



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
MESTRADO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**OBTENÇÃO DE GELATINA UTILIZANDO CABEÇAS DE  
CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*): AVALIAÇÃO DAS  
ETAPAS DE PRÉ-TRATAMENTO E EXTRAÇÃO**

**Roberto de Souza Gomes da Silva**

**Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto**  
ORIENTADOR

RIO GRANDE, RS  
2010

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
MESTRADO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**OBTENÇÃO DE GELATINA UTILIZANDO CABEÇAS DE  
CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*): AVALIAÇÃO DAS  
ETAPAS DE PRÉ-TRATAMENTO E EXTRAÇÃO**

**Roberto de Souza Gomes da Silva**  
ENGENHEIRO DE ALIMENTOS

Dissertação apresentada para  
obtenção do título de Mestre em  
Engenharia e Ciência de Alimentos

**Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto**  
ORIENTADOR

RIO GRANDE, RS  
2010

Dedico este trabalho aos meus pais e minhas irmãs, que sempre foram a minha motivação maior. O apoio e demonstrações de amor foram essenciais nesta caminhada.

Amo vocês!

“As reticências são os três primeiros passos do pensamento  
que continua por conta própria o seu caminho.”

(Mário Quintana)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pois sem Ele nada existe.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Antonio de Almeida Pinto pela contribuição na minha formação como profissional e como homem nestes anos de convívio.

Aos meus pais Rui e Célia, e minhas irmãs Raquel e Marina por estarem sempre presentes nos momentos de dificuldade, acreditem que este momento chegaria, e que, com certeza devem estar orgulhosos por esta conquista.

Aos meus grandes amigos Tio Paulo Mancha, Tia Maria, Barby, Paulinho e, em especial, Luciene, a quem tenho enorme gratidão pela amizade e prestatividade nestes anos em que estive em Rio Grande. Vocês são minha segunda família!

A Taty, minha metade essencial, por todo o amor e carinho que sempre demonstrou, e que, mesmo distante, me deu forças quando eu mais precisei.

Ao meu amigo Sidney pelas discussões, dicas, empenho e colaborações na realização deste trabalho.

Às bolsistas Fabiane, Diana e Paola que contribuíram com muito esforço e dedicação para conclusão deste trabalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao prof. Dr. Carlos Prentice-Hernandez por disponibilizar o laboratório para análises.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos pela contribuição na minha formação profissional.

À minha falecida vovó Maria pelo amor e afeto que sempre tivemos.

Aos meus amigos João Gabriel (Fievel), Ritinha, Manu, e Raone, pela amizade de longos anos e pelo apoio que me deram ao longo do curso.

Aos amigos e colegas de curso Chico, Carolzinha, Felipe, Bruna e Karen pelos momentos de estudo, festas, e risadas.

Aos meus amigos do Santo Expedito por proporcionarem momentos de alegria, principalmente aos sábados à tarde, me ajudando a aliviar parte dos problemas.

Ao meu amigo e parceiro de apartamento Bruno Borsa, com quem sempre pude contar.

Aos colegas do Laboratório de Operações Unitárias pelo convívio em harmonia e colaboração no dia-a-dia.

Aos técnicos Jaques e Sabrine, e ao amigo William Vega pela disposição em sempre colaborar com as análises.

À Islanda, secretária do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, por todo o trabalho e acessibilidade.

A CAPES pelo apoio acadêmico.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que este momento existisse.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
NOMENCLATURA .....	X
RESUMO .....	XI
ABSTRACT .....	XII
CAPITULO I.....	XIII
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPITULO II.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Panorama mundial e nacional da aquicultura .....	4
2.2. Carpa comum ( <i>Cyprinus carpio</i> ) .....	5
2.3. Aproveitamento de rejeitos da industrialização do pescado .....	6
2.4. Colágeno .....	7
2.4.1. Aplicações do colágeno .....	11
2.5. Gelatina.....	12
2.5.1. Importância da gelatina.....	14
2.5.2. Indicativos de qualidade das gelatinas.....	15
2.5.3. Propriedades da gelatina .....	16
2.5.4. Processo de extração de gelatina.....	18
2.5.5. Extração de gelatina de pescado.....	19
CAPÍTULO III.....	22
ARTIGO I - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO ALCALINA, TEMPO DE PRÉ- TRATAMENTO E TROCA DE SOLUÇÃO ALCALINA NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA A PARTIR DAS PELES DE CABEÇAS DE CARPA COMUM ( <i>CYPRINUS CARPIO</i> ).....	23
RESUMO .....	23
ABSTRACT .....	24
1. INTRODUÇÃO.....	25
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
2.1. Matéria-prima .....	27
2.2. Pré-tratamento das amostras e Extração da gelatina .....	27
2.3. Composição química das amostras .....	30
2.4. Caracterização das soluções de gelatina.....	30
2.4.1. Rendimento em gelatina .....	30
2.4.2. Força do gel.....	30
2.4.3. Ponto de fusão.....	31
2.5. Balanços de massa e de proteínas nos processos .....	31
2.6. Metodologia estatística .....	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.1. Composição química da amostra.....	33
3.2. Balanço de massa e de proteínas nos processos.....	34
3.3. Análise estatística dos resultados.....	36
3.4. Rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão .....	39
4. CONCLUSÃO.....	42
5. REFERÊNCIAS .....	43

ARTIGO II - INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DOS OSSOS DE CABEÇAS DE CARPA COMUM ( <i>CYPRINUS CARPIO</i> ) NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA .....	47
RESUMO .....	47
ABSTRACT .....	48
1. INTRODUÇÃO.....	49
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
2.1. Matéria-prima .....	51
2.2. Pré-tratamento das amostras e Extração da gelatina .....	51
2.3. Composição química das amostras .....	54
2.4. Caracterização das soluções de gelatina.....	54
2.4.1. Rendimento em gelatina .....	54
2.4.2. Força do gel.....	54
2.4.3. Ponto de fusão.....	55
2.5. Balanço de massa e de proteínas no processo .....	55
2.6. Metodologia estatística .....	56
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.1. Composição química das amostras .....	56
3.2. Rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão .....	57
3.3. Balanço de massa e de proteínas no processo .....	60
4. CONCLUSÃO.....	62
5. REFERÊNCIAS .....	63
CAPÍTULO IV.....	66
4. CONCLUSÃO GERAL .....	67
4.1. Sugestões para trabalhos futuros .....	68
CAPÍTULO V.....	69
5. REFERÊNCIAS .....	70

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO III

ARTIGO I - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO ALCALINA, TEMPO DE PRÉ-TRATAMENTO E TROCA DE SOLUÇÃO ALCALINA NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA A PARTIR DAS PELES DE CABEÇAS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)

Tabela 1 – Matriz do planejamento fatorial da etapa de pré-tratamento das cabeças moídas de carpa nas formas codificadas e não-codificadas. ....	32
Tabela 2 – Composição química das amostras das cabeças moídas, cabeças intumescidas e dos ossos das cabeças de carpa comum (em base úmida). ....	33
Tabela 3 – Balanço global de massa e de proteínas nos processos sem troca e com troca de solução alcalina no pré-tratamento das cabeças.....	34
Tabela 4 – Resultados da matriz do planejamento fatorial da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa comum.....	36
Tabela 5 – Análise de variância para a resposta rendimento das gelatinas obtidas da extração das peles de cabeças de carpa. ....	37
Tabela 6 – Análise de variância para a resposta força do gel das gelatinas obtidas da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa.....	38
Tabela 7 – Análise de variância para a resposta ponto de fusão das gelatinas obtidas da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa. ....	38
Tabela 8 – Valores de força do gel e ponto de fusão para a gelatina das peles de cabeças de carpa comum extraída na condição mais adequada e de três marcas comerciais. ....	42

ARTIGO II - INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DOS OSSOS DE CABEÇAS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*) NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA

Tabela 1 – Composição química das amostras de cabeças moídas e dos ossos das cabeças de carpa comum após a extração de gelatina das peles das cabeças e secagem (em base úmida). ....	56
Tabela 2 – Rendimentos em gelatina obtidos após as extrações de gelatina dos ossos das cabeças de carpa nas granulometrias de 1 e 2 mm. ....	58
Tabela 3 – Força do gel para as gelatinas extraídas dos ossos das cabeças de carpa nas granulometrias de 1 e 2 mm.....	58
Tabela 4 – Ponto de fusão para as gelatinas extraídas dos ossos das cabeças de carpa nas granulometrias de 1 e 2 mm.....	58

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

Figura 1 – Carpa comum ( <i>Cyprinus carpio</i> ). .....	6
Figura 2 – Diagrama descritivo da formação do colágeno. ....	9
Figura 3 – Estrutura química do colágeno do tipo I. ....	10

### CAPÍTULO III

#### ARTIGO I - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO ALCALINA, TEMPO DE PRÉ-TRATAMENTO E TROCA DE SOLUÇÃO ALCALINA NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA A PARTIR DAS PELES DE CABEÇAS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)

Figura 1 – Fluxograma do processo de obtenção de gelatina das peles de cabeças de carpa comum, sem troca de solução de solução alcalina no pré-tratamento das amostras.....	28
Figura 2 – Fluxograma do processo de obtenção de gelatina das peles de cabeças de carpa comum, com troca de solução alcalina no pré-tratamento das amostras ..	29
Figura 3 – Balanço de proteínas do processo de obtenção de gelatina das peles de cabeças de carpa comum.....	35
Figura 4 – Cubos de resposta para (a) rendimento em gelatina, (b) força do gel, (c) ponto de fusão, obtidos da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa. ..	40

#### ARTIGO II - INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DOS OSSOS DE CABEÇAS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*) NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA

Figura 1 – Fluxograma do processo de pré-tratamento e extração de gelatina de peles e ossos de cabeças de carpa comum. ....	53
Figura 2 – Balanço global de massa e de proteínas para o processo de obtenção de gelatina de cabeça de carpa comum. ....	61

## NOMENCLATURA

RG	Rendimento em gelatina	[%]
$C_{\text{gelatina}}$	Concentração da solução de gelatina	$[\text{g mL}^{-1}]$
$V_{\text{solução}}$	Volume da solução de gelatina extraída	[mL]
$m_{\text{cabeças}}$	Massa das cabeças moídas	[g]
$X_1$	Concentração alcalina codificada	[Adimensional]
$X_2$	Tempo de tratamento codificado	[Adimensional]
$X_3$	Troca de solução alcalina codificada	[Adimensional]
$Y_{\text{RG}}$	Rendimento em gelatina	[%]
$Y_{\text{FG}}$	Força do gel	[g]
$Y_{\text{PF}}$	Ponto de fusão	[°C]

