 20 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T4)	86
Figura 21 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T5)	86
Figura 22 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina comercial bovina (controle).....	86
Figura 23 - Espectros de FTIR das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos (T1, T2, T3, T4 e T5) e da gelatina comercial bovina (GC/controle).	88
Figura 24 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T1	90
Figura 25 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T2	90
Figura 26 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T3	91
Figura 27 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T4	91
Figura 28 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T5	92
Figura 29 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial e final, Tonset e Tendset e ΔH para a gelatina comercial bovina	92
Figura 30 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T1	95
Figura 31 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T2	95

Figura 32 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T3	95
Figura 33 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T4	96
Figura 34 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T5	96
Figura 35 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da gelatina comercial bovina (GCB).....	97
Figura 36 - Micrografias das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina com aproximação de 150x	99
Figura 37 - Micrografias das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina com aproximação de 1000x (a) e 2000x (b)	100
Figura 38 - Espectros EDS da amostra T1.....	101
Figura 39 - Espectros EDS da amostra T2.....	102
Figura 40 - Espectros EDS da amostra T3.....	102
Figura 41 - Espectros EDS da amostra T4.....	103
Figura 42 - Espectros EDS da amostra T5.....	103
Figura 43 - Espectros EDS da gelatina comercial bovina	104
Figura 44 - Análise de Componentes Principais para rendimento, valor energético, composição centesimal, cor, pH, turbidez, ponto de fusão e gelificação, força de gel e viscosidade	105

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Grupos funcionais referentes a estrutura da gelatina e valores de comprimento de onda dos espectros das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)..... 89
- Quadro 2 - Aplicação, características, concentração e funções da gelatina e gelatina extraída de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos que atende a aplicação em produtos alimentícios 110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química de bexigas natatórias	27
Tabela 2 - Tipos de colágenos	31
Tabela 3 - Procedimentos utilizados para extrair gelatina de peixe.....	41
Tabela 4 - Composição química de gelatinas de bexigas natatórias	44
Tabela 5 - Porcentagem média de aminoácidos de gelatinas extraídas de bexigas natatórias	45
Tabela 6 - Pontos de fusão de gelatina de bexiga natatória.....	49
Tabela 7 - Composição centesimal média das bexigas natatórias de robalo in natura	60
Tabela 8 - Rendimento médio das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo em relação ao tipo de tratamento	62
Tabela 9 - Composição centesimal das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	64
Tabela 10 - Valor energético das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	67
Tabela 11 - Granulometria das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina.....	68
Tabela 12 - pH das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	69
Tabela 13 - Parâmetros de cor das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	71
Tabela 14 - Turbidez das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	74
Tabela 15 - Força de gel das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	75
Tabela 16 - Viscosidade das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle) a 25°C	76
Tabela 17 - Ponto de gelificação das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	80
Tabela 18 - Ponto de fusão das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	84

Tabela 19 - Temperaturas inicial, final, onset, endset e de pico e área do pico dos termogramas de DSC das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle).....	93
Tabela 20 - Temperaturas de degradação térmica (Td), perdas de massa (Δw) e resíduos das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina.	98
Tabela 21 - Perfil de aminoácidos do tratamento T5.....	106

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	OBJETIVOS	21
3	REVISÃO DE LITERATURA	22
3.1	Cenário mundial e nacional da indústria pesqueira	22
3.2	Sustentabilidade da indústria pesqueira	23
3.3	Aproveitamento de resíduos de pescado	25
3.4	Bexigas natatórias	26
3.5	Comercialização de bexigas natatórias	28
3.6	Robalo (<i>Centropomus undecimalis</i>)	29
3.7	Colágeno e gelatina: classificação, funções e aplicações	30
3.8	Gelatina de peixe e suas aplicações na indústria alimentícia	35
3.9	Métodos de extração de gelatina e obtenção de isinglass	38
3.10	Rendimento e composição centesimal da gelatina	42
3.11	Composição de aminoácidos e peso molecular	44
3.12	Parâmetros de qualidade da gelatina e suas propriedades funcionais e reológicas	46
3.13	Propriedades sensoriais	49
4	MATERIAL E MÉTODOS	52
4.1	Materiais	52
4.2	Pré-tratamento das bexigas natatórias	52
4.3	Extração do colágeno	53
4.4	Extração da gelatina	54
4.5	Análises realizadas na bexiga natatória, na gelatina de bexiga natatória de robalo e na gelatina comercial bovina (controle)	54
4.6	Caracterização físico-química	54
4.6.1	<i>Rendimento das bexigas natatórias e da gelatina</i>	54
4.6.2	<i>Composição centesimal da bexiga natatória e das gelatinas de bexiga natatória de robalo e comercial bovina (controle)</i>	55
4.6.3	<i>Determinação do valor energético total</i>	55
4.6.4	<i>Determinação granulométrica das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle)</i>	55
4.6.5	<i>Determinação de pH das gelatinas de bexiga natatória e da gelatina comercial bovina</i>	56

4.6.7	<i>Análise de cor</i>	56
4.6.8	<i>Análise de turbidez</i>	56
4.7	Caracterização reológica	56
4.7.1	<i>Força de gel</i>	56
4.7.2	<i>Propriedades viscoelásticas</i>	57
4.7.2.1	<i>Viscosidade, ponto de gelificação (gelling point), ponto de fusão (melting point)</i>	57
4.8	Caracterização dos grupos funcionais	57
4.8.1	<i>Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	57
4.9	Caracterização térmica	58
4.9.1	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	58
4.9.2	<i>Análise termogravimétrica (TGA/DTG)</i>	58
4.10	Caracterização morfológica	58
4.10.1	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	58
4.11	Determinação de aminoácidos	58
4.12	Análise estatística	59
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1	Rendimento e composição das bexigas natatórias	60
5.1.1	<i>Rendimento das bexigas natatórias</i>	60
5.1.2	<i>Composição química das bexigas natatórias</i>	60
5.2	Rendimento e composição centesimal das gelatinas	62
5.2.1	<i>Rendimento das gelatinas</i>	62
5.2.2	<i>Composição centesimal das gelatinas</i>	64
5.3	Valor energético das gelatinas	67
5.4	Determinação granulométrica	68
5.5	Análise de pH	69
5.6	Análise de cor	71
5.7	Análise de turbidez	73
5.8	Caracterização reológica	75
5.8.1	<i>Força de gel</i>	75
5.8.2	<i>Propriedades viscoelásticas</i>	76
5.8.2.1	<i>Viscosidade</i>	76
5.8.2.2	<i>Ponto de gelificação</i>	80
5.8.2.3	<i>Ponto de fusão</i>	83
5.9	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	87

5.10	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	89
5.11	Análise termogravimétrica (TGA/DTG)	94
5.12	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	98
5.13	Análise dos componentes principais	104
5.14	Perfil de aminoácidos da gelatina com as melhores características reológicas ..	106
5.15	Possíveis aplicações das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo	108
6	CONCLUSÃO	113
	REFERÊNCIAS	115

1 INTRODUÇÃO

Os resíduos de peixes, pele, ossos, bexigas natatórias, dentre outros, não são apenas um grande problema ambiental, mas também uma enorme perda econômica. Esse material é altamente rico em nutrientes, principalmente proteínas de alto valor biológico. Como também, podem ser utilizados para a fabricação de gelatina com intuito de apresentar alternativa frente às gelatinas comerciais que são geralmente obtidas de matéria-prima (ossos, peles e tendões) bovina, suína e de aves, que podem causar surtos de encefalopatia espongiforme bovina e febre aftosa (em bovinos), gripe suína e gripe aviária. A gelatina de peixe apresenta também vantagem em relação aos aspectos sociais, sendo um produto acessível e permitido para judeus e muçulmanos (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015, AHMAD; BENJAKUL, 2010, JONGJAREONRAK *et al.*, 2005).

A situação acima tem despertado um crescente interesse pela produção de gelatina de pescado, que tem se mostrado mais eficaz e extremamente relevante para o aproveitamento de resíduos de pescado. Estima-se que no processamento de pescado, o resíduo após filetagem é cerca de 30 % a 70 % do peso total para algumas espécies, chegando a 80% para outros tipos de processamento (COPOLLA *et al.*, 2021; JOSEPH *et al.*, 2019).

O desenvolvimento de uma gestão sustentável de resíduos pesqueiros se faz necessário para que a cadeia pesqueira apresente recursos para reutilização desse material, contribuindo para a geração de produtos de alto valor agregado. Uma das inúmeras formas de aproveitamento é a extração de colágeno e produção de gelatina de pescado.

O colágeno é a principal proteína estrutural do reino animal (COLE, 2000) e é caracterizado pelos altos teores de glicina, prolina e hidroxiprolina. Seu processo de extração compreende o uso de soluções salinas, ácidas, alcalinas e/ou enzimáticas, que após hidrólise parcial, é aquecido e convertido em gelatina (COSTA *et al.*, 2020), sendo empregada de diversas formas nas indústrias alimentícia, médica, farmacêutica, principalmente, por conta de sua alta taxa de absorção pelo organismo e biodisponibilidade (GRAND, 2020).

A principal fonte de colágeno de origem aquática é através do reuso de ossos, pele, escamas, bexiga natatória e nadadeiras (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Em específico, as bexigas natatórias têm sido reconhecidas como material substituto e promissor para extração de colágeno e produção de gelatina.

A gelatina de bexigas natatórias possui boas propriedades físicas, reológicas (força de gel, ponto de fusão, ponto de gelificação e viscosidade) e é denominada de “*isinglass*” (HICKMAM *et al.*, 2000), sendo constituída predominantemente de colágeno. Além disso, se

mostra como opção para o aproveitamento integral dos recursos pesqueiros disponíveis, elevando os lucros das indústrias processadoras de pescado e a redução do descarte de resíduos.

Na indústria alimentícia, a gelatina extraída de bexiga natatória é utilizada para clarificar bebidas alcoólicas, especialmente vinhos, além de inúmeras aplicações em outros alimentos, a fim de conferir propriedades de elasticidade, consistência e estabilidade (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2002). Também pode ser utilizada para melhorar as propriedades de mastigabilidade, textura e estabilização de espuma, entre outras aplicações (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

Por esses motivos, alguns estudos como os de Kanwate e Kudre (2017), Koli (2019), Maia-Pinheiro, Nunes e Bomfim (2015) e Kolotova e Petrova (2020) têm se dedicado à determinação das características da gelatina de pescado. Considera-se, ainda, que a maioria dos estudos sobre gelatina de pescado dirige-se somente à análise de suas diferentes propriedades quando comparada à gelatina de mamíferos (especificamente bovina) ou entre as diferentes espécies de peixes. No entanto, poucos trabalhos são voltados para a determinação da influência do processo de obtenção da gelatina em suas propriedades finais (força de gel, ponto de fusão, ponto de gelificação e viscosidade).

E dentre os peixes com potencial para exploração da extração da gelatina destaca-se o robalo. O robalo é um peixe nobre e de alto valor comercial (LIELB *et al.*, 2016), além de ser o maior representante da família Centropomidae, podendo alcançar 25 kg (AQUACULTURE BRASIL, 2017) e sua ocorrência é mais comum no Nordeste brasileiro (SZPILMAN, 2000). Apresenta uma bexiga natatória espessa e resistente.

Diante dos fatos apresentados e por não haver dados na literatura sobre gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (*Centropomus undecimalis*), objetivou-se elaborar gelatinas de bexigas natatórias (*isinglass*) de robalo e caracterizar as mesmas quanto às propriedades físico-químicas, colorimétricas, reológicas, térmicas, morfológicas, espectroscópicas, seu perfil de aminoácidos e avaliar as possíveis aplicações alimentícias de cada gelatina obtida.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Elaborar e caracterizar gelatinas extraídas a partir de bexiga natatória do peixe robalo (*Centropomus undecimalis*).

2.2 ESPECÍFICOS

Extrair gelatina da bexiga natatória de robalo em diferentes tempos e temperaturas; Avaliar os rendimentos e a composição centesimal das bexigas natatórias e das gelatinas;

Destacar a influência dos parâmetros de extração (tempo/temperatura) nas propriedades das gelatinas;

Calcular o valor energético total das gelatinas;

Determinar a granulometria das gelatinas;

Realizar estudo físico-químico (pH e turbidez) e colorimétrico;

Determinar as propriedades reológicas (força de gel, viscosidade, ponto de gelificação e ponto de fusão) das gelatinas;

Caracterizar termicamente as gelatinas através da análise termogravimétrica (TGA), da calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Investigar os grupos funcionais presentes nas gelatinas através da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR);

Avaliar a morfologia das gelatinas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV);

Identificar e quantificar os aminoácidos presentes na gelatina com as melhores características reológicas;

Elencar as possíveis aplicações das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo de acordo com suas características.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cenário mundial e nacional da indústria pesqueira

O setor de pesca e aquicultura expandiu-se significativamente nas últimas décadas e a produção, comércio e consumo totais alcançaram um recorde histórico em 2018, onde foram produzidas 179 milhões de toneladas de pescado no mundo. A produção total de pesca de captura atingiu o nível mais alto já registrado, 96,4 milhões de toneladas, esse aumento foi impulsionado, principalmente, pela pesca de captura marinha, onde a produção aumentou para 84,4 milhões de toneladas. Já a produção mundial de peixes de aquicultura, no mesmo ano, atingiu 82,1 milhões de toneladas, onde foi dominada em primeiro lugar por peixes, seguido de moluscos e crustáceos (FAO, 2020).

Dentre os países produtores de pescado, a China lidera o ranking da produção de pescado, sendo responsável por 35% da produção total, ficando o Brasil na 13ª posição na produção de peixes de cativeiro com 0,22 milhões de toneladas e o 8º lugar na produção de peixes de água doce, com 528,1 mil toneladas (SEAFOODBRASIL, 2020). O Brasil já foi considerado o país com maior potencial para o desenvolvimento da pesca e aquicultura (EMBRAPA, 2020). Destaca-se que não existem estatísticas nacionais atualizadas sobre o volume de pescas marinha e continental no Brasil desde 2014 (XIMENES, 2021).

Cerca de 87% da produção mundial de pescado foi destinada ao consumo humano, o que representa uma mudança significativa no uso do pescado desde a década de 1960, quando grande parte era utilizado para a produção de farinha e óleo de peixe. Hoje, esses produtos provêm de subprodutos do processamento do pescado. Esse melhor emprego reflete no maior consumo per capita de pescado mundial, que bateu recorde de 20,5 kg/pessoa/ano em 2018 (EMBRAPA, 2020; PERRET, 2020).

Segundo o anuário brasileiro da piscicultura (PEIXEBR, 2020), em 2019, as importações provenientes da piscicultura totalizaram 322.138,25 toneladas e as exportações chegaram a 6.543 toneladas, sendo o segundo segmento mais importante na categoria. Destas, 0,67 toneladas foram de subprodutos próprios para alimentação humana, onde inclui-se as bexigas natatórias. Os dados brasileiros são levantados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), sendo contabilizados somente os dados de piscicultura, as produções oriundas da pesca extrativa não são objeto do levantamento (VIDAL; XIMENES, 2019).

Mais de 70% do total do pescado capturado é submetido a um processamento antes de ser colocado no mercado (HOU et al., 2016), resultando assim na produção de grandes

quantidades (aproximadamente 20-80%) de resíduos de peixe, na qual depende do tipo de processamento (evisceração, escamação, filetagem) e das espécies utilizadas, porque cada espécie tem uma composição específica, tamanho e forma (ARNAUD; DE LAMBALLERIE; POTTIER, 2017; TOMS *et al.*, 2019).

Essas operações geram descartes que incluem principalmente aparas de músculos (15–20%), pele e barbatanas (1–3%), ossos (9–15%), cabeças (9–12%), vísceras (12–18%) e escamas (5%) (MARTÍNEZ-ALVAREZ; CHAMORRO; BRENES, 2015).

Atualmente as perdas de peixes pós-captura representam uma grande preocupação econômica e ambiental pois geram grandes quantidades de peixes que entre o desembarque e o consumo são perdidos ou descartados (FAO, 2016). Segundo Copolla *et al.* (2021), é importante destacar que hoje em dia a expansão do consumo é impulsionado não apenas pelo aumento da produção, mas também por diferentes fatores, incluindo a redução do desperdício.

A grande quantidade de subprodutos de processamento envolve desafios ambientais e técnicos significativos devido à sua alta carga microbiana e enzimática e sua suscetibilidade à rápida degradação, a menos que sejam processados ou armazenados adequadamente (FAO, 2020; SINGH; BENJAKUL, 2018). Os resíduos de processamento de peixe assim gerados necessitam de tratamento e/ou utilização adequados para minimizar a poluição ambiental (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015).

3.2 Sustentabilidade da indústria pesqueira

Políticas de gestão sustentável são necessárias para que haja um controle do aproveitamento integral de peixes e uma diminuição na quantidade de desperdício durante toda a cadeia da pesca, promovendo também a segurança alimentar e higiene em todo o processamento.

Isto já vem sendo feito na União Europeia através das regras da Política Comum de Pesca (EU-PCP) e Crescimento azul que são implementadas especificamente na cadeia de processamento pesqueira e na exploração dos mares e oceanos, a fim de promover a bioeconomia circular, ou seja, um sistema regenerativo no qual a entrada de recursos, o desperdício, a emissão e o vazamento de energia são minimizados através da utilização de novas tecnologias com o propósito de criar produtos inovadores, com alto valor agregado e mais sustentáveis em um ciclo fechado (GEISSDOERFER *et al.*, 2017, STEGMANN; LONDO; JUNGINGER, 2020).

As regras do EU-PCP promoverão um aumento na quantidade de resíduos nos próximos anos, pois requer a obrigação do desembarque de todas as espécies capturadas, mesmo aquelas que não podem ser usadas para consumo direto e estão em extinção, evitando o grande desperdício de uma rica biomassa de peixes por meio da devolução de peixes (CHING-VELASQUEZ *et al.*, 2020), por isso a busca por inovações na reutilização de resíduos é importante. Estima-se que cerca de 25% de todos os peixes capturados nunca irão chegar ao mercado e que quase 27 milhões de toneladas de peixes indesejados são jogados novamente ao mar, e muitos não sobrevivem (COPOLLA *et al.*, 2021).

No Brasil, ainda não foi adotada nenhuma estratégia mais efetiva que vise a implementação da economia circular como política pública, sendo o marco regulatório brasileiro, em relação à questão dos resíduos, a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), estabelecida pela Lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010 (COSENZA, ANDRADE; ASSUNÇÃO, 2020).

Essa lei considera as principais diretrizes de sustentabilidade e entre seus princípios e instrumentos salienta-se a responsabilidade compartilhada pelo ciclo de vida do produto e pela logística reversa, elos essenciais para viabilizar a reintegração de resíduos em um novo ciclo econômico (BRASIL, 2010).

Em 2015, o Brasil junto a outros Estados-membros da ONU adotaram o documento ‘Transformando o Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável’, onde em um plano de ação se comprometeu a tomar medidas transformadoras para promover o desenvolvimento sustentável até 2030.

O plano indica 17 objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS) que são integrados e indivisíveis, e mesclam, de forma equilibrada, as três dimensões do desenvolvimento sustentável: a econômica, a social e a ambiental para toda a sociedade (AGENDA2030, 2021), onde podemos destacar para a presente pesquisa, pelo menos, quatro ODS: o que visa o consumo e produção responsáveis (ODS 12), a vida na água (ODS 14), indústria, inovação e infraestrutura (ODS 9) e fome zero (ODS 2).

Nesse contexto, as estratégias de valorização dos descartes e subprodutos de pescado poderiam contribuir para o crescimento econômico. Segundo Copolla *et al.* (2021), da mesma forma, novos usos para resíduos de peixes podem aliviar os custos associados à cadeia de processamento, reduzindo o enorme impacto ambiental e problemas associados à grande quantidade de resíduos.

3.3 Aproveitamento de resíduos de pescado

Devido ao constante aumento no consumo de pescado, chegando a 20,5 kg/per capita (FAO, 2020), em 2018, os peixes representaram aproximadamente cerca de 20% da ingestão média per capita de proteína animal pela população global, chegando a 50% em países africanos e asiáticos e 7% de todas as proteínas consumidas no mundo (BONFANETO, 2021).

Uma dieta à base de peixe tem um enorme impacto nutricional positivo, desempenhando também um papel importante na correção de dietas desequilibradas e no combate à obesidade. Na verdade, além de ser uma fonte rica em proteínas de alta qualidade contendo todos os aminoácidos essenciais, os peixes fornecem: (a) gorduras essenciais, como ácidos graxos ômega-3 de cadeia longa, (b) vitaminas, como D, A e B, e (c) minerais, incluindo cálcio, iodo, zinco, ferro e selênio (COPOLLA *et al.*, 2021), que trazem benefícios para a saúde na proteção contra doenças cardiovasculares, e ajudam o desenvolvimento do cérebro e do sistema nervoso fetal e infantil (FAO, 2016).

Estimativas da Organização das Nações Unidas (ONU, 2020), a população mundial chegará a 9,7 bilhões de pessoas em 2050, o que representa 2 bilhões a mais que 2020. Segundo Ximenes (2021), alimentar esta população é um desafio importante e não basta apenas aumentar a produtividade, a sustentabilidade das atividades é crucial para atendimento da demanda futura por alimento.

Nesse contexto, há uma crescente atenção aos usos alternativos de subprodutos de peixes que possam desempenhar um papel importante no crescimento econômico e no desenvolvimento sustentável. Vários estudos têm sido relatados para analisar possíveis formas de uso desses subprodutos, pois são ricos nutricionalmente devido aos seus altos teores de proteína, representando uma importante fonte promissora de novos produtos com alto valor agregado, sendo usados de forma mais eficiente como resultado de melhores tecnologias de processamento (AL KHAWLI *et al.*, 2019).

Os estudos já relatam amplamente métodos disponíveis para extração de biocompostos provenientes dos resíduos de pescado, por exemplo, colágeno, peptídeos, quitina, ácidos graxos poliinsaturados, enzimas e entre outros, adequados para aplicações biotecnológicas ou farmacêuticas com alto valor de mercado (COPOLLA *et al.*, 2021). Os principais resíduos utilizados como fonte de produção de colágeno e gelatina são cabeças, peles, escamas e bexigas natatórias (LIMA; MUJICA; LIMA, 2012).

O colágeno/gelatina extraídos de resíduos de peixes, especificamente de bexigas natatórias, veem sendo estudado de maneira ampla e em diversos segmentos por apresentarem características funcionais mais interessantes do que o extraído de outras fontes (bovina, suína, de aves).

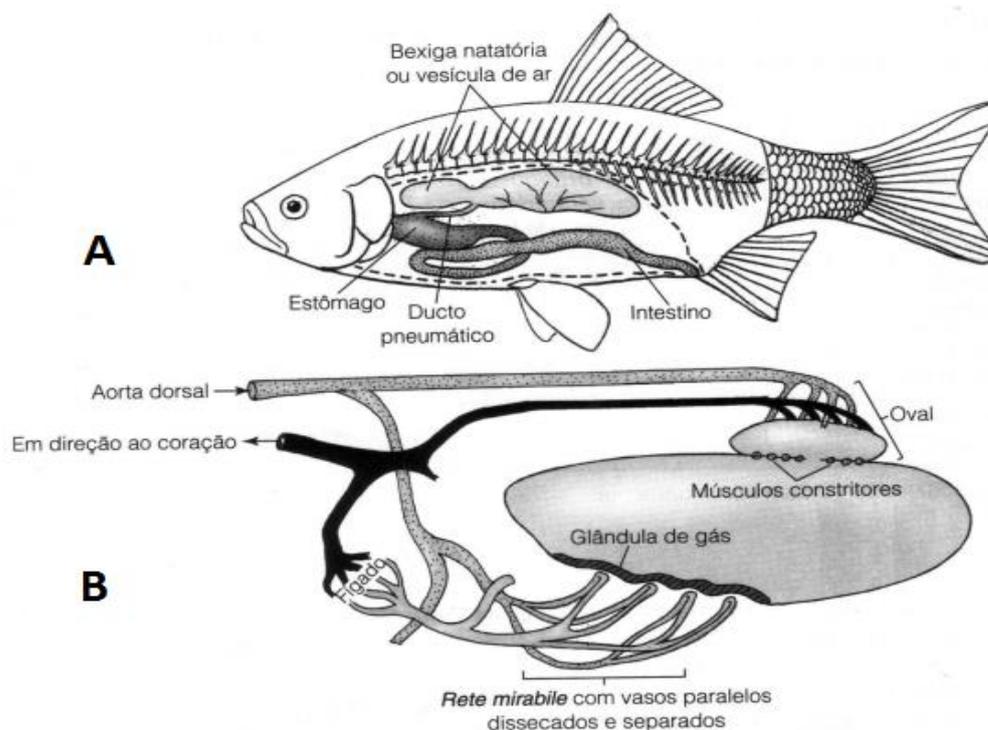
Dentre as várias formas de aplicação do colágeno/gelatina extraída de bexiga natatória de peixe podemos citar por exemplo na utilização em embalagem ativa (ZHOU *et al.*, 2020), melhoria das propriedades funcionais (OLIVEIRA *et al.*, 2019), desenvolvimento de películas antimicrobianas para uso em cicatrização de feridas (HOWAILI *et al.*, 2020), prevenção de colite ulcerativa (DAI *et al.*, (2020), influência do tipo de secagem nas propriedades funcionais (KANWATE; RAJASHEKHAR; KUDRE, 2018) e avaliação das propriedades reológicas (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015). Inúmeros outros estudos demonstram e criam inovadoras maneiras de emprego de colágeno/gelatina extraídas de bexiga natatória, ajudando para minimização do descarte desse tipo de material.

3.4 Bexigas natatórias

A bexiga natatória, consiste em dois sacos cheios de gás na porção dorsal do peixe, embora em algumas espécies primitivas, haja apenas um único saco. Possui paredes flexíveis que se contraem ou se expandem de acordo com a pressão do ambiente, contendo poucos vasos sanguíneos e são revestidas com cristais de guanina, que as tornam impermeável a gases (PELSTER, 2001).

Ajustando a pressão do gás dentro da bexiga, o peixe pode obter flutuabilidade neutra, subir e/ou descer em uma grande variedade de profundidades. Para esse controle de flutuação uma conexão é mantida entre a bexiga natatória e o intestino, o ducto pneumático, permitindo que os peixes encham a bexiga, retirando o oxigênio do ambiente (Figura 1) (PELSTER, 2001).

Figura 1. Ducto pneumático e bexiga natatória de um peixe teleósteo



Fonte: Pough et al., 2008.

A) Anatomia parcial interna de um peixe teleósteo (ducto pneumático, bexiga natatória, estômago e intestino).

B) Bexiga natatória e sua irrigação sanguínea.

Em culturas asiáticas, as bexigas são consideradas iguarias alimentícias. Na China normalmente são conhecidas como bucho de peixe e consumidas cozidas em vapor ou ensopadas, além de serem fonte de colágeno (KAEWDANG, 2015).

A composição centesimal das bexigas *in natura* de três espécies de peixe pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química de bexigas natatórias

Fonte da bexiga natatória	Umidade (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	Cinzas (%)
Carpa (Chandra e Shamasundar, 2015)	73,3	20,8	-	3,3
Bagre (Maia-Pinheiro, Nunes e Bomfim, 2015)	63,8	32,7	1,5	1,8
Esturjão (Koochekian, Ghorban e Yousefi, 2006)	65,0	32,0	2,5	0,5

Fonte: Elaborado pela autora.

As bexigas de algumas espécies de peixes marinhos são utilizadas para a preparação de agentes de aglutinação, referido como *isinglass* (TAYLOR, 1997). As bexigas natatórias também compõem os resíduos gerados na indústria pesqueira. A obtenção de *isinglass* e suas aplicações serão detalhadas mais adiante (seção 3.5).

3.5 Comercialização de bexigas natatórias

Conhecidas popularmente como grude ou bucho, as bexigas natatórias das espécies pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), pescada branca (*Cynoscion leiachus*) e gurijuba (*Arius parkeri*) vêm sendo comercializadas informalmente no litoral do Estado do Maranhão e em outros Estados como o Pará e o Amapá. Segundo os pescadores, essas vísceras são levadas para Belém (PA) de onde são exportadas para diversos países como China, Japão e Alemanha (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Em 2011, a cadeia produtiva chegou a movimentar milhares de reais no município de Vigia-PA e a exportação de grude (denominação para as bexigas natatórias secas) chegou a mais de 200 toneladas, obtendo-se um faturamento de mais de R\$ 200 milhões nos portos do Pará e Amapá e em 2014, os valores das bexigas natatórias chegaram a ser maiores do que o próprio peixe inteiro. Na rota final do mercado do produto, alguns países chegaram a pagar R\$ 300,00 pelo quilo, enquanto o quilo do peixe inteiro era vendido entre R\$ 2,00 e R\$ 2,50 (COELHO, 2014).

De acordo com Medeiros (2019), os valores variam de acordo com o tamanho dos “grudes”, sendo observados valores de R\$ 2.000/kg (tamanho GG), R\$ 1.600/kg (tamanho M) e R\$ 1.300/kg (tamanho P) para a bexiga natatória seca e o valor de R\$ 900/kg para a bexiga natatória fresca.

A composição das bexigas natatórias é predominantemente formada de colágeno (LEATHER *et al.*, 1994) e esse colágeno é a base para produção de gelatina. A Figura 2 apresenta a bexiga natatória do peixe robalo (*Centropomus undecimalis*).

Figura 2 - Anatomia externa e bexiga natatória de robalo (*Centropomus undecimalis*)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: a) Anatomia externa e bexiga natatória de robalo e b) Bexiga natatória de robalo ainda acoplada à cavidade abdominal.

3.6 Robalo (*Centropomus undecimalis*)

A espécie *Centropomus undecimalis* é conhecida por robalo-flecha ou camurim, como é conhecido no nordeste brasileiro, tem sua ocorrência na região costeira do sudeste da Flórida, Estados Unidos, até o Rio de Janeiro, Brasil (CERVIGÓN *et al.*, 1992).

É uma espécie estenotérmica, apresentando conforto térmico em temperaturas entre 25 °C e 30 °C, sendo encontrado em águas marinhas, estuarinas, em menor escala, em

água doce (OSTINI *et al.*, 2007; AMARAL *et al.*, 2009; CORRÊA *et al.*, 2010, RIVAS, 1986). Prefere águas calmas, barrentas e sombreadas, e ficam próximos ao fundo, alimentando-se de pequenos peixes e crustáceos (principalmente camarões e caranguejos) (FARIAS, 2017).

O *Centropomus undecimalis* é uma espécie hermafrodita protândrica que pode atingir até 1,2 m de comprimento total e 25 kg de peso corporal, apresentando coloração acinzentada no dorso, com reflexos esverdeados, e ventre esbranquiçado, possui uma linha lateral formada por uma listra longitudinal negra que se estende ao longo do corpo até o final da nadadeira caudal. (AGRO20, 2021; CARVALHO-FILHO, 1992).

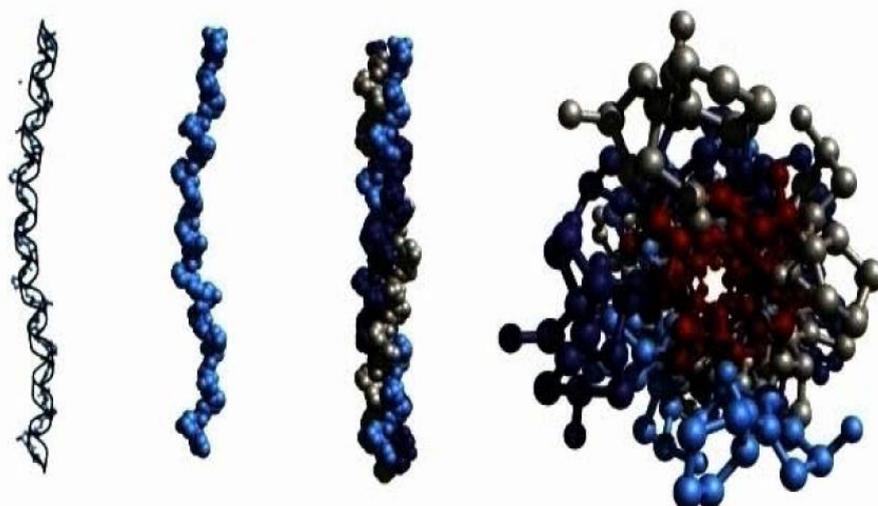
O robalo é um peixe nobre e de alto valor comercial (LIELB *et al.*, 2016), sendo capturado, em maior quantidade, nos meses de novembro e dezembro, através de barcos motorizados, em pescarias com linha de-mão, rede-de-espera, rede-de-arrasto, caniço, bem como tarrafa nas águas rasas dos estuários. (PESCA, 2019; XIMENES-CARVALHO, 2006). Em um levantamento preliminar, foi observado que a bexiga natatória do robalo era espessa e bem resistente, dessa forma se mostrando propício para a extração de colágeno e produção de gelatina.

3.7 Colágeno e gelatina: classificação, funções e aplicações

O colágeno é a principal proteína do reino animal, tem estrutura fibrosa que forma cadeias peptídicas que são organizadas de forma paralela a um eixo, formando as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura presente (COLE, 2000).

A estrutura da molécula de colágeno é formada por uma hélice tripla que inclui três correntes distintas estabilizadas por ligações de hidrogênio (FIGURA 3), caracterizada por altos percentuais de glicina (33%), e os aminoácidos prolina e hidroxiprolina (22%) e formada por uma cadeia de polipeptídios que compreende cerca de 1.050 aminoácidos (HARRIS; NORMANDI; NORTON, 2003; SCHRIEBER; GAREIS, 2007; WOLF, 2003).

Figura 3 - Estrutura polipeptídica do colágeno



Fonte: Lehninger, Nelson e Cox (2002).

Até 2016, foram identificados 29 tipos genéticos distintos de colágeno, nove deles são frequentemente disponíveis, incluindo os colágenos dos tipos I, II, III, IV, V, VII, IX, XI e XII e podem ser divididos em tipos fibrilares e colágenos não fibrilares, sendo que os tipos fibrilares (I, II e III) são os colágenos mais abundantes e os mais conhecidos (FAUZI *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2017), como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Tipos de colágenos

Descrição	Classificação do colágeno	
	Tipo	
Tipo I	Ocorre, principalmente, no tecido conjuntivo, como a pele, ossos e tendões.	
Tipo II	Ocorre exclusivamente em tecido cartilaginoso.	
Tipo III	É fortemente dependente da idade: a pele de peixes muito jovens podem conter até 50%, mas no decorrer do tempo, esta será reduzida para 5-10%.	
Outros tipos	Os outros tipos de colágeno estão presentes em quantidades muito baixas apenas em alguns órgãos específicos.	

Fonte: Schrieber e Gareis (2007).

O colágeno em sua forma bruta, na forma de fibras, pode ser submetido à hidrólise, que leva à produção da gelatina e do colágeno hidrolisado (WALRAND *et al.*, 2008, WOLF, 2009). Segundo Montero e Gómez-Guillén (2000), o colágeno e a gelatina são diferentes formas da mesma macromolécula.

O processo de transformação de colágeno em gelatina envolve três alterações na estrutura: ruptura de um número limitado de peptídeos, ruptura ou desorganização das ligações entre as cadeias laterais e mudança na configuração da cadeia (BOSCH; GIELENS, 2003). Essas três cadeias não são idênticas e depois da degradação resultam em três tipos novos de

cadeias: a cadeia α (composta de apenas uma cadeia peptídica), as cadeias β (formadas por duas cadeias peptídicas entrelaçadas) e as cadeias γ (formadas por três cadeias interconectadas).

O colágeno é desnaturado na presença de ácidos ou bases diluídas e convertido em uma proteína solúvel como a gelatina quando solubilizado em soluções aquecidas, podendo ser utilizado em indústrias farmacêuticas, fotográfica e alimentícia (DAMODARAN et al., 2010, HICKMAN et al., 2000).

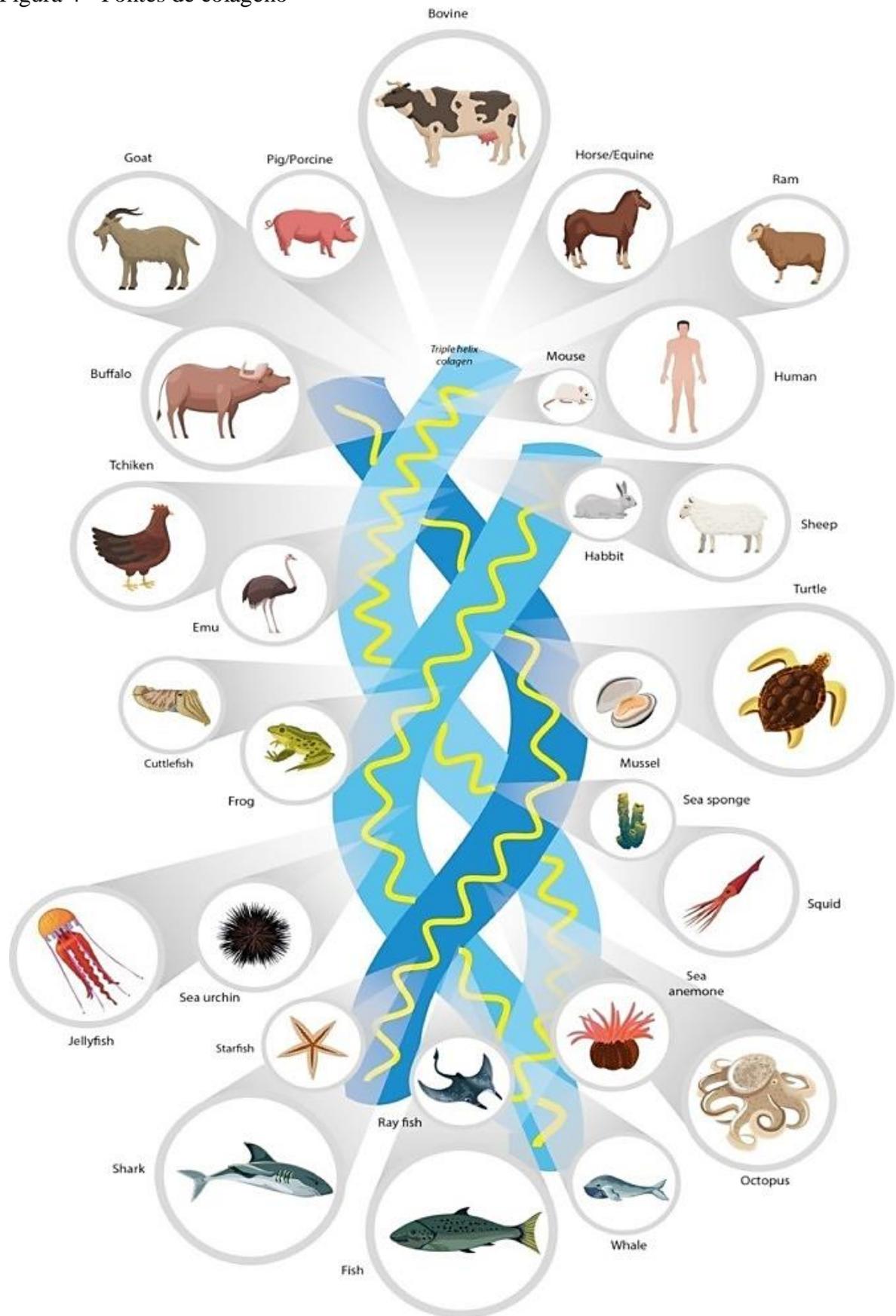
A característica mais relevante do colágeno hidrolisado é a sua composição de aminoácidos, com um alto nível de glicina e prolina, dois aminoácidos essenciais para a estabilidade e a regeneração das cartilagens (WALRAND *et al.*, 2008), podendo ser obtido de diversas espécies animais (bovinos, suínos, aves, peixes). No Brasil, a maior parte do colágeno é advindo dos subprodutos da indústria cárnea, em função da elevada produção brasileira de carne para exportação (SILVA; PENNA, 2012) porém pode ser obtido de diversos animais (FIGURA 4).