## RESUMO

A carpa comum (*Cyprinus carpio*) é conhecida por ser geradora de quantidade considerável de rejeitos mal aproveitados por indústrias pesqueiras. Estes rejeitos são constituídos por vísceras, peles, ossos e cabeças. Diversos fatores têm contribuído para a utilização de cabeças de carpa provenientes da industrialização, dentre estes a quantidade de cabeças desperdiçadas, que pode atingir 22% do volume da matéria-prima, e é uma fonte de nutrientes de baixo custo e rica em colágeno. A maioria das gelatinas comerciais é derivada de mamíferos, sendo peles e ossos de bovinos e suínos as principais matérias-primas do produto. A gelatina é de uma proteína pura, digestível, que se obtém a partir da hidrólise à quente do colágeno, e por este motivo, o pescado torna-se uma potencial fonte de matéria-prima. A aplicação da gelatina é diversificada, podendo ser utilizada na indústria cosmética, farmacêutica, fotográfica e alimentícia. O presente estudo foi dividido em dois objetivos. Primeiramente foram avaliados os efeitos da concentração alcalina, tempo de pré-tratamento e pré-tratamentos com ou sem troca de solução alcalina do material para a obtenção de gelatina das peles das cabeças de carpa. Foi utilizado um planejamento fatorial  $2^3$  completo, e os fatores de estudo foram concentração de NaOH (3-4 M), tempo de pré-tratamento (45-105 min), e troca de solução de NaOH no pré-tratamento, tendo como respostas rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão. Na segunda etapa, os ossos remanescentes deste processo foram utilizados para o estudo da influência da granulometria (1-2 mm) nas respostas consideradas das gelatinas extraídas da fração óssea, através da comparação das médias pela aplicação do teste de Tukey, com intervalo de 95% de confiança. Foram realizadas quatro extrações com pH e temperaturas de cada extração de 5,3-60 °C, 4,4-70 °C, 3,8-80 °C e 3,6-85 °C. Para as gelatinas extraídas das peles, o maior rendimento (2,27%) foi obtido com solução de NaOH 3 M, 45 min e sem troca de solução no pré-tratamento. Os maiores valores de força do gel (298,7 g) e ponto de fusão (29 °C) foram obtidos a concentração de solução NaOH 3 M, 45 min e sem troca de solução alcalina. Para as gelatinas extraídas dos ossos, o maior rendimento (4,86%) foi obtido na granulometria de 1 mm. Os maiores valores de força do gel (128,2 e 131,5 g) não apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) e foram encontrados na primeira extração das granulometrias de 1 e 2 mm, respectivamente. Na fração óssea a 2 mm, se obteve o maior ponto de fusão, sendo 28,5 °C na a primeira extração. O rendimento total da gelatina obtida a partir das cabeças de carpa foi de 7,13%.

**Palavras-chave:** carpa comum, gelatina, cabeças.

## ABSTRACT

Common carp (*Cyprinus carpio*) is known to produce large amount of byproduct does not made use for fisheries industries. These byproduct can be viscera, skin, bone and head, all riches in collagen. Several factors have been contributing to the use of the carp head coming from industrialization, among which the amount of carp head wasted, with which it can reach around 22% of the volume of the raw material, and it is a source of low costs nutrients. Most of commercial gelatin is derived from mammalian, being skins and bones of bovine and porcine the main raw material of this foodstuff. Gelatin is a pure and digestible protein, which is obtained from hydrolysis of the collagen, and for this reason, the fish become a potential source from raw material. Its application is branched out, being able to used in the cosmetic, pharmaceutical, photographic and food industries. The present study was divided into two parts. At first, it was valued the effect of alkaline concentration, pre-treatment time of the raw material, and treatment with and without change of alkaline solution, in the process of extraction of skin/muscles fraction gelatin of carp head coming from manufacturing processing of this fish. It was used 2<sup>3</sup> complete experimental design. Pre-treatment time (45-105 min), concentration of alkaline solution (3-4 M) and pre-treatment with change of alkaline solution were chosen as independent variable. Gelatin yield, gel strength and melting point were the response variable. At the second part, was valued of the influence of the bones granulometry (1-2 mm), remaining of the skin extraction of common carp head, in the gelatin yield, gel strength and melting point through the average results comparison by the Tukey test, where differences were considered significant at  $p \leq 0.05$ . It was used four extraction with pH and temperature of each extraction 5.3-60 °C, 4.4-70 °C, 3.8-80 °C and 3.6-85 °C. To the skin gelatin the higher gelatin yield (2.27%) was obtained with NaOH solution 3 M, 45 min and pre-treatment without change of alkaline solution. The higher gel strength (298.7 g) was achieved using NaOH solution 3 M, 105 min and pre-treatment without change of the alkaline solution. As for the melting point, the higher value (29.1 °C) was obtained with NaOH solution 4 M, 45 min, and pre-treatment with change of NaOH solution. To the bones extraction, the higher gelatin yield was reached with size 1 mm (4.86%). The higher gel strength (128.2 and 131.5 g) were not significantly difference, and they were found in the first extraction with bones size 1 and 2 mm, respectively. Using 2 mm of granulometry, it was possible to obtain the higher melting point values, being 28.5 °C to the first extraction.

**Keywords:** Common carp, gelatin, heads.

**CAPITULO I**  
INTRODUÇÃO GERAL

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é considerado um dos países com maior potencial para a expansão da piscicultura principalmente pela extensão dos recursos hídricos, e pela diversidade de microclimas e áreas adequadas ao desenvolvimento da atividade (CAMARGO e POUEY, 2005). O país apresenta a maior riqueza de espécies de peixes de água doce do mundo, com mais de 3000 espécies, o que é superior em dez vezes ao número de peixes de todos os rios e lagos da Europa (CARNEIRO *et al.*, 2004). A piscicultura comercial brasileira é muito variada, explorando cerca de duas dúzias de espécies de peixes. Apesar disso, o maior volume de cultivo e comercialização é realizado com um pequeno número de espécies (BUENO, 2008).

Em virtude da crescente produção de carpa, estimulando sua industrialização, este pescado passa a ser, por natureza, uma fonte geradora de quantidade apreciável de rejeitos. A maioria destes rejeitos é constituída por vísceras, aparas, pele, ossos e cabeça (VISENTAINER *et al.*, 2003, citado por BANDEIRA, 2009). Estes materiais são ricos em proteínas, mas não são utilizados diretamente na cadeia da alimentação humana. São materiais pouco aproveitados na utilização de produtos de alto valor agregado, sendo integrado, principalmente, na fabricação de ração animal, ou descartados no meio ambiente. A parte protéica, no entanto, pode ser melhor utilizada, uma vez que em grande parte das suas estruturas, encontra-se colágeno, que é à base da gelatina (ARNESEN e GILDBERG, 2006).

Gelatina é uma proteína desnaturada derivada do colágeno por termo-hidrólise e tem a propriedade reológica de termo-reversibilidade com a transformação entre sol e gel. É um dos mais importantes biopolímeros, com larga aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética e fotográfica, sendo utilizada na produção de colas, cápsulas, geléias, doces, cremes, vinhos (clarificação), gelatina para sobremesa, entre outros. Seu uso tem se expandido para novas aplicações, sendo utilizada, também, como alimento funcional (CHO *et al.*, 2004; PARDI *et al.*, 1996).

Comercialmente, a gelatina é obtida, a partir do pré-tratamento ácido ou alcalino (os quais se diferenciam pelo método de separação das ligações do colágeno) do tecido conjuntivo de mamíferos (principalmente suínos e bovinos), que corresponde à etapa de extração. Após esta etapa, a gelatina extraída na forma de solução diluída, passa por um processo de purificação, a qual corresponde às etapas de filtração, desodorização, concentração, evaporação e resfriamento. O processo é finalizado com a secagem da gelatina (ARNESEN e GILDBERG, 2002).

Apesar de apresentarem propriedades reológicas inferiores às dos mamíferos, o colágeno de pescado também é adequado para a produção de gelatina. Por ter qualidade levemente inferior, estas fontes de matéria-prima são raramente utilizadas na fabricação do produto, mesmo tendo se observado crescimento anual. A maior vantagem da gelatina de pescado, é que esta não está associada ao risco de encefalopatia espongiforme bovina (BSE), a popular doença da vaca louca. É um produto aceito pelo Islamismo e pode ser utilizado com mínimas restrições por judeus e hindus (KARIM e BHAT, 2009). Além disso, contaminações por cromo hexavalente (sua forma carcinógena) em curtumes têm limitado a utilização de matéria-prima de origem bovina na produção de gelatina. Neste contexto, o colágeno de pescado acaba ganhando espaço, inclusive pela existência da população pesco-vegetariana (BOWER *et al.*, 2006; CHO *et al.*, 2005; CHO *et al.*, 2004).

A qualidade da gelatina é tipicamente avaliada com base em diversas propriedades, sendo a força do gel a mais importante para aplicação industrial. Além disso, a qualidade da gelatina comercial é também determinada baseada em outras propriedades, como viscosidade, ponto de fusão, ponto de gelificação, turbidez, solubilidade, dentre outras. Estas propriedades são afetadas por diversos fatores, dentre os quais, composição de aminoácidos (CHO *et al.*, 2004). E para que sejam aplicadas na indústria farmacêutica e na de alimentos, as propriedades reológicas das gelatinas de pescado devem apresentar níveis próximos às das gelatinas de mamíferos (CHO *et al.*, 2005).

Poucos estudos científicos sobre a extração de gelatina a partir de cabeças de pescados têm sido relatados, o que justifica o presente estudo. Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da concentração alcalina, troca de solução alcalina no pré-tratamento e tempo de pré-tratamento da matéria-prima no processo de extração de gelatina das peles das cabeças de carpa comum. Foi avaliado como respostas, o rendimento em gelatina, a força do gel e o ponto de fusão das gelatinas extraídas. Também foi avaliada a influência da granulometria dos ossos remanescentes da extração das peles, na obtenção de gelatina dos ossos das cabeças de carpa comum.

**CAPITULO II**  
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Panorama mundial e nacional da aquicultura

A aquicultura pode ser definida como o cultivo dos seres que têm na água o seu principal ou mais frequente ambiente de vida. Desta forma, abrange não apenas os organismos estritamente aquáticos, mas também os que passam menor tempo de sua existência em terra, principalmente animais que podem ser utilizados para a alimentação humana. O cultivo controlado ou semi-controlado de animais aquáticos pelo homem é uma atividade que teve início na China, há uns 4.000 anos aproximadamente, com o monocultivo da carpa (CAMARGO e POUHEY, 2005).

A aquicultura comercial foi introduzida na década 1950, com a introdução de espécies exóticas tais como carpa, tilápia e truta que começaram a ser cultivadas, sobretudo, em tanques de pequenas propriedades (DIEGUES, 2006). Esta atividade tornou-se uma das alternativas mais viáveis no mundo para produção de alimentos para consumo humano de alto valor protéico, em razão da exploração indiscriminada do estoque pesqueiro natural, e da crescente diferença entre a quantidade de pescado capturado e demanda de consumo (FAO, 2009).

A contribuição da aquicultura para o abastecimento global de peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos, continua a crescer, e a sua produção total aumentou de 3,9% em 1970, para 32,4% em 2004. Este crescimento é ainda mais rápido do que o obtido em qualquer outro setor da produção de alimentos de origem animal (FAO, 2006).

Estudo comparativo entre pesca extrativista continental e piscicultura continental, mostra que, entre os anos de 1997 e 2005, o crescimento da primeira foi de 36%, enquanto o da piscicultura foi de aproximadamente 132%. O aumento da produção da aquicultura tem sido consideravelmente superior ao crescimento da população, que teve sua média anual per capita de abastecimento aumentada de 0,7 kg de pescado em 1970, para 7,1 kg em 2004 (IBAMA, 2008).

Camargo e Pouey (2005) afirmam que a produção comercial de organismos aquáticos de cultivo mais representativos inclui 98 espécies de peixes. Porém, apesar deste grande número, são poucas as espécies de peixes consideradas domesticadas, e dentre estas, a carpa (*Cyprinus carpio*). No Brasil, o crescimento da piscicultura foi de 46.203 toneladas em 1995 para 269.698 toneladas em 2004, sendo que as carpas contribuem com 45.170 toneladas, especialmente nas regiões Sul e Sudeste, onde a

produção representa mais de 75% da produção nacional (SEAP, 2006 citado por ECHEVENGUÁ *et al.*, 2007).

## **2.2. Carpa comum (*Cyprinus carpio*)**

De origem asiática, a carpa (Figura 1) é criada na China há mais de 2.000 anos. Em 1258, já se fazia referências a essa espécie na França. Ela marcou o início da piscicultura na Europa, a partir da Idade Média, em criações desenvolvidas em conventos pelos monges, que necessitavam de peixes frescos nos dias de abstinência. Em 1877 chegou a América, sendo aclimatada nos Estados Unidos. No Brasil, onde se adaptou com grande facilidade, foi introduzida no Estado de São Paulo no ano de 1904. As criações intensivas, no entanto, se tiveram início na década de 30 (ECHEVENGUÁ *et al.*, 2007).

Da família Cyprinidae, a carpa (*Cyprinus carpio*) é a espécie de peixe mais cultivada em piscicultura no mundo. Seu crescimento é altamente dependente (50% ou mais) da presença de plâncton e bentos (VANDEPUTTE *et al.*, 2008), no entanto, podem se alimentar, também, de insetos aquáticos, crustáceos, anelídeos e moluscos. Além de a sua diversidade alimentar, a escolha da carpa, como peixe de piscicultura, se dá em virtude de alguns outros fatores, tais como crescimento rápido, alta resistência, rusticidade, facilidade de manejo, reprodução natural em viveiros, e são prolíficas (FROESE e PAULY, 2010).

O cultivo de carpas no Brasil teve origem com as colonizações alemãs e italianas no sul do país, que praticavam piscicultura de subsistência onde os peixes eram tratados com quirera de milho e dejetos animais. Ainda hoje, são raros os cultivos de carpas em que o produtor utiliza exclusivamente ração. Predominam os policultivos, que apresentam níveis de produtividade extremamente variáveis, raramente chegando a 5000 kg/ha/ano (OSTRENSKY *et al.*, 2007). No Brasil as carpas de maior importância comercial são: carpa comum (*Cyprinus carpio*), carpa capim (*Ctenopharingodon idella*) e carpa cabeça grande (*Aristichthys nobilis*) (MOREIRA *et al.*, 2001).



Figura 1 – Carpa comum (*Cyprinus carpio*).  
Fonte: EUROPEAN COMMISSION, 2010.

### 2.3. Aproveitamento de rejeitos da industrialização do pescado

Os principais produtos das indústrias processadoras de pescado, são voltados, em sua grande maioria, para o consumo humano, seja como filé ou como isca de peixe. O pescado utilizado na alimentação humana contabiliza aproximadamente 78% do total, e o processo conduz para a geração de uma grande biomassa de rejeitos, geralmente descartados. A quantidade desperdiçada chega a valores próximos de 7,3 milhões ton/ano (KARIM e BHAT, 2008).

A produção mundial da aquicultura não para de crescer (FAO, 2006). Um estudo concluído no ano de 2007 realizado pelo Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais – GIA – mostra que a produção aquícola e pesqueira brasileira alcançou, um volume de mais de 1 milhão de toneladas, sendo 26,5% participação da aquicultura (OSTRENSKY *et al.*, 2007). Por este motivo, todos os anos, um considerável montante do total capturado é descartado ou perdido no processamento, passando a ser tratado como rejeitos. Se por um lado isto eleva o nível de odor desagradável e a possibilidade de contaminação ambiental, por outro acaba trazendo grandes perdas econômicas para as indústrias processadoras de pescado (DUAN *et al.*, 2009).

O termo rejeito refere-se a todos os subprodutos e sobras do processamento de alimentos que são de valor relativamente baixo. No caso de pescado, o material residual pode ser constituído de aparas do tolete antes do enlatamento, barbatanas, carne escura, peixes fora do tamanho ideal para industrialização, vísceras, cabeças e carcaças (OETTERER, 1994), que possuem valiosas proteínas e frações lipídicas, bem como vitaminas e sais minerais (RUSTAD, 2003).

De acordo com a NBR 10.004 da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT – de 1987, os rejeitos da indústria da pesca podem ser classificados como: Classe I – Perigosos (apresentam propriedades físicas, químicas ou infecto-contagiosas, que oferecem risco à saúde pública e ao meio ambiente, como rejeitos de pescado

contaminados); ou Classe II – Não Inertes (com propriedades como: combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água, como rejeitos de pescado não contaminados). Os rejeitos da Classe II das indústrias pesqueiras são aqueles com maior potencial para reciclagem.

Os processos de comercialização e industrialização para consumo humano rendem de 25 a 70% da matéria-prima como produto comestível. Dessa forma, os rejeitos obtidos na piscicultura, na pesca e na elaboração de produtos à base de pescado podem chegar, em alguns casos, a 70% do peso inicial da matéria-prima (SEIBEL e SOUZA-SOARES, 2003).

Culturalmente, os rejeitos não são valorizados ou mesmo são mal explorados (ESPINDOLA FILHO *et al.*, 2001). Estes vêm sendo utilizados para fabricação de farinha de pescado destinada ao preparo de rações, ou então, parte dele, descartado nas imediações do local, contribuindo para aumentar o problema da contaminação ambiental. Ainda, a presença destes rejeitos da industrialização do pescado, junto aos pontos de beneficiamento e comercialização, constitui um sério problema de sanidade das instalações, envolvendo custos de eficiência de produção e energéticos. Assim, a necessidade de estabelecer sistemas de aproveitamento de rejeitos industriais é de ordem econômica e de conservação de energia, e o aproveitamento alternativo desses materiais poderia reduzir custos de insumos, minimizando os problemas de poluição ambiental e o custo unitário de matérias-primas (SEIBEL e SOUZA-SOARES, 2003; OETTERER, 1994). A criação de sistemas cooperativos agroindustriais com modelo sustentado no aproveitamento dos rejeitos alimentares de cultivo e de captura poderia evitar o desperdício de nutrientes, aliado à redução dos impactos ambientais (ESPINDOLA FILHO *et al.*, 2001).

#### **2.4. Colágeno**

O tecido conjuntivo é constituído por duas proteínas: o colágeno e a elastina. As quantidades presentes nos músculos e suas propriedades, que variam com a espécie animal, sexo, idade, utilização de anabolizantes, estado de maturação da carne e o tipo de músculo, condicionam a dureza da carne (GONZÁLES e SERENO, 2002; MONTEIRO, 2000).

O nome colágeno deriva de dois termos gregos: KOLLA que significa cola, e GENNO que significa produção (PARDI *et al.*, 1996). É a maior classe de proteína fibrosa insolúvel encontrada na matriz extracelular e nos tecidos conectivos. É uma família de

proteínas relacionadas, geneticamente diferentes, cuja principal função é estrutural (VARGAS *et al.*, 1997). Sua solubilização, no entanto, é possível pela ação de ácidos diluídos a pH 3,0 – 4,0, e precipitam em pH neutro (SGARBIERI, 1999).

Em mamíferos é a proteína mais abundante, sendo a maior constituinte da pele, tendões, cartilagens, ossos e ligamentos (LEHNINGER *et al.*, 1993). Em aves e peixes seu papel é similar, e em invertebrados é um importante constituinte da parede do corpo. Ao contrário da maioria das proteínas globulares, que são dobradas em uma estrutura compacta, o colágeno possui uma estrutura alongada (VARGAS *et al.*, 1997; PARDI *et al.*, 1996; LINDEN e LORIENT, 1994) baseada em uma cadeia de polipeptídeos que compreende aproximadamente 1050 aminoácidos. Três destas cadeias formam uma tripla hélice. São as chamadas cadeias  $\alpha$ . A superposição de várias triplas hélices produz as fibras de colágeno que são estabilizadas por meio de ligações cruzadas e formam uma estrutura de rede tridimensional. Esta estrutura é responsável pela insolubilidade do colágeno (GELITA, 2010). O aquecimento em água traz como consequência a dissociação das fibrilas e o deslocamento da tripla hélice. A temperatura crítica varia conforme a espécie animal, sendo 64 °C para o bovino e de 30 a 45 °C para o pescado, de acordo com a espécie (PARDI *et al.*, 1996).