O colágeno de peixes se sobressai ao colágeno convencional bovino devido à sua alta taxa de absorção e biodisponibilidade. Na indústria alimentícia seu maior uso tem sido nas formas de estabilizante e gelificante (GRAND, 2020).

O mercado de colágeno de peixes gerou US \$ 1,82 bilhões em 2019, a perspectiva de crescimento anual é de aproximadamente 7% entre 2021 e 2027, chegando a US \$ 3,01 bilhões. O crescimento desse mercado se dá pela expansão da indústria de alimentos, de bebidas e médica (GLOBE, 2021).

Assim como o colágeno, a gelatina é composta de 18 aminoácidos diferentes que estão unidos por ligações peptídicas, cujo peso molecular médio varia entre 20.000 a 250.000 Daltons, dependendo do grau de hidrólise do colágeno. Tem como característica peculiar o alto conteúdo de glicina, hidroxiprolina e prolina e deficiência em aminoácidos sulfurados. Não é uma proteína completa, pois o aminoácido essencial triptofano não está presente (SAGMA, 2004).

Figura 4 - Fontes de colágeno



Fonte: Oliveira *et al.*, 2021.

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produto de Origem Animal - RIISPOA, artigo nº 348 (BRASIL, 2017), gelatina de pescado é o produto obtido a partir de proteínas naturais solúveis, coaguladas ou não, obtidas pela hidrólise do colágeno presente em tecidos de pescado como a bexiga natatória, os ossos, as peles e as cartilagens.

E seus parâmetros físico-químicos devem seguir os padrões abaixo:

- a) cinzas: máximo de 2,0%;
- b) SO₂ (dióxido de enxofre): máximo de 10 ppm;
- c) arsênio: máximo de 1ppm;
- d) chumbo: máximo de 5 ppm;
- e) cádmio: máximo de 0,5 ppm;
- f) mercúrio: máximo de 0,15 ppm;
- g) cromo: máximo de 10 ppm;
- h) cobre: máximo de 30 ppm;
- i) zinco: máximo de 50 ppm;
- j) nitrogênio: mínimo de 15%;
- k) pH: 4,5 a 6,5; e
- l) H₂O₂ (peróxido de hidrogênio): máximo de 10 ppm.

A gelatina é uma substância translúcida, incolor ou amarelada, praticamente insípida e inodora. É uma proteína coloidal nitrogenada, cujo valor principal está nas suas propriedades coagulantes, protetoras e adesivas. É obtida pela hidrólise do colágeno em que as ligações moleculares naturais entre fibras separadas de colágeno são quebradas, permitindo o seu rearranjo (ANDRADE; SANTOS; COELHO, 2014).

A gelatina é uma importante proteína com inúmeras aplicações, particularmente nas indústrias farmacêutica, fotográfica e alimentícia, sendo utilizada na produção de filmes fotográficos, colas, cápsulas, geleias, doces, cremes, vinhos (clarificação), gelatina para sobremesa, entre outros. Seu perfil tecnológico deve-se às suas características físicas e químicas, dentre as quais a habilidade de formar géis termicamente reversíveis, o que compõe suas exclusivas propriedades funcionais e tecnológicas. Na indústria de alimentos, pode ser usada como ingrediente para melhorar a elasticidade, consistência e estabilidade de alimentos (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2002).

A gelatina comercial é geralmente obtida a partir de matérias-primas animais, como pele/ossos/tendões de bovinos, suínos e de aves. Essas matérias-primas comumente usadas podem apresentar eventuais problemas como Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB), febre aftosa, gripe suína e aviária, além dos aspectos sociais e religiosos

(judeus/kosher, mulçumanos/halal) devido a não ingestão de produtos e subprodutos derivados de bovinos e suínos (AHMAD; BENJAKUL, 2010; CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015; JONGJAREONRAK et al., 2005; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004a; SADOWSHA; KOLODZIEJSKA; NIECIKOWSKA, 2003; YANG et al., 2007). Desta forma, a indústria está sempre à procura de matérias-primas alternativas e nesse sentido, peles, ossos e, especificamente, bexigas natatórias de peixes têm sido reconhecidas como uma opção promissora para extração de gelatina.

Apesar da gelatina de peixe ser estudada desde 1950, a maioria dos estudos referem-se à gelatina de mamíferos e, somente nos últimos anos, estudos mais intensivos foram realizados em gelatina de peixe e começaram a aparecer na literatura (SCHRIEBER; GAREIS, 2007). A pesquisa realizada por Nagai e Suzuki (2000) relata que o conteúdo de colágeno na pele de peixes robalo, cavala, tubarão e bagre em base seca, foram de 51,4%, 49,8% e 50,1%, respectivamente, o que pode refletir um bom rendimento de produção de gelatina de peixe.

Demonstrado assim que a fabricação de gelatina de peixe é uma alternativa em potencial e valiosa, pois além dos problemas supracitados, as peles, ossos e bexigas natatórias também podem ser transformados em gelatina, contribuindo para encontrar solução para o problema da eliminação dos resíduos, bem como, a criação de um produto com valor agregado.

3.8 Gelatina de peixe e suas aplicações na indústria alimentícia

As bexigas natatórias como fontes de colágeno têm várias vantagens em comparação com outros subprodutos de origem animal. Em bexigas natatórias de peixes comerciais o colágeno pode chegar ao teor de 83% (HICKMAN et al., 2000), enquanto em peles, ossos, nadadeiras e escamas geralmente entre 30 e 51% (NAGAI; SUZUKI 2000).

As bexigas natatórias são utilizadas para a produção de gelatina, com propriedades físicas e reológicas (força de gel, viscosidade) com denominação particular, chamada de “*isinglass*”, que é uma substância constituída predominantemente de colágeno, oriunda de peixes tropicais, e facilmente solúvel em ácidos orgânicos, podendo ser utilizado para clarificar bebidas alcoólicas, especialmente vinhos, além de conferir propriedades de elasticidade, consistência e estabilidade em alimentos (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002; HICKMAN et al., 2000).

O *isinglass* é obtido a partir de bexigas natatórias de diversas variedades de esturjão (*Acipenser huso* ou Beluga, *A. ruthenus* ou Sterlet, *A. sturio* ou Esturjão comum, *A. stellatus* ou Esturjão favorito), bagre (*Glanissilurus*) e carpa (*Cyprinus carpio*). Na Venezuela e no Brasil o *Siluridae*, conhecido como bagre é a principal fonte de isinglass (TRESSLER; LEMON, 1951). Também são utilizados peixes tropicais e subtropicais na Ásia e na América do Sul, como o *Sciaenidae* conhecido com “pescada” (WALKER; CAMARENA; FREEMAN, 2007).

A gelatina de bexiga natatória é utilizada, principalmente, para melhorar a mastigabilidade, textura e estabilização da formação de espuma, entre outras aplicações (SCHRIEBER; GAREIS, 2007), pode contribuir para enriquecimento do conteúdo proteico dos alimentos sendo utilizada como filme externo (LEUENBERGER, 1991).

A utilização da cola de peixe ou gelatina como clarificante possui origem muito longínqua, existem relatos da sua aplicação na clarificação da cerveja em meados de 1800, onde tradicionalmente, era adicionada nos barris, ocasionando a floculação e sedimentação de células de levedura, partículas insolúveis e material coloidal, sendo removidos por filtração, clarificando assim a bebida. É oferecida para a indústria como um pó fino, uma pasta ou como um líquido altamente viscoso (HICKMAN *et al.*, 2000; LEATHER *et al.*, 1994).

O uso mais importante do *isinglass* é na clarificação de vinho, sendo um processo considerado simples, onde é hidratado em água e, em seguida, adicionado ao vinho com um pouco de ácido tartárico até que fique quase transparente (TRESSLER; LEMON, 1951).

A clarificação de vinhos e sucos elimina substâncias que causam turbidez ou adstringência no vinho e podem influenciar de maneira negativa tanto o sabor quanto a aparência; além de que em uma pré-clarificação de sucos, o uso de isinglass pode aumentar a eficiência das centrífugas instaladas na produção de fábricas modernas. Partículas que causam turbidez, devido às suas cargas elétricas opostas, agregam-se então umas às outras e podem ser facilmente removidas. Se necessário, o tratamento com gelatina pode ser melhorado pela adição de bentonita. Isto faz com que vinhos e sucos ganhem o grau de brilho desejado (GELITA, 2017).

Os clarificantes mais utilizados em sucos de frutas são a bentonita, a sílica sol e a gelatina, sendo esta última o mais importante auxiliar para a floculação da matéria em suspensão em sucos de frutas. A gelatina é conhecida por atuar sobre a pectina, enquanto a bentonita e a sílica sol por atuarem sobre as proteínas existentes nos sucos a serem clarificados. Portanto, a utilização da gelatina em conjunto com a bentonita e sílica sol é mais efetiva no

que tange à diminuição do teor de pectina e da viscosidade, em comparação com o uso desses agentes de forma isolada (ALBUQUERQUE, 2009).

A gelatina possui vários papéis funcionais no processamento de alimentos que podem ser divididos em dois grupos. O primeiro é associado com as propriedades de gelificação da gelatina, como a força do gel, gelificantes, temperaturas de fusão, viscosidade, espessamento, texturização, e ligação com a água. Já o segundo grupo refere-se ao comportamento da gelatina como, a formação de emulsão, estabilização, a função de colóide protetor, a formação de espuma, formação de filme, e adesão/coesão (KARIM; BHAT, 2009; SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

A gelatina de peixe tem sido destacada como a melhor alternativa frente as gelatinas de mamíferos, particularmente com qualidades tais como um ponto de fusão mais alto, dissolução mais rápida na boca e sem sabor residual, no entanto, sua produção tem contribuído com apenas cerca de 1% da produção mundial de gelatina anualmente (ARNESEN; GILDBERG, 2007).

Um diferencial da gelatina de peixe é que esta pode ser considerada alimento halal e kosher, alimentos permitidos para as religiões islâmica e judaica, respectivamente.

Alimentos kosher obedecem a regras de alimentação denominadas kashrut, que seguem a Torá. Em linhas gerais, o alimento tem que seguir alguns requisitos básicos, por exemplo, a carne consumida deve ser de animais ruminantes e que tenham cascos bipartidos; nunca se deve ingerir sangue; não comer animais proibidos descritos na Torá; não cozinhar e não ingerir juntos produtos que contenham carne e leite e seus derivados; peixes são permitidos apenas aqueles que possuem escamas e barbatanas (BERTOLINO, 2020; ROSA, 2012).

Os alimentos denominados halal devem ser produzidos de acordo com as regras ligadas à orientação cultural e religiosa do islamismo, e embasadas no livro sagrado Alcorão. Entende-se que são alimentos halal: peixes e outros animais aquáticos, vegetais de todos os tipos; derivados de origem animal utilizados para consumo alimentar, desde que o animal tenha sido sacrificado conforme a lei islâmica, mediante comprovação sob a supervisão; queijo processado através do coalho microbiano; leite de vacas, ovelhas, camelas e cabras; frutas frescas ou secas, legumes, sementes, desde que não contaminadas por pesticidas (ROSA, 2012; BERTOLINO, 2020).

3.9 Métodos de extração de gelatina e obtenção de isinglass

Embora as bexigas natatórias estejam presentes em quase todos os peixes, não é possível utilizar o mesmo tipo de extração para obtenção de *isinglass*, uma vez que o produto final depende do teor de hidroxiprolina e da temperatura de desnaturação do colágeno (TAYLOR, 1997).

A obtenção do *isinglass* se dá através da extração do colágeno das bexigas natatórias de peixes e em seguida, extração da gelatina proveniente do colágeno, sendo popularmente considerado como gelatina pura, mas é formado de colágeno e não se gelatiniza até ser aquecido com água, nestas condições, ocorre a hidrólise e forma-se então a gelatina (TRESSLER; LEMON, 1951).

A conversão de colágeno em gelatina solúvel pode ser conseguida por aquecimento do colágeno em meio ácido ou alcalino, sua solubilização térmica é devido à clivagem de uma série de ligações cruzadas covalentes intra e intermoleculares que estão presentes no colágeno (KARIM; BHAT, 2009).

Antes da extração da gelatina, um pré-tratamento da matéria-prima para remoção de proteínas não colagenosas é fundamental para aumentar a pureza da gelatina extraída. Dentre as opções utilizadas, pode-se citar as soluções alcalinas que têm sido utilizadas para remover quantidades consideráveis de materiais não colagenosas e quebrar algumas ligações cruzadas entre cadeias proteicas, além de ser capaz de inativar as proteases envolvidas na degradação do colágeno (ZHOU; REGENSTEIN, 2005).

Liu *et al.* (2015) relataram que o hidróxido de sódio (NaOH) poderia remover a proteína não colagenosa com perda mínima de colágeno, em comparação com o hidróxido de cálcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$. O emprego de um longo tempo e de alta concentração da solução alcalina durante o pré-tratamento é capaz de diminuir o rendimento de gelatina (YANG *et al.*, 2007).

A eficiência da extração do colágeno está relacionada diretamente com o rigor do processo de extração e do pré-tratamento, onde é parcialmente hidrolisado sem alterar a configuração original de tripla hélice, posteriormente desestabilizada por um tratamento térmico que provoca o rompimento de ligações covalentes e de hidrogênio, levando à conversão do colágeno em gelatina (MONTERO; GÓMEZ-GUILLÉN, 2000). A solubilização térmica do colágeno é devido à quebra de uma série de ligações cruzadas covalentes que estão presentes, já que por ser uma proteína globular, não possui caráter de fácil dissolução (BORDIGNON, 2010; SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

O processo de extração pode influenciar o comprimento das cadeias polipeptídicas e as propriedades funcionais da gelatina, dependendo dos parâmetros de processamento (temperatura, tempo e pH), do pré-tratamento, das propriedades e do método de conservação da matéria-prima inicial. Todos os processos de fabricação consistem em três operações unitárias principais: pré-tratamento da matéria-prima, extração da gelatina, purificação e secagem (KARIM; BHAT, 2009).

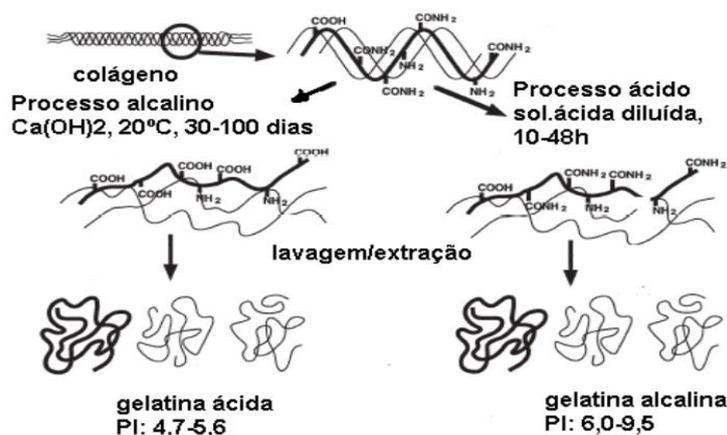
Após a desnaturação térmica, as fibras de colágeno apresentam comportamento essencialmente elástico, como uma rede elástica aleatória (ALFARO *et al.*, 2006). Industrialmente, os processos de obtenção de gelatina se dão por meio ácido (gelatina do tipo A) e por meio alcalino (gelatina tipo B) ou ainda em combinações dos dois processos. Além da diferença entre as soluções de extração (ácida ou básica), há também a diferença entre os períodos de tempo em que a matéria-prima fica em contato com as soluções. Na extração por ácidos o processo dura poucos dias (1-2 dias) e em processos alcalinos dura semanas (4 ou mais), ao final do processamento os dois tipos de gelatina também possuem pontos isoelétricos diferentes, gelatina tipo A (ponto isoelétrico a pH 6-9) e gelatina tipo B (ponto isoelétrico ~ pH 5) (BORDIGNON, 2010; GELITA, 2017).

O processo de solubilização ácida tem sido amplamente utilizado para a extração de colágeno podendo utilizar uma solução conhecida como “colágeno solúvel em ácido” (ASC), onde sua extração é conduzida sob condições ácidas, utilizando ácido acético 0,5 M a 4 °C durante 24-48 h ou prolongando mais o tempo de extração ou fazendo extrações consecutivas afim de melhorar o rendimento de colágeno (BENJAKUL *et al.*, 2012; SADOWSKA *et al.*, 2003).

O tratamento ácido é mais adequado para os colágenos menos reticulados covalentemente encontrados nas peles de porco ou peixe, enquanto o tratamento alcalino é adequado para os colágenos mais complexos encontrados em couros de bovino (KARIM; BHAT, 2009, BORDIGNON, 2010).

Os processos de obtenção da gelatina ácida e alcalina a partir do colágeno são apresentados na Figura 5.

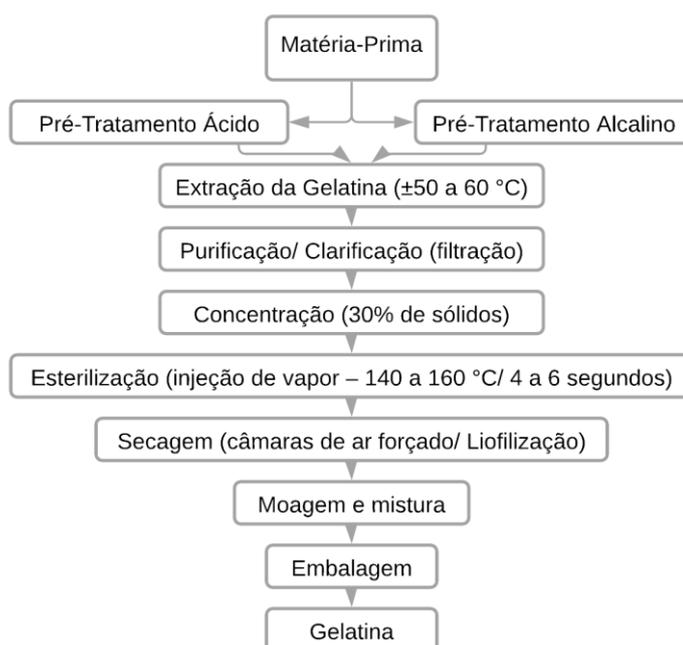
Figura 5 - Processos de obtenção da gelatina ácida e alcalina a partir do colágeno.



Fonte: Graziola, 2013.

Um tipo de coadjuvante usado nas extrações, normalmente ácida, é a utilização de pepsina (enzima digestiva que age sobre proteínas), que é capaz de clivar especificamente os telopéptidos (fragmentos de colágeno tipo I), facilitando a extração de colágeno sob a condição ácida (BENJAKUL *et al.*, 2010). Este processo é conhecido como Colágeno Pepsino Solúvel (PSC). A Figura 6 apresenta o fluxograma da extração da gelatina.

Figura 6 - Fluxograma do processo de produção de gelatina comercial



Fonte: Elaborado pela autora.

A extração de colágeno pode ser realizada em diferentes tempos de imersão, utilizando diferentes ácidos, como ácido sulfúrico ou ácidos orgânicos (fórmico, acético, propiônico, lático, málico, tartárico, cítrico em várias concentrações) e/ou adição de soluções

salinas (cloreto de sódio, cloreto de potássio e sulfato de magnésio), assim como, em função da técnica aplicada são utilizados também o fosfato de cálcio, carbonato de cálcio (nas extrações alcalinas) (LEDWARD, 2000).

Após a extração do colágeno, são utilizadas diversas temperaturas, variando de 60 °C até 90 °C, visando assim a máxima extração e manutenção das propriedades físicas e reológicas dessa gelatina (BANDEIRA, 2009).

Segundo Chandra e Shamasundar (2015), outros trabalhos têm usado processos combinados para extração do colágeno, utilizando um ácido forte com uma base. Com isso é comum encontrar na literatura, metodologias com modificações a fim de otimizar as condições de extração do colágeno de bexigas natatórias e conseqüentemente, gelatina, uma vez que é sabido que este é um dos grandes fatores que afetam as propriedades físico-químicas da gelatina, para que ela não sofra uma extensiva degradação da estrutura do peptídeo e proporcione uma maior gelificação (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015; KAEWDANG; BENJAKUL, 2015; LIU; LI; GUO, 2008; SINTHUSAMRAN, BENJAKUL; KISHIMURA, 2013).

Na pesquisa de Karim e Bhat (2009), foi realizado um levantamento de vários outros estudos sobre gelatina de peixe (usando peles) com relação ao tipo de peixe, tipo de pré-tratamento e procedimento de extração para obtenção da gelatina. Os procedimentos diretos utilizados para preparar gelatina de peixe envolvem tipicamente um pré-tratamento químico suave da matéria-prima e condições de temperatura suaves durante o processo de extração. Alguns estudos sobre gelatinas de peixes podem ser vistos na Tabela 3.

Tabela 3 - Procedimentos utilizados para extrair gelatina de peixe

Tipo de peixe	Pré-tratamento	Procedimento de extração	Referência
Areiro-de-quatro-manchas (<i>Lepidorhombus bosci</i>)	Pré-tratamento das peles com NaCl e NaOH diluído, seguido de intumescimento com 0,5 M de ácido acético.	Extraído em água a 45 °C.	Montero; Gómez-Guillén (2000).
Areiro-de-quatro-manchas (<i>Lepidorhombus bosci</i>)	Pré-tratamento com 0,2 M NaOH (1:6 p/v) a 5 °C (30 min).	Com diferentes soluções de 0,05 M, 0,1 M, e 0,5 M de ácidos viz., (1:20 p/v): fórmico, acético, propiônico, láctico, málico, tartárico e cítrico.	Gómez-Guillén; Montero (2001).
Tilápia preta (<i>Oreochromis mossambicus</i>) e Tilápia vermelha (<i>Oreochromis nilotica</i>)	Imersão em solução de NaOH a 0,2% (p/v) (40 min). Seguido por imersão em ácido H ₂ SO ₄ a 0,2% e 1,0% de ácido cítrico.	Extração final com água destilada a 45 °C (12 h).	Jamilah; Harvinder (2002)
Solha das pedras (<i>Platichthys flesus</i>)	Peles congeladas a 12 e 20 °C durante 15 dias antes da utilização.	Gelatinas obtidas com tratamento ácido suave e subsequente extração em água a temperaturas inferiores a 50 °C.	Fernández-Díaz <i>et al.</i> (2003)

Perca do Nilo (<i>Lates niloticus</i>)	Peles pré-tratadas por acidulação com solução de H ₂ SO ₄ 0,01M (pH de 2,5-3,0). Para ossos, desmineralizada usando HCl a 3%.	Extraído com água morna a 60 °C.	Muyonga; Cole e Duodu (2004a)
Bacalhau do Atlântico (<i>Gadus morhua</i>)	Peles lavadas com solução de NaCl e água, seguido por agitação suave com água (1:6, p/v) durante 15-120 min a 45, 70 e 100 °C. As amostras foram centrifugadas a 10000 g durante 30 min a 15 °C.	Extraído a 45 °C em água.	Kołodziejska <i>et al.</i> (2004)
Polaca do Alaska (<i>Theragra chalcogramma</i>)	As peles limpas foram tratadas com Ca(OH) ₂ (1:6 p/v). As amostras foram então tratadas com ácido acético (1:6 p/v).	As amostras pré-tratadas foram misturadas com água destilada e extraídas a temperaturas variáveis durante vários tempos.	Zhou; Regenstein (2004)
Atum albacora (<i>Thunnus albacares</i>)	As peles foram lavadas em solução alcalina (NaOH a 1-3%) a 10 °C com agitação (200 rpm durante 1-5 dias).	Extração com água quente a 40-80 °C durante 1-9 h. A solução extraída foi centrifugada durante 30 min (900 µg) a 30 °C.	Cho <i>et al.</i> (2005)
Linguado (<i>Solea vulgaris</i>)	As peles de peixe foram congeladas, tratadas com etanol absoluto e secas utilizando sal marinho.	Intumescimento com ácido acético 0,05M e subsequente extração de gelatina em água destilada a 45 °C durante uma noite.	Giménez <i>et al.</i> (2005a)
Carpa Capim (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	As peles descongeladas foram drenadas e tratou-se com 0,1-3,0% de HCl a 7 °C.	A extração foi feita a 40-80 °C num banho de água quente com agitação (180 rpm).	Kasankala <i>et al.</i> (2007)
Bagre de canal (<i>Ictalurus punctatus</i>)	Solução alcalina seguida de uma solução ácida (NaOH e ácido acético) durante tempos variáveis.	Extração com ácido acético (1:6)	Yang <i>et al.</i> (2007)
Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)		Gelatina extraída da pele em soluções aquosas de ácido acético ou de ácido fórmico.	Songchotik unpan; Tattiyakul; Supaphol (2008)

Fonte: Adaptado de Karim e Bhat, (2009).

3.10 Rendimento e composição centesimal da gelatina

O rendimento após todo o processo de obtenção da gelatina ou do *isinglass* é de suma importância para que o investimento em sua produção seja viável. Os estudos realizados com pele, cabeça, escamas ou bexiga natatória de peixes, expõem seus valores de rendimento até mesmo para fim de comparação entre tratamentos, tempos e temperaturas, haja visto que a variância nos parâmetros de extração está sendo mais explorada atualmente.

Kaewdang (2015) utilizou três diferentes temperaturas de extração e foi possível observar um acréscimo do rendimento com o aumento da temperatura, obtendo rendimentos

de 35,6%, 41,1% e 47,3% (em relação ao peso seco) com extração à 60, 70 e 80°C, respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados nos estudos de Kaewruang *et al.* (2013) e Duan *et al.* (2011), esses autores relataram o aumento do rendimento de gelatina à medida que a temperatura de extração aumentava, uma vez que as temperaturas mais elevadas desestabilizavam a cadeia primária do colágeno. Como consequência, a estrutura da tripla hélice tornava-se amorfa e poderia ser extraída com facilidade, conduzindo ao rendimento mais elevado (SINTHUSAMRAN; BENJAKUL; KISHIMURA, 2014).

Além disso, a maior temperatura aplicada poderia induzir à uma hidrólise térmica das cadeias peptídicas, resultando na formação de peptídeos mais curtos, que seriam mais facilmente extraídos em água (KAEWDANG *et al.*, 2015).

Nalinanon *et al.* (2008) descobriram que o rendimento da extração por ASC (colágeno ácido solúvel) a partir da pele de pargo com ácido acético 0,5 M aumentou de 12,32% para 34,90% (com base no teor de hidroxiprolina) quando o tempo de extração passou de 24 para 48 h.

A extração usando pepsina (PSC) foi utilizada para clivar os telopeptídeos, aumentando a capacidade de extração do colágeno (BENJAKUL *et al.*, 2010). Nalinanon *et al.* (2011) usaram pepsina da mucosa estomacal de suíno para extrair colágeno de peixe e não observaram nenhuma diferença na melhoria da extração e do rendimento da gelatina.

Tratando-se da composição centesimal, Cole (2000) afirma que uma gelatina contendo 13% de umidade e estando à 25 °C se encontra em equilíbrio com a umidade ambiente, enquanto com valores menores, entre 6 a 8%, a gelatina apresenta-se higroscópica, podendo absorver a umidade.

Durante o pré-tratamento da gelatina, quando são utilizadas diferentes soluções seguidas de neutralizações, cujas reações geram produtos como sais inorgânicos, o teor de cinzas final corresponde justamente ao teor de sais inorgânicos presentes na amostra, que podem permanecer presentes na gelatina devido à ausência de etapas de pós-tratamento que incluam deionização (NUNES, 2014).

Além disso, a utilização de resíduos como escamas e ossos, pode favorecer a presença de hidróxido de apatita e cálcio na gelatina extraída, que também contribui para um aumento no teor de cinzas, caso não haja uma etapa para sua remoção. Por esse motivo, em extração de gelatina de peixe a partir de escamas, se torna necessário a adição de uma etapa de desmineralização.

Em relação ao teor de gordura, vai depender do tipo de peixe, porém a gelatina final possui baixo teor de lipídio devido ao uso de reagentes como solução de NaCl e ácido

butírico para desengorduramento da matéria-prima. Valores sobre a composição de gelatinas de bexigas natatórias podem ser visualizados na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição química de gelatinas de bexigas natatórias

	Umidade (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	Cinza (%)
Chandra e				
Shamasundar (2015) ^a	5,5	92,8	-	1,5
Maia-Pinheiro, Nunes				
e Bomfim (2015) ^b	14,8	82,8	1,1	0,9
Koochekian, Ghorban				
e Yousefi (2006) ^c	5,2	82,5	5,6	6,7

Fonte: Elaborado pela autora.

Nota: ^a Gelatina extraída de bexiga natatória de carpa; ^b Gelatina extraída de bexiga natatória de bagre e ^c Gelatina extraída de bexiga natatória de esturjão.

3.11 Composição de aminoácidos e peso molecular

As propriedades da gelatina são largamente influenciadas pela composição de aminoácidos e sua distribuição de peso molecular (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2009). Ao comparar o teor de aminoácidos (prolina e hidroxiprolina) no estudo de Sinthusamran, Benjakul e Kishimura (2014) utilizando bexigas natatórias e de Duan *et al.* (2011) utilizando peles, a gelatina proveniente das bexigas apresentou maior percentual desses aminoácidos.

Tem sido amplamente conhecido que o teor de aminoácidos, especialmente a hidroxiprolina, afeta as propriedades funcionais da gelatina, especialmente a propriedade gelificante (BENJAKUL *et al.*, 2009). Assim como, a composição de aminoácidos da gelatina da bexiga natatória é ditada pela temperatura de extração (KAEWDANG, 2015).

Abaixo (Tabela 5) pode-se observar a composição de aminoácidos de algumas gelatinas extraídas de bexigas natatórias.

Tabela 5 - Porcentagem média de aminoácidos de gelatinas extraídas de bexigas natatórias

Aminoácido	Liu <i>et al</i> (2012) ^a	Chandra e Shamasundra (2015) ^b	Sinthusanran, Benjakul e Kishimura (2013) ^c
Ácido aspártico	4,71	9,80	4,60
Ácido glutâmico	7,77	15,8	7,10
Serina	3,06	5,0	2,70
Histidina	0,35	1,50	0,50
Glicina	3,31	18,9	3,26
Treonina	2,84	4,1	2,40
Arginina	5,32	3,21	5,30
Alanina	12,3	7,60	13,4
Tirosina	0,29	1,01	0,50
Cisteína	0,06	-	0,10
Valina	3,39	3,5	2,20
Metionina	1,45	1,7	1,40
Fenilalanina	1,45	0,5	1,30
Isoleucina	1,09	2,4	0,90
Leucina	2,08	-	2,30
Lisina	2,69	-	2,50
Triptofano	0,0	0,03	-
Prolina	9,5	15,4	11,1
Hidroxilisina	0,55	-	0,80
Hidroxiprolina	8,05	8,50	8,30

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Valores expressos em gramas/100 gramas.

^a Bexiga natatória de Carpa de bigode (*Hypophthalmichthys nobilis*) - Pré-tratamento com NaOH 0,1M – Extração do colágeno com ácido acético 0,5M com Pepsina 0,1M (1:40)

^b Bexiga natatória de Carpa Índia (*Catla catla*)- Pré-tratamento com NaOH e H₂SO₄ (1:7) – Extração do colágeno com ácido cítrico 0,5%

^c Bexiga natatória de Perca gigante (*Lates calcarifer*)-Pré-tratamento com NaOH 0,1M – Extração do colágeno com ácido acético 0,5M e dialisado com ácido acético 0,1M.

A gelatina com altos níveis de aminoácidos tende a ter alta força de gel, boas propriedades viscoelásticas e alto ponto de fusão (RAWDKUEN *et al.*, 2013).

A gelatina é uma mistura heterogênea de proteínas solúveis em água de alto peso molecular estas grandes proteínas variam entre 20000 e 250000 Daltons (FOOD, 2011). Em

geral, a gelatina contém propriedades moleculares semelhantes ao colágeno, no qual a cadeia alfa ou beta podem estar presentes.

No entanto, a degradação dessas cadeias induzida por extração inadequada pode levar as diferenças do peso molecular nas cadeias (NAGARAJAN *et al.*, 2012). A degradação ligeiramente mais elevada da cadeia pode ser afetada à medida que a temperatura de extração for aumentada (SINTHUSAMRAN; BENJAKUL; KISHIMURA, 2014).

Em geral, a formação de fragmentos peptídicos (proteínas de baixo peso molecular) está associada a uma menor viscosidade, baixo ponto de fusão, baixo ponto de gelificação, bem como diminuição da força de gel da gelatina (MUYONGA; COLE; DOUDU, 2004b).

3.12 Parâmetros de qualidade da gelatina e suas propriedades funcionais e reológicas

As propriedades da gelatina definem seu valor comercial (TAYLOR, 1997) e os fatores que afetam a qualidade e a aceitabilidade do produto dependem da cor (branca e vítrea), tamanho e forma, odor (sem cheiro de peixe) e solubilidade em água (KOOCHKIAN *et al.*, 2006). Outros fatores que também afetam as propriedades da gelatina e os processos de produção são a espécie, raça, idade, modo de alimentação do animal e condições de armazenamento das matérias-primas (ARNESEN; GILDBERG, 2002).

A condição ambiental das espécies de peixe pode interferir na qualidade, geralmente, o colágeno e a gelatina, preparados a partir de espécies de peixe que vivem em águas de baixa temperatura, contém quantidades mais baixas de prolina e hidroxiprolina, menor número de ligações de hidrogênio e possui um ponto de fusão mais baixo do que as espécies que habitam em águas de temperatura mais elevada (ARNESEN; GILDBERG, 2002)

Além das propriedades físico-químicas básicas, tais como parâmetros de composição, solubilidade, turbidez, cor, odor e sabor, os principais atributos que melhor definem a qualidade comercial da gelatina são as suas propriedades funcionais (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2011). São largamente dependentes das suas propriedades moleculares, especialmente da composição de aminoácidos e da distribuição do peso molecular (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2002).

As propriedades físico-químicas da gelatina dependem de vários fatores como o método de preparação e as propriedades intrínsecas do colágeno (BADII; HOWELL, 2006), e são determinantes para ditar sua aplicabilidade industrial. Os principais parâmetros que

determinam a qualidade das gelatinas são força de gel, viscosidade, pH, cor, turbidez, umidade, cinzas, pontos de gelificação e fusão.

Uma das principais desvantagens na produção de gelatina a partir de peixe é a formação de géis que possuem propriedades reológicas inferiores em relação às convencionais (a partir de mamíferos) (BUENO *et al.*, 2011).

A força de gel ou Bloom é uma das propriedades funcionais mais importantes da gelatina (LIU; LI; GUO, 2008). É a força, expressa em gramas, necessária para comprimir de 4 mm a superfície de um gel de gelatina com um êmbolo padrão. O Bloom está ligado à elasticidade mecânica do gel e é usada para classificar os tipos de gelatina. Geralmente varia de 50-300 Bloom. Pode ser classificada como baixo, médio ou alto Bloom, com os seguintes limites (NUNES, 2014):

- a) Baixo Bloom: força do gel entre 50 e 100 g
- b) Médio Bloom: força do gel entre 100 e 200 g
- c) Alto Bloom: força do gel acima de 200g

As variações no valor de Bloom estão ligadas as diferentes espécies de peixes, devido as diferenças na composição de aminoácidos, no tamanho das redes de proteínas, do habitat (águas frias ou mornas) (Chiou *et al.*, 2009) ou ainda da desnaturação de proteínas que pode ocorrer durante a extração da colágeno e/ou da gelatina (Jongjareonrak *et al.*, 2006, MUYONGA; Cole e Duodu, 2004a), como resultado, as propriedades funcionais de força de gel, como a capacidade de formar espuma, a estabilidade da espuma e viscosidade de gelatinas podem ser reduzidas (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004a; BORDIGNON, 2010).

A viscosidade é a segunda característica mais importante, pois além de ditar o caráter da gelatina, também aumenta com a elevação do valor de Bloom. A fluidez de uma solução de gelatina é muito importante e influencia consideravelmente as propriedades de processamento. No entanto, a viscosidade também é influenciada pelo tipo de matéria-prima e pelo processo usado para produzir a gelatina. Por exemplo, a gelatina produzida pelo processo alcalino é mais viscosa do que a gelatina produzida pelo processo ácido, mesmo que a consistência do gel seja a mesma (GELITA, 2017).

A desnaturação do colágeno solúvel devido à degradação do hidrogênio e, provavelmente, das ligações eletrostáticas na água quente (40 °C) ocorre destruindo a estrutura helicoidal tripla do colágeno para produzir uma, duas ou três moléculas de gelatina de cadeia aleatória que dão uma solução em água de alta viscosidade (FLORY; WEAVER, 1960).

Enquanto a gelatina é muito estável na sua forma de gel, vários fatores tais como pH, temperatura ambiente ou carga microbiana podem causar uma hidrólise da cadeia da

proteína, acarretando não só uma menor viscosidade, mas também uma diminuição no Bloom. Assim, é muito importante proteger a gelatina de temperaturas elevadas e de pH baixo por longos períodos (ROUSSELOT, 2010). Gómez-Guillén *et al.* (2002) relatam que a gelatina de diferentes espécies de peixes apresenta diferentes propriedades viscoelásticas, embora a composição de aminoácidos possa ser semelhante.

A principal diferença entre gelatinas de peixe e de mamíferos envolve a sua temperatura de gelificação em solução. As soluções de gelatina de peixe, especialmente aquelas derivadas de espécies de água fria, possuem temperaturas de gelificação muito mais baixas do que as soluções de gelatina de mamífero. Isto é principalmente, devido à gelatina de peixe possuir concentrações mais baixas de prolina e hidroxiprolina (CHIOU *et al.*, 2009).

O processo de gelificação envolve a transição de um enrolamento sem forma definida para tripla hélice da gelatina. A temperatura de transição é denominada ponto de gelificação, do mesmo modo, o ponto de fusão é relatado como o ponto de desnaturação desta estrutura. As temperaturas de gelificação e fusão das gelatinas são dependentes da proporção de prolina e hidroxiprolina da molécula de colágeno original e do pré-tratamento empregado (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2002).

As cadeias de gelatina numa solução seca abaixo da temperatura de gelificação podem formar estruturas helicoidais triplas antes da evaporação completa da água, denominada película de gelatina fundida a frio, podendo então reter estas estruturas helicoidais, dependendo do teor de umidade. Em contraste, as cadeias de gelatina numa solução seca acima da temperatura de gelificação permanecem como bobinas aleatórias durante o processo de secagem, denominada película de gelatina fundida a quente, que retém então esta estrutura amorfa (CHIOU *et al.*, 2009).

Como um gel termoreversível, a gelatina começa a derreter quando a temperatura aumenta acima de um certo ponto, que é chamado de ponto de fusão do gel (KARIM; BHAT, 2009). O ponto de fusão também é uma característica importante e confere a aplicabilidade adequada à gelatina. O ponto de fusão mais elevado caracteriza melhores propriedades físicas e indica a possibilidade de obtenção de gelatina com propriedades mais similares as obtidas de mamíferos. Os valores de ponto de fusão são diretamente influenciados pela origem da matéria prima, habitat do peixe e/ou ainda o processo de extração (BILUCA; MARQUETTI; ALFARO, 2011; BORDIGNON, 2010; GUNDMUDSSON, 2002).

A temperatura de fusão próxima à temperatura do corpo humano faz com que a gelatina seja uma ótima opção para o uso alimentício e farmacêutico em que o produto precisa derreter na boca ou se dissolver após a digestão (ROUSSELOT, 2010).

Na Tabela 6 podemos observar os pontos de fusão de alguns trabalhos da literatura.

Tabela 6 - Pontos de fusão de gelatina de bexiga natatória

	Ponto de fusão
Tavakolipour (2011)	20,0°C
Gómez-Guillén <i>et al.</i> (2002)	21,0°C
Alfaro e Silva (2010)	27,0°C
Tabarestani <i>et al.</i> (2010)	23,0°C
Maia-Pinheiro, Nunes e Bomfim (2015)	30,3°C
Biluca, Marquetti e Alfaro (2011)	22,2°C

Fonte: Elaborada pela autora.

Segundo Yiajima *et al.*, (2011) a gelatina forma géis termoreversíveis com água que se fundem à temperaturas inferiores a 37 °C o que confere à gelatina características organolépticas únicas, principalmente quando comparadas a outros agentes gelificantes como: amidos, alginatos, pectina, agar, carragena e outros hidrocolóides de origem vegetal, os quais não conferem a capacidade de fusão do gel na boca e as propriedades elásticas de um gel de gelatina. Ainda de acordo com esses autores, gelatinas de peixe que apresentam temperaturas de fusão inferiores às gelatinas de origem bovina e suínas, mostram-se vantajosas quando aplicadas em géis aromatizados, proporcionando uma rápida liberação dos aromas e sabores do produto na boca.

Há uma relação entre o ponto de fusão e o peso molecular da gelatina. As gelatinas de baixo peso molecular se fundem a uma temperatura mais baixa do que as de elevado peso molecular (GILSENAN; ROSS-MURPHY, 2000). Para conferir maiores valores de ponto de fusão em uma gelatina, pode-se utilizar a combinação de gelatinas com valores diferentes (uma maior e outra menor) para balancear e inferir melhor qualidade à gelatina final (GUDMUNDSSON, 2002)

3.13 Propriedades sensoriais

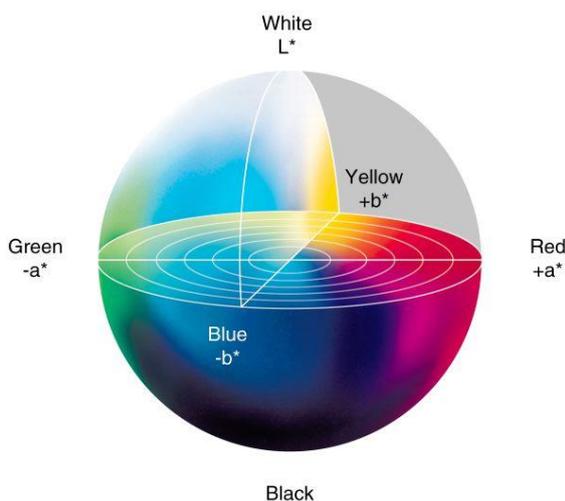
A gelatina apresenta uma característica de dissolução rápida e excelente liberação de sabor na boca (CHOI; REGENSTEIN, 2000). Além disso, as suas propriedades de emulsificação, de formação, de espuma e formação de filmes para cobertura de frutas são importantes para a indústria alimentícia, uma vez que aumenta a elasticidade, consistência e

estabilidade dos produtos alimentares. O filme de gelatina é também usado para proteger os alimentos contra a luz e oxigênio (BONILLA *et al.*, 2012).

A cor e a claridade também têm sua importância e esses critérios dependem da aplicação a ser dada. Processos modernos de fabricação permitem a produção de gelatinas claras, cristalinas e brilhantes. A cor amarelada típica e inerente da gelatina diminui com a elevação do valor de Bloom. Por esta razão, as gelatinas de alto Bloom devem ser usadas quando o produto final não puder ter influência de cor (GELITA, 2017).

Geralmente, gelatinas comerciais possuem coloração que varia de um amarelo pálido para um âmbar escuro. Apesar da cor das gelatinas ser um atributo de grande importância comercial, ainda não existe nenhum método universalmente aceito para sua medida (ALFARO, 2008). Porém, para medição de cor de gelatina, é comum utilizar os padrões CIE Lab, onde pode ser visualizado através da esfera cromática (Figura 7).

Figura 7 - Esfera cromática CIE Lab



Fonte: Minolta (2007).

Gelatinas mais escuras podem indicar a ocorrência de reações de degradação e reação de Maillard, que é uma reação de escurecimento não enzimático, catalisada pelo calor, e pode ocorrer devido ao método de secagem utilizado para gelatinas comerciais, geralmente *spray drying* ou túnel de secagem seguido de moagem, onde se utiliza ar quente (NUNES,2014). Cores mais escuras (tendendo para o amarelo-alaranjado) pode ser devido a etapa de filtração ineficiente durante o processo de produção da gelatina (MAIA-PINHEIRO, NUNES; BOMFIM, 2015).

Além do exposto acima, a turvação e a cor escura da gelatina são geralmente causadas pelas proteínas inorgânicas e contaminantes introduzidos ou não removidos durante

a sua extração (KOLI *et al.*, 2011). Tanto a cor como a claridade da gelatina são importantes características e é de acordo com essa cor que se dará a aplicação adequada para cada gelatina.

A formação de espuma, também é uma característica sensorial importante e influencia na aplicabilidade da gelatina no alimento, é, geralmente, controlada pelo transporte, penetração e reorganização de moléculas de proteína na interface ar-água. Uma proteína deve ser capaz de migrar rapidamente para a interface ar-água, desdobrando-se e rearranjando na interface para expressar boas propriedades de formação de espuma (KOLI *et al.*, 2011).

As gelatinas também possuem propriedades emulsificantes. Os emulsificantes são materiais superficialmente ativos que adsorvem as interfaces e facilitam a produção de pequenas gotículas, reduzindo a tensão interfacial durante a homogeneização (WALSTRA, 2003).

A natureza anfotérica com as zonas hidrofóbicas na cadeia peptídica faz com que a gelatina se comporte como um emulsificante e está sendo utilizada no fabrico de caramelos e emulsões de água em óleo tais como margarinas com baixo teor de gordura, molhos para saladas e natas batidas (BAZIWANE; HE, 2003).

Proteínas extraídas de uma verdadeira fonte natural podem ser usadas como emulsificantes em alimentos por causa de sua capacidade de facilitar a formação da emulsão, melhorar a estabilidade e produzir propriedades físico-químicas desejáveis (DICKINSON, 2003).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os robalos inteiros frescos e não eviscerados (*Centropomus undecimalis*), provenientes da pesca marinha extrativa, capturados por rede de arrasto no período entre os meses de novembro e dezembro, obtidos diretamente de pescadores de Fortaleza-CE, foram embalados em sacos plásticos, acondicionados em caixa isotérmica com gelo e transportados pelo período de 30 minutos até a chegada ao Laboratório de Carnes e Pescado (LABCAP) do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Os peixes foram lavados e eviscerados para retirada de suas bexigas natatórias, as quais foram lavadas, pesadas e congeladas em freezer (-25 °C) por cerca de 18 horas, em seguida e submetidas à etapa de pré-tratamento.

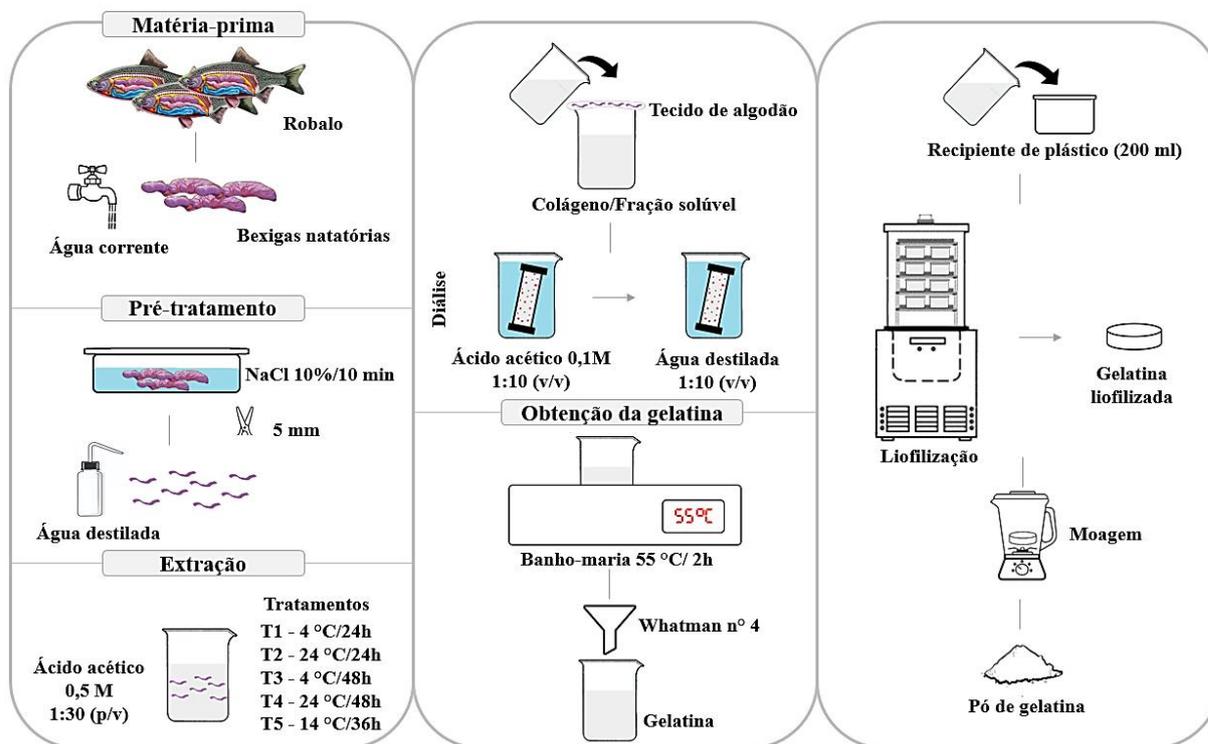
A gelatina comercial bovina (GCB) em pó, sem sabor e incolor da marca Dr. Oeteker® fabricada por Rousselot Gelatinas do Brasil LTDA (Amparo, São Paulo, Brasil) foi adquirida em mercado local.

A membrana de celulose para diálise de 76 mm (D9402 - Sigma-Aldrich®) e o ácido acético glacial foram adquiridos através da Merck/Sigma-Aldrich Brasil LTDA (Barueri, São Paulo, Brasil). Todos os demais reagentes químicos eram de grau analítico.

4.2 Pré-tratamento das bexigas natatórias

As bexigas natatórias, após descongeladas sob temperatura de refrigeração por um período de 2 horas, foram pesadas, lavadas com água destilada em temperatura em torno de 10 °C e imersas em solução de NaCl 0,8 M por 10 minutos e novamente lavadas com água destilada (FERNANDES et al., 2008). Todas as etapas para a obtenção da gelatina de bexiga natatória de robalo estão representadas na Figura 8.

Figura 8 - Processo de obtenção da gelatina de bexiga natatória de robalo



Fonte: Elaborada pela autora.

4.3 Extração do colágeno

A extração do colágeno seguiu a metodologia de Chen et al. (2019) com modificação. As bexigas pré-tratadas foram cortadas em pedaços de cerca de 5 mm com auxílio de uma tesoura, em seguida, foram imersas em solução de ácido acético 0,5 M na proporção de 1:30 (g de bexiga/mL de solução). As bexigas inseridas em solução de ácido acético foram submetidas à diferentes combinações de tempo e temperatura, resultando em cinco tratamentos: 4 °C por 24 h (T1), 24 °C por 24 h (T2), 4 °C por 48 h (T3), 24 °C por 48 h (T4) e 14 °C por 36 h (T5). Após esse período, as soluções foram filtradas em tecido fino de algodão, separando-se o gel solúvel da fração insolúvel, obtendo-se assim soluções de colágeno.

As temperaturas e tempos adotados (T1, T2, T3 e T4) foram escolhidos com base nos mais utilizados na literatura (Bama et al., 2010; Fernandes et al., 2008; Oliveira et al., 2006, Kaewdang et al., 2014; Kaewdang, 2015; Sinthusamran, Benjakul e Kishimura, 2013; Maia-Pinheiro, Nunes e Bomfim, 2015), e o tratamento T5 foi a média dos demais tratamentos (ponto médio).

As soluções filtradas foram submetidas à diálise, em membrana de celulose, sendo imersa em uma primeira etapa contra uma solução de ácido acético 0,1 M na proporção de

1:10 (v/v) e, posteriormente, contra água destilada na proporção de 1:10 (v/v), sendo a água renovada constantemente.

4.4 Extração da gelatina

A solução dialisada de cada tratamento foi aquecida em banho-maria a $55\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 horas, obtendo-se assim uma solução de gelatina, a qual foi filtrada e colocada em frascos plásticos.

Em seguida a solução foi liofilizada em liofilizador da marca Christ, modelo beta 1.8 Id plus, com condições em torno de $-44\text{ }^{\circ}\text{C}$ e pressão de 0,0025 milibar, posteriormente embalada em saco plástico e congelada a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.5 Análises realizadas na bexiga natatória, na gelatina de bexiga natatória de robalo e na gelatina comercial bovina (controle)

Na bexiga natatória a análise realizada foi a de rendimento e composição. Já para a gelatina de bexiga natatória foram determinados rendimento, composição centesimal, valor energético, granulometria, pH, cor, turbidez e caracterização reológica (força de gel, viscosidade, ponto de gelificação e ponto de fusão), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, calorimetria exploratória diferencial, análise termogravimétrica, microscopia eletrônica de varredura e determinação de aminoácidos (somente para a gelatina de bexiga natatória eleita como a melhor em suas características reológicas).

As análises onde a gelatina comercial bovina foi usada, especificamente, como controle (teste de Dunnet) foram determinados a composição centesimal, valor energético, granulometria, pH, cor, turbidez e caracterização reológica (força de gel, viscosidade, ponto de gelificação e ponto de fusão).

4.6 Caracterização físico-química

4.6.1 Rendimento das bexigas natatórias e da gelatina

O rendimento das bexigas foi calculado em relação ao peso do peixe inteiro e o rendimento das gelatinas extraídas de bexiga de acordo com o peso das bexigas usadas na extração, sendo baseado nas equações (1) e (2) abaixo:

$$\text{Rendimento das bexigas} = \left(\frac{\text{peso da bexiga}}{\text{peso do peixe}} \right) \times 100 \quad (1)^*$$

$$\text{Rendimento da gelatina} = \left(\frac{\text{peso da gelatina}}{\text{peso das bexigas}} \right) \times 100 \quad (2)**$$

* Bexigas natatórias em base úmida.

** Gelatina em base seca e bexigas em base úmida.

4.6.2 Composição centesimal da bexiga natatória e das gelatinas de bexiga natatória de robalo e comercial bovina (controle)

As bexigas natatórias *in natura* e as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo foram analisadas quanto ao conteúdo de proteína usando o método micro Kjeldahl, enquanto o conteúdo de gordura foi determinado pela extração de Soxhlet (AOAC, 2019). As cinzas foram determinadas após incineração a 500 °C por 24 h, enquanto a umidade foi determinada a 105 °C por 3h (AOAC, 2019). Os carboidratos foram determinados por diferença.

4.6.3 Determinação do valor energético total

O valor energético total das gelatinas extraídas de bexiga natatória e da gelatina comercial bovina (controle) foi calculado pela soma das calorias fornecidas por carboidratos, lipídios e proteínas multiplicando-se seus valores em gramas pelos fatores de Atwater 4 kcal, 9 kcal e 4 kcal, respectivamente, de acordo com FAO (2003).

4.6.4 Determinação granulométrica das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle)

As gelatinas de bexigas natatórias e da gelatina comercial bovina foram caracterizadas quanto à sua granulometria, segundo metodologia descrita por Mikalowski *et al.* (2014), com modificações. Uma fração de 10 gramas de cada amostra foi depositada em um sistema de peneiras sobrepostas (5, 8, 10, 20 e 30 mesh – ABNT, respectivamente 4,00; 2,38; 2,00; 0,841; 0,595 mm) e submetidas à agitação até obtenção de uma massa constante do material retido em cada peneira. Os resultados foram expressos em percentagem.

4.6.5 Determinação de pH das gelatinas de bexiga natatória e da gelatina comercial bovina

O pH das gelatinas de bexigas natatórias e da gelatina comercial bovina foram obtidos de acordo com a metodologia da AOAC (2019), onde foram utilizadas soluções de gelatina de 1% (p/v) dissolvidas em água destilada a 60 °C e resfriadas até 25 °C para posterior medição em pHmetro.

4.6.7 Análise de cor

Para a análise da cor das gelatinas de bexigas natatórias e da gelatina bovina comercial foi utilizado o Colorímetro ColoQuest XE HunterLab onde as leituras das gelatinas foram realizadas através do método de Refletância Especular Excluída em cubeta 20 mm e área de leitura de 1000 in.

4.6.8 Análise de turbidez

A análise de turbidez foi medida de acordo com Avena-Bustillos *et al.* (2006), através da medição de transmitância (% T) a 620 nm em espectrofotômetro utilizando uma solução de 6,67% (p/v) das gelatinas obtidas e da gelatina comercial bovina que foram aquecidas a 60 °C durante 1 h.

4.7 Caracterização reológica

4.7.1 Força de gel

O método Bloom foi utilizado para a determinação da dureza, de acordo com Choi e Regenstein (2000) a partir de soluções de gelatina (de bexigas natatórias e gelatina bovina comercial) a 6,67% (p/v), através do texturômetro Stable Micro Systems, modelo Texture Analyser TA.XT.plus e probe cilíndrica de 12.7 mm, com os ajustes de 0.5 mm.s⁻¹ de velocidade de penetração e distância de penetração de 4 mm a partir da superfície.

4.7.2 Propriedades viscoelásticas

4.7.2.1 Viscosidade, ponto de gelificação (gelling point), ponto de fusão (melting point)

As propriedades viscoelásticas (ponto de gelificação, ponto de fusão e viscosidade) foram determinadas em reômetro TA Instruments AR 2000ex. Utilizou-se para o estudo dinâmico viscoelástico um cone-placa de 40 mm de diâmetro e 1° de ângulo com gap de 27 μm . As amostras de gelatinas a 6,67% (p/v) foram preparadas pela dissolução em água destilada, a 60 °C, sob constante agitação mecânica por 30 minutos, antes do início das análises. As amostras foram submetidas a uma rampa de temperatura, sendo resfriada de 40 °C para 7 °C, voltando a serem aquecidas até 40 °C.

Os experimentos foram realizados em tensão de 3,0 Pa, frequência de 1 Hz e taxa de variação de temperatura de 1 °C/min, monitorando-se o processo de gelificação, através dos módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' .

O ponto de gelificação (gelling point) foi determinado pela intersecção dos módulos G' e G'' durante o resfriamento da amostra, segundo metodologia de Gudmundsson (2002) e o ponto de fusão (melting point) foi determinado do mesmo modo, durante subsequente aquecimento.

As amostras foram mantidas a 7 °C durante três minutos, antes de serem aquecidas até 40 °C, para a avaliação do comportamento dos módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' em temperatura padrão. O ângulo de fase (δ) foi representado em função da temperatura para observação do comportamento viscoelástico das amostras.

4.8 Caracterização dos grupos funcionais

4.8.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram obtidos em um espectrofotômetro Agilent. As gelatinas liofilizadas foram medidas quanto a transmitância, em modulo de ATR com cristal de seleneto de zinco, na faixa de 4000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} .

4.9 Caracterização térmica

4.9.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As medições de DSC foram realizadas em um calorímetro diferencial de varredura Q20 Universal V4.7a (TA Instruments). Foram pesadas 5 mg das gelatinas liofilizadas e em seguida realizado o ciclo de aquecimento até 250 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. Os experimentos foram realizados sob atmosfera de nitrogênio a uma taxa de fluxo de 50 mL/min e utilizando cadinhos de platina hermeticamente fechados, de acordo com a metodologia de Kchaou et al. (2018).

4.9.2 Análise termogravimétrica (TGA/DTG)

Foi realizada a partir da gelatina liofilizada utilizando um analisador termogravimétrico Mettler Toledo modelo TGA/SDTA 851. As medidas foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de gás de 50 mL/min, aquecidas na faixa de temperatura de 25 °C a 800 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min em porta-amostra de alumina, de acordo com a metodologia de Kchaou et al. (2018).

4.10 Caracterização morfológica

4.10.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para analisar a morfologia das gelatinas liofilizadas foi utilizado Microscópio Eletrônico de Varredura Quanta 450 FEG – FEI com resolução nominal de 1 nm. As amostras foram montadas em stubs e metalizadas com ouro em evaporadora e posteriormente colocadas sobre um plano liso e colados com fita dupla face de carbono. Foi realizado também ensaio EDS em todas as amostras (Espectroscopia de raios X por dispersão em energia) para avaliar a composição química elementar qualitativa das amostras.

4.11 Determinação de aminoácidos

O perfil de aminoácidos foi determinado de acordo com a metodologia de Kaewdang et al. (2015). A gelatina foi hidrolisada sob pressão reduzida em ácido metanossulfônico 4,0 M contendo 0,2% (v / v) 3-2 (2-aminoetil) indol a 115 °C por 24 h,

posteriormente neutralizada com NaOH 3,5 M e diluída com tampão citrato 0,2 M (pH 2,2). Uma alíquota de 0,4 mL foi injetada em um analisador de aminoácidos (MLC-703; Atto Co., Tóquio, Japão). O conteúdo foi expresso em g/100 g.

4.12 Análise estatística

As análises estatísticas dos dados foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram avaliadas pelos testes de Tukey e Dunnet com $p \leq 0,05$. A análise de componentes principais foi realizada. Para a análise dos dados foi utilizado o software XLSTAT (Statistica Software for Excel) versão 20210.4.1. Para a interpretação gráfica dos resultados das análises FTIR, DSC e TGA / DT, foi utilizado o software Origin® 8.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento e composição das bexigas natatórias

5.1.1 Rendimento das bexigas natatórias

O rendimento médio das mesmas, em relação ao peso do peixe inteiro, foi de 1,69%, sendo o peso da bexiga natatória geralmente responsável por 0,5 a 1,0% de todo o peixe (peixes em geral) (KOOCHKIAN; GHORBAN; YOUSEFI, 2006). Dessa forma, as bexigas natatórias de robalo se mostraram, em média, maiores

Maia-Pinheiro, Nunes e Bomfim (2015) utilizaram bagre e obtiveram rendimento de 2,42% da bexiga natatória em relação ao peso do peixe inteiro, um valor superior ao obtido na presente pesquisa. No entanto, a do presente estudo foi superior aos rendimentos de 0,62 % para bexiga natatória de enguia (KARTIKA; TRILAKSANI; ADNYANE, 2017) e de 0,35 % para bexiga natatória de atum (IDRUS; HADINOTO; KOLANUS, 2018). As diferenças de tamanhos e peso dos peixes, que afetam diretamente o rendimento, podem ser decorrentes da sazonalidade, nutrição, sexo, entre outros fatores (SANTOS, 2007).

5.1.2 Composição química das bexigas natatórias

Na Tabela 7, estão apresentados os resultados da análise de composição centesimal média das bexigas natatórias *in natura*.

Tabela 7 - Composição centesimal média das bexigas natatórias de robalo *in natura*

	Proteína	Umidade	Cinzas	Lipídios	Carboidratos
Bexiga natatória	28,53 ± 0,90	70,59 ± 0,79	0,21 ± 0,01	0,16 ± 0,06	0,51 ± 0,53

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Unidade em porcentagem (%).

O teor médio de proteína encontrado nas bexigas natatórias do robalo foi de 28,53 %, valor superior ao obtido por Chandra e Shamasundar (2015) de 20,08 % para bexiga natatória de carpa e por Idrus, Hadinoto e Kolanus (2018) de 12,09% para bexiga natatória de atum. Por outro lado, os valores obtidos na presente pesquisa foram inferiores ao encontrado por Maia-Pinheiro, Nunes e Bomfim (2015) para bexiga natatória de bagre onde o teor proteico foi de 32,72 %.

Segundo Songchotikunpan, Tattayakul e Supaphol (2008), é no teor de proteína que se pode prever qual será a produção máxima de gelatina extraída, já que a gelatina é um produto proteico. Valores altos de proteína mostram que as bexigas natatórias têm uma boa qualidade para ser usada como matéria-prima de colágeno em termos de rendimento (IDRUS, HADINOTO E KOLANUS, 2018).

A umidade média das bexigas natatórias de robalo foi de 70,59 %, valor superior ao encontrado por Koochekian, Ghorba e Yousefi (2006) utilizando bexiga de esturção (65%) e abaixo do encontrado por Idrus, Hadinoto e Kolanus (2018), e Kaewdang et al. (2014), que obtiveram 76,24 % e 83,33 %, respectivamente, ambos para bexiga natatória de atum. Segundo Bordignon (2010), há uma relação de proporcionalidade entre a umidade e a proteína da matéria-prima, portanto se a umidade é mais baixa, consequentemente a proteína é mais elevada, o que pode ser constatado nos valores de umidade e proteína deste experimento e nos estudos acima citados. Chen *et al.* (2019) afirmam que o teor de umidade funciona tanto para manter a flexibilidade e textura das bexigas natatórias, quanto para equilibrar o pH.

Para as médias de cinzas e lipídios os valores encontrados foram de 0,21 % e 0,16 %, respectivamente, estando abaixo dos teores encontrados por Koochekian, Ghorba e Yousefi (2006) para cinzas e lipídios que foram de 0,5 % e 2,5 %, respectivamente e por Kartika, Trilaksani e Adnyane (2017) que foram de 0,27 % e 0,50 % para cinzas e lipídios, respectivamente.

Shon *et al.* (2011) afirmam que a presença de gordura e outros minerais irá interferir na eficácia do colágeno e em sua aplicação em vários produtos, pois afetam as propriedades de emulsificação e formação de espuma e no sabor. Possuir baixos teores de minerais e gorduras, as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo, possivelmente, não apresentarão os inconvenientes mencionados acima.

O teor de carboidratos encontrado esteve abaixo dos encontrados por Gadi, Trilaksani e Nurhayati (2017) que foi de 0,85 % para bexiga natatória de enguia, por Djailani, Trilaksani e Nurhayati (2016) que foi de 1,28 % também para bexiga de enguia.

A composição corporal de pescado pode variar de acordo com a época do ano, sexo, idade e estado nutricional (OGAWA; MAIA, 1999). Isso pode explicar as variações nos teores encontrados na literatura e os obtidos neste experimento.

5.2 Rendimento e composição centesimal das gelatinas

5.2.1 Rendimento das gelatinas

Os rendimentos médios das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo em relação ao tipo de tratamento estão apresentados na Tabela 8, todos os tratamentos obtiveram diferença significativa entre si ($p \leq 0,05$), variando de 11,63 % a 31,23 %.

Tabela 8 – Rendimento médio das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo em relação ao tipo de tratamento

Tratamento	Rendimento (%)
T1	11,63 ^e
T2	17,67 ^d
T3	31,23 ^a
T4	28,77 ^b
T5	19,37 ^c

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: As médias seguidas pelas letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância, utilizando ANOVA e teste Tukey. T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C) e T5 (36 h a 14 °C).

Observa-se que o tratamento T3, o qual o processo ocorreu em 48 h a 4°C, foi o tratamento em que o rendimento médio foi de 31,23 %, sendo o maior entre os tratamentos estudados, com elevação de 170% quando comparado ao tratamento T1. O tratamento T4, com condições de 48 h a 24 °C, obteve o segundo maior rendimento (28,77 %), indicando um maior tempo de extração do colágeno fez com que os rendimentos fossem mais elevados.

Já o aumento da temperatura (4 °C para 24 °C) combinada com o maior tempo de extração (48 h) não teve a mesma correlação, sugerindo que, possa acontecer, em algum grau, a desnaturação da proteína, comprometendo sua extração, pois na quebra do colágeno pode haver formação de cadeias alfa que são compostas por proteínas de baixo peso molecular (80 a 125 kDa) e que indicam processos ineficientes (KARIM E BHAT, 2009; BANDEIRA, 2009). Já o tratamento T5, obteve um valor intermediário em comparação com os demais tratamentos.

Os valores encontrados na Tabela 8 foram semelhantes aos obtidos para gelatinas de bexigas natatórias de outras espécies de peixe. Assim, Kaewdang *et al.* (2014) reportaram valores de 12,10% para atum, Maia-Pinheiro, Bomfim e Nunes (2015) obtiveram 24,55% para

bagre e Koochekian, Zareh e Yousefi (2006) encontraram valores de 18, 22 e 28% de gelatina extraída a partir de três diferentes espécies de esturjão.

No estudo de Alfaro (2008), na etapa de extração da gelatina usando pele de tilápia, a variação da temperatura de extração também apresentou influência sobre o rendimento, sendo que o aumento da temperatura de extração provocou uma elevação, em média, de 1,46% no rendimento. No presente trabalho, também houve um aumento no rendimento de 52% quando a temperatura passou de 4 °C para 24 °C quando utilizado o tempo de 24 h.

Na presente pesquisa, quando comparamos os tratamentos de mesma temperatura com variação do tempo (T1 com T3 e T2 com T4), notamos uma relevante influência do tempo sobre o rendimento, tendo, em média, uma elevação de 116%, sendo o maior aumento para a temperatura de 4 °C, onde esse aumento foi de 169%, enquanto para a temperatura de 24 °C o aumento no rendimento foi de 63%.

Na extração de gelatina de peles de peixe os valores dos rendimentos podem variar em função de sua composição centesimal, do seu conteúdo de colágeno e da sua quantidade de componentes solúveis, por sua vez, variam com o método de extração (tempo, temperatura, tipo de ácido utilizado) empregado e com a idade e espécie do peixe (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004a; JONGJAREONRAK *et al.*, 2006), o que também se pode supor sobre as bexigas natatórias.

Segundo Kartika, Trilaksani e Adnyane (2017) a penetração do ácido acético em baixa temperatura (4 °C) por 48 horas é mais efetiva na destruição da matriz lipoprotéica da bexiga natatória do que a penetração do ácido acético em uma temperatura maior em combinação com um menor tempo.

O uso de ácidos no processo de extração da gelatina auxilia no aumento dos íons H⁺ que faz com que as moléculas de água entrem nas fibras de colágeno com mais facilidade, devido à formação de pontes de hidrogênio entre grupos apolares nas fibras de colágeno com íons H⁺ de solventes ácidos (Trilaksani *et al.*, 2020; Jaswir *et al.*, 2011).

Com a estrutura solta do colágeno intumescido no processo de extração ácida, a água quente pode penetrar na matriz do material de forma mais eficaz elevando assim o rendimento (STAINSBY, 1987). Porém, embora a intumescência ocorra, a gelatina pode não ser completamente extraída devido a muitas ligações cruzadas e intermoleculares presentes no colágeno, tornando a estrutura compacta (AHMAD; BENJAKUL; NALINANON, 2010).

Segundo Mokrejs *et al.* (2009), as preparações das gelatinas geralmente apresentam uma relação inversa entre a qualidade do produto obtido e seu rendimento, fato esse que veremos mais a frente se corrobora com os dados das gelatinas obtidas neste estudo.

5.2.2 Composição centesimal das gelatinas

Os valores médios (\pm desvio-padrão) da composição centesimal das gelatinas extraídas de bexigas natatórias de robalo e do controle (Gelatina comercial bovina - GCB) estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Composição centesimal das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

Amostra	Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteínas	Carboidratos
T1	11,96 ^a \pm 0,76	0,45 ^{b,c} \pm 0,02	0,44 ^c \pm 0,02	84,73 ^c \pm 0,71	2,42 ^a \pm 0,16
T2	11,22 ^{a,b} \pm 0,31	0,67 ^{a,b} \pm 0,16	0,52 ^{b,c} \pm 0,01	86,33 ^b \pm 0,20	1,25 ^{b*} \pm 0,59
T3	5,27 ^{c*} \pm 0,76	0,44 ^c \pm 0,07	0,84 ^a \pm 0,07	93,01 ^{a*} \pm 0,76	0,44 ^{b*} \pm 0,40
T4	6,07 ^{c*} \pm 0,17	0,26 ^{c*} \pm 0,11	0,71 ^{a,b} \pm 0,10	92,56 ^{a*} \pm 0,41	0,40 ^{b*} \pm 0,22
T5	10,06 ^b \pm 0,69	0,92 ^{a*} \pm 0,12	0,49 ^{b,c} \pm 0,18	87,34 ^{b*} \pm 0,61	1,19 ^{b*} \pm 0,8
Controle	11,16 \pm 0,28	0,60 \pm 0,02	0,70 \pm 0,11	85,14 \pm 0,97	2,45 \pm 0,64

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Unidade em porcentagem (%).

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e Controle (GBC- Gelatina comercial bovina).

Observa-se que os tratamentos T3 e T4 diferiram ($p \leq 0,05$) dos demais em relação à umidade e que obtiveram valores semelhantes ao encontrado por Chandra e Shamasundar (2015) que foi de 5,5%, porém acima do encontrado por Kanwate; Ballari e Kufre (2019) (2,8%) ambos para gelatina extraída de bexiga natatória de carpa. Já os teores obtidos foram inferiores aos encontrados por Gadi, Trilaksani e Nurhayati (2017), que foi de 12,12% em bexiga natatória de enguia.

As amostras dos tratamentos T3 e T4 também diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) da amostra controle para a umidade, apresentando valores menores e conseqüentemente maiores valores de proteína. Segundo Bordignon (2010), a umidade é inversamente proporcional à proteína. Amiruldin (2007) afirma que o baixo teor de umidade afeta a qualidade da gelatina, promovendo uma rancidez e a mudança de cor, tornando-a menos brilhante. Porém foi observado que, no presente estudo, as amostras com baixo teor de umidade não apresentaram menor brilho (Tabela 13).

Houve também diferença significativa ($p \leq 0,05$) do controle em relação às amostras T4 e T5 para o teor de cinzas, além disto o T5 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos T1, T3 e T4, apresentando o maior teor (0,92%). Os valores de cinzas obtidos foram abaixo dos encontrados por Chandra e Shamasundar (2015), de 1,5%, Kanwate, Ballari e Kudre (2019), de 1,64% e Maia-Pinheiro, Nunes e Bomfim (2015), de 1,16%.

Um baixo teor de cinzas na gelatina permite que esta possa ser aplicada em produtos alimentícios (GUNAWAN; SUPTIJAH; UJU, 2017) e indica que a gelatina extraída é de boa qualidade (URIARTE *et al.*, 2011), sendo, portanto, consideradas de boa qualidade as gelatinas extraídas no presente estudo.

Por outro lado, os minerais presentes, como cálcio e magnésio podem ser benéficos para a saúde e influenciam as propriedades funcionais da gelatina, especialmente o ponto de gelificação (BENJAKUL *et al.*, 2009).

Segundo Ward e Courts (1977), o teor de cinzas na gelatina é indicativo de presença de cálcio e seu teor faz com que a cor da gelatina na solução seja mais turva. Essas correlações somente foram confirmadas, parcialmente, para a amostra T4, onde esta obteve menor teor de cinzas e não apresentou a presença de cálcio (espectros EDS serão apresentados mais a frente - Figuras 44 a 49) porém apresentou uma alta turbidez (Tabela 12).

Para os lipídios, o tratamento T1 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos T3 e T4 e o tratamento T2 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) do tratamento T3. No entanto, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) do controle quanto ao teor de lipídios em relação as gelatinas de bexigas natatórias de robalo.

Os teores de lipídios encontrados foram maiores do que os obtidos por Gadi, Trilaksani e Nurhayati (2017) e Hadinoto, Kolanus e Idrus (2019), que foram de 0,17 % e 0,11 %, respectivamente. Kartika, Trilaksani e Andnyane (2017), apresentaram um percentual de 3,63 %, sendo este maior que o observado no presente trabalho.

Segundo Gunawan, Suptijah e Uju (2017), o teor de gordura na gelatina depende do processo de lavagem, desengorduramento e filtração. Um bom tratamento em cada estágio do processo de fabricação de gelatina reduzirá o teor de gordura do produto final (TRILAKSANI *et al.*, 2012). Diante disso, ressalta-se que o agente desengordurante utilizado na etapa de pré-tratamento das bexigas natatórias foi brando, podendo não ter sido muito eficiente.

Para a proteína, o tratamento T1 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos T2, T3, T4 e T5, sendo o menor teor obtido. Os teores de proteína dos diversos tratamentos variaram de 84,73% a 93,01%. As amostras T3, T4 e T5 também apresentaram

diferença significativa ($p \leq 0,05$) do controle em relação ao teor de proteínas, onde apresentaram percentuais superiores a este, justificando o grande potencial desse tipo de material para produção de gelatina.

Esses resultados foram próximos aos encontrados por Maia-Pinheiro, Nunes e Bomfim (2015) (82,82% - 85,10%) para bexiga natatória de bagre, Hadinoto, Kolanus e Idrus (2019) (85,41%) para bexiga natatória de atum, Gadi, Trilaksani e Nurhayati (2017) (86,74%) para bexiga de enguia e Kartika, Trilaksani e Adnyane (2017) (89,48%) também para bexiga natatória de atum.

Como já citado, há uma relação de proporcionalidade entre a umidade e a proteína da matéria-prima, portanto se a umidade é mais baixa, conseqüentemente a proteína é mais elevada, o que pode ser constatado nos valores de umidade e proteína deste e que a penetração do ácido acético em baixa temperatura (4 °C) por 48 horas é mais eficiente na quebra da matriz lipoprotéica da bexiga natatória (BORDIGNON, 2010; KARTIKA, TRILAKSANI ; ADNYANE, 2017), podendo justificar as variações nos teores de proteína e o maior teor do tratamento T3.

É importante ressaltar ainda que o teor de proteína representará a quantidade de colágeno na gelatina e conseqüentemente o rendimento da extração (BILUCA; MARQUETTI; ALFARO, 2011). Isso pôde ser constatado neste experimento, pois os teores de proteína foram diretamente proporcionais aos rendimentos, para os tratamentos T1 (11,63% de rendimento e 84,73% de proteína); T2 (17,67% de rendimento e 86,33% de proteína); T3 (31,23% de rendimento e 93,01% de proteína); T4 (28,77% de rendimento e 92,56% de proteína); T5 (19,37% de rendimento e 87,34% de proteína). Isso demonstra que as bexigas natatórias de peixe têm uma boa qualidade para serem usadas como matéria-prima para extração de gelatina (IDRUS; HADINOTO; KOLANUS, 2018).

A Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998 que dita sobre o Regulamento Técnico Referente à Informação Nutricional Complementar (BRASIL, 1998), estabelece as condições para declarações relacionadas ao conteúdo absolutos de nutrientes e/ou valor energético e refere-se ao termos “fonte” ou “rico/alto teor”. Em específico, para o teor de proteínas, devem obedecer às referências de no mínimo de 10% da IDR¹ de referência por 100 g (sólidos) para alimento “fonte” e de no mínimo de 20% da IDR de referência por 100 g (sólidos) para alimento “rico/alto teor”.

¹ IDR (ingestão diária recomendada) de proteína para adultos é de 50 g e para crianças de 34 g (BRASIL, 2005).

Nesse contexto, pode-se afirmar que as gelatinas extraídas de bexigas natatórias de robalo podem ser classificadas como alimento “fonte” e alimento “rico/alto teor” de proteínas, tanto para adultos como para crianças, assim como a gelatina comercial bovina (controle). Dessa forma, as gelatinas extraídas de bexiga natatórias se mostram como valiosas aliadas para uso na alimentação, promovendo um aporte nutritivo proteico que, por sua vez, possa auxiliar na alimentação atual e futura da crescente população, assim como exposto na revisão desta pesquisa (seção 3.1).

Para os teores de carboidratos, observa-se que o tratamento T1 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) dos demais tratamentos, obtendo o maior valor entre as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo. O controle diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos T2, T3, T4 e T5.