As cadeias em tripla hélice (tropocolágeno) são mantidas juntas por pontes de hidrogênio entre as cadeias. As variações na sequência de aminoácidos das cadeias  $\alpha$  resultam em componentes estruturais do mesmo tamanho, mas com propriedades levemente diferentes. Estas cadeias  $\alpha$  são combinadas para formar os vários tipos de colágeno encontrados nos tecidos (CHAMPE e HARVEY, 1996). É baseado nesta estrutura que se justificam as propriedades físicas e biológicas dos colágenos: rigidez, solidez e estabilidade (VARGAS *et al.*, 1997). Na estrutura final do tropocolágeno maduro, o número de interligações aumenta com a idade do animal tornando o colágeno mais rígido e menos solúvel (POPPE, 1997). A síntese do colágeno a partir de moléculas de tropocolágeno está representada na Figura 1.

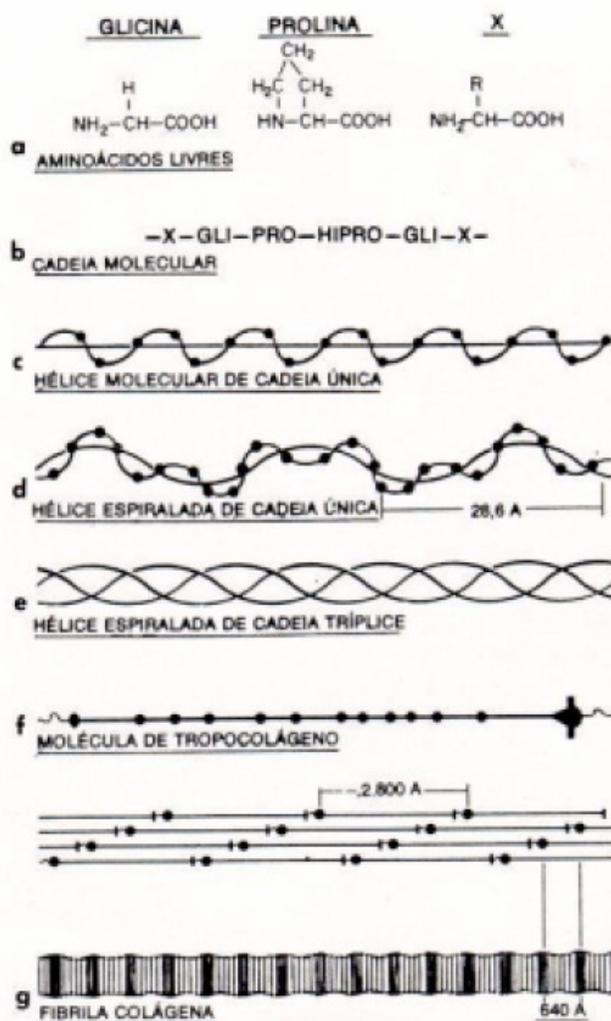


Figura 2 – Diagrama descritivo da formação do colágeno: (a) As substâncias iniciais são aminoácidos dos quais apenas dois são mostrados. A cadeia lateral de qualquer um dos outros está indicada pelo R no aminoácido X. (b) Os aminoácidos são ligados entre si para formar uma cadeia molecular. (c, d, e) Esta se torna, então, espiralada em hélice com giro pela esquerda. (f) Três dessas cadeias então se interligam em hélice de três filamentos, que constitui a molécula de tropocolágeno. (g) Muitas moléculas de tropocolágeno são alinhadas de maneira escalariforme, superpostas por um quarto de seu comprimento para formar uma fibrila colágena com estriação transversa.

Fonte: BLOOM e FAWCETT, 1977.

A composição do colágeno engloba a maior parte dos aminoácidos, embora algumas diferenças na composição da cadeia peptídica sejam evidentes nos colágenos derivados de diversas fontes. O Colágeno é a única proteína de mamíferos que contém quantidades elevadas de hidroxiprolina e hidroxilisina, e o conteúdo total de iminoácido (prolina e hidroxiprolina) é alto. Quanto mais abundantes esses iminoácidos, mais rígido e resistente é o colágeno (ARNESEN e GILDBERG, 2007), e sendo o colágeno a única proteína que contém quantidade apreciável de hidroxiprolina, é este o elemento utilizado

para determinação do teor de tecido conjuntivo em função de sua presença nos músculos ou em produtos preparados (PARDI *et al.*, 1996).

A composição de aminoácidos da gelatina é similar ao do colágeno de onde foi obtida, e é caracterizada pela sequência de gly-x-y, onde x é na maior parte prolina, e y é hidroxiprolina (WARD e COURTS, 1977). A molécula também contém extensões de peptídeos denominadas de N-terminal e C-terminal, que representam aproximadamente 15% da molécula. São regiões curtas que não formam estrutura tripla hélice (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2002; LINDEN e LORIENT, 1997). Desta forma, durante a conversão do colágeno em gelatina, tanto as cadeias de colágeno como as ligações peptídicas são quebradas (MUYONGA *et al.*, 2004).

A Figura 2 mostra a estrutura química do colágeno do tipo I, que é o encontrado mais abundantemente nas matrizes orgânicas.

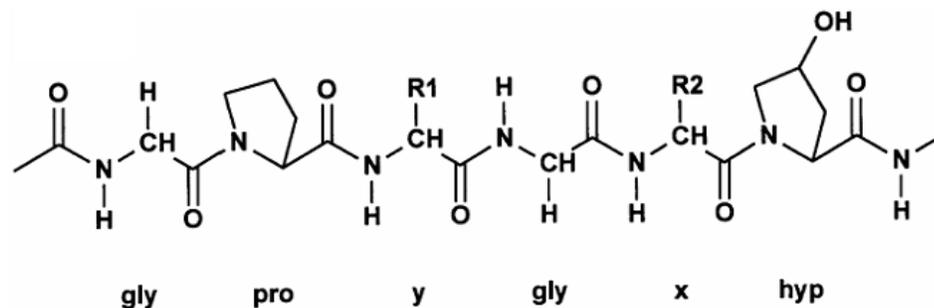


Figura 3 – Estrutura química do colágeno do tipo I.

Fonte: FRIESS, 1998.

O tecido conjuntivo colagenoso consiste de fibras, que, por sua vez, consistem de fibrilas de colágeno. Estas fibrilas são organizadas de diferentes maneiras, dependendo da função biológica a ser exercida pelo tecido conjuntivo em que se encontram. Nos tendões, as fibrilas de colágeno estão arranjadas em feixes paralelos interligados, formando estruturas de grande força de tensão e sem capacidade de estender-se. No couro bovino, feito de colágeno quase puro, as fibrilas de colágeno formam uma rede irregularmente entrelaçada e muito resistente (LEHNINGER *et al.*, 1993).

O colágeno representa quase um terço da massa total protéica dos vertebrados, e, quanto maior o animal, tanto maior é a fração de suas proteínas totais representadas pelo colágeno (LEHNINGER *et al.*, 1993). Não é afetado pelo rigor mortis, nem pela maturação da carne. No entanto, o calor e o meio ácido modificam profundamente sua textura ao

romperem suas ligações (GONZÁLES e SERENO, 2002). Durante o tratamento térmico, em meio úmido, se a temperatura for suficiente, as fibras inelásticas do colágeno se retraem e ocorre uma gelatinização. Esta gelatinização é o resultado da dissociação das fibrilas e do desdobramento da tripla hélice. Em conjunto, ocorre hidrólise parcial da molécula (MONTEIRO, 2000)

Estão classificados pelo menos 27 tipos de colágenos (KARIM e BHAT, 2009), e suas subunidades (cadeias alfa) são codificadas por genes diferentes. Os colágenos tipo I, II e III são os mais abundantes do organismo, e em peixes predomina os do tipo I, com massa molar em torno de 195 kDa (ALFARO, 2008), e composto por duas cadeias  $\alpha$  idênticas e uma cadeia  $\alpha 2$  de estrutura primária diferente (MONTEIRO, 2000).

De acordo com a solubilidade, o colágeno classifica-se como solúvel em solução de sal neutro, em meio ácido e alcalino, e insolúvel em álcali. Dependendo da idade e estado nutricional do animal estas características variam (OGAWA e MAIA, 1999). Quanto mais velho for o animal, menos solúvel se torna o colágeno. Em animais jovens, as uniões aldimínicas do tipo covalente, que ligam as moléculas de tropocolágeno entre si, são relativamente lábeis e se rompem mais facilmente por variações de pH, calor ou agentes desnaturizantes (MONTEIRO, 2000).

#### 2.4.1. Aplicações do colágeno

Toda a utilização tecnológica do tecido conjuntivo está baseada em uma hidrólise parcial que rompe as ligações estruturais, dando ao tecido propriedade ligante e de hidratação (GONZÁLES e SERENO, 2002). Além da sua importância fisiológica, o colágeno é também a matéria-prima básica de produtos como couro, gelatina e colas industriais (WARD e COURTS, 1977).

No Brasil, os ossos – apesar de seu conteúdo em osseína, que é um importante elemento colagênico – não são aproveitados como matéria-prima na fabricação de gelatina comestível. São usados na elaboração de colas e na produção de filmes fotográficos, sempre mais valorizados, porém exigem técnicas mais sofisticadas e dispendiosas. Todas as outras matérias-primas (peles, tendões, cartilagens, etc.) são utilizadas na fabricação de gelatina comestível (PARDI *et al.*, 1996).

O colágeno em sua forma purificada possui várias aplicações na indústria farmacêutica e de cosméticos. A qualidade e aplicação específica do colágeno extraído estão diretamente relacionadas com as suas propriedades funcionais e purezas

(RUSTAD, 2003). Possui também diversas aplicações na indústria de alimentos, sendo aproveitado tecnologicamente por apresentar propriedades funcionais como componente extensor, potencializador de textura, umidificante, emulsionante e ligante (COELHO *et al.*, 1998), sendo textura uma propriedade marcante desta proteína para a tecnologia de alimentos. Quando o animal é jovem, o colágeno está pouco entrelaçado, e esta característica aumenta com a idade. Desta forma o colágeno se torna menos solúvel e aumenta muito sua resistência mecânica (GONZÁLES e SERENO, 2002).

## 2.5. Gelatina

Há relatos de que a gelatina é utilizada há mais de 3.300 anos. Carpinteiros egípcios usavam cola na manufatura de sarcófagos. Autores afirmam que os chineses também fizeram uso deste produto na construção de móveis, nos séculos VII, VIII e IX. Em um aprofundado processo histórico, alguns historiadores fizeram referência ao seu uso como adesivo pelos clássicos Lucrécio e Plínio, Shakespeare e Marlowe e outros dramaturgos da Era Elisabetana. O desenvolvimento do processo de produção de gelatina, no entanto, iniciou-se a partir de 1920, e hoje são utilizadas tecnologias avançadas para o seu processamento (PARDI *et al.*, 1996).