Os teores encontrados estiveram próximos aos observados por Gadi, Trilahsani e Nurhayati (2017) de 0,97 % para gelatina extraída de bexiga natatória de enguia, por Hadinoto, Kolanus e Idrus (2019) de 1,15 % para bexiga natatória de atum.

5.3 Valor energético das gelatinas

Os resultados dos valores energéticos das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Valor energético das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

Amostra	Valor energético (Kcal/g)
T1	3,52 ^b ± 0,23
T2	3,55 ^b ± 0,71
T3	3,81 ^{a*} ± 0,19
T4	3,78 ^{a*} ± 0,42
T5	3,58 ^b ± 0,01
Controle	3,42 ± 0,55

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – gelatina comercial bovina).

As amostras T3 e T4 diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) das amostras T1, T2 e T5, sendo as duas gelatinas com maior valor energético, 3,81 Kcal/g e 3,78 Kcal/g, respectivamente, e diferiram do controle (gelatina comercial bovina)

As variações nos valores são decorrentes da composição química de cada bexiga natatória, que por sua vez dependem da idade do peixe, tamanho, nutrição, sexo, manejo, época do ano (TORRES et al., 2000).

A composição centesimal de um alimento expressa o valor nutritivo ou valor calórico, sendo calculados através dos macronutrientes proteína, carboidrato e lipídio.

5.4 Determinação granulométrica

Os resultados da granulometria das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Granulometria das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina

Amostra	Mesh (/mm)				
	5	8	10	20	30
	(8,00 mm)	(2,38 mm)	(2,00 mm)	(0,841 mm)	(0,595 mm)
	(% retida)				
T1	0,00	99,50 ^a	-	-	-
T2	0,00	99,85 ^a	-	-	-
T3	0,00	99,70 ^a	-	-	-
T4	0,00	99,70 ^a	-	-	-
T5	0,00	99,80 ^a	-	-	-
GCB	0,00	0,00	0,00	100,00	-

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e GCB (Gelatina comercial bovina).

As gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo obtiveram mais de 99,50 % de partículas retidas na peneira de 8 mesh, apresentando tamanho de 2,38 mm e não apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre si. A gelatina comercial bovina obteve 100% de partículas retidas na peneira de 20 mesh, apresentando tamanho de 0,841 mm.

A diferença de tamanhos entre as gelatinas extraídas de robalo e da gelatina comercial bovina pode ser decorrente dos tipos de secagem empregados em cada gelatina, como também do processo de moagem.

A moagem é um parâmetro muito importante para o processo de dissolução de uma gelatina, como para o tipo de emprego. Gelatina mais finas, por exemplo, se aplicam melhor em laticínios, panificação e sobremesas, enquanto gelatinas mais grossas se adequam melhor ao fabrico de marshmallows, gomas cápsulas (CUSTOMCOLLAGEN, 2020; ROUSSELOT, 2020).

Outro fator é que soluções de gelatina de baixa concentração pode ser preparadas com todos os tamanhos de partículas, já para soluções altamente concentradas, as partículas grossas são preferidas pois tendem a não produzir grumos e formam menos bolhas de ar quando se dissolvem. No entanto, eles absorvem a água mais lentamente, requerem mais tempo para inchar e demoram mais para se dissolverem (GELITA, 2020).

As empresas fabricantes de gelatinas fornecem diversos tamanhos para a indústria, variando de 6 a 200 mesh, além de personalizarem para atender necessidades específicas (CUSTOMCOLLAGEN, 2020; GELITA, 2020; ROUSSELOT, 2020).

5.5 Análise de pH

Os valores de pH das amostras estão apresentados na Tabela 12. Observa-se que os tratamentos T1 e T4 não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) mas diferiram dos demais.

Tabela 12 - pH das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

Amostra	pH
T1	4,64 ^b * ± 0,03
T2	4,24 ^d * ± 0,01
T3	4,45 ^c * ± 0,09
T4	4,62 ^b * ± 0,03
T5	4,91 ^a * ± 0,01
Controle	5,24 ± 0,04

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – gelatina comercial bovina).

Todos os valores obtidos diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) quando comparados ao controle, resultando em valores mais baixos de pH, o que, talvez, possa ser explicado neste estudo pela aplicação de uma etapa de neutralização mais branda (diálise) durante o processamento da gelatina, além de que a gelatina comercial bovina passar por tratamento alcalino em sua obtenção.

Os valores de pH encontrados no presente estudo foram semelhantes aos encontrados por Gadi, Trilaksani e Nurhayati (2017) que foi de 4,31, onde também realizaram diálise com água destilada para neutralização para extração de gelatina de bexiga natatória de enguia e por Gavilanes e Mesa (2018) de 4,55, onde não houve neutralização para extração de gelatina de bexiga natatória de bagre. No estudo de Chandra e Shamasundar (2015), o valor de pH foi de 6,7, maior do que o pH do presente estudo, porém além de utilizarem a lavagem com água destilada para neutralização, também houve uma etapa de ajuste de pH após a conversão em gelatina de bexiga natatória de carpa.

De acordo com os parâmetros para o pH, disposto no Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que dispõe sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (Brasil, 2017), a gelatina deve apresentar pH entre 4,5 e 6,5. Dessa forma as únicas gelatinas que não atendem ao regulamento são a T2 e T3.

Os valores de pH têm sido reportados dentro da faixa de 3,8 a 5,0 para gelatinas extraídas por pré-tratamento ácido e 4,7 a 7,5 para extraídas por pré-tratamento alcalino (ALFARO, 2008). O valor baixo de pH está ligado tanto ao tipo de extração ácida como a não aplicação de agitação durante a etapa de diálise (GADI; TRILAKSANI; NURHAYATI, 2017), isto foi o que ocorreu no presente estudo.

De acordo com Zhao *et al.* (2018) se o propósito for usar o colágeno como um ingrediente funcional na formulação de produtos da indústria alimentícia, a melhor faixa de pH é de 2 a 4, devido a facilidade de solubilidade. Já para Schrieber e Gareis (2007), gelatina com pH maior do que 6,0 tende a promover a reação de Maillard.

Gelatina com valor de pH ~ 5, pode ser utilizada em sistemas alimentares ácidos para proteger lipídios insaturados, fornecendo membrana interfacial catiônica (KOLI *et al.*, 2013) e apesar de afetar a viscosidade, uma das principais características da gelatina, o pH ácido provoca apenas uma redução moderada da viscosidade, enquanto valores de pH alcalinos resultam em grande queda da viscosidade (BORDIGNON, 2010).

5.6 Análise de cor

Os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle) estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Parâmetros de cor das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

AMOSTRA	L^*	a^*	b^*
T1	77,44 ^a ± 1,70	-0,55 ^{b*} ± 0,34	2,83 ^{a*} ± 2,19
T2	72,09 ^{b*} ± 2,40	0,35 ^{a*} ± 0,38	-1,25 ^{b*} ± 1,46
T3	78,52 ^a ± 3,20	-2,95 ^{c*} ± 0,66	1,23 ^{a,b*} ± 0,43
T4	81,93 ^a ± 1,82	-0,45 ^{b*} ± 0,06	3,20 ^{a*} ± 0,56
T5	79,40 ^a ± 2,68	-0,50 ^{b*} ± 0,05	2,81 ^{a*} ± 0,43
Controle	78,43 ± 0,84	3,02 ± 0,30	23,99 ± 1,26

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – gelatina comercial bovina).

Para o parâmetro de cor L^* , verificou-se que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os tratamentos, apresentando diferença significativa somente com o T2 ($p \leq 0,05$), que apresentou a menor luminosidade dentre todos os tratamentos e foi a única gelatina que diferiu estatisticamente da amostra controle. Os valores de L^* das gelatinas de bexiga natatória de robalo não apresentaram correlação com os tempos e as temperaturas de extração.

Kaewdang (2015) obteve valores de L^* entre 20,37 e 33,11 para gelatina de bexiga natatória de atum em condições de extração semelhantes, valores estes bem abaixo quando comparados aos encontrados no presente estudo.

A gelatina comercial de peixe (de pele) analisada também por Kaewdang (2015) obteve valor de L^* de 4,69, apresentando uma cor mais escura, enquanto no estudo de Sinthunsamran (2016), a gelatina comercial de peixe (de pele) obteve valor de L^* de 71,16, sendo este valor mais próximo aos encontrados na presente pesquisa.

Valores altos para luminosidade são requeridos, pois estão relacionados com a pureza das gelatinas, tornando-as mais claras (MAIA, 2015). Como relatado anteriormente, Amiruldin (2007) afirmou que um baixo teor de umidade poderia tornar a gelatina menos brilhante, porém não foi o que aconteceu no presente trabalho pois os tratamentos com os menores teores de umidade (T3 e T4) (Tabela 9) se apresentaram mais brilhantes.

Em relação ao parâmetro de cor a^* , não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre os tratamentos T1, T4 e T5. Dentre os tratamentos, o T2 foi o único a apresentar valor positivo para o parâmetro de cor a^* , assim como a gelatina controle, tendendo à cor vermelha. Os demais tratamentos tenderam à cor verde.

Todos os tratamentos diferiram significativamente do controle ($p \leq 0,05$) no parâmetro de cor a^* , sendo a gelatina controle a com o maior valor de a^* , tendendo mais ao vermelho do que as demais.

Sinthunsamran (2016) encontrou também valores negativos para o parâmetro de cor a^* em gelatinas de bexiga natatória de robalo japonês (-1,41 a -1,59), assim como para gelatina comercial de peixe (-0,97). Já a gelatina comercial bovina apresentou valor positivo de 0,05, demonstrando que as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo apresentam o mesmo padrão de uma gelatina comercial.

Para o parâmetro de cor b^* , os tratamentos T1, T4 e T5 não diferiram significativamente ($p \geq 0,05$) entre si, com a cor tendendo para o amarelo. O tratamento T2 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos T1, T4 e T5, sendo o único apresentando valor negativo e tendendo para a cor azul.

Todos os tratamentos diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) da gelatina controle (gelatina comercial bovina) no parâmetro de cor b^* , sendo considerada a mais amarelada, o que pode ser explicado por esta passar por um processo de extração mais severo, devido ser extraída de couro e ossos bovinos (KITTIHATTANABAWON *et al.*, 2016).

Kaewdang (2015) encontrou para o parâmetro de cor b^* valores positivos, assim como no presente trabalho, que variaram entre 8,10 e 14,87 para as gelatinas de bexiga natatória de atum, se apresentando mais amarelas, cor característica de uma gelatina.

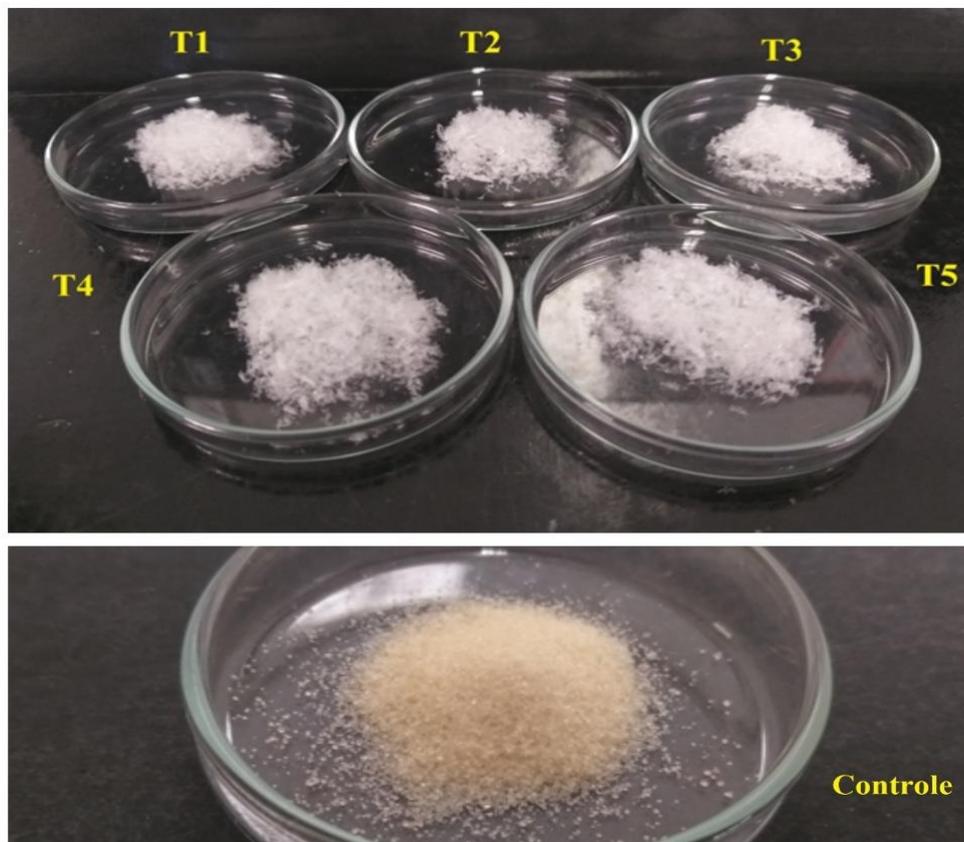
De acordo com Schrieber e Gareis (2007), a coloração da gelatina aumenta com o aumento do tempo e da temperatura de reação devido à reação de Maillard entre a proteína e traços de carboidratos presente na matéria-prima.

Em relação aos estudos de Kaewdang (2015) e Sinthunsamran (2016), os valores encontrados por eles mostraram uma tendência similar de cor com o presente estudo, onde as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo apresentaram coloração levemente amarela, no entanto, a da presente pesquisa se apresentaram mais luminosas (claras).

A cor, em geral, não interfere nas propriedades funcionais da gelatina, entretanto, a cor mais clara é preferível por poder ser usada em quaisquer sistemas alimentares sem transmitir forte atributo de cor ao produto (SHYNI *et al.*, 2014). Geralmente, a cor das gelatinas comerciais varia de amarelo pálido a âmbar escuro (COLE; ROBERTS, 1997).

As gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo liofilizadas e moídas estão apresentadas na Figura 9.

Figura 9 - Gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos, liofilizadas e moídas e gelatina comercial bovina (controle) em pó e sem sabor



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – Gelatina comercial bovina).

Segundo Zhang *et al.* (2007) a cor da gelatina é mais escura com o tratamento ácido, principalmente se realizado em concentrações baixas e tempos curtos e também pode ser provocada por substâncias inorgânicas, presença de mucosas e por componentes proteicos não removidos da matéria-prima durante a extração.

5.7 Análise de turbidez

Os resultados encontrados para a turbidez das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle) estão apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14 - Turbidez das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

AMOSTRA	TRANSMITÂNCIA (620 nm)
T1	85,07 ^a ± 0,81
T2	71,73 ^b ± 0,57
T3	74,57 ^c ± 0,46
T4	47,30 ^d ± 0,10
T5	38,00 ^e ± 0,60
Controle	83,07 ± 0,67

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – gelatina comercial bovina).

Observou-se que todas as gelatinas diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si. O tratamento T1 foi a solução de gelatina que apresentou menor turbidez, por apresentar maior valor de transmitância. Todas as soluções passaram por um processo de filtração, porém, nota-se que as soluções de gelatina T4 e T5 apresentaram valores de transmitância mais baixos, ou seja, apresentaram maior turbidez. Já o controle diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) de todas as amostras, sendo a segunda amostra com menor turbidez.

Koli (2019) encontrou valores de 40,16 %T e 36,23 %T para gelatina extraída de pele de bijupirá a temperaturas de 40 °C e 50 °C, respectivamente. Nota-se que o aumento da temperatura tornou a gelatina mais túrbida. Constatou-se isto no presente estudo, onde o tratamento que utilizou a maior temperatura combinada com o maior tempo (T4), apresentou o valor de transmitância baixo, apresentando maior turbidez.

Isto foi comprovado também por Sahoo *et al.* (2015), onde encontraram valor de transmitância baixo, que foi de 10,17 %T para gelatina obtida de pele de pacu extraída a 60 °C, enquanto para a temperatura de 40 °C o valor foi de 86,69 %T.

A turbidez, em termos práticos, é a redução da transparência e é causada pela presença de material em suspensão (ALFARO, 2008). Sabe-se que valores de turbidez são largamente dependentes da eficiência do processo de clarificação (filtração) (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004a). As impurezas conferem turbidez à solução de gelatina e reduzem outros indicadores de qualidade (KOLOTOVA; PETROVA, 2020).

Compostos inorgânicos, proteínas, contaminantes químicos e microorganismos presentes ou não removidos durante a extração de gelatina apresentam efeito na turbidez (TINRAT; SILA-ASNA, 2017). Isto pode ter acarretado uma maior ou menor turbidez nas

gelatinas obtidas. Apesar de todas as gelatinas terem passado pelo mesmo processo de filtração, a hidrólise das cadeias proteicas ocorre de maneira distinta, resultando em frações de diferentes tamanhos que podem atravessar o papel filtrante, causando um aumento na turbidez.

A turbidez das soluções de gelatina é um atributo que pode ser importante, dependendo da sua aplicação, já que em valores elevados interferem nas determinações de cor (COLE, 2000; COLE; ROBERTS, 1997; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004a).

5.8 Caracterização reológica

5.8.1 Força de gel

Os valores de força de gel para os tratamentos e para a gelatina comercial bovina (controle) estão expressos na Tabela 15. Observa-se que houve diferença significativa entre os tratamentos T2 e T3 ($p \leq 0,05$), sendo o tratamento T2 o que obteve maior valor de força de gel.

Tabela 15 - Força de gel das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

AMOSTRA	FORÇA DE GEL/BLOOM (gf)
T1	282,10 ^{a,b} * ± 15,20
T2	379,84 ^a * ± 3,72
T3	236,99 ^b * ± 6,53
T4	320,35 ^{a,b} * ± 86,78
T5	298,12 ^{a,b} * ± 16,50
Controle	65,70 ± 10,79

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – gelatina comercial bovina).

A gelatina comercial bovina (controle) diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) das demais amostras, apresentando um valor de força de gel abaixo dos valores dos tratamentos realizados, sendo retratada, geralmente, com valores maiores do que as gelatinas de peixes em outros estudos (SINTHUSAMRAN *et al.*, 2018; KOLI *et al.*, 2013; KUAN *et al.*, 2016).

Segundo Karim e Bhat (2009), os valores de força de gel para gelatina de pescados oscilam em torno de 270 gf. Chandra e Shamasundar (2015) encontraram o valor de 264,6 gf

de força de gel para gelatina extraída de bexiga natatória de carpa. Kanwate, Ballari e Kudre, (2019), encontraram valores de 67,54 gf, 65,97 gf e 43,47 gf para gelatinas secas por spray-dryer, por secagem a vácuo e liofilizada, respectivamente.

A resistência do gel e a viscosidade são as propriedades reológicas mais importantes da gelatina. A força do gel é uma medida da força e rigidez da gelatina, refletindo o peso molecular médio de seus constituintes, e geralmente está entre 30 e 300 bloom. A força de gel é classificada de acordo com seu valor de bloom, sendo considerada de baixo bloom a gelatina com valores ≤ 150 , de médio bloom com valores entre 150 e 220 e de alto bloom acima de 220 (HANANI, 2016).

Todas as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo foram classificadas como gelatina de alto bloom e a gelatina controle foi considerada como baixo bloom. Com base no tipo de produto, uma determinada gelatina com valor específico de bloom pode ser aplicada, exercendo um determinada função.

Além dos possíveis efeitos da temperatura na força de gel, segundo Tang e Chang (2018), a variação na composição de aminoácidos e no tamanho das cadeias proteicas do colágeno é possivelmente uma das razões para a discrepância na força do gel de diferentes espécies e tecidos de organismos aquáticos.

A qualidade da gelatina avaliada pela força do gel é afetada pelo aumento no tempo de reação, pela temperatura e número de ciclos de extração, embora esses fatores possam elevar o seu rendimento (MOKERJS *et al.*, 2009).

Além disso, gelatinas com a capacidade de formar géis fracos podem encontrar novas aplicações, podendo ser usadas em produtos refrigerados e em produtos em que baixas temperaturas de gelificação sejam necessárias (GUDMUNDSSON, 2002).

5.8.2 Propriedades viscoelásticas

5.8.2.1 Viscosidade

As médias referentes aos valores de viscosidade (cP) para as gelatinas de bexiga natatória e para gelatina comercial bovina (controle) estão apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Viscosidade das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle) a 25°C

AMOSTRA	Viscosidade (cP)
T1	5,11 ^{d*} ± 0,16
T2	16,29 ^{b*} ± 0,85
T3	13,40 ^{c*} ± 0,71

T4	16,76 ^{b*} ± 0,92
T5	35,61 ^{a*} ± 0,71
Controle	10,45 ± 1,01

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – gelatina comercial bovina).

Nota-se que, em média, somente os tratamentos T2 e T4 não diferiram significativamente entre si ($p \geq 0,05$) em relação à viscosidade, indicando que o aumento do tempo de extração, nesse caso, não foi significativo para melhoria dessa propriedade. Porém, quando há o aumento de temperatura de 4 °C para 24 °C, mantendo-se o mesmo tempo, houve um aumento da viscosidade (T1 para T2 e T3 para T4), com incremento de 319% de T1 para T2 e de 125 % de T3 para T4. Esta diferença foi diretamente proporcional aos valores de força de gel (Tabela 13), e possivelmente ocorreu devido à degradação da cadeia polipeptídica, responsável por uma rede ordenada, que pode aumentar a viscosidade (NORZIAH; KEE; NORITA, 2014).

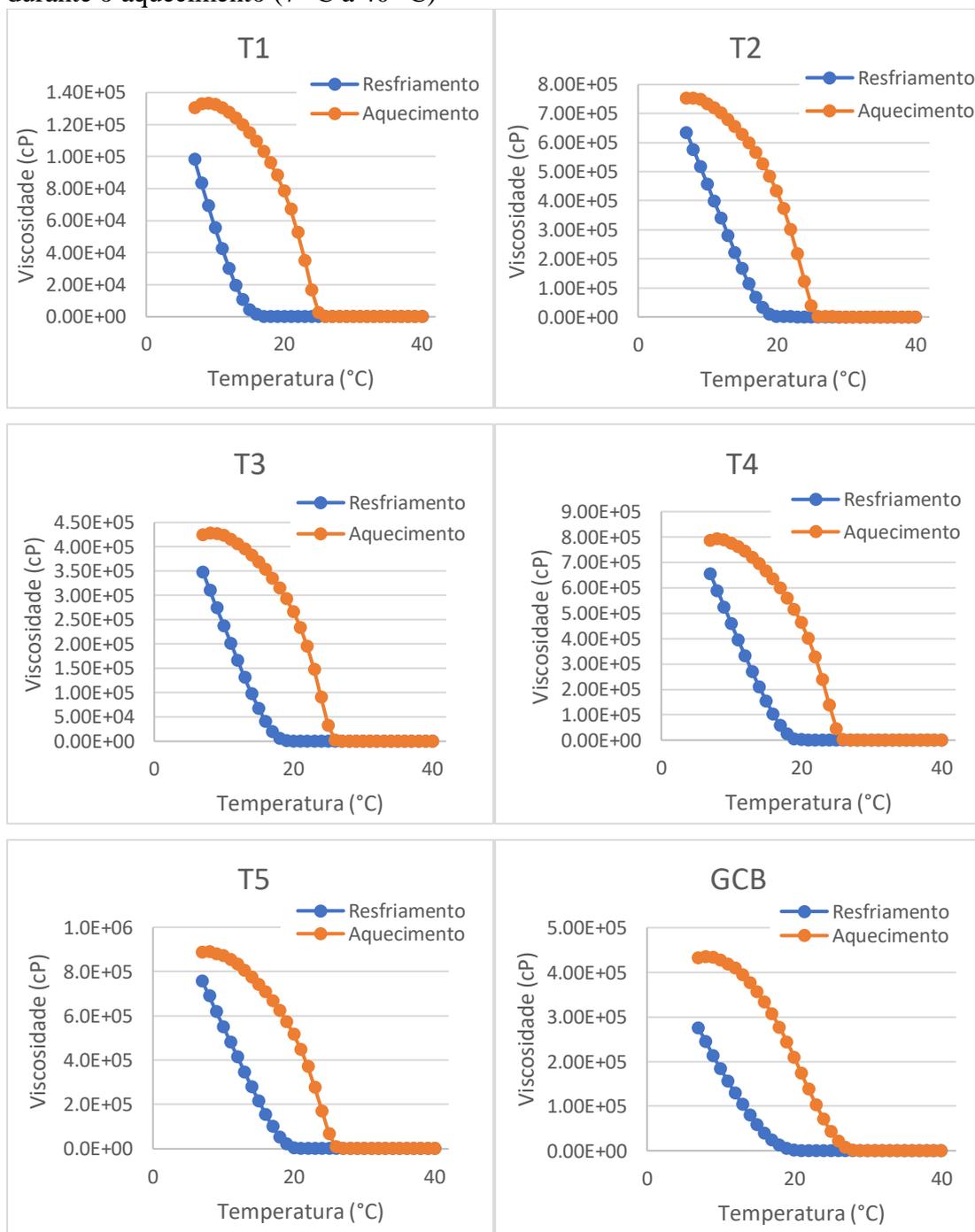
Com exceção do tratamento T1, as gelatinas de bexiga natatória de robalo apresentaram maior viscosidade do que a amostra controle. O tratamento T5 foi o que obteve maior valor de viscosidade (35,61 cP), mostrando que quando se utilizou o tempo e temperatura média obteve-se a melhor extração para essa propriedade.

A viscosidade de uma gelatina desempenha um papel crucial em determinados sistemas alimentares, onde tem a função de estabilizar produtos alimentícios (SCHRIEBER; GAREIS, 2007). Gelatinas com baixos valores de viscosidade resultam em géis fracos, enquanto com alta viscosidade resulta em géis com boa extensibilidade e consistência (BORAN; LAWLESS; REGENSTEIN, 2010).

A viscosidade da solução de gelatina varia com a distribuição de massa molar e o tamanho molecular das proteínas (ZHANG *et al.*, 2016).

As curvas de viscosidade das gelatinas obtidas e da gelatina comercial bovina durante resfriamento (40 °C para 7 °C) e aquecimento (7 °C para 40 °C) podem ser observadas na Figura 10.

Figura 10 - Curvas de viscosidade das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos (T1; T2; T3; T4; T5 e GCB) durante o resfriamento (40 °C a 7 °C) e durante o aquecimento (7 °C a 40 °C)



Nota: T1 - 24 h a 4 °C; T2 - 24 h a 24 °C; T3 - 48 h a 4 °C; T4 - 48 h a 24 °C; T5 - 36 h a 14 °C e GCB = Gelatina comercial bovina.

Nas curvas de resfriamento a viscosidade das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo variaram entre 5,11 e 35,61cP. Duan et al. (2018) também analisaram o comportamento da viscosidade em rampas de temperatura (aquecimento/resfriamento) e para 25 °C obtiveram o valor de cerca de 1 cP para gelatina de pele de bagre.

Pang et al. (2017) encontraram valor de 7,0 cP para gelatina comercial de peixe utilizando metodologia semelhante ao do presente estudo. Já para Maia-Pinheiro, Bomfim e Nunes (2015) encontraram valores de 3,3 a 5,4 cP para gelatina de bexiga natatória de bagre, enquanto Shyni *et al.* (2014) obtiveram valores entre 2,5 e 5,6 cP para gelatina de pele de atum. Jamilah e Harvinder (2002) reportaram valores de viscosidade de 3,2 cP e 7,12 cP para pele de tilápia vermelha e preta, respectivamente e Yang *et al.* (2007) de 3,23 cP para gelatina de pele de bagre, utilizando metodologias diferentes.

Observou-se que em todas as curvas de aquecimento, a viscosidade se manteve elevada durante mais tempo. Isto é devido ao processo de maturação do gel durante os 3 minutos em que as amostras ficaram a 7 °C até que o processo de reaquecimento se iniciasse. Em temperaturas abaixo de 10 °C, alguns peptídeos de cadeia curta em soluções de colágeno de baixa viscosidade tendem a fortalecer o gel (TAN; CHAN, 2018).

A elevação dos valores da viscosidade na temperatura de 7 °C para as curvas de resfriamento e reaquecimento foi de $9,82 \times 10^4$ para $1,30 \times 10^5$ cP para o tratamento T1; $6,34 \times 10^5$ cP para $7,51 \times 10^5$ cP para o tratamento T2; $3,48 \times 10^5$ cP para $4,24 \times 10^5$ para o tratamento T3; $6,53 \times 10^5$ para $7,85 \times 10^5$ cP para o tratamento T4; $7,57 \times 10^5$ para $8,87 \times 10^5$ cP para o tratamento T5 e para gelatina comercial foi de $2,74 \times 10^5$ para $4,32 \times 10^5$ cP. Para Duan *et al.* (2018), a elevação para as curvas de resfriamento e reaquecimento foi cerca de 1 cP para cerca de 2,5 cP.

Todas as gelatinas (T1, T2, T3, T4 e T5) se liquefizeram em temperaturas acima de 25 °C, demonstrando que a aplicabilidade das mesmas em produtos refrigerados é vantajosa, conferindo textura e estrutura a esses produtos.

Gudmundsson (2002) afirma que a viscosidade de uma gelatina é influenciada pela concentração, temperatura, tipo de gelatina e métodos de extração. Niu *et al.* (2013) relacionaram a viscosidade e a distribuição de peso molecular das proteínas de gelatina de pele de tilápia do Nilo com a concentração do ácido utilizada e observaram que gelatinas preparadas utilizando uma concentração muito baixa (por exemplo de 0,01 M de ácido acético ou HCl) ou uma concentração muito elevada (por exemplo $\geq 0,05$ M de HCl ou ácido cítrico), produziram uma gelatina com menor viscosidade. No presente trabalho, foi utilizada a concentração de 0,5 M, o que pode justificar os valores mais baixos de viscosidade.

5.8.2.2 Ponto de gelificação

Os valores encontrados para o ponto de gelificação das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle) estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 - Ponto de gelificação das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

AMOSTRA	Ponto de gelificação (°C)
T1	17,80 ^c * ± 0,26
T2	20,80 ^b * ± 0,72
T3	20,87 ^b * ± 0,23
T4	21,80 ^b * ± 0,72
T5	24,67 ^a * ± 0,45
Controle	23,30 ± 0,36

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – gelatina comercial bovina).

O tratamento T1 diferiu significativamente dos demais ($p \leq 0,05$), enquanto os tratamentos T2, T3 e T4 não diferiram entre si ($p \geq 0,05$). A amostra T5 foi a que obteve maior valor de ponto de gelificação, ou seja, seu gel gelifica em temperatura maior do que as demais. O tratamento controle também diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) de todas as gelatinas de bexiga natatória de robalo, apresentando ponto de gelificação maior do que os das amostras T1, T2, T3 e T4 e abaixo da T5.

Nota-se que entre os tratamentos T1 e os T2, T3 e T4 (tratamentos que não diferiram entre si), houve uma elevação do valor da força de gel, denotando que um tempo e uma temperatura maior favoreceu o aumento do valor do ponto de gelificação. Porém, o tratamento T5, denominado como ponto médio, apresentou o maior valor, apontando que, possivelmente, uma temperatura e um tempo mais moderado seja mais eficiente para fortificação das cadeias proteicas presentes na gelatina que fortalecem o gel, elevando o ponto de gelificação.

Kaewdang (2015) encontrou valores de ponto de gelificação de 22,33 °C; 22,05 °C e 20,36 °C para gelatina de bexiga natatória de atum em temperaturas de extração de 60

°C, 70 °C e 80 °C, respectivamente. Chandra e Shamasundar (2015) encontraram valor de 13,7 °C para gelatina de bexiga natatória de carpa, enquanto Kaewdang (2015) encontrou valores entre 12,30 °C e 15,12 °C para gelatina extraída de bexiga natatória de atum utilizando diferentes concentrações de ácido acético, estes valores foram menores do que os encontrados na presente pesquisa

Gelatinas com altos níveis de hidroxiprolina tendem a ter ponto de gelificação maiores, uma vez que esse aminoácido é importante na renaturação da gelatina durante a gelificação (Karim e Bhat, 2009). Acredita-se que a hidroxiprolina desempenhe um papel singular na estabilização da tripla hélice do colágeno devido à sua capacidade de formar ligações de ponte de hidrogênio (Gómez-Guillén *et al.*, 2011). Este fato justifica o tratamento T5 ter apresentado maior valor de ponto de gelificação, já que apresentou alto teor do aminoácido hidroxiprolina (Tabela 21).

O comportamento dos módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' e o ângulo de fase δ , durante o resfriamento de 40 °C para 7 °C para todos os tratamentos e para gelatina comercial bovina, podem ser observados nas Figuras 11 a 16.

Figura 11 - (a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T1)

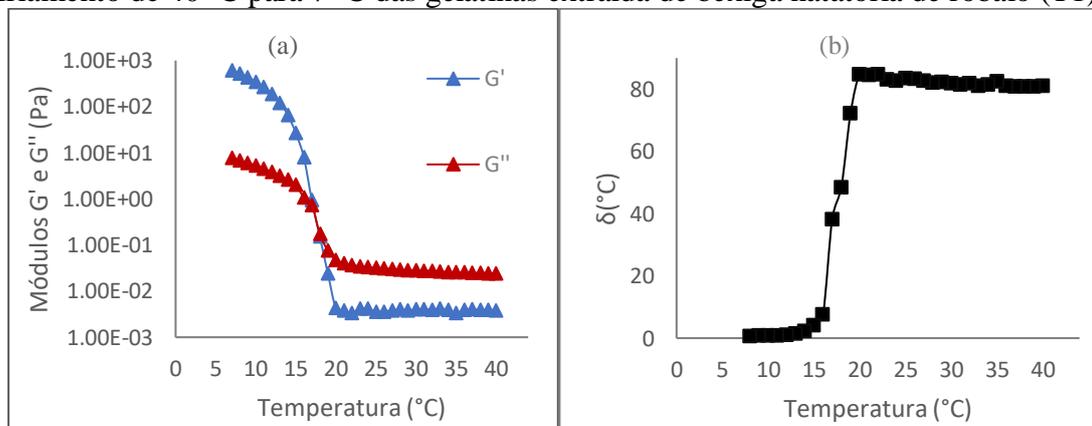


Figura 12 - (a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T2)

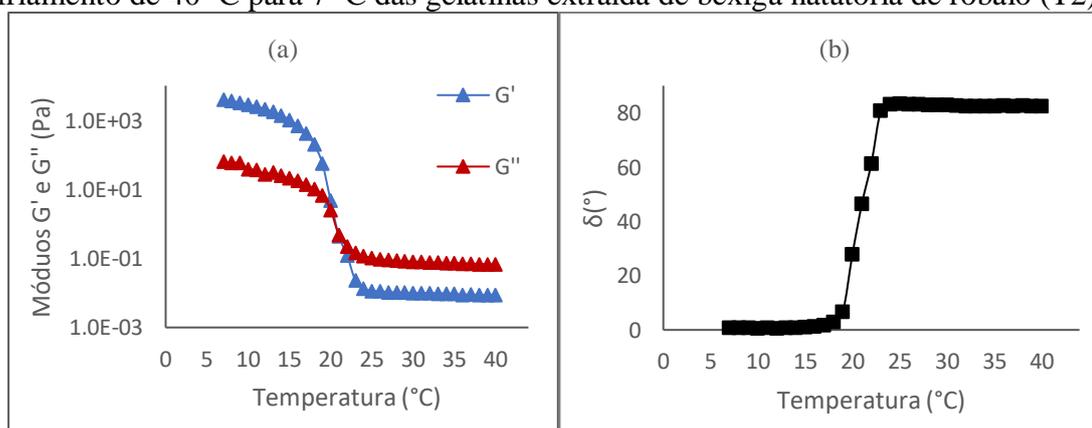


Figura 13 - (a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T3)

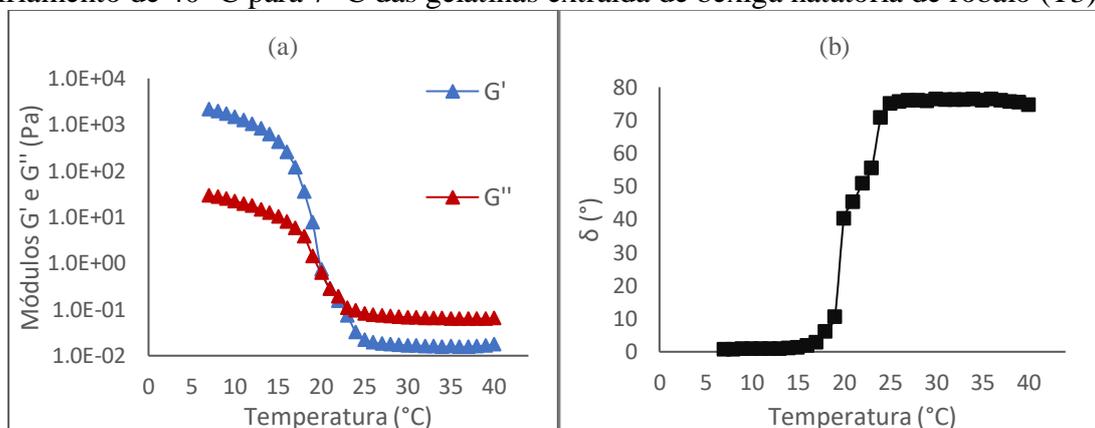


Figura 14 - (a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T4)

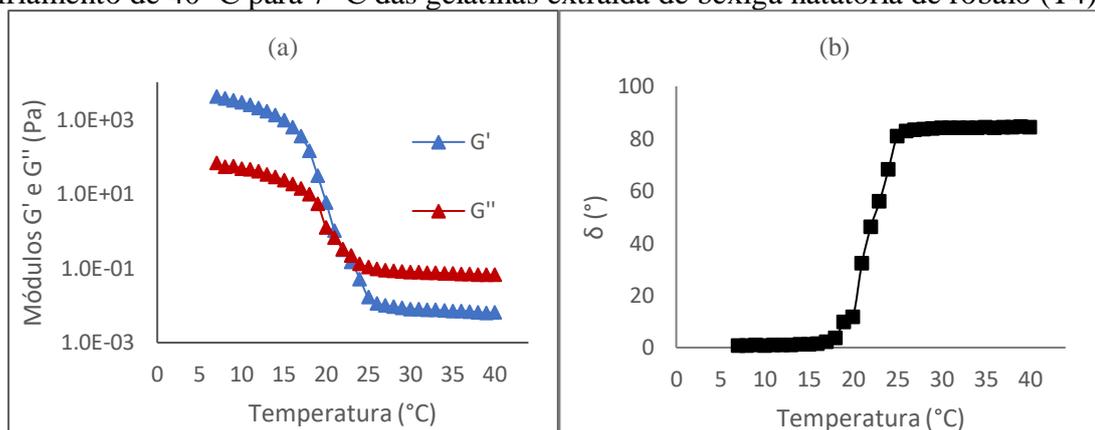


Figura 15 - (a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C das gelatinas extraída de bexiga natatória de robalo (T5)

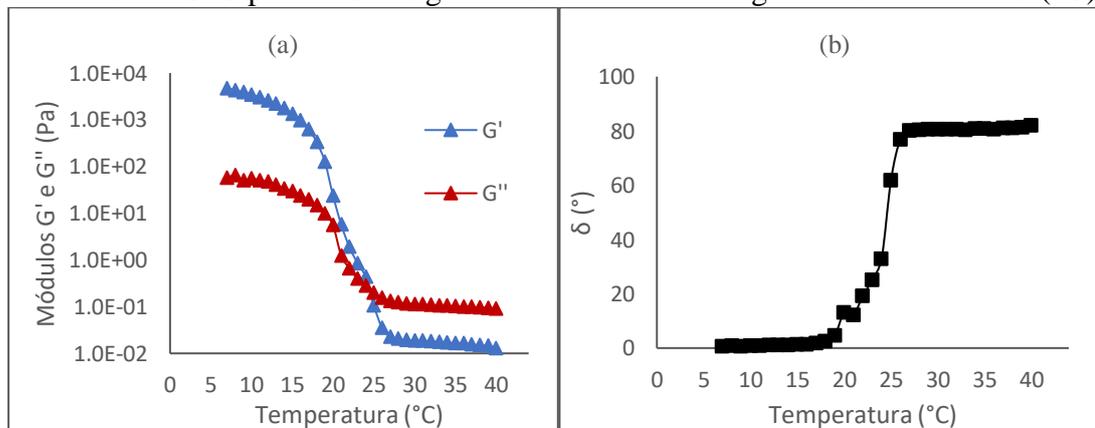
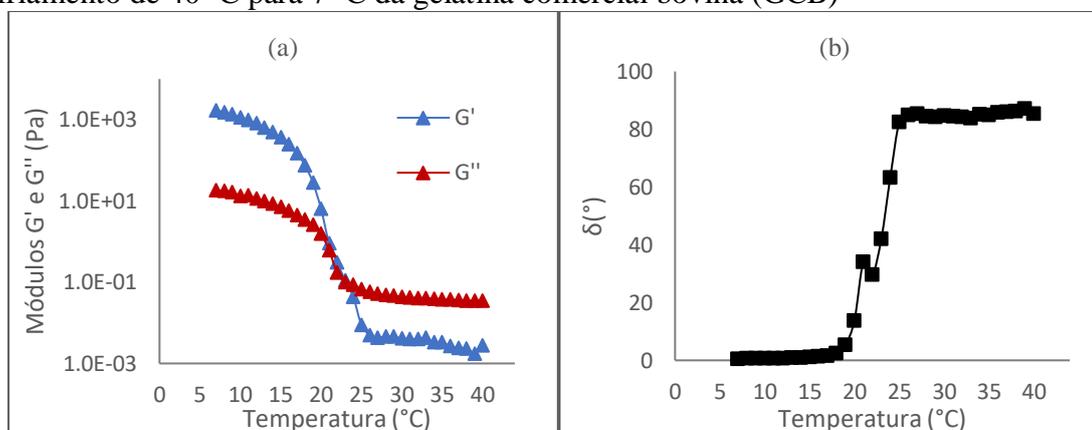


Figura 16 - (a) Módulos de elasticidade G' , de viscosidade G'' e (b) ângulo de fase δ , durante resfriamento de 40 °C para 7 °C da gelatina comercial bovina (GCB)



Na faixa de temperatura de 20 °C (T_1) a 26 °C (gelatina controle) observou-se o incremento do módulo elasticidade G' em relação ao módulo viscosidade G'' (11a, 12a, 13a, 14a, 15a e 16a), denotando o início do processo de gelificação, efeito confirmado pelo decréscimo do ângulo de fase δ (°), demonstrando o comportamento viscoelástico da gelatina e a tendência ao predomínio do componente elástico, abaixo dessas temperaturas.

Os módulos de elasticidade (G') e viscosidade (G'') apresentaram comportamentos típicos para o tipo de material analisado (gelatina), enfatizando-se o aumento pronunciado do módulo G' , evidenciando juntamente com o decréscimo do ângulo de fase a mudança de estado físico de líquido para sólido das gelatinas. Os comportamentos de todas as amostras, incluindo a gelatina comercial bovina (controle), foram semelhantes entre si.

Então, o processo ocorreu rapidamente até o ponto de gelificação (*gelling point*), em torno da faixa de 17,80 °C (T_1) a 24,57 °C (T_5), onde aconteceu a intersecção dos módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' .

A gelificação é afetada pela concentração de gelatina, pH, peso molecular, conteúdo relativo dos componentes da cadeia proteica, tempo de maturação do gel e temperatura de extração (CHOI; REGENSTEIN, 2000; GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2002).

5.8.2.3 Ponto de fusão

Os valores de ponto de fusão para os tratamentos e para a gelatina comercial bovina (controle) estão apresentados na Tabela 18. Quando comparadas entre si, as gelatinas de bexiga natatória de robalo apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$), o tratamento

T5 apresentou ponto de fusão mais elevado do que os tratamentos T1, T2 e T3 e não diferiu significativamente ($p \geq 0,05$) do tratamento T4.

Tabela 18 - Ponto de fusão das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

AMOSTRA	Ponto de fusão (°C)
T1	25,83 ^c * ± 0,76
T2	26,80 ^{b,c} * ± 0,35
T3	26,83 ^{b,c} * ± 0,76
T4	27,67 ^{a,b} * ± 0,42
T5	28,67 ^a ± 0,65
Controle	29,73 ± 0,38

Fonte: Elaborada pela autora.

Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e médias seguidas de asterisco diferem significativamente do controle pelo teste de Dunnett ($p \leq 0,05$). T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e controle (GCB – gelatina comercial bovina).

Comparadas à gelatina do tratamento controle, as gelatinas de bexiga natatória de robalo, T1, T2, T3 e T4 apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$), apresentando pontos de fusão menores.

O ponto de fusão das gelatinas extraídas de pele de diversos peixes (atum, tilápia, polaca, linguado, bacalhau), variou de 11 a 28,9 °C (KARIM; BHAT, 2009; GUDMUNDSSON, 2002; JAMILAH; HARVINDER, 2002). Os valores encontrados para o ponto de fusão da presente pesquisa estiveram dentro do esperado e na faixa acima citada.

As gelatinas de peixe de água morna possuem maior conteúdo de aminoácidos prolina e hidroxiprolina que, apresentam maiores valores de força de gel e ponto de fusão, se assemelhando às gelatinas de mamíferos (HAUG *et al.*, 2004; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004a; BUENO, 2008). O que pode ser confirmado no presente estudo, pois o robalo é um peixe de água morna, e as gelatinas extraídas de sua bexiga natatória resultaram em gelatina de alto bloom e com bons valores de ponto de fusão. Em específico, o tratamento T5 apresentou maior ponto de fusão e obteve altos teores de prolina e hidroxiprolina (Tabela 18).

O comportamento dos módulos de elasticidade G' , viscosidade G'' e ângulo de fase de todos os tratamentos, incluindo a gelatina comercial bovina, monitorados durante o aquecimento de 7 °C para 40 °C, podem ser observados nas Figuras 17 a 22.

Figura 17 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T1)

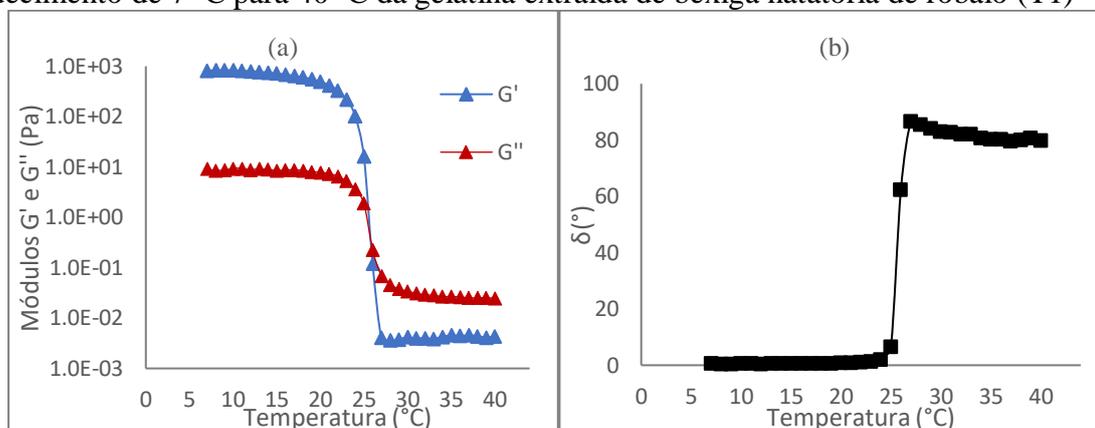


Figura 18 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T2)

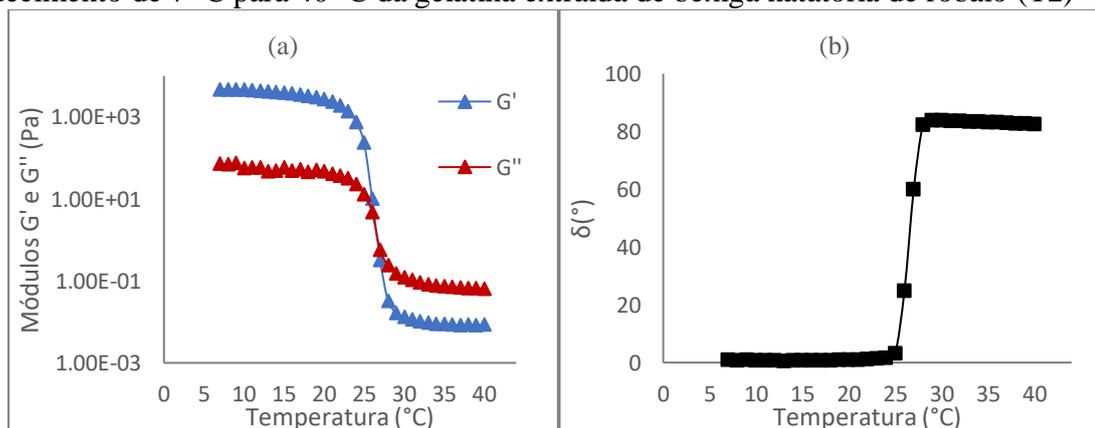


Figura 19 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T3)

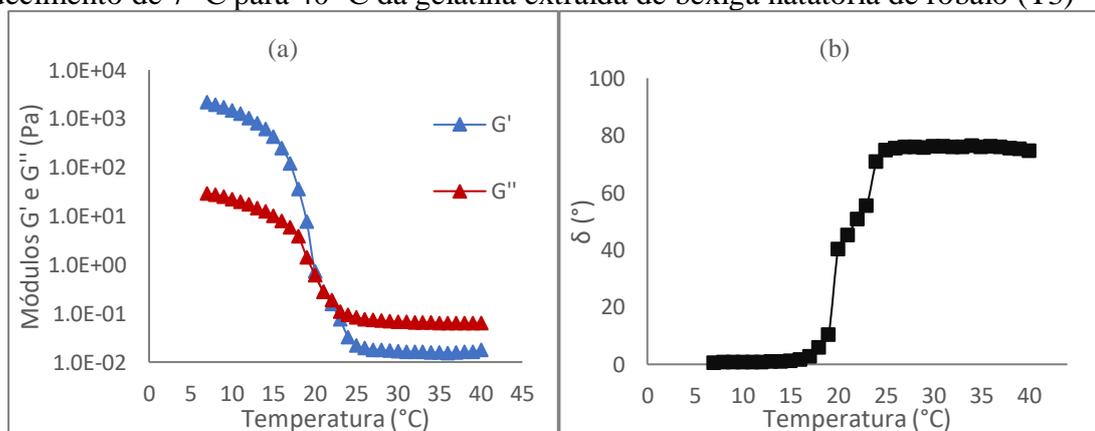


Figura 20 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T4)

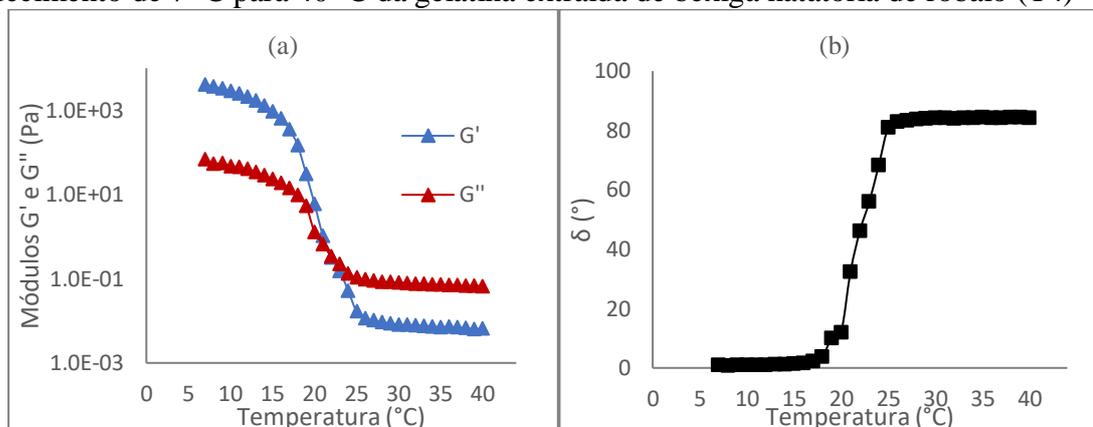


Figura 21 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina extraída de bexiga natatória de robalo (T5)

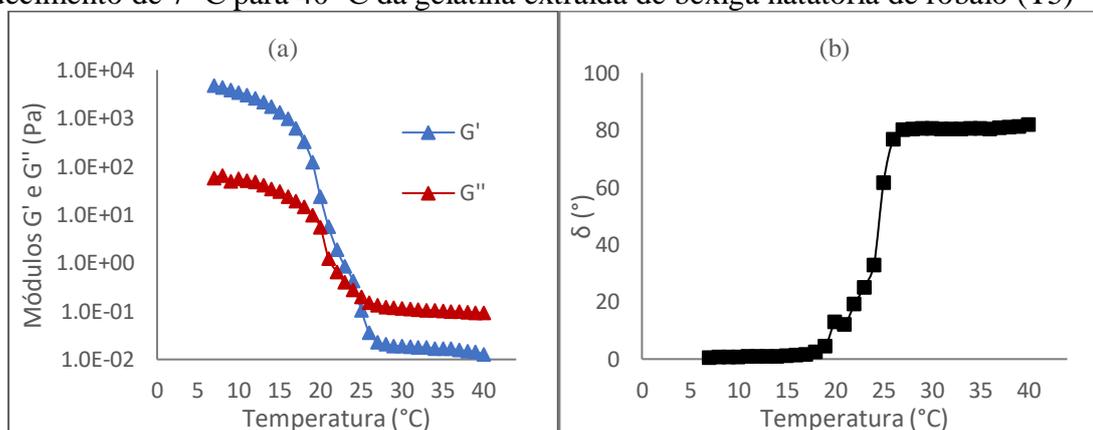
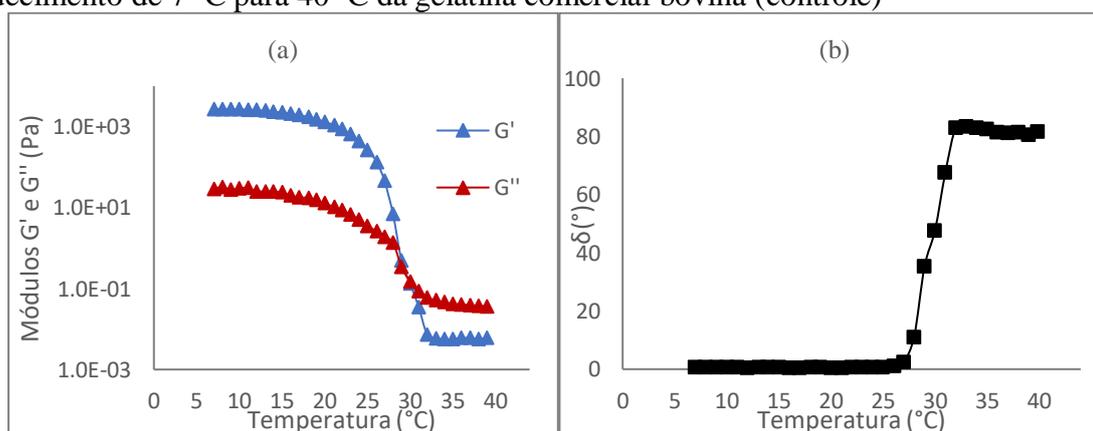


Figura 22 - Módulos de elasticidade G' e viscosidade G'' (a) ângulo de fase δ , (b) durante aquecimento de 7 °C para 40 °C da gelatina comercial bovina (controle)



O ponto de fusão das gelatinas iniciou-se na faixa de temperatura de 25 °C (T1) a 30 °C (GCB), apresentando um rápido decréscimo do módulo elasticidade G' em relação ao módulo viscosidade G'' (Figuras 17a, 18a, 19a, 20a, 21a e 22a) e o consequente aumento do ângulo de fase (Figuras 17b, 18b, 19b, 20b, 21b e 22b), com a tendência contínua ao

decréscimo do componente elástico G' , os pontos de fusão (*melting point*) foram observados em temperaturas entre 25 °C (T1) e 30 °C (controle).

Os módulos de elasticidade (G') e viscosidade (G'') apresentaram comportamentos típicos para o tipo de material analisado (gelatina), enfatizando-se novamente o declínio mais marcante do módulo G' , evidenciando juntamente com o aumento do ângulo de fase a mudança de estado físico de sólido para líquido das gelatinas. Os comportamentos de todas as amostras, incluindo a gelatina comercial bovina (controle), foram semelhantes.

Para a avaliação da influência do frio sobre as propriedades viscoelásticas das gelatinas, as amostras foram mantidas a 7 °C, por três minutos, antes do início do reaquecimento, acarretando um aumento do módulo elasticidade G' durante esse intervalo de tempo. Segundo Gómez-Guillén *et al.* (2002), esta elevação da elasticidade é resultante da rápida maturação causada pelo frio.

Fernández-Díaz, Montero e Gómez-Guillén (2003) e Alfaro, Costa e Prentice (2005) relataram em seus estudos a influência do tempo de maturação sobre as propriedades viscoelásticas da gelatina de pescado, aumentando seus pontos de fusão. Segundo Fernández-Díaz, Montero e Gómez-Guillén (2003) durante a maturação os polímeros de alto peso molecular e o componente γ (trímeros) das α -cadeias que formam o colágeno promovem a renaturação da rede tridimensional, aumentando a força de gel e conseqüentemente o ponto de fusão. Fato este que pode estar relacionado com o aumento do G' após os três minutos de maturação antes do reaquecimento.

Segundo Choi e Regenstein (2000) se a temperatura de maturação for muito baixa a gelificação ocorre mais rapidamente porém essa gelificação rápida não permite que o gel de gelatina amadureça totalmente até um ponto de fusão estável, apresentando um ponto de fusão inferior.

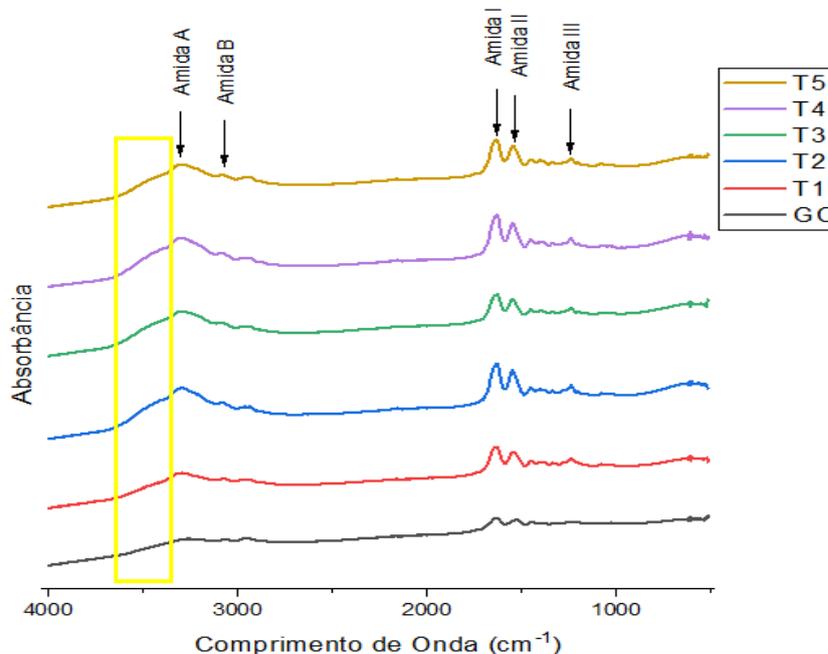
Para aplicações em alimentos, as propriedades mais importantes que caracterizam a gelatina são força do gel, viscosidade, pontos de gelificação e de fusão e são afetadas por muitos fatores, como o peso molecular, a concentração da solução de gelatina, o tempo de maturação do gel, a temperatura de maturação do gel e o pH (KARIM; BHAT, 2009).

5.9 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros infravermelhos das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle) estão representados na Figura 23. Esses espectros fornecem evidências da presença de grupos funcionais presentes nas amostras, sendo

utilizados na identificação das gelatinas e para investigar suas composições químicas. Observa-se que os picos de amida característicos da gelatina foram encontrados nas amostras analisadas (T1, T2, T3, T4, T5 e GCB).

Figura 23 - Espectros de FTIR das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos (T1, T2, T3, T4 e T5) e da gelatina comercial bovina (GC/controlre).



Fonte: Elaborada pela autora.

Os picos da amida A em todos os tratamentos foram encontrados, em seus espectros, por volta de 3330cm^{-1} , representando o alongamento do NH acoplado à ligação de hidrogênio. O pico da amida B foi em volta de 3078cm^{-1} , representando o alongamento CH e NH.

Os espectros de todas as gelatinas exibiram as bandas principais (amida I, II e III) por volta de 1633cm^{-1} (amida I, representando estiramento C=O), ao redor de 1550cm^{-1} (amida II, decorrente da vibração de flexão de grupos NH e vibrações de alongamento de grupos CN) e aproximadamente de 1240cm^{-1} (amida III, representando as vibrações no plano de grupos CN e NH). Os picos da amida III sugerem que as gelatinas adotaram uma estrutura helicoidal proveniente do colágeno (Tamilmozhi, Veeruraj e Arumugam, 2013). Na região demarcada em amarelo (Figura 23), nota-se a presença de um “ombro” que pode ser atribuído aos grupos OH oriundos do processo de foto-oxidação (Nishihora, 2015).

Trilaksani *et al.* (2020) encontraram na gelatina de bexiga natatória de garoupa as bandas de amida A, B, I, II e III em 3440cm^{-1} , 2923cm^{-1} , 1689cm^{-1} , 1542cm^{-1} e 1249cm^{-1} , respectivamente. Djailani, Trilaksani e Nurhayati (2016) encontraram na gelatina extraída de bexiga natatória de enguia os valores de amida A em $3430,26\text{cm}^{-1}$, amida B em $2927,04\text{cm}^{-1}$

¹, Amida I em 1634,43 cm⁻¹, amida II em 1546,24 cm⁻¹ e amida III em 1238,50cm⁻¹. Todos esses valores de comprimento de onda se assemelham aos encontrados nos espectros do presente estudo, incluindo também a gelatina comercial bovina.

As descrições dos grupos funcionais referentes aos picos de amida estão evidenciadas no Quadro 1, juntamente com os valores encontrados de cada pico para as gelatinas analisadas.

Quadro 1 - Grupos funcionais referentes a estrutura da gelatina e valores de comprimento de onda dos espectros das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

	Comprimento de Onda (cm ⁻¹)				
	Amida A	Amida B	Amida I	Amida II	Amida III
Grupo Funcional	NH	NH	C=O	NH/CN/C-	CN
	OH ~3300	~3078 CH ₂ ~2944	NH ~1630	C ~1541 CH ₂ ~1450/1334 COO ~1410	NH ~1240 CO ~1086/1045
T1	3.306	3.078	1.633	1.546	1.237
T2	3.302	3.079	1.632	1.550	1.240
T3	3.296	3.083	1.632	1.551	1.240
T4	3.301	3.078	1.632	1.550	1.240
T5	3.305	3.090	1.633	1.548	1.239
GCB	3.325	3.090	1.632	1.529	1.235

Fonte: Elaborada pela autora.e Staroszczyk *et al.* (2012), para os valores de referência dos grupos funcionais.
Nota: T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e GCB (Gelatina comercial bovina).

5.10 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os picos dos termogramas indicaram o evento endotérmico referente ao ponto de fusão para cada gelatina extraída de bexiga natatória de robalo sob diferentes tratamentos (T1, T2, T3, T4 e T5). Os picos endotérmicos das gelatinas obtidas e da gelatina comercial estão representados nos termogramas de DSC cujas temperaturas iniciais e finais, assim como T_{onset}, T_{endset} e ΔH estão demarcadas nas Figuras 24 a 29.

Figura 24 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T1

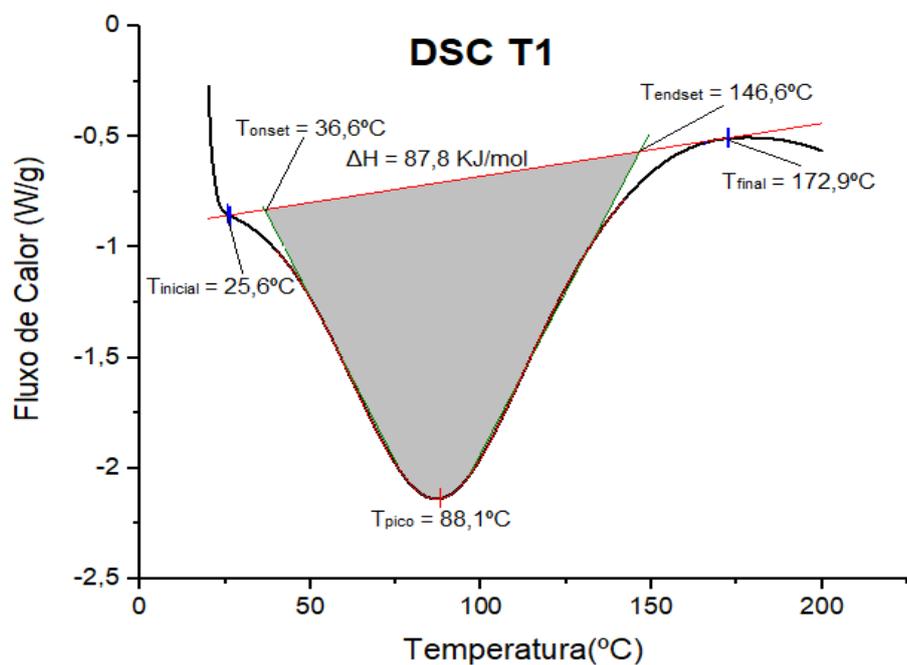


Figura 25 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T2

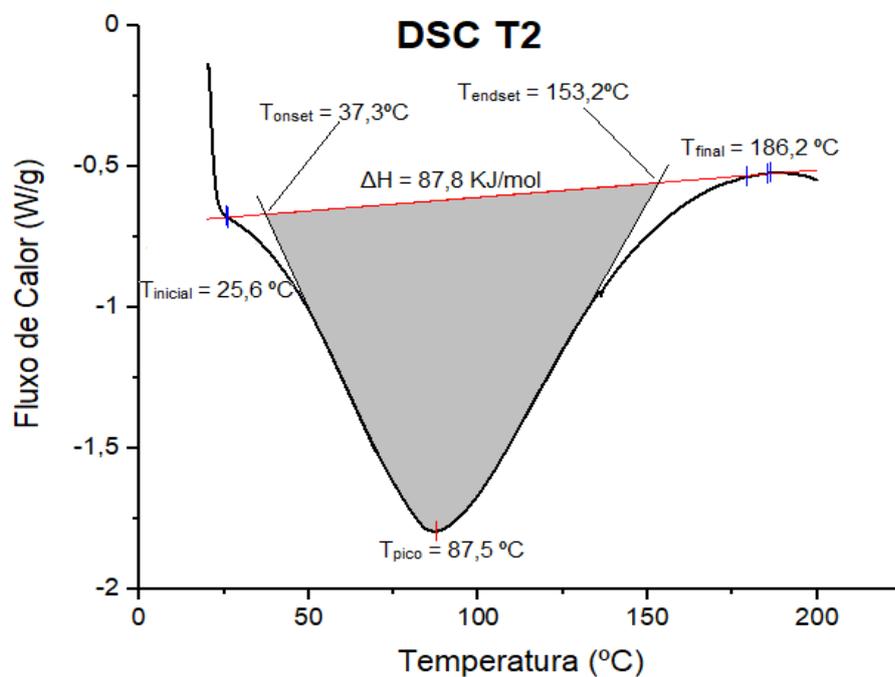


Figura 26 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T3

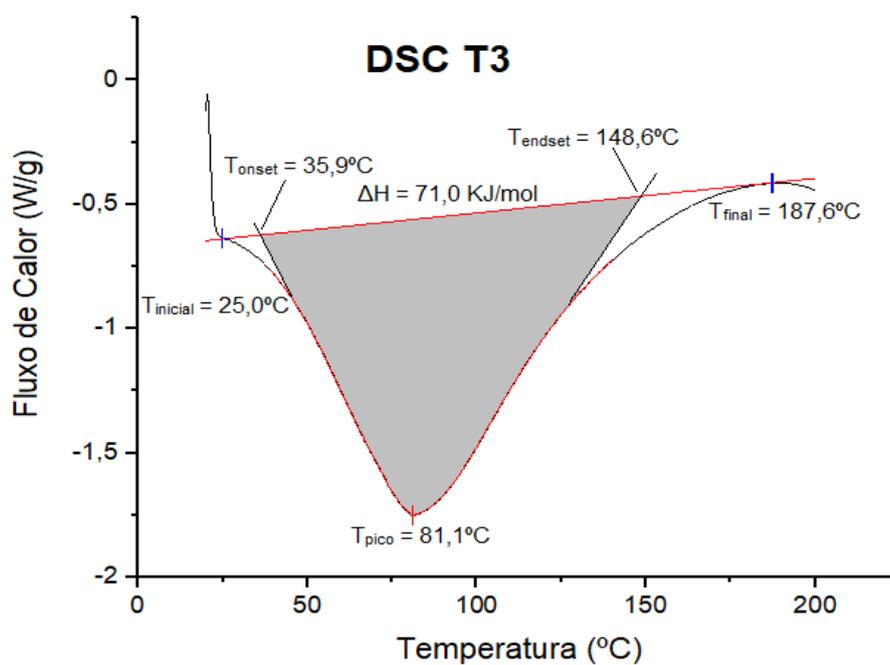


Figura 27 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T4

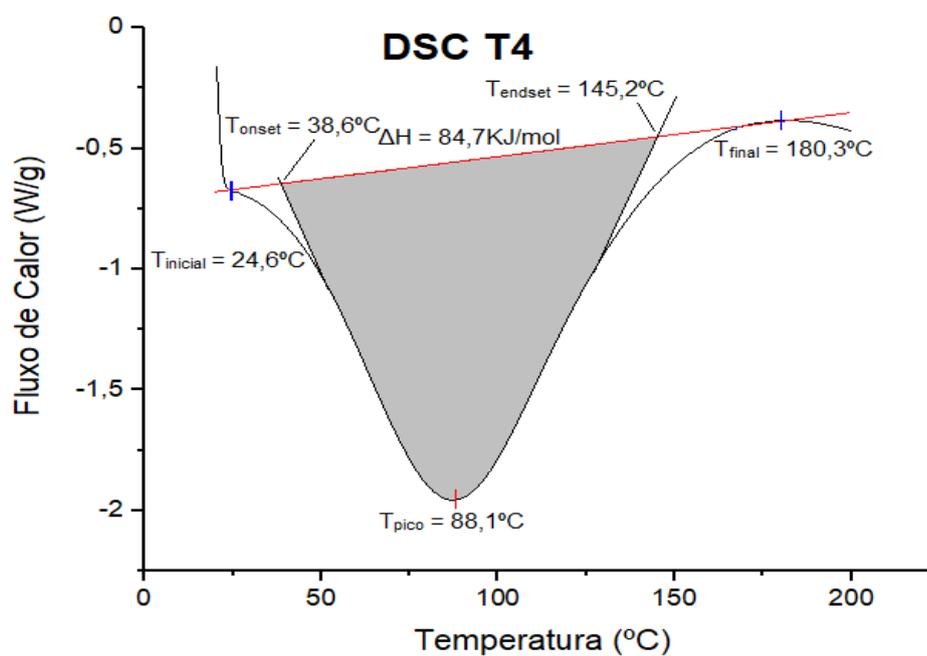


Figura 28 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial, temperatura final, Tonset, Tendset e ΔH para o tratamento T5

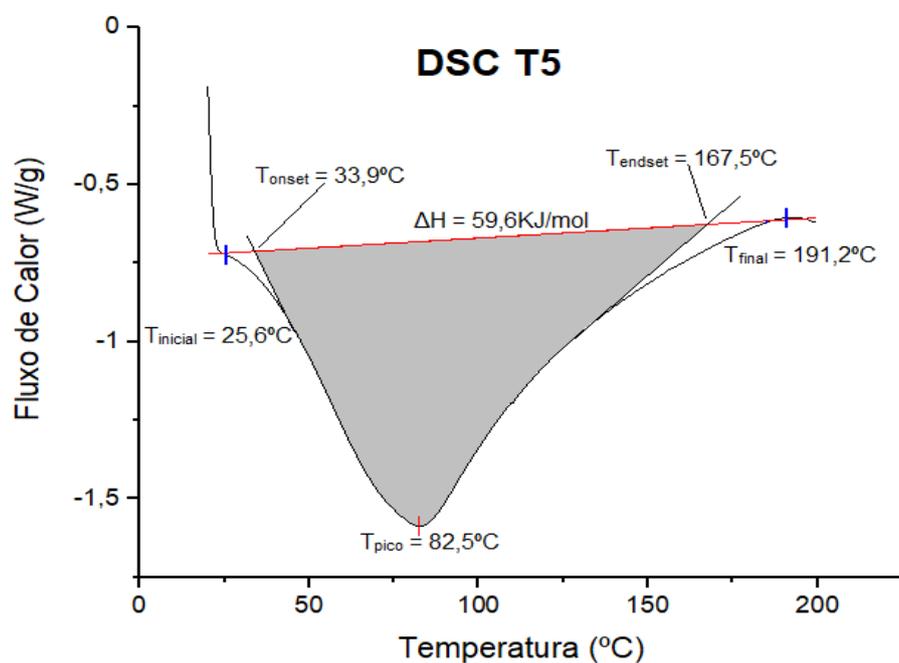
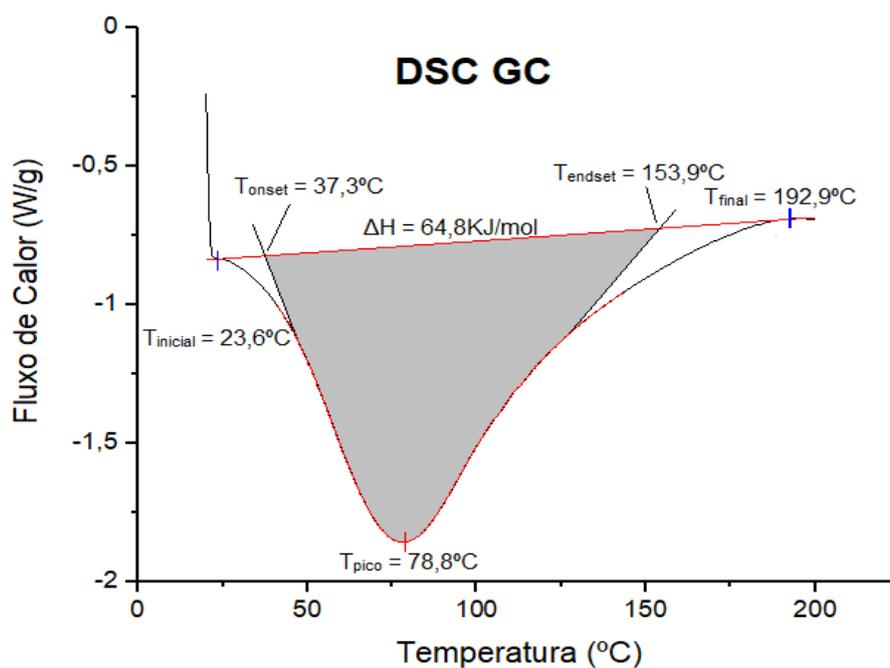


Figura 29 - Termograma de DSC e demarcações de temperatura inicial e final, Tonset e Tendset e ΔH para a gelatina comercial bovina



Os valores das temperaturas inicial, final, onset, endset e de pico e área do pico dos termogramas de DSC das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle) estão expressos na Tabela 19.

Tabela 19 - Temperaturas inicial, final, onset, endset e de pico e área do pico dos termogramas de DSC das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina (controle)

Amostra	T_{inicial} (°C)	T_{final} (°C)	T_{onset} (°C)	T_{endset} (°C)	T_{pico} (°C)	ΔH (KJ/mol)
T1	25,6	172,9	36,6	146,6	88,1	87,8
T2	25,6	186,2	37,3	153,2	87,5	87,8
T3	25,0	187,6	35,9	148,6	81,1	71,0
T4	24,6	180,3	36,6	145,2	88,1	84,7
T5	25,6	191,2	33,9	167,5	82,5	59,6
GCB	23,6	192,9	37,3	153,9	78,8	64,8

Nota: T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e GCB (Gelatina comercial bovina).

Fonte: Elaborada pela autora.

As temperaturas inicial, final, onset, endset e dos termogramas das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle) apresentaram valores próximos, demonstrando comportamentos similares durante o evento endotérmico de fusão e os picos endotérmicos foram próximos aos encontrados pelos módulos G' e G'' para ponto de fusão (Tabela 15) para todas as amostras, validando a confiabilidade nesses resultados.

Nos trabalhos de Zhang *et al.* (2019) e Liu *et al.* (2015), foram encontrados os valores de 40,1 °C, 38,3 °C e 38 °C (estes dois últimos para o estudo de Liu) para a temperatura de pico. Esses valores foram inferiores aos encontrados nesta pesquisa, indicando que as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo possuem uma maior capacidade térmica de fusão, alcançando valores superiores.

Djailani, Trilaksani e Nurhayati (2016), Gadi, Trilaksani e Nurhayati (2018) e Kartika, Trilaksani e Adnyane (2017) encontraram o valor da temperatura de pico de 67,26 °C, 195,9 °C e 103,37 °C para gelatinas de bexiga natatória de enguia, respectivamente. Hadinoto, Kolanus e Idrus (2019) encontraram o valor de 85,60 °C para gelatina de bexiga natatória de atum, valor semelhante ao do presente estudo.

Os valores das áreas de picos foram de ΔH 0,918J/g e ΔH 0,860J/g para gelatina de bexiga natatória de perca-gigante, de acordo com Sinthusamran, Benjakul e Kishimura (2013) e por Kaewdang *et al.* (2014) foram de ΔH 1,786J/g e ΔH 0,354J/g para gelatina de bexiga natatória de atum e por Liu *et al.* (2012) foi de ΔH 1,39J/g para gelatina de bexiga natatória de carpa.

Observa-se que os valores são bastante variados, indicando que cada gelatina possui uma característica de estabilidade térmica individual, embora tenham em comum o fato de serem extraídas de bexigas natatórias de peixes.

Sinthusamran, Benjakul e Kishimura (2015), afirmaram que valores elevados para a temperatura de pico e ΔH indicam um alto nível de estabilidade térmica e que as diferenças ambientais afetam a estabilidade térmica, ou seja, o colágeno de espécies que vivem em águas frias tem um baixo nível de estabilidade térmica em comparação com o colágeno de espécies de peixes que vivem em águas quentes ou mornas, é o caso do robalo, como dito anteriormente. A estabilidade térmica do colágeno também é determinada pela cadeia de aminoácidos (prolina e hidroxiprolina) e, em parte, por ligações de hidrogênio por meio dos grupos hidroxila da hidroxiprolina (BENJAKUL *et al.*, 2010).

A diferença entre a intensidade dos picos é justificada pelo fato de que as gelatinas apresentam uma redução na densidade de ligações de hidrogênio na sua estrutura (BIGI *et al.*, 2001; BIGI; PANZAVOLTA; RUBINI, 2004)

Os dados levantados pela análise de DSC indicaram que as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo apresentaram uma boa estabilidade térmica, sugerindo que elas podem vir a ser empregadas como matrizes poliméricas para formulação de produtos processados por casting ou extrusão na temperatura inferior a 200 °C.