A gelatina é um dos mais importantes biopolímeros, com grande aplicação nas indústrias de alimentos, farmacêutica, cosmética e fotográfica. Seu uso vem se expandindo para novas aplicações como alimentos funcionais (CHO *et al.*, 2004). Sua aplicação se dá principalmente para fornecer mastigabilidade, textura e estabilizar espumas (ZHOU *et al.*, 2006). Na indústria de alimentos a gelatina tem sido utilizada como clarificante de bebidas, em sobremesas, como espessantes em iogurtes, no revestimento de presuntos, cápsulas de suplementos vitamínicos, molhos e sopas instantâneas, filmes comestíveis para produtos de confeitaria, estabilizador de sorvetes e queijo cottage (KARIM e BHAT, 2009).

A gelatina trata-se de uma proteína pura, digestível, que se obtém a partir de material portador de colágeno mediante hidrólise parcial (PARDI *et al.*, 1996). É classificada como ingrediente alimentar pela maioria das autoridades administrativas e recebeu o status GRAS (Generally Recognized As Safe) por parte da Food and Drug Administration – FDA.

Um terço dos aminoácidos do colágeno, e conseqüentemente da gelatina, é formado por glicina; outros 22% de prolina e hidroxiprolina e os 45% restantes são distribuídos em 17 aminoácidos diferentes. O alto teor em aminoácidos básicos e ácidos é

uma característica especial da gelatina. Dos aminoácidos ácidos (ácido glutâmico e ácido aspártico), cerca de um terço apresenta-se na forma de amida, como glutamina e asparagina. Dos aminoácidos que contêm enxofre (básicos), a metionina é o único presente, porém em pequena proporção. A cisteína está completamente ausente (GELITA, 2010). Apresenta baixo teor de triptofano, além de ser pobre em tirosina e metionina (BUENO, 2008). A composição de todos os tipos de gelatina é similar, fazendo parte desta: água, pequenas quantidades de sais minerais e proteína de tecido conectivo (SCHOTT, 2001).

A preparação industrial de gelatina envolve a hidrólise controlada da estrutura organizada do colágeno para obter gelatina solúvel, através de um pré-tratamento ácido ou alcalino da matéria-prima. Em seguida, este material é submetido a uma desnaturação térmica, onde a molécula de colágeno é quebrada em pequenos fragmentos e as triplas hélices são separadas, fazendo com que as massas molares variem dependendo da preparação e fonte da matéria-prima (BUENO, 2008). A hidrólise do colágeno pode atingir três resultados: formar três cadeias  $\alpha$  independentes, formar uma cadeia  $\alpha$  e uma  $\beta$ , ou apenas uma cadeia  $\gamma$ . A principal diferença entre as formas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  da gelatina é a massa molar. Para a forma  $\alpha$ , a massa molar varia de 80 a 125 kDa, para a  $\beta$ , de 160 a 250 kDa, e a forma  $\gamma$  possui a massa molar de 240 a 375 kDa. As maiores massas molares usualmente são características de melhores preparações (KARIM e BHAT, 2009)

Segundo Montero *et al.* (2002) a severidade do pré-tratamento e da condição de extração influencia diretamente nas propriedades funcionais da gelatina. Gelatinas resultantes de extrações a altas temperaturas apresentam perfil de massa molar menor do que as frações de gelatina resultante de extrações à baixas temperaturas (ARNESEN e GILDBERG, 2002). Portanto, enquanto a composição de aminoácidos é principalmente dependente da espécie, a distribuição da massa molar da gelatina é fortemente dependente do processo de extração (MUJONGA *et al.*, 2004). Como os tipos de gelatina possuem composição similar, a diferença nas propriedades do produto ocorre devido ao tipo de material utilizado, ao processo de pré-tratamento empregado, e a agressividade da hidrólise (SCHOTT, 2001).

O caráter anfótero da gelatina permite, após o processo de fabricação, distinguir dois tipos de gelatina (com características diferentes), segundo o valor do ponto isoelétrico e do tipo de extração realizada (KARIM e BHAT, 2008; LINDEN e LORIENT, 1994). O ponto isoelétrico pode variar em função da sua forma de obtenção, ficando em torno de 4,5 a 5,3 para gelatinas tipo B (pré-tratamento de hidrólise com pH alcalino) e permanecendo entre 7,0 a 9,4 na gelatina tipo A (pré-tratamento ácido). As condições do processamento de hidrólise ácida são diferentes, o que minimiza modificações nos grupos

amino, mantendo o valor próximo do pH do colágeno. Na hidrólise alcalina, no entanto, o colágeno é submetido a longos tratamentos com álcali e apenas uma porção dos grupos amino resiste ao processo (BUENO, 2008).

González e Sereno (2002) afirmaram que além da sua origem pelos diferentes tipos de pré-tratamento, a gelatina se caracteriza por sua força para gelificar que se expressa em graus Bloom. Quanto à força do gel, as gelatinas se classificam em gelatina G, cuja capacidade gelificante se mede mediante o método Bloom; gelatina F, cuja força é demasiadamente pequena para ser medida pelo método Bloom. Trata-se de uma gelatina de baixa massa molar obtida por hidrólise parcial da gelatina G e que apresentam propriedades próximas as dos hidrolisados protéicos (LINDEN e LORIENT, 1994). Não apresenta função gelificante, sendo apenas usada como espessante.

Ainda que a gelatina G tenha como quase todas as proteínas solúveis, capacidade emulsificante, é essencialmente utilizada como gelificante e possui a particularidade de formar o único gel termorreversível. Comercializa-se em forma de pó de granulometria variável ou em forma de folhas (GONZÁLES e SERENO, 2002).

Há ainda uma terceira família de gelatina, que são as quimicamente modificadas, cujo interesse essencial reside em sua insolubilidade incrementada no ponto isoelétrico. É utilizada pela indústria fotográfica (KARIM e BHAT, 2008; LINDEN e LORIENT, 1994).

### *2.5.1. Importância da gelatina*

A gelatina com sua estrutura geleificada pode reter até 50 vezes seu peso em água. É composta por aproximadamente 19 aminoácidos, e caracterizada pelo alto conteúdo de glicina, prolina e hidroxiprolina (ALFARO, 2008). A variação do conteúdo desses aminoácidos, principalmente os iminoácidos, ocasionará menor formação de pontes de hidrogênio da gelatina em soluções aquosas, com a consequente redução da temperatura de gelificação (NORLAND, 1990). Acredita-se que a presença de hidroxiprolina seja o fator mais determinante para estabilidade das gelatinas, devido a sua habilidade para formar pontes de hidrogênio através do grupamento –OH, embora a prolina também seja importante nesse aspecto (LEDWARD, 1986). É importante ressaltar que a gelatina não é um alimento nutricionalmente completo, devido à carência do aminoácido essencial triptofano em sua composição (RIBEIRO, 2007; KIM e MENDIS, 2006).

Por ser um produto de baixa caloria, a gelatina normalmente é recomendada em dietas à base de proteínas, e é especialmente útil em alimentos de praticantes de atividades esportivas. Além disso, é utilizada nas formulações de alimentos para diabéticos, reduzindo os níveis de açúcar (KARIM e BHAT, 2008). Também é grande colaboradora nas reduções de gordura trans, pois é considerada um excelente estabilizante, substituindo a gordura em diversos alimentos, como margarinas e outros sistemas de cremes vegetais (GELITA, 2010). Pode ainda funcionar como um filme externo para a proteção contra desidratação, luz e oxigênio. Portanto, a qualidade de gelatinas usadas em alimentos depende não somente de suas propriedades reológicas, mas também é determinada por outras características como cor, transparência, fácil dissolução e sabor (BUENO, 2008).

A gelatina de pescados apresenta coloração mais escura e odor característico da matéria-prima. Apresenta propriedades funcionais e físicas (viscosidade, temperatura de gelificação, temperatura de fusão e força do gel) inferiores a de mamíferos (CHO *et al.*, 2004; FERNÁNDEZ-DÍAS *et al.*, 2003).

A demanda global por gelatina tem crescido bastante nos últimos anos. Pesquisas recentes indicam que a produção mundial de gelatina está próxima de 326.000 toneladas (KARIM e BHAT, 2008), o que representa algo em torno de US\$ 3 bilhões no mercado. O Brasil passou a ser o grande provedor mundial de gelatina, exportando 25 mil toneladas anuais, o que equivale a 80% de nossa produção (RIBEIRO, 2007). Entretanto, a produção de gelatina de peixe ainda é muito pequena, contribuindo com aproximadamente 1% do total da produção apenas (KARIM e BHAT, 2008).

### 2.5.2. Indicativos de qualidade das gelatinas

A qualidade da gelatina é tipicamente avaliada com base em diversas propriedades funcionais. Força do gel (que é a mais importante propriedade para aplicações industriais), viscosidade, pontos de fusão e gelificação, pH, cor, umidade, e cinzas, são exemplos de indicativo de qualidade para gelatinas. Além disso, a qualidade da gelatina comercial também é determinada por outras propriedades, como a capacidade de intumescência, turbidez, solubilidade, dentre outras. Estas propriedades podem ser afetadas por fatores como massa molar, composição de aminoácidos e proporção de cadeias  $\alpha$  (CHO *et al.*, 2004; MUYONGA *et al.*, 2004).

### 2.5.3. Propriedades da gelatina

A gelatina apresenta diversos papéis funcionais no processamento de alimentos e suas formulações. As propriedades funcionais da gelatina podem ser divididas em dois grupos. O primeiro tem propriedades que são associadas ao poder gelificante, como por exemplo, força, gel, tempo de gelificação, configuração e temperaturas de fusão, viscosidade, espessamento, texturização e ligação de água. O segundo refere-se ao comportamento da superfície da gelatina, como por exemplo, a formação de emulsão e de estabilização, função colóide de proteção, formação de espuma, formação de filme, e adesão/coesão (KARIM e BHAT, 2009). A propriedade mais importante da gelatina é a sua capacidade de formar géis termorreversíveis, e que esta relacionada à baixa energia de ligação entre as moléculas (KARIM e BHAT, 2008). Esta propriedade não tem importância somente tecnológica, mas também econômica e é, por isso, uma das características qualitativas mais importantes a ser avaliada (GELITA, 2010).