5.11 Análise termogravimétrica (TGA/DTG)

As curvas da análise termogravimétrica (TGA) juntamente com sua derivada (DTG) das gelatinas podem ser visualizadas nas Figuras 30 a 35. É possível observar que o comportamento da degradação térmica de todas as gelatinas foi semelhante, apresentando a ocorrência de três principais eventos de perda de massa.

Figura 30 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T1

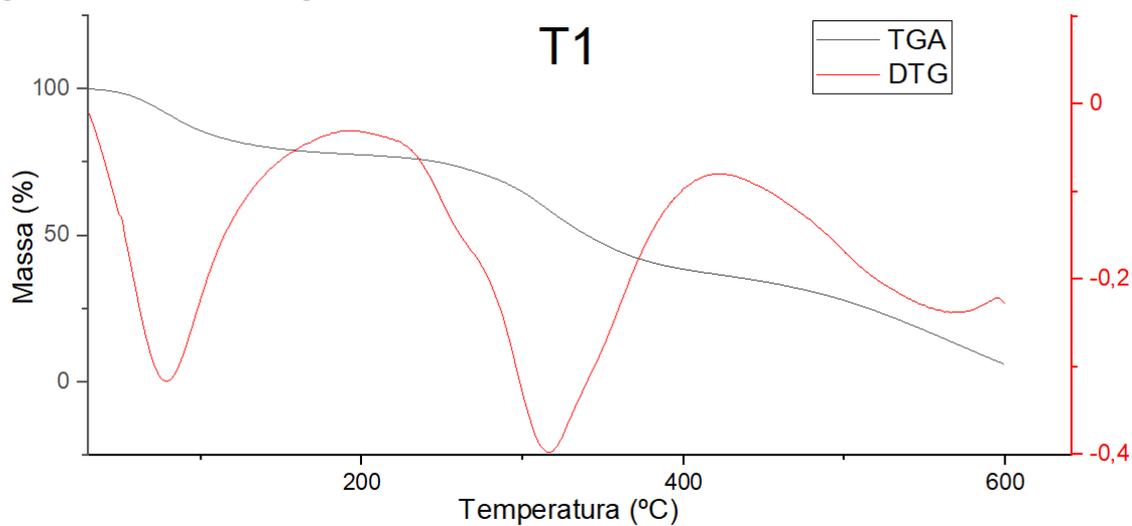


Figura 31 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T2

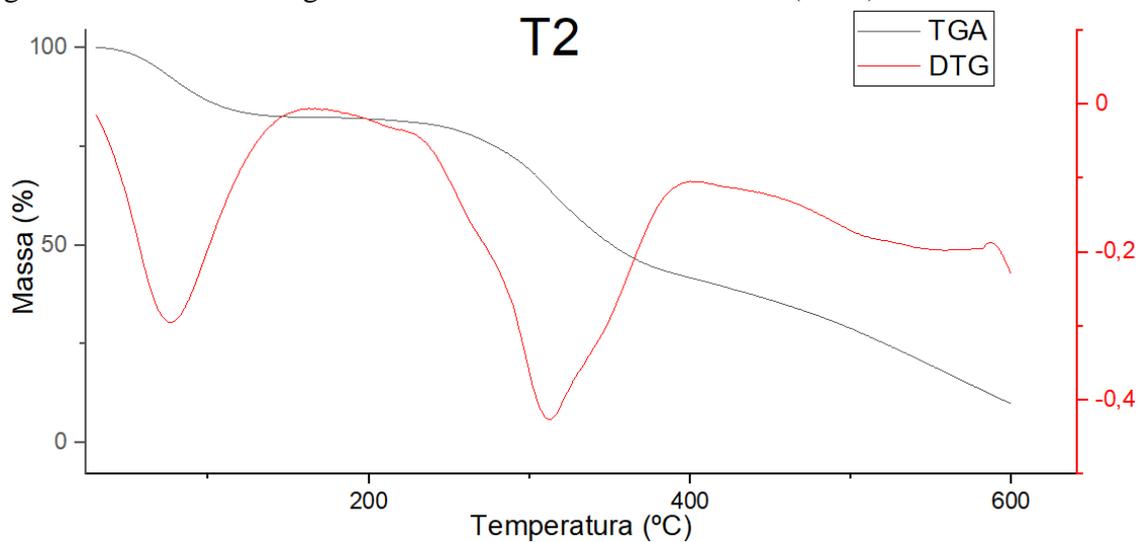


Figura 32 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T3

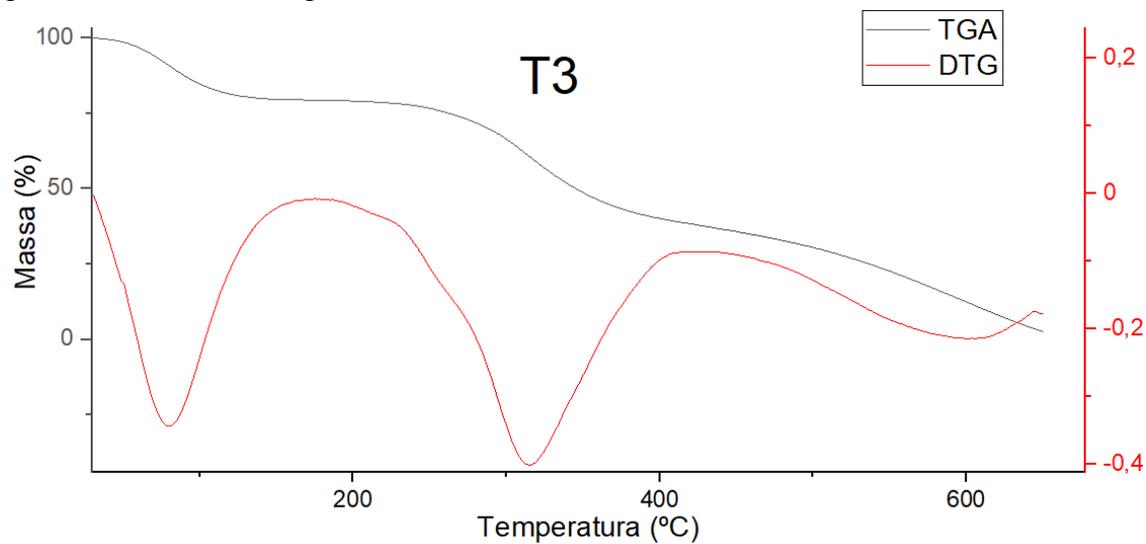


Figura 33 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T4

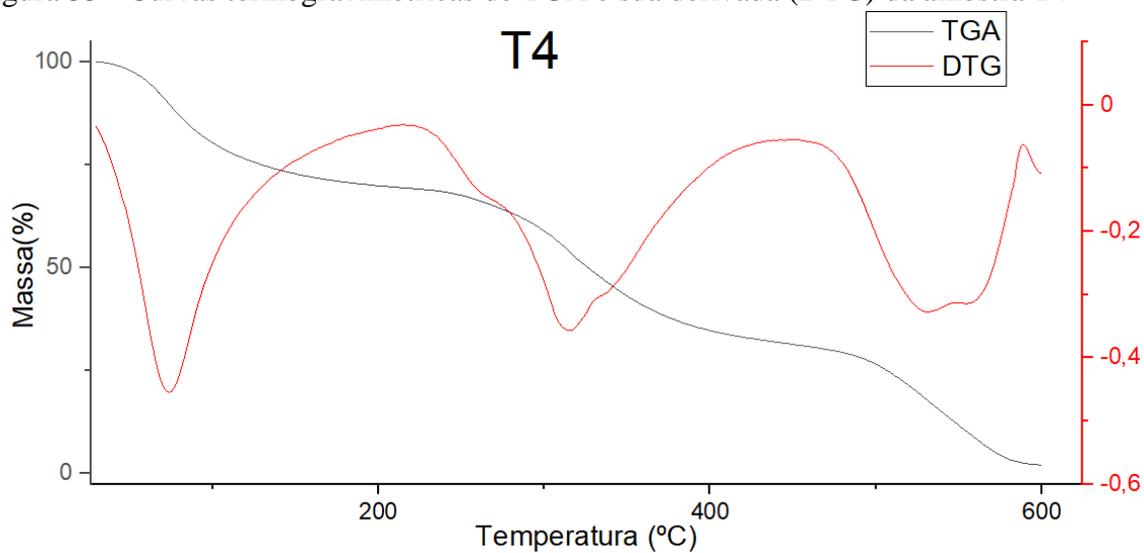


Figura 34 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da amostra T5

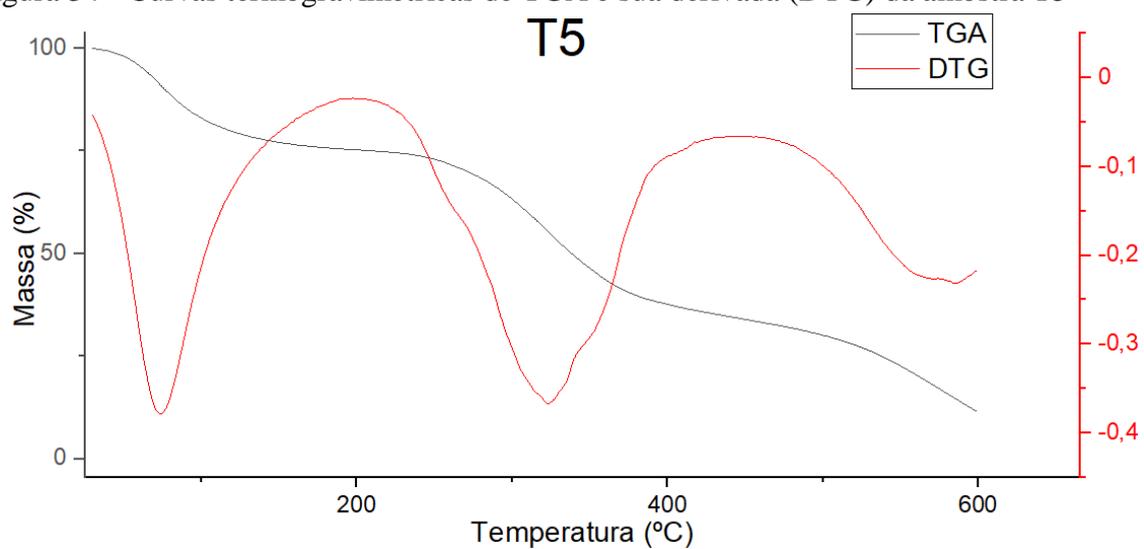
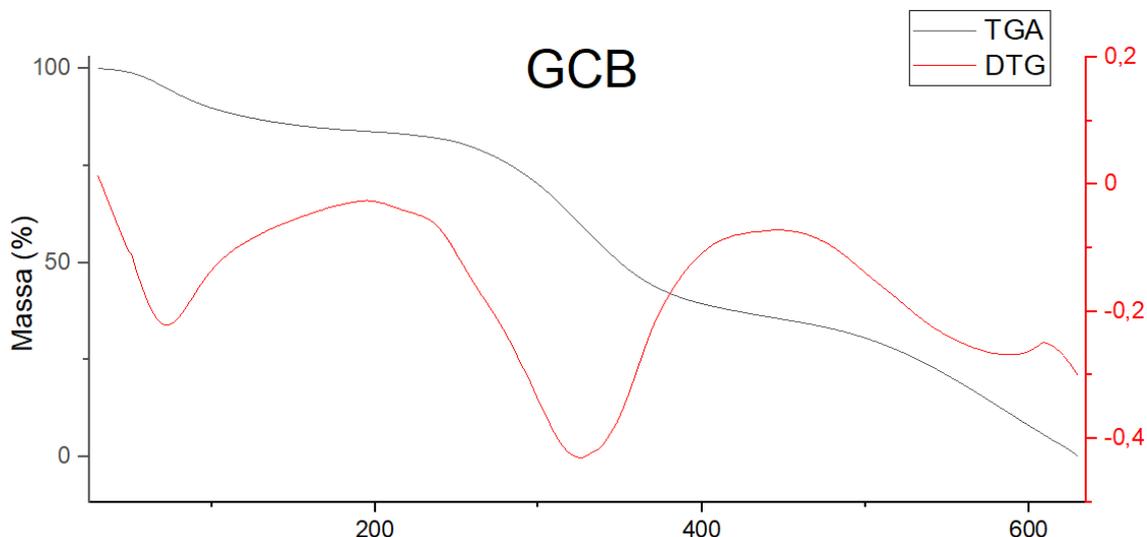


Figura 35 - Curvas termogravimétricas de TGA e sua derivada (DTG) da gelatina comercial bovina (GCB)



Observa-se nos primeiros eventos, que a perda de massa foi na faixa de temperatura de 73 °C a 90 °C, que é referente à perda de água livre absorvida pela gelatina, já que esta possui uma grande capacidade de absorção e retenção de água. Ramanathan *et al.* (2014), afirmam que durante o primeiro pico também há a desnaturação do colágeno.

Segundo Santos (2017), a gelatina tem afinidade com a água e, dependendo de suas interações estruturais, podem ser estabelecidas diferentes relações entre a água e as cadeias de proteínas. A perda de massa das gelatinas variou de 14% a 24%. A gelatina comercial bovina foi a que apresentou menor perda de massa durante o evento, o que condiz com seu baixo teor de umidade.

No segundo evento, houve uma perda de massa que ocorreu entre 312 °C e 327 °C, podendo-se atribuir esse processo à degradação inicial das proteínas de baixo e alto peso molecular e da perda de água fortemente ligada às gelatinas. A perda de massa foi de 31-43%, sendo a menor perda para amostra T5 e maior perda para a gelatina comercial bovina.

No terceiro evento, a perda de massa ocorreu na faixa de 531 °C a 602 °C e está relacionada à degradação pirolítica das cadeias proteicas que compõe a gelatina. Segundo Jalaja *et al.* (2016), no segundo e terceiro eventos os processos são parecidos, podendo ser devidos à quebra das cadeias proteicas e ruptura de ligações peptídicas. A perda de massa variou entre 24% e 32%.

Penha (2016), encontrou para o primeiro, segundo e terceiro eventos valores na faixa de 25 °C a 100 °C, 200 °C a 350 °C e até 600 °C e perda de massa de 8%, 40% e 40%,

respectivamente, em gelatinas extraída de pele e bexiga natatória de pescada amarela, resultados esses condizentes com os do presente estudo. Bama *et al.* (2010), encontraram valores de 100 °C para o primeiro evento e de 209 °C a 340 °C para o segundo evento em gelatinas extraídas de bexiga natatória de bagre com quitosana.

Na Tabela 20 estão apresentadas as temperaturas de degradação térmica, perda de massa e resíduo para cada evento das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina.

Tabela 20 - Temperaturas de degradação térmica (T_d), perdas de massa (Δ_w) e resíduos das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina.

Amostra	Δ_1		Δ_2		Δ_3		Resíduo (%)
	T_{d1} (°C)	Δ_{w1} (%)	T_{d2} (°C)	Δ_{w2} (%)	T_{d3} (°C)	Δ_{w3} (%)	
T1	78	20	317	35	570	27	7
T2	73	21	322	35	586	31	11
T3	74	24	315	31	531	28	2
T4	90	20	315	35	602	32	3
T5	76	17	312	37	558	24	9
GCB	73	14	327	43	585	28	8

Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Δ_1 , Δ_2 e Δ_3 refere-se o primeiro, segundo e terceiro evento, respectivamente, das gelatinas. T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e GCB (Gelatina comercial bovina).

Os valores foram semelhantes para a maioria das gelatinas, exceto para o T4, onde no primeiro e terceiro eventos os valores obtidos foram acima das demais gelatinas, apresentando melhor estabilidade térmica.

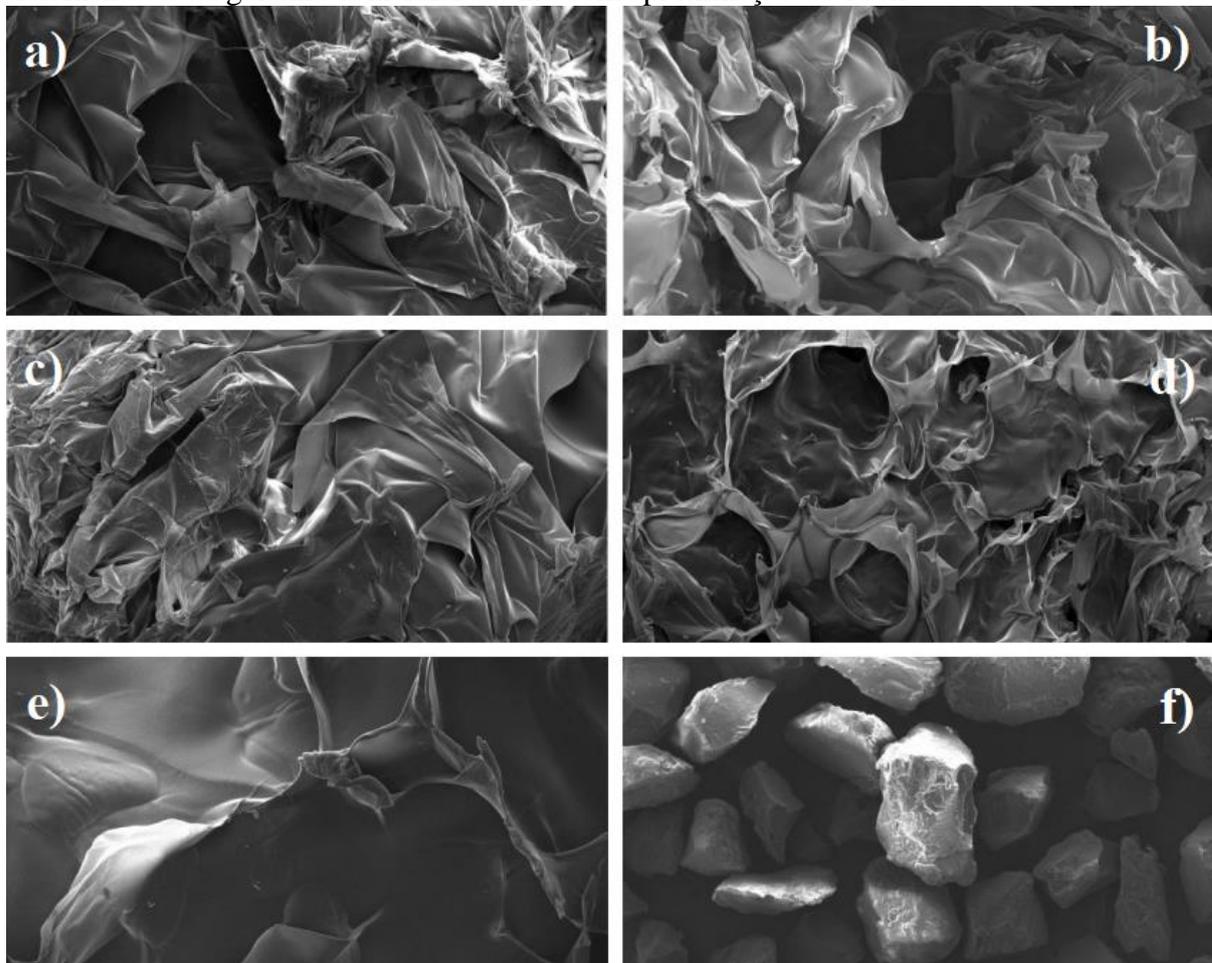
Os resíduos das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo variaram entre 2% e 11%. Bama *et al.* (2010) obtiveram resíduos acima de 30% e Penha (2016), apresentou resíduo de aproximadamente 12%, sugerindo-se uma quantidade menor de minerais. Os valores encontrados para os resíduos no presente estudo corroboraram com o teor de cinzas apresentado para cada gelatina (Tabela 9).

As gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo apresentaram uma boa estabilidade térmica, com degradação de constituintes importantes acima de 200 °C.

5.12 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle) obtidas através da MEV podem ser observadas na Figura 36.

Figura 36 - Micrografias das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina com aproximação de 150x



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: a) T1 (24 h a 4 °C); b) T2 (24 h a 24 °C); c) T3 (48 h a 4 °C); d) T4 (48 h a 24 °C); e) T5 (36 h a 14°C) e f) Gelatina comercial bovina.

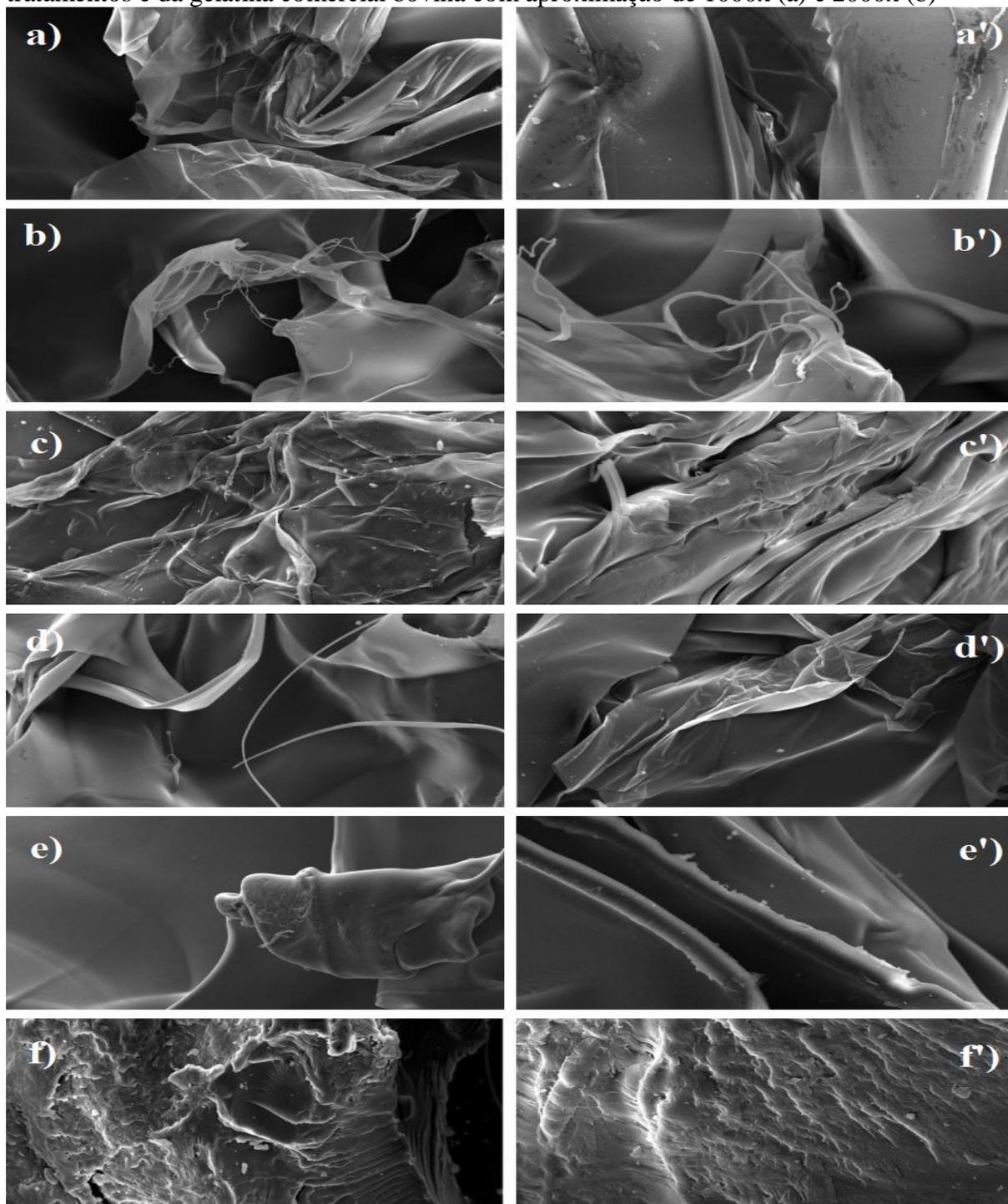
As micrografias das gelatinas extraída da bexiga natatória de robalo apresentaram formato lamelar característico de fibras proteicas estando de acordo com os relatos Caldato, Naves e Zatta (2019), enquanto a gelatina comercial bovina se apresentou na forma de cristais. Segundo Souza Filho *et al.* (2012), a estrutura lamelar contribui para conferir característica plástica e indica um potencial emprego da gelatina como matriz polimérica na formulação de compósitos.

Na aproximação de 150x é possível perceber a diferença da morfologia entre as gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial bovina (controle). Na gelatina controle é possível ver os grânulos em formatos de cristais separados e nas gelatinas

do presente estudo o formato lamelar. Esta diferença se deve ao tipo de secagem empregada, onde a gelatina comercial é extrusada, seca e moída em partículas uniformes (SCRHRIEBER; GAREIS, 2007) e as gelatinas de bexiga natatória foram liofilizadas e moídas.

A Figura 37 representa as micrografias das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo e da gelatina comercial com aproximação de 1000x e 2000x, respectivamente.

Figura 37 - Micrografias das gelatinas extraídas da bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos e da gelatina comercial bovina com aproximação de 1000x (a) e 2000x (b)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: a) T1 1000x, a') T1 2000x, b) T2 1000x, b') T2 2000x, c) T3 1000x, c') T3 2000x, d) T4 1000x, d') T4 2000x, e) T5 1000x, e') T5 2000x, f) GCB 1000x e f') GCB 2000x.

T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C); T5 (36 h a 14 °C) e GCB (Gelatina comercial bovina).

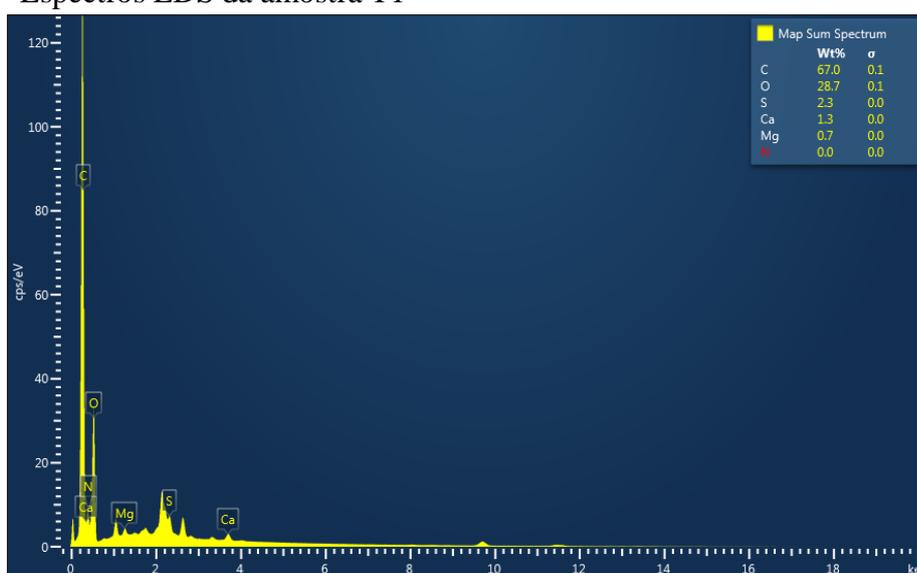
A superfície da amostra T5 se apresentou mais uniforme do que as demais, porém é possível visualizar um pouco de sobreposição das camadas. Isso pode ser em decorrência de uma precipitação da gelatina no momento da liofilização, conferindo uma compactação das redes de proteína.

A microestrutura do gel está diretamente relacionada à força do gel, que é ditada pela conformação e comprimento da cadeia da gelatina. Nas micrografias das amostras T2 e T4 é possível visualizar filamentos longos característico da formação de uma rede proteica, o que pode ser condizente com os altos valores de força de gel que apresentaram.

Verifica-se pela micrografia eletrônica das amostras T1, T3, T4, T5 e da gelatina comercial bovina, a presença de pequenos cristais com distribuição de tamanho irregular, para os quais, sugere-se serem cristais de carbonato de cálcio, o que pode justificar a presença dos cristais nas amostras.

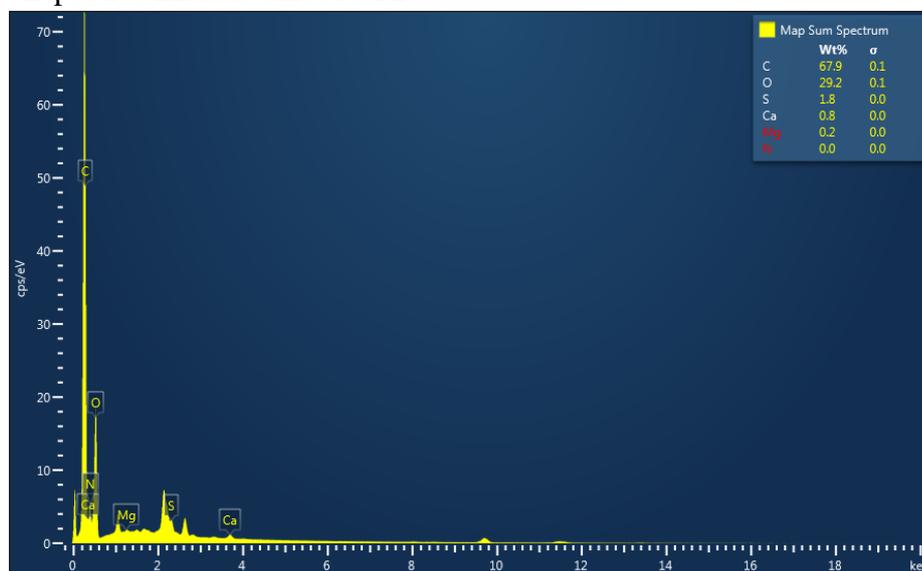
Nas Figuras 38 a 43, observa-se os espectros EDS de composição para cada uma das gelatinas extraídas de bexiga natatória e da gelatina comercial bovina. Nos espectros foi possível visualizar que todas as amostras possuem carbono (C) e oxigênio (O) em suas estruturas por se tratar de amostras orgânicas. Observa-se também, que todas as amostras apresentaram em sua composição picos de cálcio e magnésio (exceto na amostra T4) embora baixos.

Figura 38 - Espectros EDS da amostra T1



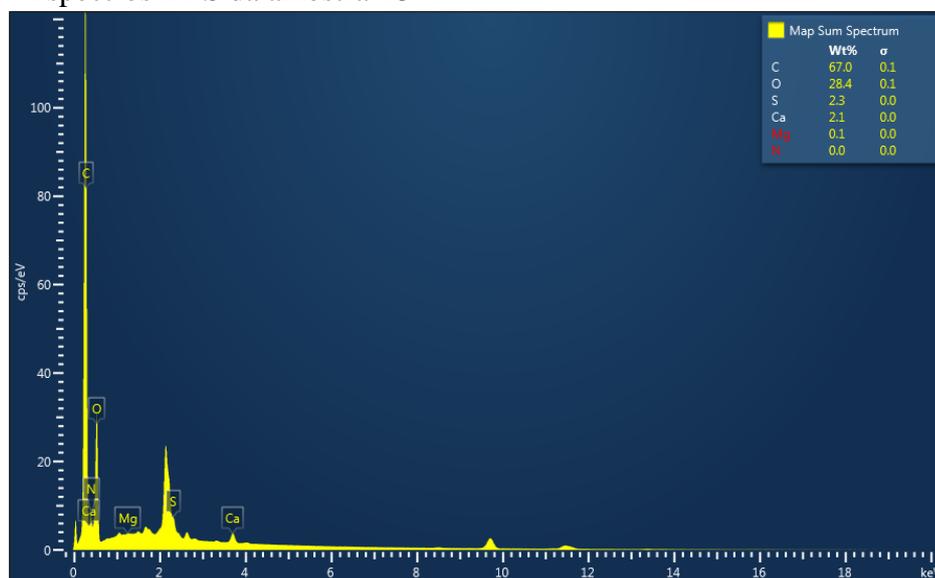
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 39 - Espectros EDS da amostra T2



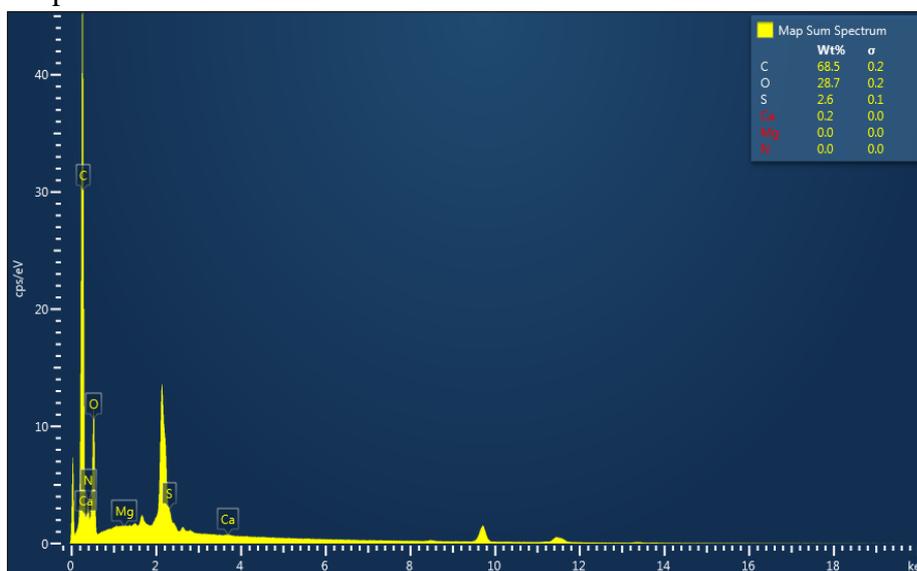
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 40 - Espectros EDS da amostra T3



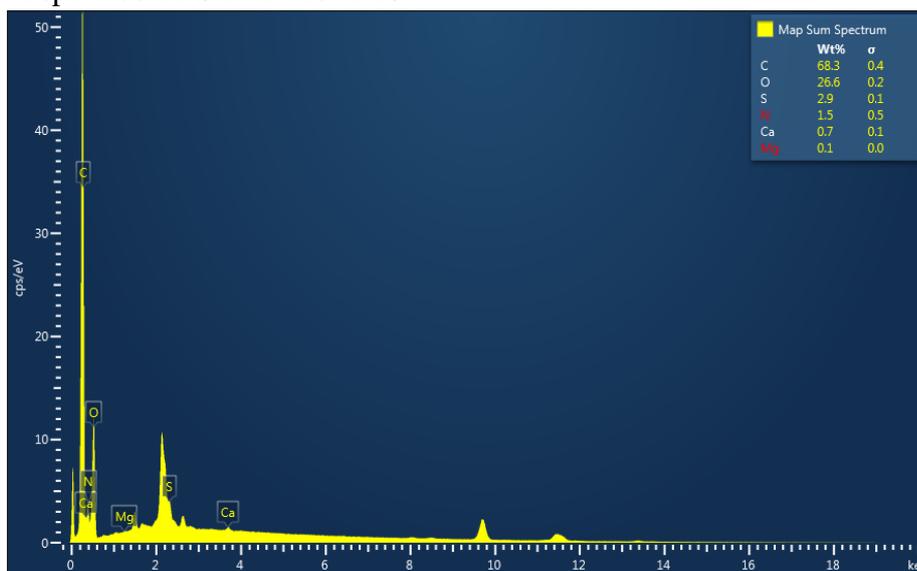
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 41 - Espectros EDS da amostra T4



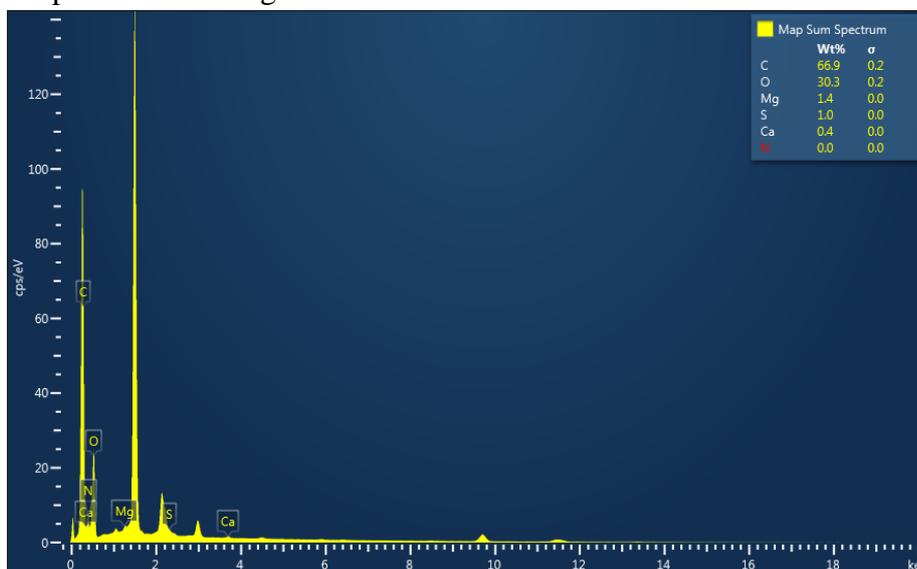
Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 42 - Espectros EDS da amostra T5



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 43 - Espectros EDS da gelatina comercial bovina



Fonte: Elaborada pela autora.

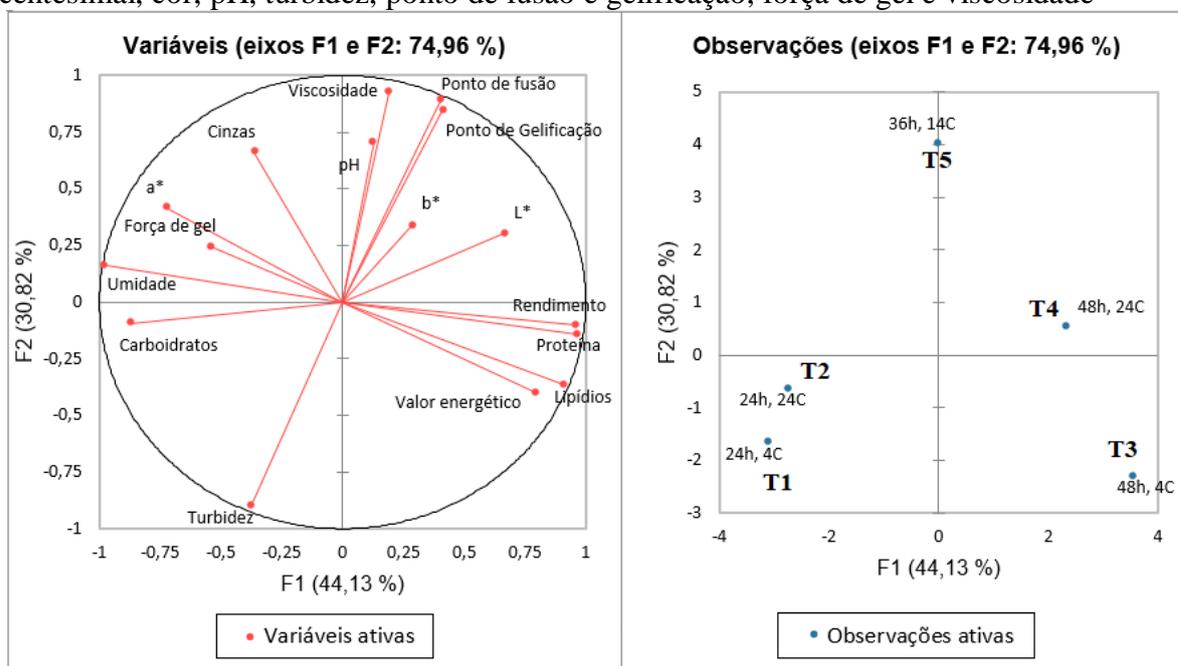
O nitrogênio apesar de sabidamente ser componente da proteína, não apareceu na presente análise por se tratar de um elemento muito leve e o equipamento não possuir capacidade para sua identificação de forma precisa.