A força do gel está ligada à elasticidade mecânica do gel e é medida em Bloom. Se refere ao peso em gramas requerido para produzir uma depressão de 4 mm na superfície de uma solução de gelatina gelificada, frente a uma concentração-padrão, resultando em valores variáveis de 50 a 300 graus Bloom, mas valores entre 250 e 260 são mais desejáveis. Estes valores permitem caracterizar as propriedades dos géis na temperatura de conservação dos produtos (PARDI, *et al.*, 1996; LINDEN e LORIENT, 1994). Para a gelatina de pescados, o Bloom típico pode chegar a 270 (KARIM e BHAT, 2008) e para as gelatinas comestíveis e comercialmente disponíveis, este valor está entre 80 e 280. Gelatinas de alto Bloom oferecem certas vantagens para suas aplicações, como alto ponto de fusão e de solidificação, menos tempo de solidificação e de gelificação para o produto final, uso de quantidades menores, cor mais clara e melhor odor e sabor (GELITA, 2010).

Quanto à viscosidade, parâmetro relacionado aos valores de à força do gel, seus valores oscilam, normalmente, entre 1,5 e 7,5 mP s, medida por tempo de circulação de uma solução de gelatina a 6,67% de concentração através de um viscosímetro à temperatura de 60°C (LINDEN e LORIENT, 1994). Gelatinas com baixa viscosidade resultam em géis frágeis, enquanto que gelatinas de alta viscosidade resultam em géis consistentes e extensíveis (WAINWRIGHT, 1977, citado por ALFARO, 2004). O valor do pH é um exemplo de parâmetro que afeta a viscosidade, sendo que valores de pH alcalinos normalmente acarretam grande queda na viscosidade, enquanto que em regiões de pH ácido, ocorre apenas uma redução moderada da mesma (LEUENBERGER, 1991, citado por BUENO, 2008).

Outra característica importante é a temperatura na qual uma solução de gelatina muda do estado sólido ao estado líquido e vice-versa (temperatura de gelificação e fusão). Estas propriedades são governadas pelas proporções dos aminoácidos prolina e hidroxiprolina no colágeno “in natura”, pela massa molar, assim como as complexas interações determinadas pelo raio das cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  presentes na gelatina (CHO *et al.*, 2004; HAUG *et al.*, 2004). O processo de gelificação envolve a transição de um enrolamento sem uma forma definida para tripla hélice e ocorre a uma dada temperatura (MONTERO *et al.*, 2002). A temperatura capaz de provocar uma desnaturação desta estrutura é onde se define o ponto de fusão (WARD e COURTS, 1977). A união entre as moléculas é devida, essencialmente, a interações eletrostáticas ou a pontes de hidrogênio (LINDEN e LORIEN, 1994).

A gelatina caracteriza-se por apresentar um pH medido, em geral, sobre uma gelatina em solução a 1%. Este valor normalmente encontra-se na faixa de 5 (COLE, 2010). Os valores de pH, no entanto, podem encontrar-se dentro da faixa de 3,8 a 5 para gelatinas processadas por pré-tratamento ácido e 4,7 a 7,5 quando o pré-tratamento for alcalino. O pH é responsável pela redução de tensão superficial de sistemas aquosos, uma vez que este determina o estado da carga da gelatina (WARD e COURTS, 1977).

A umidade da gelatina comercial apresenta valores que variam de 9 a 14% (EASTOE e LEACH, 1977, citado por ALFARO, 2004). Cole (2010) afirma que gelatinas com umidade entre 6 e 8% mostram-se bastante higroscópicas, o que dificulta a medida dos seus tributos físicos com precisão.

Gelatina comercial é incolor em solução, mas possui uma cor variando de amarelo claro a âmbar escuro. O atributo cor da gelatina tem significância prática, onde aproximadamente 60% da produção mundial é consumida via uso industrial (SIEBERT, 1992, citado por COLE e ROBERTS, 1997).

Quanto às cinzas, a percentagem aceita para aplicação em alimentos é de até 2,6% (MUYONGA *et al.*, 2004b), e embora os limites sejam especificados, pode-se dizer que o teor de cinzas não é importante, exceto para informar que um baixo teor significa baixo conteúdo de cálcio, fato de principal importância em algumas aplicações (WARD e COURTS, 1977).

A gelatina de pescado tem sido estudada para ser destinada a diferentes aplicações em substituição à gelatina de mamíferos como fabricação de sobremesas (ZHOU e REGENSTEIN, 2006), fabricação de filmes para produção de embalagens biodegradáveis (GÓMEZ-GUILÉN *et al.*, 2002), produção de cápsulas, entre outras. A

aplicação da gelatina de peixe, no entanto, ainda é bastante limitada, sendo feita quando não há necessidade de alto valor de força do gel (KARIM e BHAT, 2008).

#### 2.5.4. Processo de extração de gelatina

O processo geral de extração de gelatina consiste em transformar o colágeno insolúvel em gelatina solúvel, onde a hidrólise ácida ou básica deve quebrar os entrelaces moleculares (ARNESEN e GILDBERG, 2006). A fabricação da gelatina inclui toda uma série de etapas que, em função da matéria-prima e do tipo de gelatina fabricada, sofrem variantes. O processo simplificado básico, no entanto, consiste em três etapas: pré-tratamento da matéria-prima, extração da gelatina, e purificação/secagem (KARIM e BHAT, 2009; LINDEN e LORIENT, 1994). Além disso, a gelatina comercial pode ser produzida pela mistura de gelatina com propriedades específicas para aplicações específicas (KARIM e BHAT, 2008).

O processo de extração pode influenciar o comprimento das cadeias polipeptídicas e as propriedades funcionais da gelatina. Isso depende, no entanto, dos parâmetros do processo (temperatura, tempo e pH), do pré-tratamento, e das propriedades e dos métodos de preservação da matéria-prima (KARIM e BHAT, 2009)

Para se obter gelatina solúvel, são utilizados procedimentos para destruir de forma controlada a estrutura organizada do colágeno. É realizada com diferentes temperaturas (60 °C a 90 °C) e é pH-dependente, sendo que a escolha do pH é feita visando maximizar a taxa de extração e manutenção de suas propriedades físicas (BANDEIRA, 2009). Esses pré-tratamentos podem ser tanto ácido como alcalino (LINDEN e LORIENT, 1994).

#### Processo alcalino

O processo alcalino é normalmente utilizado para a extração de gelatina de pele bovina, ossos e fontes de colágeno de animais relativamente velhos (HINTERWALDNER, 1977, citado por ALFARO, 2004), e consiste em submeter a matéria-prima a um processo chamado *liming process*. Neste processo, a matéria-prima é tratada, à temperatura ambiente, com sucessivas trocas de solução alcalina de hidróxido de cálcio. Dependendo da natureza, tratamento prévio, tamanho da matéria-prima e da temperatura da solução (KARIM e BHAT, 2009), esta etapa pode durar de 6 a 20 semanas, sendo o período mais comum entre 8 e 12 semanas. Pode-se ainda adicionar solução de hidróxido de sódio

para acelerar o processo. O propósito do *liming process* é destruir as cadeias químicas em que o colágeno está presente, além de ajudar na remoção de materiais indesejáveis, outras proteínas, carboidratos e etc. Gorduras ainda presentes são convertidas em sabão insolúvel. Concluída a etapa de *liming process*, o colágeno tratado é removido e sujeito à seguidas lavagens com água para então ser neutralizado com ácido. O sal decorrente da reação de neutralização é removido por uma lavagem final, e o pH final encontra-se entre 9 e 10 (PARDI *et al.*, 1996; WARD e COURTS, 1977).

#### Processo ácido

É um processo utilizado principalmente para extração de gelatina de pele de suínos, pele de pescado e também ossos (KARIM e BHAT, 2009). No caso dos ossos, Nicolas-Simonnot *et al.* (1997) afirmaram que a granulometria influencia diretamente no rendimento da extração de gelatina.

O processo ácido usado comercialmente é feito com ácido diluído, o qual penetra na matéria-prima e atua na estrutura do colágeno (WARD e COURTS, 1977). O período de um dia é o suficiente para que o colágeno possa ser diluído em água quente, condição determinante para o processo de extração subsequente (GELITA, 2010). O pH deve então ser entre 4 e 4,5 (WARD e COURTS, 1977), e o excesso de ácido deve ser parcialmente neutralizado, enquanto que os sais eliminados por lavagens do material. A osseína também pode ser transformada em gelatina através deste processo, contudo, a quantidade de gelatina produzida é pequena (GELITA, 2010).

A extração é feita com ácido diluído, e então o colágeno é extraído à pH próximo de 4. Muitas das proteínas não-colagenosas são isoelétricas neste valor de pH, e portanto são menos solúveis e mais facilmente coaguladas sob as condições de extração (WARD e COURTS, 1977).

#### *2.5.5. Extração de gelatina de pescado*

Apesar do crescimento nas pesquisas científicas envolvendo o pescado e seus subprodutos como matéria-prima para obtenção de gelatina, ainda existe uma carência no conhecimento aprofundado sobre as propriedades de gelatinas de pescado, ao contrário das gelatinas de mamíferos (BUENO, 2008). Tem sido considerado como principal inconveniente para o uso de gelatinas de pescados, a formação de géis que tendem a ser menos estáveis e com propriedades reológicas inferiores às gelatinas convencionais de mamíferos (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2002). Frente a estas dificuldades, necessita-se de

maiores informações sobre a qualidade e o propósito de uso das mesmas, especialmente se passarem a ser produzidas em maior escala (GUDMUNDSSON, 2002, citado por BUENO, 2008).

As características do colágeno inicial e o processo de extração influenciam nas propriedades da gelatina. Diferentes espécies de pescados apresentam grande variação na composição de aminoácidos do colágeno. Particularmente, o teor dos aminoácidos prolina e hidroxiprolina é menor que o da gelatina de mamíferos, e varia significativamente de acordo com a espécie do pescado, e temperatura ambiente do habitat do peixe, e isto afeta a estabilidade térmica do colágeno (HAUG *et al.*, 2004). Peixes de água quente possuem conteúdo de aminoácidos superior ao de peixes de água fria (HAUG *et al.*, 2004; GILSENAN e ROSS-MURPHY, 2000; GUDMUNDSSON e HAFSTEINSSON, 1997).

Osborne *et al.* (1990) produziram gelatina de ossos, cabeça e tripas de bagre através do processo de solubilização ácida. Os resultados obtidos foram comparados com uma gelatina comercial, onde a gelatina de pescado apresentou teor de umidade e pH similar ao padrão de comparação. Os pesquisadores constataram, porém, que a gelatina de pescado possuía teores de cinza consideravelmente maiores, e que a gelatina comercial possuía maior força de gel e ponto de fusão. Das três matérias-primas utilizadas, a gelatina obtida a partir da cabeça foi a que apresentou os melhores resultados, sob o ponto de vista do conteúdo de aminoácidos, rendimento de gelatina, facilidade de produção e quantidade de matéria-prima por espécime.

Muyonga *et al.* (2004) estudaram a extração e caracterização físico-química de gelatina de peles e ossos de perca-do-Nilo (*Lates niloticus*) do processamento de filé deste pescado. As peles sofreram pré-tratamento com solução de ácido sulfúrico 0,01 M (pH de 2,5-3,0) e esta faixa de pH foi mantida durante todo o período de pré-tratamento, com adição da mesma solução ácida. Para a força do gel, obtiveram Bloom variando de 81-229 g para a gelatina extraída das peles, e 134-179 g para as gelatinas extraídas dos ossos. As gelatinas de peles de perca-do-Nilo adulto apresentaram maior viscosidade que as de ossos e as de pele de animais jovens.

Bueno (2008) caracterizou gelatina extraída de peles de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e comparou com a gelatina suína comercial quanto à força do gel perfil de textura e ponto de fusão. As peles foram submetidas à sucessivas imersões em solução de NaCl, hidróxido de sódio e ácido acético. Os resultados de força de gel para gelatina suína e de pescado do segundo lote produzido foram bastante similares, apresentando valores de  $192,2 \pm 2,9$  g e de  $202,8 \pm 3,7$  g, respectivamente. O primeiro lote de gelatina de pescado apresentou valor de força de gel bem inferior em relação ao segundo lote

(11,5±0,7 g), devido à presença de um conteúdo lipídico relativamente maior no primeiro lote. A gelatina suína apresentou ponto inicial de fusão maior (27,5 °C) que as gelatinas de peixe do primeiro e do segundo lotes (18,5 °C e 24,0 °C, respectivamente).

Liu *et al.* (2008) prepararam três gelatinas a partir de ossos de bagre (*Ictalurus punctatus*), onde as cabeças foram tratadas com protease alcalina. As condições de extração foram (5 °C–pH 4–4 h), (82 °C–pH 2,5–2 h) e (90 °C–pH 3–3 h) respectivamente. Os estudos mostraram que havia muitas diferenças entre estas gelatinas. As forças do gel das gelatinas extraídas na primeira, segunda e terceira condições foi 282±11 g, 209±7 g, e 117±5 g. Além disso, a gelatina da primeira condição atingiu o mais alto ponto de fusão e gelificação.

Bandeira (2009) obteve gelatinas extraídas de cabeça de carpa cabeça grande (*Aristichthys mobilis*), sendo os maiores rendimento em gelatina obtidos da fração óssea (4,1 g de gelatina por 100 g de cabeça) e os maiores valores de força do gel e ponto de fusão obtidos da fração peles/músculos (246 g e 26,3 °C, respectivamente).

**CAPÍTULO III**  
DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

## **ARTIGO I - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO ALCALINA, TEMPO DE PRÉ-TRATAMENTO E TROCA DE SOLUÇÃO ALCALINA NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA A PARTIR DAS PELES DE CABEÇAS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*)**

### **RESUMO**

A maioria das gelatinas comerciais é derivada de mamíferos, sendo peles e ossos de bovinos e suínos as principais matérias-primas do produto. A gelatina trata-se de uma proteína pura, digestível, que se obtém a partir da hidrólise do colágeno, e por este motivo, o pescado torna-se uma potencial fonte de matéria-prima. A carpa comum (*Cyprinus carpio*) é um dos pescados mais comercializados no mundo, o que favorece geração de grande quantidade de rejeitos, as vezes mal aproveitados por algumas indústrias pesqueiras. Estes rejeitos são constituídos geralmente por vísceras, peles, cabeças e ossos, ricos em colágeno. Neste estudo foram avaliados os efeitos da concentração alcalina, tempo de pré-tratamento e troca de solução alcalina no pré-tratamento das cabeças de carpa, no processo de extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum, provenientes da industrialização. Foi utilizado um planejamento fatorial  $2^3$  completo, e os fatores de estudo foram concentração de solução de NaOH (3-4 M), tempo de pré-tratamento (45-105 min) e troca de solução alcalina no pré-tratamento, tendo como respostas rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão. Foi avaliada ainda a composição centesimal das cabeças. O maior rendimento (2,27%) foi obtido com solução de NaOH 3 M, 45 min e sem troca de solução alcalina no pré-tratamento. A maior força do gel (298,7 g) e o maior ponto de fusão (29,1°C) ocorreram na concentração de solução de NaOH 3 M, 105 min e sem troca de solução alcalina.

**Palavras-chave:** carpa comum, gelatina, peles das cabeças de carpa.

**ABSTRACT**

Most of commercial gelatins are derived from mammals, being skins and bones of cattle and pigs the main raw materials of the product. Gelatin is a pure protein, digestible, which is obtained by the hydrolysis of collagen, and for this reason, the fish becomes a potential source of raw material. Common carp (*Cyprinus carpio*) is the fish most commonly traded in the world, which favors generation of large amounts of waste, not always utilized by fisheries industries. These fish waste are generally consisting of offal, skins, heads and bones, rich in collagen. The aim of the present work was to study the effects of alkaline concentration, pre-treatment time and exchange of alkaline solution pre-treatment in the extraction of gelatin from skin of common carp heads, from industrialization. It was used a complete  $2^3$  experimental design. Time pre-treatment (45-105 min), concentration of alkaline solution (3-4 M) and pre-treatment with change of alkaline solution were chosen as independent variable. Gelatin yield, gel strength and melting point were the response variable. It also assessed the composition of heads. The higher yield (2.27%) was obtained with NaOH 3 M solution, 45 min and no exchange of alkaline solution. The greatest gel strength (298.7 g) and melting point occurred at alkaline solution 3 M, 105 min and no exchange of NaOH solution.

**Keywords:** common carp, gelatin, skins of the head of carp.

## 1. INTRODUÇÃO

A demanda pelo pescado vem aumentando nos últimos anos, impulsionada principalmente pelo crescimento da população e pela tendência mundial em busca de alimentos saudáveis. A exploração indiscriminada do estoque pesqueiro natural e a crescente diferença entre a quantidade de pescado capturado e a demanda de consumo, tornaram a piscicultura uma das alternativas mais viáveis no mundo para produção de alimentos para o consumo humano de alto valor protéico (CAMARGO e POUHEY, 2005).

No Brasil, muitos criadouros de peixes utilizados na piscicultura utilizam a carpa comum (*Cyprinus carpio*), espécie originária da Ásia Ocidental. Foi uma das primeiras espécies a ser cultivada em aquicultura e seu cultivo ocorre em todos os continentes (QUEROL *et al.*, 2005). Diversas razões contribuem para que a carpa comum seja considerada um excelente peixe para pisciculturas e explicam a sua distribuição por todo o planeta: tolera baixos níveis de oxigênio dissolvido na água; reproduz-se facilmente em cativeiro; tolera as práticas de manejo para recria e propagação; apresenta grande tolerância a variações de temperatura (de 4°C até 35°C); é espécie onívora que aceita e converte bem os mais variados tipos de alimentos de origem animal ou vegetal; adapta-se bem a sistemas de produção baseados na reciclagem de subprodutos agropecuários (ECHEVENGUÁ *et al.*, 2007).

Os rejeitos gerados durante o processamento da carpa (peles, cabeças, espinhaços e vísceras) podem totalizar 60% da matéria-prima (KOŁODZIEJSKA *et al.*, 2008), sendo que para a carpa comum as cabeças representam aproximadamente 22% da matéria-prima (ECHEVENGUÁ *et al.*, 2008). Em busca de alternativas viáveis tecnologicamente, para aproveitar resíduos de pescado, vários produtos podem ser obtidos (recuperação enzimática, produção de hidrolisados protéicos, extração de óleos, extração de colágeno e extração de gelatina), sendo que o aproveitamento destes aumentaria o faturamento das empresas e reduziria problemas ambientais (BANDEIRA, 2009; CREXI *et al.*, 2007; KLOMKLAO *et al.*, 2007).

A gelatina é uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno animal, contido em ossos e peles, principalmente de suínos e bovinos (GÓMEZ-GUILLÉN e MONTERO, 2001). A conversão do colágeno em gelatina solúvel pode ser obtida através do aquecimento do colágeno, em meio ácido ou alcalino. A solubilização térmica do colágeno ocorre devido à clivagem de uma série de ligações covalentes intra e intermoleculares que estão presentes no colágeno. A preparação industrial de gelatina envolve a hidrólise controlada da estrutura organizada do colágeno para obter gelatina solúvel, através de um pré-tratamento ácido ou alcalino da matéria-prima. É este processo que define o tipo de

gelatina extraída. Gelatinas obtidas por pré-tratamento ácido são designadas do tipo A, enquanto que as do tipo B são as obtidas por pré-tratamento alcalino (KARIM e BHAT, 2008).

As propriedades funcionais das gelatinas são dependentes das suas propriedades físico-químicas e estruturais, que serão determinantes para reger sua aplicabilidade. Segundo Pardi *et al.* (1996), a qualidade de uma gelatina é determinada por parâmetros como rigidez do gel, viscosidade, capacidade de intumescência, além de padrões microbiológicos e padrões químicos (contaminações por metais).

A força do gel é a principal propriedade reológica da gelatina, e o seu valor comercial está baseado principalmente no seu valor de grau bloom, que é o poder geleificante, e refere-se ao peso em gramas requerido para produzir uma depressão de 4 mm na superfície de uma solução de gelatina geleificada frente uma concentração padrão (CHOI e REGENSTEIN, 2000). As características de temperatura da gelatina e do colágeno de peles de pescado refletem a temperatura do habitat natural do peixe. As gelatinas de peixes de água fria possuem menor conteúdo de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina) que as gelatinas de peixes tropicais, e, portanto, estas são mais semelhantes às gelatinas de mamíferos no que diz respeito às propriedades reológicas (BUENO, 2008).