Em todas as amostras o cálcio esteve presente, apresentando teor de 1,3%, 0,8%, 2,1%, 0,2%, 0,7% e 0,4% para T1, T2, T3, T4, T5 e gelatina comercial bovina (controle), respectivamente. Embora em quantidades bem pequenas, sugere-se ser carbonato de cálcio nas micrografias das gelatinas.

5.13 Análise dos componentes principais

Na Figura 44 está apresentada a análise de componentes principais, a fim de verificar as correlações em função dos tratamentos. Os componentes principais CP1 e CP2 explicaram juntos, 74,96 % da variação total dos dados, com CP1 acumulando 44,13 % dessa variação e CP2, 30,82 %. De acordo com Rencher (2002), pelo menos 70% da variância total deve ser explicada pelos primeiro e o segundo componentes principais.

Figura 44 - Análise de Componentes Principais para rendimento, valor energético, composição centesimal, cor, pH, turbidez, ponto de fusão e gelificação, força de gel e viscosidade



Nota: T1 (24 h a 4 °C); T2 (24 h a 24 °C); T3 (48 h a 4 °C); T4 (48 h a 24 °C) e T5 (36 h a 14 °C)
 Fonte: Elaborada pela autora.

A região que mais concentrou características foi a da amostra T5 (36 h a 14 °C), com maiores valores para as características reológicas (ponto de fusão, ponto de gelificação e viscosidade), parâmetros de cor b^* e pH, sendo o ponto de fusão, ponto de gelificação e viscosidade os que mais fortemente contribuíram. Quanto mais distante da origem uma variável é colocada, maior é a contribuição dessa variável para o modelo ACP (Marina et al., 2010).

Os pontos de fusão e gelificação se apresentaram semelhantes, o que é explicado pelos módulos de elasticidade e viscosidade já apresentados, porém apresentou uma correlação negativa com a turbidez, sendo a amostra T5 (36 h a 14 °C) a mais turva. Em contrapartida, a análise de turbidez apresentou correlação com a amostra T1 (24 h a 4 °C), onde obteve maior valor de transmitância.

A força de gel, principal característica reológica, apresentou melhor valor para a amostra T2 (24 h a 24 °C), demonstrando que um tempo de extração menor e uma temperatura maior promoveu uma concentração maior de proteínas de médio e alto peso molecular. A umidade, carboidratos e o parâmetro de cor a^* também foram representativos para a amostra T2.

No tratamento T4 (48 h a 24 °C), as características de rendimento e teor de proteína foram os mais correlacionados, apresentando comportamento semelhantes, ou seja, um maior teor de proteína eleva o rendimento e vice-versa. O teor de lipídios foi representativo para a amostra T3 (48 h a 4 °C), assim como o valor energético. Já a amostra T1 (24 h a 4 °C) apresentou o pior resultado para os parâmetros de cor L* e b*, implicando que o tempo e a temperatura de extração mais baixo não conseguiram promover com eficácia uma maior hidrólise do colágeno capaz de aumentar a quantidade de proteína extraída para se obter um maior rendimento.

Relembrando o mencionado anteriormente, segundo Mokejcs *et al.* (2009), as preparações das gelatinas geralmente apresentam uma relação inversa entre a qualidade do produto obtido e seu rendimento, pode-se constatar essa afirmação neste estudo e de acordo com Bordignon (2010), a umidade é inversamente proporcional à proteína.

Com relação às amostras, o fator predominante foi o tempo de extração, onde as amostras se apresentaram em regiões distintas. Houve um comportamento semelhante entre as amostras que utilizaram o tempo de extração de 24 h (T1 e T2), assim como as que utilizaram o tempo de 48 h (T3 e T4), não apresentando grandes diferenças em relação às temperaturas de extração. Já a amostra que utilizou 36 h a 14 °C (T5) apresentou características distintas em comparação às demais.

5.14 Perfil de aminoácidos da gelatina com as melhores características reológicas

Como apresentado no item anterior, a gelatina que apresentou as melhores características reológicas foi a T5. Seu perfil de aminoácidos está apresentado na Tabela 21.

Tabela 21 - Perfil de aminoácidos do tratamento T5

Aminoácido	Amostra T5 (g/100g)
Ácido aspártico	5,35
Ácido Glutâmico	10,05
Serina	2,48
Glicina	23,84
Histidina	0,71
Hidroxiprolina	9,01
Arginina	8,78
Treonina	2,43

Alanina	11,05
Prolina	12,19
Tirosina	0,46
Valina	1,80
Metionina	2,04
Cistina	0,21
Isoleucina	1,03
Leucina	2,73
Fenilalanina	2,09
Lisina	3,46
Total AA	99,71

Fonte: Elaborada pela autora.

Observa-se que os quatro aminoácidos mais abundantes na gelatina foram glicina, prolina, alanina e hidroxiprolina, o que condiz com o relatado por Regenstein e Zhou, (2007), onde esses aminoácidos são os mais representativos em uma gelatina.

A glicina foi o aminoácido predominante na amostra T5, com teor de 23,84 g/100 g. Esse valor foi superior ao encontrado por Chandra e Shamasundar (2015) para gelatina de bexiga natatória de carpa (18,9 g/100 g) e inferior ao encontrado por Chen *et al.* (2019) para bexiga natatória de corvina gigante que foi de 32,2 g/100 g. Kittiphattanabawon e Benjakul (2005) declararam que 30% do total de aminoácidos do colágeno é glicina e Balti *et al.* (2011), que a glicina pode ser dita como o principal aminoácido formador de colágeno.

A prolina apresentou conteúdo de 12,19 g/100 g, valor acima dos encontrados por Chen *et al.* (2019) e por Kaewdang *et al.* (2015) que foram de 10,7 g/100 g e 9,5 g/100 g para gelatina de bexiga natatória de corvina e atum, respectivamente. O conteúdo de hidroxiprolina encontrado foi de 9,01 g/100 g, valor maior do que o encontrado por Chandra e Sinthusamran (2015) que foi 8,5 g/100 g.

A alanina desempenha um papel na propriedade viscoelástica da gelatina (GIMÉNEZ *et al.*, 2005) e neste estudo apresentou um conteúdo de 11,05 g/100 g; valor levemente abaixo do encontrado por Kaewdang *et al.* (2015) que foi de 12,1 g/100 g.

Acredita-se que a hidroxiprolina e a prolina são responsáveis pela estrutura secundária do colágeno e desempenhem a função de estabilizar a tripla hélice (glicina – prolina – hidroxiprolina) ligadas por pontes de hidrogênio, tornando-a mais estável termicamente. Uma menor quantidade ou a falta de hidroxiprolina faz com que o colágeno perca a

conformação de tripla hélice quando submetido a elevação da temperatura (KITTIHATTANABAWON *et al.*, 2005, CHEN *et al.*, 2019, SINTHUSAMRAN *et al.*, 2013, GOMÉZ-GUILLÉN *et al.*, 2002).

Gelatina com altos níveis de aminoácidos tende a ter alta força de gel e ponto de fusão (Haugh *et al.*, 2004; Muyonga *et al.*, 2004), o que corrobora com os resultados das análises de força de gel e ponto de fusão (Tabela 13 e 15) da amostra T5.

Segundo Wolf (2003), quando a gelatina é aquecida e posteriormente resfriada, as cadeias proteicas podem se transformar em novas estruturas de tripla-hélice (inerente ao colágeno) mas não necessariamente na mesma conformação do colágeno nativo, limitando a reorganização da molécula helicoidal, onde essa reorganização leva a zonas de junção formando uma rede tridimensional. A prolina e a hidroxiprolina são aminoácidos que formam estas junções e é a alta proporção destes aminoácidos na gelatina que a diferencia de outras proteínas e a proporção destes sítios que afeta a força máxima do gel (Food, 2013), que por sua vez afeta o ponto de fusão.

A composição de aminoácidos é dependente principalmente da espécie do peixe, porém também é dependente do processo de extração, tratamentos ácidos por períodos prolongados podem ocasionar a hidrólise de aminoácidos e conseqüentemente a proporção destes na gelatina (MUYONGA; COLE; DUODU, 2004a; PRESTES *et al.*, 2013).

A gelatina não apresentou triptofano, estando normalmente ausente em uma gelatina convencional, além disso, a composição de aminoácidos no presente estudo mostrou baixos teores de metionina, cistina e tirosina que são característicos de todas as gelatinas (Binsi *et al.*, 2009).

5.15 Possíveis aplicações das gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo

A gelatina pode beneficiar diferentes alimentos, nas mais diversas áreas de aplicação. Embora seja possível usar gelatina em qualquer processo produtivo, o fator crítico é estar apto a escolher o melhor tipo possível de gelatina para cada tipo de produto e processo (GELITA, 2020).

A gelatina forma soluções coloidais com água sendo considerada como “solução coloidal ideal”. É o hidrocoloide mais multifuncional, podendo ser usada para além de sua função principal, que é gelificar. As propriedades funcionais da gelatina podem ser divididas em dois grupos, o primeiro relacionado à gelificação, temperatura de fusão e viscosidade e o segundo grupo, relacionado ao comportamento superficial da gelatina, sendo a formação e

estabilização de espumas e emulsões e as propriedades adesivas. (SCHRIEBER E GAREIS, 2007)

Gelatina do tipo A, como é o caso das gelatinas obtidas no presente estudo, é a mais vantajosa para uso em alimentos, por se manter estável em pH baixo (3,5), favorecer a liberação de sabores no ato do consumo do produto, por possuir ponto de fusão maior, sofrer menos com o uso de altas temperaturas durante o processamento desses produtos, além de fornecer textura ideal aos produtos por apresentar ponto de gelificação baixo. (SCHRIEBER E GAREIS, 2007; DJAGNY, WHANG E XU, 2001).

No Quadro 2, pode-se observar o tipo de aplicação, as funções da gelatina e qual/quais gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo atendem a referida aplicação.

Mesmo que a gelatina possua características específicas para cada tipo de produto, o processamento desse produto é importante pois em pH extremamente baixo, alto estresse térmico, pH do próprio material, teor de taninos, fazem com que a gelatina possa perder ou minimizar sua função (SCHRIEBER E GAREIS, 2007).

Ressalta-se que, a gelatina extraída de bexiga natatória atende os requisitos de produtos Halal e Kosher, com a vantagem de poder ser misturada a produtos lácteos sem perder a certificação Kosher, atendendo a um mercado alimentício de grande demanda.

Quadro 2 - Aplicação, características, concentração e funções da gelatina e gelatina extraída de bexiga natatória de robalo por diferentes tratamentos que atende a aplicação em produtos alimentícios

Aplicação	Características da gelatina	Quantidade a ser utilizada	Função principal	Função secundária	Gelatina extraída de bexiga natatória que atende a aplicação
Sobremesas de gelatina, mousses, cremes e sorvetes	Alto bloom, turbidez baixa	1,5 – 3%	Formação de gel	Textura, transparência e brilho	T1
Marshmallows	Médio/Alto bloom, turbidez alta	1 – 3%	Formação de espuma	Estabilizante de espuma, formação de gel	T4 e T5
Sorvetes	Médio/Alto bloom	0,3 -1%	Formação de espuma	Auxilia na não cristalização da lactose, desacelera o derretimento, impede formação de grandes cristais de gelo, estabilizante	T1, T2, T3, T4 e T5
Chocolates revestidos de açúcar (smarties ®)	Viscosidade alta	2%	Agente de ligação	Evita deformação e fissuras da cobertura	T2, T3, T4 e T5
Gomas de frutas	Alto bloom	6 – 10%	Formação de gel	Textura, elasticidade, transparência e brilho	T1, T2, T3, T4 e T5
Nougat	Médio/Alto bloom	1,5 – 3%	Formação de espuma	Estabilizante de espuma e formação de gel	T1, T2, T3, T4 e T5

Pastilhas	Médio/Alto bloom	1 – 2%	Agente de ligação	Textura, melhoria das propriedades de derretimento na boca, previne desintegração	T1, T2, T3, T4 e T5
Caramelos	Baixo/ Médio/Alto bloom, viscosidade média/baixa	0,5 – 2,5%	Emulsionante, formação de espuma e estabilizante	Mastigabilidade, evitar cristalização do açúcar	T1, T2, T3 e T4
Iogurte e bebidas lácteas	Alto bloom, viscosidade alta, pH acima de 4,5 (para iogurtes) e médio bloom	0,2 – 1%	Estabilizante, evitar sinérese	Textura, cremosidade	T1, T4 e T5
Bebidas em geral (sucos, cervejas e vinhos)	Baixo/Médio/Alto bloom (a depender do tipo de bebida; bebida fria usa-se baixo bloom), pH ácido	2,5 – 10%	Clarificação. coacervação	Remoção de impurezas que causam turbidez, redução da concentração de polifenóis, taninos e antocianogênio	T1, T2, T3, T4 e T5
Produtos cárneos (salsichas, presuntos, patês, carne fresca) e pescado	Médio/Alto bloom	0,5 – 2%	Emulsificante, estabilizante, proteção contra oxigênio	Aglutinante de água	T1, T2, T3, T4 e T5

Aspic	Médio/Alto bloom, ponto de fusão alto, cor clara, viscosidade baixa	$\geq 10\%$	Formação de gel	Textura, cortabilidade	T1, T4 e T5
Manteiga e margarina	Alto bloom	0,5 – 1,5%	Redução do teor de gordura	Emulsificante, consistência, capacidade de espalhamento, formação de espuma	T1, T2, T3, T4 e T5
Queijos	Baixo/Médio/Alto bloom	0,1 – 5%	Redução do teor de gordura	Aroma e sabor pronunciado, consistência suave (a depender do queijo), sensação agradável na boca	T1, T2, T3, T4 e T5
Barra de cereais	Médio/Alto bloom	7,5%	Coesão/adesão	Redução do teor de açúcar, textura, formação de espuma	T1, T2, T3, T4 e T5

Fonte: Adaptado de Schrieber e Gareis, (2006)

6 CONCLUSÃO

As gelatinas com tempo maior de extração (48 h) obtiveram os melhores rendimentos, indicando que houve maior hidrólise das cadeias proteicas. Por se tratar de gelatinas do tipo A o pH de todas se mantiveram ácido. As gelatinas apresentaram coloração amarelo esbranquiçadas, sendo mais clara do que a gelatina comercial bovina. As gelatinas com maior tempo e temperatura de extração se apresentaram mais turvas.

Os tratamentos apresentaram boas propriedades reológicas, destacando-se o tratamento T5 (36 h a 14 °C), o qual obteve maior viscosidade, ponto de fusão e de gelificação em comparação com as demais gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo, indicando que o uso de temperatura e tempo mediano (ponto médio) no processamento foi efetivo na melhoria dessas propriedades.

O tratamento T5 também se sobressaiu em relação à gelatina comercial bovina no que se refere as características reológicas, exceto para o ponto de gelificação. Em relação à força de gel, foi classificado como alto bloom, assim como as demais gelatinas extraídas, e, oposição à gelatina bovina que apresentou baixo bloom.

As gelatinas obtidas apresentaram os principais grupos funcionais (amida A, B, I, II e III) em suas estruturas. As micrografias das gelatinas denotaram sua estrutura lamelar, característica da estrutura plástica da gelatina.

Todas as gelatinas apresentaram uma alta estabilidade térmica.

A gelatina T5 apresentou os aminoácidos glicina, prolina e hidroxiprolina em maior quantidade, o que contribuiu para que apresentasse as melhores características reológicas.

A análise de componentes principais destacou o tratamento T5 como o que teve correlação positiva com a maioria das características reológicas. Destacou também que o tempo das extrações foi um fator predominante, os tratamentos que utilizaram o mesmo tempo apresentaram comportamentos semelhantes. Já o tratamento T5 (36 h a 14 °C) mostrou comportamento distinto em comparação aos demais tratamentos.

As gelatinas extraídas de bexiga natatória de robalo apresentaram aplicações em diversos tipos de alimentos, mostrando a versatilidade do uso desse hidrocoloide em vários produtos.

Os métodos empregados mostraram viabilidade tecnológica para extração de gelatina de bexiga natatória de robalo com características favoráveis para seu emprego na indústria alimentícia, sendo promissoras em diversas aplicações, com o atrativo de serem

consideradas alimento halal e kosher e não apresentarem os problemas advindos das gelatinas de origem bovina, suína e de aves.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Gean Pablo. S.; GOULART, Gilberto Alexandre Soares. Utilização de material residual da indústria de pescado para obtenção de óleo e farinha. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 7, p. 55-60, 2013.
- AHMAD, Meharj.; BENJAKUL, Soottawat. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). **Food Chemistry** 120, v. 120, p. 817-824, 2010. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.11.019
- AHMAD, Meharj.; BENJAKUL, Soottawat.; NALINANON, Sitthipong. Compositional and physicochemical characteristics of acid solubilized collagen extracted from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 6-7, p. 588-594, ago. 2010. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2010.03.001.
- ALBUQUERQUE, Carolina Maia. **Clarificação de suco de laranja “core wash” por processo de flotação auxiliado por enzimas pectinolíticas e agentes clarificantes**. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.
- ALFARO, Alexandre Trindade. **Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*)**. 2008. 129 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.
- ALFARO, Alexandre Trindade.; COSTA, Cristina Simões.; JESUS, Fernanda.; COSTA, Roger.; KUHN, Cláudio Rafael.; BORGES, Caroline.; PRENTICE, Carlos. **Determinação dos pontos de gelificação e fusão da gelatina de ossos de pescada (*Macrondon ancylodon*)**. In: XIII Congresso de Iniciação científica (CIC) e VI Encontro de Pós-Graduação (ENPOS), 2004, Pelotas. Anais [...]. Pelotas - RS, 2004, p. 1-4.
- ALFARO, Alexandre Trindade.; SILVA, Edilson Ferreira. Propriedades reológicas da gelatina obtida a partir de pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, 2010; v. 69, n. 4, p.555-61, 2010. DOI: 10.53393/rial.2010.v69.32615
- AL KHAWLI, Fadila.; PATEIRO, Mirian.; DOMÍNGUEZ, Rubén.; LORENZO, José. M.; GULLÓN, Patricia.; KOUSOULAKI, Katerina.; FERRER, Emília.; BERRADA, Houda.; BARBA, Francisco. J. Innovative green technologies of intensification for valorization of seafood and their by-products. **Marine Drugs**, v. 17, n. 12, p. 689-709, 2019. DOI: 10.3390/md17120689.
- ANDRADE, F. F.; SANTOS, E. C.; COELHO, S. C. Elaboração e análise sensorial da gelatina de açai (*Euterpe oleracea mart.*). **Magistra**, V. 26, p. 1557-1559, 2014.
- AOAC. Association Of Official Analytical Chemists. **Official Methods Of Analysis of AOAC International**. 21th ed., AOAC International, Arlington, 2019.
- MELLO, Giovani Lemos. Espécies Aquícolas. **Edição de Aniversário**. Editora Aquaculture Brasil LTDA ME, Tancredo Neves – SC, 7ª Edição, p. 96-97, julho/agosto 2017. ISSN 2525-3379.

ARNAUD, Cecilia.; LAMBALLERIE, Marie.; POTTIER, Laurence. Effect of high-pressure processing on the preservation of frozen and re-thawed sliced cod (*Gadus morhua*) and salmon (*Salmo salar*) fillets. **High Pressure Research**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 62-79, 9 nov. 2017. Informa UK Limited. DOI: 10.1080/08957959.2017.1399372.

ARNESEN, Jan. A.; GILDBERG, Asbjørn. Preparation and characterisation of **gelatine** from the skin of harp seal (*Phoca groenlandica*). **Bioresource Technology**, v. 82, p. 191-194, 2002. DOI: 10.1016/s0960-8524(01)00164-x.

ARNESEN, Jan. A.; GILDBERG, Asbjørn. Extraction and characterization of gelatin from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 53–57, 2007. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.11.021.

ARRUDA, Lia Ferraz. Silagem ácida – Uma tecnologia alternativa para aproveitamento do resíduo do processamento do pescado. **Instituto de Pesca**, Laboratório de Tecnologia do Pescado, São Paulo – SP, 2007. Disponível em: ≤ ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/silagem.pdf ≥. Acesso em: 06 jan. 2016.

AVENA-BUSTILLOS, Roberto.; OLSEN, Carl. W.; OLSON, Donald. S.; CHIOU, Bor-Sen.; YEE, Ema.; BECHTEL, Peter. J.; MCHUGH, Tara. H. Water vapor permeability of mammalian and fish gelatin films. **Journal of Food Science**, v. 71, p. E202- E207, 2006. DOI:10.1111/j.1750-3841.2006.00016.x

BADII, Farah.; HOWELL, Nazlin. K. Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. **Food Hydrocolloids**, 20, p. 630–640, 2006. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2005.06.006.

BALTI, Rafik.; JRIDI, Mourad.; SILA, Assaad.; SOUISSI, Nabil.; NEDJAR-ARROUME, Naima.; GUILLOCHON, Didier.; NASRI, Moncef. Extraction and functional properties of gelatin from the skin of cuttlefish (*Sepia officinalis*) using smooth hound crude acid protease-aided process. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 25, n. 5, p. 943-950, jul. 2011. Elsevier BV. DOI: 1016/j.foodhyd.2010.09.005.

BAMA, P.; VIJAYALAKSHIMI, M.; JAYASIMMAN, Rajendan.; KALAICHELVAN, Puthupalayam Thangavelu.; DECCARAMAN, M.; SANKARANARAYANAN, S. Extraction of collagen from cat fish (*Tachysurus maculatus*) by pepsin digestion and preparation and characterization of collagen chitosan sheet. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, Issue 4, p. 133-137, 2010.

BANDEIRA, Sidney Fernandes. **Extração e caracterização da gelatina obtida de cabeças de carpa (*Aristichthys mobilis*)**. 2009. 72 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, RS, 2009.

BASTOS, José Raimundo. R.; NUNES, Maria Lúcia. Sobre o “isinglass” da bexiga natatória da Pescada Amarela, *Cynoscion acoupa* (Lacepede). **Arq. Cien.Mar**, v.13 (1), p. 17-18, Fortaleza-Ce. Junho, 1973.

BHAT, Rajeev; KARIM, A.A. Ultraviolet irradiation improves gel strength of fish gelatin. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 113, n. 4, p. 1160-1164, abr. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.08.039.

BAZIWANE, David; HE, Qian. Gelatin: the paramount food additive. **Food Reviews International**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 423-435, 11 jan. 2003. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1081/fri-120025483>.

BEMVENUTI, Marlise de Azevedo; FISCHER, Luciano Gomes. Peixes: morfologia e adaptações. **Cadernos de Ecologia Aquática**, v. 5 (2), p. 31-54, ago – dez 2010.

BENJAKUL, Soottawat; KITTIPHATTANABAWON, Phanat; REGENSTEIN, Joe M. Fish Gelatin. **Food Biochemistry and Food Processing**, [S.L.], p. 388-405, 26 abr. 2012. Wiley. DOI: 10.1002/9781118308035.ch21.

BENJAKUL, Soottawat; OUNGBHO, Kwunchit; VISESSANGUAN, Wonnop; THIANILAKUL, Yaowapa; ROYTRAKUL, Sittiruk. Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 116, n. 2, p. 445-451, set. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.02.063.

BENJAKUL, Soottawat; THIANILAKUL, Yaowapa; VISESSANGUAN, Wonnop; ROYTRAKUL, Sittiruk; KISHIMURA, Hideki; PRODPRAN, Thummanoon; MEESANE, Jirut. 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**, [S.L.], v. 90, n. 1, p. 132-138, 15 jan. 2010. Wiley. DOI: 10.1002/jsfa.3795.

BERTOLINO, Marco Túlio. Alimentação halal: origem, tradição e certificação. **Food Safety Brazil**. 2020. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/alimentacao-halal-origem-tradicao-e-certificacao/>. Acesso em: 11 set. 2020.

BIGI, Adriana.; COJAZZI, Gianna; PANZAVOLTA, Silvia; RUBINI, Katia; ROVERI, Noberto. Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. **Biomaterials**, [S.L.], v. 22, n. 8, p. 763-768, abr. 2001. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0142-9612(00)00236-2.

BIGI, Adriana.; PANZOVOLTA, Silvia.; RUBINI, Katia. Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. **Biomaterials**, [S.L.], v. 25, n. 25, p. 5675-5680, nov. 2004. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.01.033.

BILUCA, Fabíola Carina.; MARQUETTI, Carline.; ALFARO, Alexandre da Trindade. PRODUÇÃO DE GELATINA DE PELE E OSSOS DE BAGRE (*Clarias gariepinus*). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 418-426, 5 dez. 2011. Universidade Tecnológica Federal do Parana (UTFPR). DOI: 10.3895/s1981-36862011000100005s1.

BINSI, P.K.; SHAMASUNDAR, B.A.; DILEEP, A.O.; BADI, F.; HOWELL, N.K. 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**, [S.L.], v. 23, n. 1, p. 132-145, jan. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2007.12.004.

BONFA NETO, Dorival. O estado mundial da pesca e aquicultura em 2020. **Mares: Revista De Geografia E Etnociências**, 2021, v. 2 (2), p. 111-114. Disponível em: <http://revistamares.com.br/index.php/files/article/view/88>. Acesso em: 26 set 2020

BONILLA, J.; ATARÉS, L.; VARGAS, M.; CHIRALT, A. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: possibilities and limitations. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 110, n. 2, p. 208-213, maio 2012. Elsevier BV. DOI: .1016/j.jfoodeng.2011.05.034.

BORAN, Gokhan.; LAWLESS, Harry. T.; REGENSTEIN, Joe. M. Effects of Extraction Conditions on the Sensory and Instrumental Characteristics of Fish Gelatin Gels. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 75, n. 9, p. 469-476, nov. 2010. Wiley. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01827.x.

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 em Zootecnia), Universidade Estadual de Maringá – PR, 2010.

BORDIGNON, Adriana Cristina; FRANCO, Maria Luiza Rodrigues de Souza; GASPARINO, Eliane; YAJIMA, Edson Minoru; VESCO, Ana Paula del; VISENTAINER, Jesui Vergilio; MIKCHA, Jane Martha Graton. Aproveitamento de peles de tilápia-do-nilo congeladas e salgadas para extração de gelatina em processo batelada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [S.L.], v. 41, n. 3, p. 473-478, mar. 2012. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s1516-35982012000300001.

BOSCH, Edith van Den; GIELENS, Constant. Gelatin degradation at elevated temperature. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 32, n. 3-5, p. 129-138, set. 2003. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0141-8130(03)00046-1.

BRASIL. Constituição (1998). Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento Técnico Referente À Informação Nutricional Complementar**. Brasília, DF, 13 jan.1998.

BRASIL. Constituição (2005). Rdc nº 269, de 25 de agosto de 2005. **Regulamento Técnico Sobre A Ingestão Diária Recomendada (Idr) de Proteína, Vitaminas e Minerais**. Brasília, DF, 22 set. 2005.

BRASIL. Constituição (2017). Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017. **Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Brasília, DF, 29 mar. 2017.

BUENO, Camila Marques; ALVIM, Izabela Dutra; KOBERSTEIN, Teresa Cristina Ribeiro Dias; PORTELLA, Maria Célia; GROSSO, Carlos. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal Of Food Technology**, [S.L.], v. 14, n. 01, p. 65-73, 17 mar. 2011. Institute of Food Technology. DOI: 10.4260/bjft2011140100009.

CALDATO, Kauani; NAVES, Filipe Kalil da Silva; ZATTA, Leandro. Gelatina extraída de escamas da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas no município de Pato Branco: caracterizações e comparações com amostras comerciais. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 2730-2751, 9 abr. 2019. Universidade Tecnológica Federal do Parana (UTFPR). DOI: 10.3895/rbta.v13n1.8386.

CERVIGÓN, Fernando.; CIPRIANI, Roberto.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L.; HENDRICKX, M.; LEMUS, A.J.; MARQUEZ, R.; POUTIERS, J.M.; ROBAINA, G.; RODRIGUEZ, B. 1992 **Guía de Campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América**. Fichas FAO de Identificación de Especies para los fines de la Pesca. Roma. 513p.

CHANDRA, Madhamuthanalli Venkataramappa.; SHAMASUNDAR, Bangarole Aswathnaryan. Rheological properties of gelatin prepared from the swim bladders of freshwater fish *Catla catla*. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 48, p. 47-54, jun. 2015. Elsevier BV. DOI: 0.1016/j.foodhyd.2015.01.022.

CHEN, Yingyue; JIN, Huoxi; YANG, Fei; JIN, Shujie; LIU, Chenjuan; ZHANG, Liukai; HUANG, Ju; WANG, Shiguang; YAN, Zhongyong; CAI, Xuwei. Physicochemical, antioxidant properties of giant croaker (*Nibea japonica*) swim bladders collagen and wound healing evaluation. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 138, p. 483-491, out. 2019. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.111.

CHIOU, Bor-Sen; AVENA-BUSTILLOS, Roberto J.; BECHTEL, Peter J.; IMAM, Syed H.; GLENN, Greg M.; ORTS, William J. Effects of drying temperature on barrier and mechanical properties of cold-water fish gelatin films. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 95, n. 2, p. 327-331, nov. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2009.05.011.

CHO, Suengmok.; GU, Yeunsuk.; KIM, Seon-Bong. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 221-229, mar. 2005. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2004.05.005.

CHOI, Shin Sok.; REGENSTEIN, Joe. Physicochemical and Sensory Characteristics of Fish Gelatin. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 65, n. 2, p. 194-199, mar. 2000. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15978.x>.

COELHO, Reinaldo. **Grude da gurijuba: O ouro do pescado**. 2014. Disponível em: <http://tribunaamapaense.blogspot.com.br/2014/04/grude-da-gurijuba-o-ouro-do-pescado.html> Acesso em: 06 jan. 2016.

COLE, Charles George Bernard Gelatin. **Encyclopedia of Food Science and Technology**, v. 4, 2nd edition. New York: John Wiley & Sons, 2000. Disponível em: <http://www.gelatin.co.za>. Acesso em: 10 jan. 2018.

COLE, Charles George Bernard.; ROBERTS, J. J. Changes in the molecular composition of gelatin due to the manufacturing process and animal age, as shown by electrophoresis. **Journal of the Society of the Leather Technologists and Chemists**, v. 80, p. 136-141, 1996.

COLE, Charles George Bernard.; ROBERTS, J. J. Gelatine colour measurement. **Meat Science**, v. 45, p. 23-31, 1997. DOI: 10.1016/S0309-1740(96)00096-4

CONN, Eric. E.; STUMPF, Paul Karl.; MAGALHÃES, José Reinaldo. **Introdução à bioquímica**. São Paulo: Edgard Blucher, 525p, 1980.

COPPOLA, Daniela; LAURITANO, Chiara; ESPOSITO, Fortunato Palma; RICCIO, Gennaro; RIZZO, Carmen; PASCALE, Donatella de. Fish Waste: from problem to valuable resource. **Marine Drugs**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 116, 19 fev. 2021. MDPI AG. DOI: 10.3390/md19020116.

COSTA, Beatriz da; PORTO, Ana Lúcia; OLIVEIRA, Vagne; PORTO, Tatiana. HIDROLIZADOS DE COLÁGENO, SEUS PRODUTOS E SUAS BIOATIVIDADES: uma mini-revisão. **Ciência, Tecnologia e Inovação: do campo à mesa**, [S.L.], p. 1-15, 2020. Instituto Internacional Despertando Vocações. DOI: 10.31692/iciagro.2020.0202.

CUSTOMCOLLAGEN. **Gelatin mesh size & why it matters. By Custom Collagen**. 8, jan. 2020. Disponível em: <https://www.customcollagen.com/gelatin-mesh-size-why-it-matters/>. Acesso em: 18, jun. 2021.

DAMODARAN, Srinivasan.; PARKIN, Kirl. L.; FENNEMA, Owen R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre (RS): Artmed; 2010.

DICKINSON, Eric. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 25-39, jan. 2003. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0268-005x(01)00120-5.

DJAGNY, Kodjo Boady; WANG, Zhang; XU, Shiyang. Gelatin: a valuable protein for food and pharmaceutical industries. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 41, n. 6, p. 481-492, nov. 2001. Informa UK Limited. DOI: 10.1080/20014091091904.

DJAILANI, Fernandy.; TRILAKSANI, Wini.; NURHAYATI, Tati. Optimasi ekstraksi dan karakterisasi kolagen dari gelembung renang ikan cunang dengan metode asam-hidro-ekstraksi. Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. **JPHPI** 2016, Volume 19 Nomor 2. DOI: 10.17844/jphpi.2019.19.2.156

DOMINGUES, Wladimir Marques.; HAYASHI, Carmino. Estudo experimental sobre anéis diários em escamas nas fases iniciais do desenvolvimento do curimba, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836) (*Characiformes, Prochilodontidae*). **Revista Brasileira de Biologia**, [S.L.], v. 58, n. 4, p. 609-617, nov. 1998. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0034-71081998000400008.

DUAN, R.; ZHANG, J.; XING, F.; KONNO, K.; XU, B. Study on the properties of gelatins DUAN, Rui; ZHANG, Junjie; XING, Fangfang; KONNO, Kunihiko; XU, Bing. Study on the properties of gelatins from skin of carp (*Cyprinus carpio*) caught in winter and summer season. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 368-373, maio 2011. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2010.07.002.

DUAN, Rui; ZHANG, Junjie; LIU, Liping; CUI, Wenzhe; REGENSTEIN, Joe M. The functional properties and application of gelatin derived from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 239, p. 464-469, jan. 2018. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.06.145.

KNIDRI, Hakima El; BELAABED, Raja; ADDAOU, Abdellah; LAAJEB, Ali; LAHSINI, Ahmed. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and

chitosan. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 120, p. 1181-1189, dez. 2018. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139

FOGAÇA, Fabíola. Artigo- O protagonismo do Brasil na produção mundial de pescado. **EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Artigo 29 de jun. de 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53738345/artigo---o-protagonismo-do-brasil-na-producao-mundial-de-pescado#:~:text=de%20%C3%A1guas%20interiores.-,Em%20resumo%2C%2054%2C4%20milh%C3%B5es%20de%20toneladas%20representam%20a%20produ%C3%A7%C3%A3o,e%209%2C4%20milh%C3%B5es%20crust%C3%A1ceos.> Acesso em: 30 jul de 2020.

FAO. **Food energy - methods of analysis and conversion factors**. Food and Nutrition Paper, (2003), v. 77, 93p.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations: **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all**. Rome. 200 p. Disponível em: <http://www.fao.org/3/i5555e/i5555e.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2021.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations: **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action**. Rome, Itália. 244p. ISBN: 978-92-5-132692-3. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en/>. Acesso em: 10 jan. 2020. DOI: .4060/ca9229en.

FERNANDES, Raquel Maria Trindade.; COUTO NETO, R. G.; PASCHOAL, William. A.; ROHLING, Jurandir Hillmann Rohling.; BEZERRA, Cícero Wellington Brito. Collagen films from swim bladders: preparation method and properties. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 62, n. 1, p. 17-21, mar. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.09.011.

FERRARO, Vincenza; ANTON, Marc; SANTÉ-LHOUELLIER, Véronique. The “sisters” α -helices of collagen, elastin and keratin recovered from animal by-products: functionality, bioactivity and trends of application. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 51, p. 65-75, maio 2016. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.03.006.

FLORY, Paul J.; WEAVER, Edwin S. Helix [UNK] Coil Transitions in Dilute Aqueous Collagen Solutions1. **Journal Of The American Chemical Society**, [S.L.], v. 82, n. 17, p. 4518-4525, set. 1960. American Chemical Society (ACS). DOI: 10.1021/ja01502a018.

GADI, Dewi Setiyowati; TRILAKSANI, Wini; NURHAYATI, Tati. THE HISTOLOGICAL, EXTRACTION AND CHARACTERIZATION COLLAGENS YELLOW-PIKE CONGER *Muarenesox talabon*. **Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 665-683, 2 jan. 2018. Institut Pertanian Bogor. DOI: 10.29244/jitkt.v9i2.19300.

GAVILANES, Andrea Paulina Salguero.; MESA, Ariana Lisbeth Vargas. **Extracción y utilización de diferentes niveles (2 %, 4 %, 6 %) del colágeno de la vejiga natatoria del bagre (*b. panamensis*) en salchicha de mariscos**. 2008. 120 f. Tese (Doutorado em Ingeniería En Industrias Pecuarias, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior

Politécnica de Chimborazo Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Pecuarias Carrera de Ingeniería En Industrias Pecuarias, Riobamba - Ecuador, 2018.

GEISSDOERFER, Martin; SAVAGET, Paulo; BOCKEN, Nancy M.P.; HULTINK, Erik Jan. The Circular Economy – A new sustainability paradigm? **Journal Of Cleaner Production**, [S.L.], v. 143, p. 757-768, fev. 2017. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.jclepro.2016.12.048.

GELITA. **Gelita- Improving quality of lyfe**. Disponível em: <http://gelita.com>. Acesso em: 09 jan. 2017.

GELITA. **Propriedades funcionais**. Disponível em: <https://www.gelita.com/pt-pt/funcionalidades/propriedades-funcionais#tailored-textures>. Acesso em: 03 març. 2020.

GELITA. **Outher properties**. Disponível em: <https://www.gelita.com/en/knowledge/gelatine/properties-of-gelatine/other-properties>. Acesso em: 18.jun. 2021.

GILSENAN, Paula. M.; ROSS-MURPHY, Simon.B. Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 191-195, maio 2000. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0268-005x(99)00050-8.

GIMÉNEZ, Begoña.; TURNAY, Javier.; LIZARBE, María Antonia.; MONTERO, Pilar.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. Carmen. Use of lactic acid for extraction of fish skin gelatin. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 941-950, nov. 2005. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2004.09.011.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. Carmen.; MONTERO, Pilar. Extraction of Gelatin from Megrim (*Lepidorhombus boschii*) Skins with Several Organic Acids. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 66, n. 2, p. 213-216, mar. 2001. Wiley. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2001.tb11319.x.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. Carmen; TURNAY, Javier; FERNÁNDEZ-DÍAZ, M. D; ULMO, N; LIZARBE, María Antonia; MONTERO, Pilar. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 25-34, jan. 2002. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0268-005x(01)00035-2.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. Carmen.; GIMÉNEZ, Begoña.; LÓPEZ-CABALLERO, María Elvira.; MONTERO, M. Pilar. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 25, n. 8, p. 1813-1827, dez. 2011. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.02.007.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. Carmen.; PÉREZ-MATEOS, Miriam.; GÓMEZ-ESTACA, Joaquín.; LÓPEZ-CABALLERO, Maria Elvira.; GIMÉNEZ, Begoña.; MONTERO, Pilar. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 3-16, jan. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.tifs.2008.10.002.

GRANDVIEW. Collagen Market Size Worth \$7.5 billion by 2027. **Grand View Research, Inc.**, Califórnia, San Francisco, february de 2020. Disponível em:

<https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-collagen-market> . Acesso em: 01 jul. 2021.

GRAZIOLA, Fabiana. **Obtenção e caracterização de microesferas de gelatina reticuladas com flavonoide para aplicação em fotoprotetores**. 2013. 81p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. São Paulo, 2013.

GUDMUNDSSON, Magnus. Rheological Properties of Fish Gelatins. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 67, n. 6, p. 2172-2176, ago. 2002. Wiley. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb09522.x.

GUNAWAN, Febri.; SUPTIJAH, Pipih.; UJU. Ekstraksi dan karakterisasi gelatin kulit ikan tenggiri (*Scomberomorus commersonii*) dari provinsi kepulauan bangka belitung. **JPHPI** 2017, v. 20 n 3. Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.

HADINOTO, S.; KOLANUS, J. P. M.; IDRUS, S. Karakterisasi Gelembung Renang Ikan Tuna Sirip Kuning (*Thunnus sp.*) dan Kolagen yang dihasilkan melalui ekstraksi Asam Asetat. **Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 129-140, 30 dez. 2019. Agency for Marine and Fisheries Research and Development. DOI: 10.15578/jpbkp.v14i2.589.

HANANI, Z. A. Nur. Gelatin. **Encyclopedia Of Food And Health**, [S.L.], p. 191-195, 2016. Elsevier. DOI: 10.1016/b978-0-12-384947-2.00347-0.

HARRIS, Pedro.; NORMAND, Valéry.; NORTON, Ian.T.. GELATIN. **Encyclopedia Of Food Sciences And Nutrition**, [S.L.], p. 2865-2871, 2003. Elsevier. DOI: 10.1016/b0-12-227055-x/00551-4.

HAUG, Ingvild J.; DRAGET, Kurt I.; SMIDSRØD, Olav. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 203-213, mar. 2004. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0268-005x(03)00065-1.

HICKMAN, D; SIMS, Trevor. J; MILES, Christopher. Allen.; BAILEY, A. J; MARI, M de; KOOPMANS, M. Isinglass/collagen: denaturation and functionality. **Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 79, n. 3, p. 245-257, maio 2000. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0168-1656(00)00241-8.

HOU, Yakun; SHAVANDI, Amin; CARNE, Alan; BEKHIT, Adnan A.; NG, Tzi Bun; CHEUNG, Randy Chi Fai; BEKHIT, Alaa El-Din A. Marine shells: potential opportunities for extraction of functional and health-promoting materials. **Critical Reviews In Environmental Science And Technology**, [S.L.], v. 46, n. 11-12, p. 1047-1116, 17 jun. 2016. Informa UK Limited. DOI: 10.1080/10643389.2016.1202669.

HUANG, Tao; TU, Zong-Cai; WANG, Hui; SHANGGUAN, Xinchun; ZHANG, Lu; ZHANG, Nan-Hai; BANSAL, Nidhi. Pectin and enzyme complex modified fish scales gelatin: rheological behavior, gel properties and nanostructure. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 156, p. 294-302, jan. 2017. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.09.040

IDRUS, Syarifuddin.; HADINOTO, Sugeng.; KOLANUS, Joice. P. M. Karakterisasi Kolagen Gelembung Renang Tuna Sirip Kuning (*Thunnus Albacares*) Dari Perairan Maluku Menggunakan Ekstraksi Asam. **Biopropal Industri** v. 9, n .2, p. 87-94. 2018, P. 87-94. DOI: 10.36974/jbi.v9i2.4020

IKOMA, Toshiyuki; KOBAYASHI, Hisatoshi; TANAKA, Junzo; WALSH, Dominic; MANN, Stephen. Microstructure, mechanical, and biomimetic properties of fish scales from *Pagrus major*. **Journal Of Structural Biology**, [S.L.], v. 142, n. 3, p. 327-333, jun. 2003. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s1047-8477(03)00053-4.

JAMILAH, Bakar; HARVINDER, K. G. Properties of gelatins from skins of fish—black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 77, n. 1, p. 81-84, maio 2002. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0308-8146(01)00328-4.

JASWIR, Irwandi. Nano-structural analysis of fish collagen extracts for new process development. **African Journal Of Biotechnology**, [S.L.], v. 10, n. 81, p. 18847-18854, 16 dez. 2011. Academic Journals. DOI: 10.5897/ajb11.2764.

JONGJAREONRAK, Akkasit; BENJAKUL, Soottawat; VISESSANGUAN, Wonnop; NAGAI, Takeshi; TANAKA, Munehiko. Isolation and characterisation of acid and pepsin-solubilised collagens from the skin of Brownstripe red snapper (*Lutjanus vitta*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 93, n. 3, p. 475-484, dez. 2005. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.10.026.

JONGJAREONRAK, Akkasit; BENJAKUL, Soottawat; VISESSANGUAN, Wonnop; TANAKA, Munehiko. Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 20, n. 8, p. 1216-1222, dez. 2006. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2006.01.006.

JOSEPH, Toms C.; REMYA, Sasikala.; RENUKA, Vijayakumar.; JHA, Ashish Kumar. Fishery Industry Waste: A Resource to Be Valorised. **FishTech-19, Fishery Waste Management: Challenges and Business Opportunities in Gujarat**, p. 14-24. 2019.

KAERDANG, Onouma **Value-added Products from Yellowfin Tuna Swim Bladder: Collagen and Gelatin**. 2015. 179 p. Dissertacion (Program Food Science and Technology) - Prince of Songkla University, Kho Hong, Tailândia, 2015.

KAERDANG, Onouma.; BENJAKUL, Soottawat. Effect of ethanolic extract of coconut husk on gel properties of gelatin from swim bladder of yellowfin tuna. **Lwt - Food Science and Technology**, [S.L.], v. 62, n. 2, p. 955-961, jul. 2015. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.02.006.

KAERDANG, O; BENJAKUL, S.; KAERMANEE, T.; KISHIMURA, H. Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 155, p. 264-270, jul. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.076>.

KAERDANG, Onouma.; BENJAKUL, Soottwat.; PRODPRAN, Tthammarat.; KAERMANEE, T.; KISHIMURA, Hideki. Characteristics of gelatin from swim bladder of

yellowfin tuna (*Thunnus albacores*) as influenced by extracting temperatures. **Italian Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 366-374, 22 set. 2015. Codon Publications. DOI: 10.14674/1120-1770/ijfs.v280.

KAEWRUANG, Phanngam; BENJAKUL, Soottawat; PRODPRAN, Thummanoon; NALINANON, Sitthipong. Physicochemical and functional properties of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as affected by extraction conditions. **Food Bioscience**, [S.L.], v. 2, p. 1-9, jun. 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.fbio.2013.03.002.

KAEWRUANG, Phanngam; BENJAKUL, Soottawat; PRODPRAN, Thummanoon; ENCARNACION, Angel B.; NALINANON, Sittipong. Impact of divalent salts and bovine gelatin on gel properties of phosphorylated gelatin from the skin of unicorn leatherjacket. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.L.], v. 55, n. 2, p. 477-482, mar. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.lwt.2013.10.033.

KANWATE, Balaji Wamanrao; BALLARI, Rajashekhar V.; KUDRE, Tanaji G. Influence of spray-drying, freeze-drying and vacuum-drying on physicochemical and functional properties of gelatin from *Labeo rohita* swim bladder. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 121, p. 135-141, jan. 2019. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.015.

KANWATE, Balaji Wamanrao; KUDRE, Tanaji G. Effect of various acids on physicochemical and functional characteristics of gelatin from swim bladder of rohu (*Labeo rohita*). **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 54, n. 8, p. 2540-2550, 1 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. DOI: 10.1007/s13197-017-2699-0.

KARTIKA, I Wayan Darya; TRILAKSANI, Wini; ADNYANE, I Ketut Mudite. Characterization of Collagen from Swim Bladder Waste of Yellow-pike (*Muraenesox talabon*) by Acid and Hydrothermal Extraction. **Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 222, 6 fev. 2017. Indonesian Society Fisheries Product Processing. DOI: 10.17844/jphpi.v19i3.15074.

KASANKALA, Ladislaus M.; XUE, Yan; WEILONG, Yao; HONG, Sun D.; HE, Qian. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 98, n. 17, p. 3338-3343, dez. 2007. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.03.019.

KARIM, A.A.; BHAT, Rajeev. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 23, n. 3, p. 563-576, maio 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.002.

KLOMKLAO, Sappasith; BENJAKUL, Soottawat; VISESSANGUAN, Wonnop; KISHIMURA, Hideki; SIMPSON, Benjamin K. Purification and characterisation of trypsins from the spleen of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 100, n. 4, p. 1580-1589, jan. 2007. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.01.001.

KOLI, J. M. **Functional properties of gelatin extracted from skin of black kingfish (*Ranchycentron Canadus*)**. 2019. 102p. Thesis (Ph. D. in Post Harvest Technology (Fish)) - Balasaheb Sawant Konkan Krishi Vidypeeth – Ratnagari – Índia, 2019.

KOLI, Jayappa M.; BASU, Subrata; NAYAK, Binay B.; PATANGE, Surendra B.; PAGARKAR, Ashif U.; GUDIPATI, Venkateswarlu. Functional characteristics of gelatin extracted from skin and bone of Tiger-toothed croaker (*Otolithes ruber*) and Pink perch (*Nemipterus japonicus*). **Food And Bioproducts Processing**, [S.L.], v. 90, n. 3, p. 555-562, jul. 2012. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.fbp.2011.08.001.

KOLI, Jayappa. M.; BASU, Subrata.; NAYAK, Binay.B.; KANNUCHAMY Nagalakshmi.; GUDIPATI, Venkateswarlu. Effect of pH and Ionic Strength on Functional Properties of Fish Gelatin Comparison to Mammalian Gelatin. **Fish. Technol.** v. 50, n. 2, p. 126 – 132, jul. 2013.

KOLOTOVA, Daria; PETROVA, Lyudmila. Technology and Physico-chemical Properties of Gelatin from Atlantic Cod Skin. **Kne Life Sciences**, [S.L.], p. 426-436, 15 jan. 2020. Knowledge E. DOI: 10.18502/cls.v5i1.6101.

KOŁODZIEJSKA, Ilona; KACZOROWSKI, Krzysztof; PIOTROWSKA, Barbara; SADOWSKA, Maria. Modification of the properties of gelatin from skins of Baltic cod (*Gadus morhua*) with transglutaminase. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 86, n. 2, p. 203-209, jun. 2004. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.08.036.

KOOCHEKIAN, Anoosheh; GHORBAN, Zareh; YOUSEFI, Ayoub. Production of Isin glass from the swim bladder of sturgeons. **Journal Of Applied Ichthyology**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 419-421, dez. 2006. Wiley. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2007.00998.x.

KOTZAMANIS, Yannis. P.; ALEXIS, Maria N.; ANDRIOPOULOU, Argyro.; CASTRITSI-CATHARIOU, I; FOTIS, George. Utilization of waste material resulting from trout processing in gilthead bream (*Sparus aurata L.*) diets. **Aquaculture Research**, [S.L.], v. 32, p. 288-295, dez. 2001. Wiley. DOI: 10.1046/j.1355-557x.2001.00042.x.

LEATHER, R. V.; SISK, M.; DALE, Christopher. J.; LYDDIATT, Andre. Analysis of the collagen and total soluble nitrogen content of isinglass finings by polarimetry. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [S.L.], v. 100, n. 5, p. 331-334, 10 set. 1994. Wiley. DOI: 10.1002/j.2050-0416.1994.tb00831.x.

LEDWARD, David A. Gelatin. **Food Hydrocolloids**. p.67-86, 2000.

LEHNINGER, Albert. L.; NELSON, L. David.; COX, Michael. M. **Princípios de bioquímica**. 3ª edição. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.

LEUENBERGER, Bruno H. Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 353-361, ago. 1991. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0268-005x(09)80047-7.

LIEBL, Fernanda.; AMARAL, Hilton.; GARCIA, Silvano.; SOUTO, Luís Ivan Martinho.; DE CARVALHO, Cristina. V. A.; CERQUEIRA, Vinícius Ronzani. (2016). Desempenho de juvenis de robalo-flecha e robalo-peva submetidos a diferentes densidades de estocagem em água doce. **Boletim Do Instituto de Pesca**, 42(1), 145–155. DOI: 10.20950/1678-2305.2016v42n1p145.

LIMA, Leandro Kanamaru Franco. Reaproveitamento de resíduos sólidos na cadeia agroindustrial do pescado. **Embrapa Pesca e Aquicultura**, 28 p, ISSN 2318-1400, Palmas-TO, 2013.

LIMA, Maria de Moraes; MUJICA, Pedro Ismael Cornejo; LIMA, Aldeíres Moraes. Caracterização química e avaliação do rendimento em filés de caranha (*Piaractus mesopotamicus*). **Brazilian Journal Of Food Technology**, [S.L.], v. 15, n. , p. 41-46, 22 nov. 2012. FapUNIFESP (SciELO). DOI:10.1590/s1981-67232012005000031.

LIU, Dasong; LIANG, Li; REGENSTEIN, Joe M.; ZHOU, Peng. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from fins, scales, skins, bones and swim bladders of bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 133, n. 4, p. 1441-1448, ago. 2012. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.02.032.

LIU, Dasong; WEI, Guanmian; LI, Tiancheng; HU, Jinhua; LU, Naiyan; REGENSTEIN, Joe M.; ZHOU, Peng. Effects of alkaline pretreatments and acid extraction conditions on the acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) skin. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 172, p. 836-843, abr. 2015. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.09.147.

LIU, Haiying; LI, Ding; GUO, Shidong. Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) gelatine from fish skins preserved by different methods. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.L.], v. 41, n. 8, p. 1425-1430, nov. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.09.006.

LIU, Haiying.; HAN, Junyan.; GUO, Shidong.. Characteristics of the gelatin extracted from Channel Catfish (*Ictalurus Punctatus*) head bones. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.L.], v. 42, n. 2, p. 540-544, mar. 2009. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.lwt.2008.07.013.

MAIA, Monique de Oliveira. **Gelatina de pescado: extração, caracterização e aplicação**. 2015. 70 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará Campus Limoeiro do Norte, Limoeiro do Norte, 2015. Disponível em:
https://ifce.edu.br/limoeirodonorte/arquivos_pgta/dissertacoes/maia_m_o_2015_pgta_ifce.pdf
. Acesso em: 10 abr. 2020.

MAIA-PINHEIRO, L. M. H.; NUNES, M. L.; BOMFIM, I. G. A. Extração e caracterização físico-química de gelatina de bexigas natatórias de Bagre (*Bagre bagre*). **Revista Higiene Alimentar**, v. 29 – n. 242/243, ISSN 0101-9171, Março/Abril de 2015.

MARINA, Am.; CHE MAN, Yaakob Bin; AMIN, Ismail. Use of the SAW Sensor Electronic Nose for Detecting the Adulteration of Virgin Coconut Oil with RBD Palm Kernel Olein. **Journal Of The American Oil Chemists' Society**, [S.L.], v. 87, n. 3, p. 263-270, 12 nov. 2009. Wiley. DOI: 10.1007/s11746-009-1492-2.

MARTÍNEZ-ALVAREZ, Oscar; CHAMORRO, Susana; BRENES, Agustín. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: a review. **Food Research International**, [S.L.], v. 73, p. 204-212, jul. 2015. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.04.005.

MARTINS, Maria Emanuella de Oliveira.; CLAUDINO, Rayanne Leitão.; MORAIS, João Paulo Saraiva.; CASSALES, Ana Ribeiro.; ALEXANDRE, Lilian Chayn.; SOUZA, Bartolomeu Warlene Silva de Souza.; ALCÂNTARA, Lyndervan Oliveira.; SOUZA, Juliana Rabelo; SOUZA FILHO, Men de Sá Moreira. **Obtenção de Gelatina a partir de Escama de Tilápia (*Oreochromis niloticus*): Características Químicas e Físico-químicas**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 108), 23p, 2015.

MIKALOUSKI, Flavianny Brençis da Silva; MONTEIRO, Antonio Roberto Giriboni; MARQUES, Diego Rodrigues; MONTEIRO, Claudia Cirineo Ferreira; BENOSSE, Livia. Influência da granulometria da matéria-prima na expansão de extrusados de milho. **Brazilian Journal Of Food Technology**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 28-32, mar. 2014. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/bjft.2014.005.

MINOLTA, Konica. **Precise color communication: Color control from perception to instrumentation**. 2007, 62p. Japão: Minolta Co. Ltd., 2007.

MOKREJS, Pavel; LANGMAIER, Ferdinand; MLADEK, Milan; JANACOVA, Dagmar; KOLOMAZNIK, Karel; VASEK, Vladimir. Extraction of collagen and gelatine from meat industry by-products for food and non food uses. **Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 31-37, fev. 2009. SAGE Publications. DOI: 10.1177/0734242x07081483.

MONTERO, Pilar.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. Carmen. Extracting Conditions for Megrim (*Lepidorhombus boscii*) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 65, n. 3, p. 434-438, abr. 2000. Wiley. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb16022.x.

MUYONGA John Herbert.; COLE, Charles George Bernard.; DUODU, Kwabu Gyebi. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 18, n. 4, p. 581-592, jul. 2004a. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2003.08.009.

MUYONGA, Jonh Herbert.; COLE, Charles George Bernard.; DUODU, Kwabu Gyebi. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 85, n. 1, p. 81-89, mar. 2004b. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.06.006.

NAGAI, Takeshi.; SUZUKI, Nobutaka. Isolation of collagen from fish waste material — skin, bone and fins. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 68, n. 3, p. 277-281, 15 fev. 2000. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0308-8146(99)00188-0.

NAGARAJAN, Muralidharan; BENJAKUL, Soottawat; PRODPRAN, Thummanoon; SONGTIPYA, Ponusa; KISHIMURA, Hideki. Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 29, n. 2, p. 389-397, dez. 2012. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2012.04.001.

NALINANON, Sitthipong; BENJAKUL, Soottawat; KISHIMURA, Hideki; SHAHIDI, Fereidoon. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle

of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 124, n. 4, p. 1354-1362, fev. 2011. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.07.089.

NALINANON, Sitthipong; BENJAKUL, Soottawat; VISESSANGUAN, Wonnop; KISHIMURA, Hideki. Improvement of gelatin extraction from bigeye snapper skin using pepsin-aided process in combination with protease inhibitor. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 615-622, jun. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2007.01.012.

NISHIHORA, R. K. **Propriedades de filmes de gelatina reticulados por via enzimática e física**. 2015. 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

PAULA, Gabriela Almeida. **Desenvolvimento de filmes à base de carragenanas das algas marinhas *Solieria filiformis* e *Hypnea musciformis* e de um alginato comercial**. 2013. 79 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

NIU, Lihong; ZHOU, Xin; YUAN, Chuqiao; BAI, Yun; LAI, Keqiang; YANG, Fuxin; HUANG, Yiqun. Characterization of tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 336-341, dez. 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.04.014.

NORZIAH, Mohammad Hani.; KEE, H. Y.; NORITA, Mohamed. Response surface optimization of bromelain-assisted gelatin extraction from surimi processing wastes. **Food Bioscience**, [S.L.], v. 5, p. 9-18, mar. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.fbio.2013.10.001.

NUNES, Maria Lúcia. **Silagem de pescado**. In: OGAWA, M.; MAIA, E. L. Manual de pesca. São Paulo: Livraria Varela, 1ª edição, p.371-379, 1999.

NUNES, Yana Luck. **Preparação e caracterização de bioblendas poliméricas a partir de gelatina bovina e de tilápia com amido de milho**. 2014. 115 f. Dissertação (Mestrado em Processamento de Materiais a partir do Pó; Polímeros e Compósitos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de materiais. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

OGAWA, Masayoshi.; MAIA, Everardo Lima. **Manual de pesca: Ciência e tecnologia do pescado**. 1ª edição. São Paulo: Varela, 458 p, 1999.

OLIVEIRA, Vagne de Melo.; CUNHA, Márcia Nieves Carneiro da.; NASCIMENTO, Thiago Pajeú.; ASSIS, Caio Rodrigo Dias.; BEZERRA, Ranilson de Souza.; PORTO, Ana Lúcia Figueiredo. Colágeno: características gerais e produção de peptídeos bioativos - uma revisão com ênfase nos subprodutos do pescado. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources** (2017) 5 (2): 56-68. DOI 10.2312/ActaFish.2017.5.2.56-68.

OLIVEIRA, Luã Caldas de; BARBOSA, Jhonatas Rodrigues; RIBEIRO, Suezilde da Conceição Amaral; VASCONCELOS, Marcus Arthur Marçal de; AGUIAR, Bruna Araújo de; PEREIRA, Gleice Vasconcelos da Silva; ALBUQUERQUE, Gilciane Américo; SILVA, Fabricio Nilo Lima da; CRIZEL, Rosane Lopes; CAMPELO, Pedro Henrique. Improvement of the characteristics of fish gelatin – gum arabic through the formation of the polyelectrolyte

complex. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 223, p. 115068, nov. 2019. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115068.

OLIVEIRA, Vagne de Melo; ASSIS, Caio Rodrigo Dias; COSTA, Beatriz de Aquino Marques; NERI, Robson Coelho de Araújo; MONTE, Flávia Thuane Duarte; FREITAS, Helane Maria Silva da Costa Vasconcelos; FRANÇA, Renata Cristina Penha; SANTOS, Juliana Ferreira; BEZERRA, Ranilson de Souza; PORTO, Ana Lúcia Figueiredo. Physical, biochemical, densitometric and spectroscopic techniques for characterization collagen from alternative sources: a review based on the sustainable valorization of aquatic by-products. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1224, p. 129023, jan. 2021. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.molstruc.2020.129023.

OLIVEIRA, Jane Raquel Silva de.; VALE, Venina.; COSTA, Maria Célia Pires.; MUNIZ FILHO, Walbert Edson.; SILVA, Fernando Carvalho.; BEZERRA, Cícero Wellington Brito. Solubilização, Precipitação e Determinação de Massas Moleculares de Colágenos da Bexiga Natatória de Peixes. **Mens Agitat**. v.1, n.2, p.11-17, 2006.

PERRET, Martine. **FAO: setor pesqueiro cai 6,5% com pandemia, mas consumo tende a aumentar**. Nações Unidas, 8 jun. 2020. Disponível em: <https://news.un.org/pt/story/2020/06/1716012>. Acesso em: 01 jun. 2021.

PARENTE, Expedito José de Sá.; NUNES, Maria Lúcia. Sobre a industrialização de cações no Nordeste brasileiro. II – Aproveitamento da pele. **Arq.Ciêñ.Mar**, v.13, p 99-103, 1973.

PEIXEBR. **Anuário 2020 Peie BR da Piscicultura**. São Paulo, 136 p, 2020. Disponível em: <http://www.peixebr.com.br>. Acesso em: Fev de 2021.

PELSTER, Bernd. The Generation of Hyperbaric Oxygen Tensions in Fish. **Physiology**, [S.L.], v. 16, n. 6, p. 287-291, dez. 2001. American Physiological Society. DOI: 10.1152/physiologyonline.2001.16.6.287.

POUGH, Harvev.; JANIS, Christine. M.; HEISER, John. B. **A vida dos vertebrados**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2008, 684 p. ISBN 8574540955.

PENHA, Rosiane Silva. **Preparação de novos materiais à base de colágeno písceo e quitosana**. 2016. 99 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Programa de Pós-Graduação da Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

PRESTES, Rosa Cristina. Colágeno e seus derivados: características e aplicações em produtos cárneos. **Cient Ciêñ Biol Saúde**; vol. 15, n. 1, 2013. DOI: 10.17921/2447-8938.2013v15n1p%25p

RAWDKUEN, Saroat; THITIPRAMOTE, Natthawut; BENJAKUL, Soottawat. Preparation and functional characterisation of fish skin gelatin and comparison with commercial gelatin. **International Journal Of Food Science & Technology**, [S.L.], v. 48, n. 5, p. 1093-1102, 29 jan. 2013. Wiley. DOI: 10.1111/ijfs.12067.

RENCHER, Alvin C. **Methods of Multivariate Analysis**. **Wiley Series In Probability And Statistics**, [S.L.], p. 1-727, 22 fev. 2002. John Wiley & Sons, Inc. DOI: 10.1002/0471271357.

ROSA, Michele Fernandes da. **Logística da exportação da carne bovina no Brasil**. 2012. 84 f. TCC (Graduação em Administração) – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, Assis, 2012.

ROSE, Chella.; MANDAL, Asit Baran.; JOSEPH, Koithara Thomas. Characterization of collagen from the swimbladder of catfish (*Tachysurus maculatus*). **Asian Fisheries Science**, v.11, p. 1-10, 1998.

ROUSSELOT. **Improvement by nature**. Disponível em: http://www.parmentier.de/gpfneu/gelatine/rousselet_en.pdf. Acesso em: 10 jan. 2016.

ROUSSELOT. **Understanding the versatility of gelatin**. Functional, 24, jun. 2020. Disponível em: <https://www.rousselet.com/functional/media/blog/understanding-the-versatility-of-gelatin>. Acesso em: 18 jun. 2021.

SADOWSKA, Maria; KOŁODZIEJSKA, Ilona; NIECIKOWSKA, Celina. Isolation of collagen from the skins of Baltic cod (*Gadus morhua*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 81, n. 2, p. 257-262, maio 2003. DOI: 10.1016/s0308-8146(02)00420-x.

SAGMA. **Associação dos Fabricantes de Gelatina da América do Sul**. Sagma, 2004. Disponível em: <http://www.sagma-gelatina.com>. Acesso em: 07 jan. 2016.

SAHOO, Rushikulya.; DHANAPAL, Kandan.; REDDY, Gangireddygar Venkata Subba.; BALASUBRANIAN, Arumugam.; SRAVANI, Korla. Study on The Functional Properties Of Gelatin Extracted From The Skin Of The Fish Pacu (*Piaractus Brachypomus*). **International Journal Of Innovative Science, Engineering & Technology**. Andhra Pradesh, v. 2, n. 11, p. 218-232. nov. 2015. ISSN 2348 – 7968.

SANTOS, Elias de Barros; VIEIRA, Eunice Fragoso da Silva; CESTARI, Antonio Reinaldo; BARRETO, Ledjane Silva. Caracterização de escamas do peixe piau (*Leporinus elongatus*) e sua aplicação na remoção de Cu(II) de meio aquoso. **Química Nova**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 134-138, 2009. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0100-40422009000100026.

SANTOS, Felipe Wagner Bandeira. **Nutrição de peixes de água doce: Definições, perspectivas e avanços científicos**; In: I Simpósio de nutrição e alimentação animal – Fortaleza. 36 p. Disponível em: http://www.higieneanimal.ufc.br/anais/anaisb/aa24_2.pdf. Acesso em: 07 dez. 2017.

SCHRIEBER, Reinard.; GAREIS, Herbert. **Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice**. 346 p. Wiley-VCH, GmbH and Co, Weinheim, 2007. ISBN 978-3-527-31548-2.

SIMAMORA, Gevby Ranti Ramadhani; TRILAKSANI, Wini; UJU, Uju. Profiling of Catfish Swim Bladder Collagen (*Pangasius sp.*) Through Enzymatic Proses. **Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 299-310, 25 ago. 2019. Indonesian Society Fisheries Product Processing. DOI: 10.17844/jphpi.v22i2.27717.

SINGH, Avtar; BENJAKUL, Soottawat. Proteolysis and Its Control Using Protease Inhibitors in Fish and Fish Products: a review. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 496-509, 13 fev. 2018. Wiley. DOI: 10.1111/1541-4337.12337.

SHON, Jinhan; EO, Ji-Hyun; HWANG, Su Jung; EUN, Jong-Bang. Effect of processing conditions on functional properties of collagen powder from skate (*Raja kenoyei*) skins. **Food Science And Biotechnology**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 99-106, fev. 2011. Springer Science and Business Media LLC. DOI: 10.1007/s10068-011-0014-9.

SHYNI, Kavilakath.; HEMA, G. S.; NINAN, George.; MATHEW, Suseela.; JOSHY, Chalil George.; LAKSHMANAN, Pindath Thandayan. Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 39, p. 68-76, ago. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.008.

SILVA, Roberto de Souza Gomes da; BANDEIRA, Sidney Fernandes; PETRY, Fabiane Cristina; PINTO, Luiz Antonio de Almeida. Extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 41, n. 5, p. 904-909, 10 maio 2011. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0103-84782011005000059.

SILVA, Tatiane Ferreira da; PENNA, Ana Lúcia Barretto. Colágeno: características químicas e propriedades funcionais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 71, n. 3, p. 530-539, 2012. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/122273>. Acesso em: fev de 2020.

SINTHUSAMRAN, Sittichoke; BENJAKUL, Soottawat; KISHIMURA, Hideki. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 138, n. 4, p. 2435-2441, jun. 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.136.

SINTHUSAMRAN, Sittichoke; BENJAKUL, Soottawat; KISHIMURA, Hideki. Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (*Lates calcarifer*) as influenced by extraction conditions. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 152, p. 276-284, jun. 2014. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.11.109.

SINTHUSAMRAN, Sittichoke; BENJAKUL, Soottawat; KISHIMURA, Hideki. Molecular characteristics and properties of gelatin from skin of seabass with different sizes. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 73, p. 146-153, fev. 2015. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.11.024.

SINTHUSAMRAN, Sittichoke; BENJAKUL, Soottawat; KIJROONGROJANA, Kongkarn; PRODPRAN, Thummanoon. Chemical, physical, rheological and sensory properties of biscuit fortified with protein hydrolysate from cephalothorax of Pacific white shrimp. **Journal Of Food Science And Technology**, [S.L.], v. 56, n. 3, p. 1145-1154, 4 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. DOI: 10.1007/s13197-019-03575-2.

SONGCHOTIKUNPAN, Panida; TATTIYAKUL, Jirarat; SUPAPHOL, Pitt. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 42, n. 3, p. 247-255, abr. 2008. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2007.11.005.

SOUZA FILHO, Men de Sá Moreira de; MELO, Edla Freire de.; RIBEIRO, Hálisson Lucas.; FEITOSA, Judth Pessoa de Andrade.; SOUZA, Bartolomeu Warlene Silva de.; AZEREDO, Henriette Monteiro Cordeiro de. **Obtenção e caracterização de gelatina de pele de tilápia**

(*Oreochromis niloticus*) em Escala Piloto. 2012. 19 p. Embrapa Agroindústria Tropical- Boletim de pesquisa e desenvolvimento. ISSN 1679-6543. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/79874/1/Obtencao-e-Characterizacao.pdf>. Acesso em: 16 nov. 2020.

SOUSA, Rita O.; ALVES, Ana L.; CARVALHO, Duarte Nuno; MARTINS, Eva; OLIVEIRA, Catarina; SILVA, Tiago H.; REIS, Rui L. Acid and enzymatic extraction of collagen from Atlantic cod (*Gadus Morhua*) swim bladders envisaging health-related applications. **Journal Of Biomaterials Science, Polymer Edition**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 20-37, 27 set. 2019. Informa UK Limited. DOI: 10.1080/09205063.2019.1669313.

SOUZA, Maria Luiza R.; DOURADO, Doroty M.; MACHADO, Silmara D.; BUCCINI, Daniele F.; JARDIM, Maria Inês A.; MATIAS, Rosemary; CORREIA, Celso; FERREIRA, Isabel C. Análise da pele de três espécies de peixes: histologia, morfometria e testes de resistência. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [S.L.], v. 32, n. 61, p. 1551-1559, dez. 2003. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s1516-35982003000700003.

SOUZA, Maria Luiza Rodrigues de.; MARENGONI, Nilton Garcia.; PINTO, Adriana Aparecida.; CAÇADOR, Walangiery da Costa. Rendimento do processamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): tipos de corte da cabeça em duas categorias de peso. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 22, n. 3, p. 701-706, ago. 2000. DOI: 10.4025/actascianimsci.v22i0.2926

STAINSBY, George. Chemistry and function of pectins. **British Polymer Journal**, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 546-546, 1987. Wiley. DOI: 10.1002/pi.4980190617.

SZPILMAN, Marcelo. **Peixes Marinhos do Brasil: Guia Prático de Identificação.** 200. 288 p. Instituto Ecológico Aqualung e MAUD Editora, Rio de Janeiro. ISBN 85-900691-2-5.

TABARESTANI, Hoda Shahiri.; MAGHSOUDLOU, Yahya.; MOTAMEDZADEGAN, Ali.; MAHOONAK, Alireza Reza Sadeghi. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 101, n. 15, p. 6207-6214, ago. 2010. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.02.071.

TAMILMOZHI, Somasundaram; VEERURAJ, Anguchamy; ARUMUGAM, Muthuvel. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagen from the skin of sailfish (*Istiophorus platypterus*). **Food Research International**, [S.L.], v. 54, n. 2, p. 1499-1505, dez. 2013. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.10.002.

TAN, Yuqing; CHANG, Sam K.C. Isolation and characterization of collagen extracted from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 242, p. 147-155, mar. 2018. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.09.013.

TAVAKOLIPOUR, Hmid. Extraction and Evaluation of Gelatin from Silver Carp Waste. **World Journal of Fish and Marine Sciences**, v. 3, n.1, p. 10-15, 2011. ISSN 2078-4589.

TAYLOR, Robert. **Collagen finings and preparation thereof.** Depositante: JUnited States Patent, Patent nº 5703211. 1997. Disponível em:

<https://patentimages.storage.googleapis.com/2a/75/eb/da26ab8361bfd4/US5703211.pdf>. Acesso em: jul de 2017.

TRESSLER, Donald.; LEMON, James. M. **Marine products of commerce. Their acquisition, handling, biological aspects and the science and technology of their. Preparation and preservation.** 1951. 800 p. Book division. 2^a ed., revised and enlarged. New York.

TINRATAT, Sirikhwan; SILA-ASNA, Monnipha. Optimization of Gelatin Extraction and Physico-chemical Properties of Fish Skin and Bone Gelatin: its application to panna cotta formulas. **Current Research In Nutrition And Food Science Journal**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 263-273, 28 nov. 2017. Enviro Research Publishers. DOI: 10.12944/crnfsj.5.3.11.

TRIBUNA. **Produtores avaliam equipamento que corta tilápia em filé.** 2005. Disponível em: <http://www.tribunapr.com.br/noticias/produtores-avaliam-equipamento-que-corta-tilapia-em-file/> Acesso em: 18 març. 2016.

TRILAKSANI, Wini; ADNYANE, I Ketut Mudite; RIYANTO, Bambang; SAFITRI, Noriana. Nano collagen of the grouper swim bladder in compliance with quality standard of cosmetics materials. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, [S.L.], v. 404, n. 1, p. 1-14, 1 jan. 2020. IOP Publishing. DOI: 10.1088/1755-1315/404/1/012050.

SURYANTI, Suryanti; HADI, Susilo; PERANGINANGIN, Rosmawaty. Ekstraksi Gelatin dari Tulang Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sp*) secara Asam. **Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 240-251, 6 maio 2006. Agency for Marine and Fisheries Research and Development. DOI: 10.15578/jpbkp.v1i1.228.

TORRES, Elizabeth A.F.S; CAMPOS, Norberto C.; DUARTE, Marilda; GARBELOTTI, Maria L.; PHILIPPI, Sonia T.; MINAZZI-RODRIGUES, Regina S. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 145-150, ago. 2000. FapUNIFESP (SciELO). DOI: 10.1590/s0101-20612000000200003.

URIARTE-MONTOYA, Mario H.; SANTACRUZ-ORTEGA, Hisila; CINCO-MOROYOQUI, Francisco J.; ROUZAUD-SÁNDEZ, Ofelia; PLASCENCIA-JATOMEA, Maribel; EZQUERRA-BRAUER, Josafat M. Giant squid skin gelatin: chemical composition and biophysical characterization. **Food Research International**, [S.L.], v. 44, n. 10, p. 3243-3249, dez. 2011. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.08.018.

VIDAL, Maria de Fátima; XIMENES, Luciano Feijão. **Produção de pescados na área de atuação do BNB.** Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, ano 4, n.91, ago.2019. (Caderno Setorial ETENE). Disponível em: <http://s1dspp01.dmz.bnb:8443/s482-dspace/handle/123456789/618>. Acesso em: abril de 2021.

VIDOTTI, Rose Meire.; CHAGURI, Milena Penteadó.; GONÇALVES, Giovani Sampaio. Uso de escamas e aguapé no tratamento dos efluentes gerados no curtimento de peles de tilápia. **Pesquisa & Tecnologia**, v.8, n.2, p. 1 - 4, 2011. Disponível em: <http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2011/2011-julho-dezembro/1131-uso-de-escamas-e-aguape-no-tratamento-dos-efluentes-gerados-no-curtimento-de-peles-de-tilapia/file.html>. Acesso: abril de 2017.

XIMENES, Luciano Feijão. **Produção de pescado no Brasil e no Nordeste brasileiro. Caderno setorial do Escritório Técnico de Estudos**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, ano 5, n. 150, jan 2021. (Caderno Setorial ETENE). Disponível em: s1dsp01.dmz.bnb:8443/s482-dspace/handle/123456789/649. Acesso em: abril de 2021

ZHANG, Yuhao; MA, Liang; CAI, Luyun; ZHOU, Mengrou; LI, Jianrong. Effects of acid concentration and the UHP pretreatment on the gelatinisation of collagen and the properties of extracted gelatins. **International Journal Of Food Science & Technology**, [S.L.], v. 51, n. 5, p. 1228-1235, 25 mar. 2016. Wiley. DOI: 10.1111/ijfs.13089.

ZHANG, Shen.; WANG, Yifen.; HERRING, Josh L.; OH, Jun-Hyun. Characterization of Edible Film Fabricated with Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) Gelatin Extract Using Selected Pretreatment Methods. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 72, n. 9, p. 498-503, nov. 2007. Wiley. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00515.x.

ZHANG, XI; ADACHI, Shinji; URA, Kazuhiro; TAKAGI, Yasuaki. Properties of collagen extracted from Amur sturgeon *Acipenser schrenckii* and assessment of collagen fibrils in vitro. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 137, p. 809-820, set. 2019. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.021.

ZHAO, Wen-Hao; CHI, Chang-Feng; ZHAO, Yu-Qin; WANG, Bin. Preparation, Physicochemical and Antioxidant Properties of Acid- and Pepsin-Soluble Collagens from the Swim Bladders of Miiuy Croaker (*Miichthys miiuy*). **Marine Drugs**, [S.L.], v. 16, n. 5, p. 161, 12 maio 2018. MDPI AG. DOI: 10.3390/md16050161.

ZHOU, Peng; REGENSTEIN, Joe M. Effects of Alkaline and Acid Pretreatments on Alaska Pollock Skin Gelatin Extraction. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 70, n. 6, p. 392-396, 31 maio 2006. Wiley. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb11435.x.

WALKER, Samantha L.; CAMARENA, M. Carmen Donet; FREEMAN, Gary. Alternatives to Isinglass for Beer Clarification. **Journal Of The Institute Of Brewing**, [S.L.], v. 113, n. 4, p. 347-354, 2007. Wiley. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2007.tb00761.x

WALRAND, Stephane; CHIOTELLI, Eleni; NOIRT, Florence; MWEWA, Sandrine; LASSEL, Taous. Consumption of a functional fermented milk containing collagen hydrolysate improves the concentration of collagen-specific amino acids in plasma. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 56, n. 17, p. 7790-7795, 16 ago. 2008. American Chemical Society (ACS). DOI: 10.1021/jf800691f.

WALSTRA, Pieter. **Physical Chemistry of Foods**. 2003. 832 p. Marcel Dekker Inc. New York.

WARD, A. G; COURTS, A. **The science and technology of gelatin**. *Journal of Colloid and Interface Science* (Vol. 66, Issue 2). ACADEMIC PRESS INC. (LONDON) LTD. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(78\)90323-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(78)90323-5)

WOLF, Frits. A. Chapter V Collagen and gelatin. **Progress In Biotechnology**, [S.L.], p. 133-218, 2003. Elsevier. DOI: 10.1016/s0921-0423(03)80005-9.

WOLF, Katarina. L.; SOBRAL, Paulo. J. A.; TELIS, Vania Regina. Physicochemical characterization of collagen fibers and collagen powder for self-composite film production. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 23, n. 7, p. 1886-1894, out. 2009. Elsevier DOI: 10.1016/j.foodhyd.2009.01.013.

YANG, Hongshun; WANG, Yifen; JIANG, Mingkang; OH, Jun-Hyun; HERRING, Josh; ZHOU, Peng. 2-Step Optimization of the Extraction and Subsequent Physical Properties of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) Skin Gelatin. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 72, n. 4, p. 188-195, maio 2007. Wiley. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00319.x.