A temperatura é outra característica importante na qual uma solução de gelatina muda do estado sólido ao líquido e vice-versa (temperatura de solidificação/fusão). As gelatinas de altos valores de força do gel têm altas temperaturas de solidificação. Do ponto de vista tecnológico isto tem importância, por exemplo, no esfriamento de soluções de gelatina que devem ser despejadas rapidamente em máquinas de moldagem para a produção de gomas (gummy bears) ou de cápsulas duras de gelatina (GELITA, 2010). A viscosidade e o ponto de fusão têm relação direta com compostos de alta massa molar, logo, é dependente do processo de extração (COLE, 2010).

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da concentração alcalina, tempo de pré-tratamento e troca de solução alcalina no processo de extração de gelatina das peles de cabeças de carpa comum (*Cyprinus carpio*). Foi analisada a força do gel, rendimento em gelatina e ponto de fusão dos produtos obtidos, comparando os resultados com valores obtidos por gelatinas comerciais.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Matéria-prima

A matéria-prima utilizada como fonte de colágeno para a produção de gelatina foram cabeças de carpa comum (*Cyprinus carpio*), descartadas na industrialização do pescado, e obtidas de piscicultores da cidade de Roca Sales-RS.

O material foi acondicionado em caixas com gelo, e transportados até o Laboratório de Operações Unitárias da Escola de Química e Alimentos (EQA), da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), onde permaneceram armazenados em freezer (Consul CHB53C, Brasil) dentro de embalagens plásticas à temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , até serem utilizados. Os reagentes químicos utilizados nas análises foram todos de grau analítico.

As cabeças de carpa comum, com no máximo 90 dias de estocagem, foram descongeladas a  $4^{\circ}\text{C}$  por aproximadamente 20 h, para em seguida, serem moídas na granulometria de 5 mm em moinho de facas (Wiley Mill Standard, model nº 3, EUA). Em cada experimento foram utilizados aproximadamente 400 g de cabeça de carpa. As amostras foram lavadas com água (1:6 p/v) a  $4^{\circ}\text{C}$  por 10 min, e centrifugadas (Centrifuga Sigma 94317, Alemanha) a 7000 g por 5 min para eliminação do excesso de água.

### 2.2. Pré-tratamento das amostras e Extração da gelatina

As Figuras 1 e 2 apresentam os fluxogramas dos processos sem troca e com troca, respectivamente, de solução de NaOH no pré-tratamento das cabeças moídas de carpa e extração da solução de gelatina.

As cabeças moídas de carpa foram submetidas ao pré-tratamento alcalino, onde água destilada foi adicionada (1:1 p/v) e o pH ajustado para 11 em pHmetro (Marte MB10/MB-10P, Brasil) com soluções de NaOH 3 ou  $4\text{ mol L}^{-1}$ .

Nos processos sem troca de solução alcalina (Figura 1), a matéria-prima permaneceu em solução por um período de 45 min ou 105 min (dependendo da matriz do planejamento), e o material tratado foi centrifugado a 4000 g por 15 min. Após, o precipitado foi suspenso em água destilada (1:1 p/v), ajustando-se o pH em 2, com solução de HCl  $3\text{ mol L}^{-1}$ , durante 15 min. O material (cabeça intumescida) então foi centrifugado a 4000 g por 15 min.

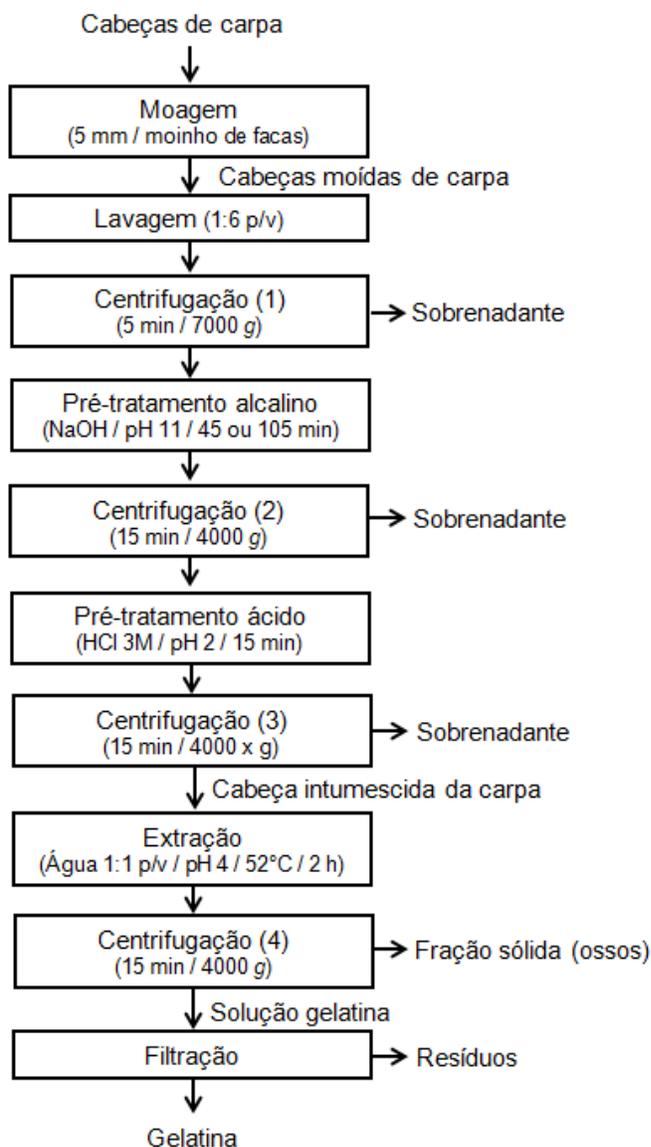


Figura 1 – Fluxograma do processo de obtenção de gelatina das peles de cabeças de carpa comum, sem troca de solução de solução alcalina no pré-tratamento das amostras.

Nos processos envolvendo troca de solução alcalina (Figura 2), a solução foi removida após o tempo de 15 min e centrifugada. Em seguida foi feita a renovação da solução alcalina com adição de água destilada (1:1 p/v), ajustando-se novamente o pH em 11 com soluções de NaOH 3 ou 4 mol L<sup>-1</sup>. Neste pré-tratamento o material permaneceu em solução nos tempos necessários para complementar os valores da matriz do planejamento experimental (30 ou 90 min), e após este período, foi centrifugado a 4000 g por 15 min. O pré-tratamento ácido deste processo seguiu-se como descrito no pré-tratamento sem troca de solução alcalina.

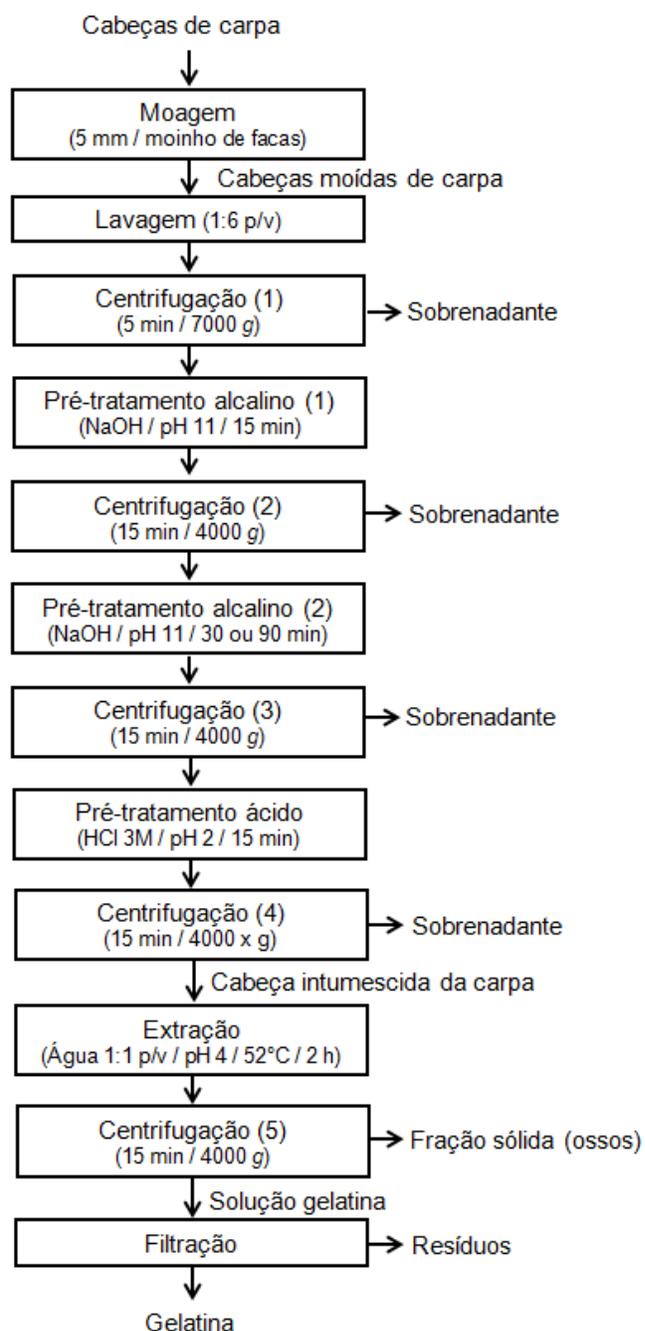


Figura 2 – Fluxograma do processo de obtenção de gelatina das peles de cabeças de carpa comum, com troca de solução alcalina no pré-tratamento das amostras.

O processo de extração da gelatina das amostras pré-tratadas (cabeça intumescida) foi realizado com adição de água destilada (1:1 p/v) a 52°C, em banho termostático (Quimis 214 D 2, Brasil), por período de 2 h e pH ajustado em 4 com solução de HCl 3 mol L<sup>-1</sup>. Foi realizada uma centrifugação a 4000 g por 15 min, recolhendo-se o sobrenadante (solução de gelatina). A solução de gelatina foi filtrada em funil de Büchner com papel filtro Whatman nº 4 e armazenada sob refrigeração a 8°C.

### 2.3. Composição química das amostras

As composições centesimais das cabeças moídas, das cabeças intumescidas e dos ossos após a extração da gelatina da fração peles/músculos e secagem com circulação de ar (por 10 h na temperatura de 25°C) foram determinadas, em triplicata, segundo metodologias AOAC (1995). A umidade foi determinada de acordo com o método gravimétrico (nº 950.46) em estufa a 105°C. O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl (nº 928.08), tendo-se o teor de proteína bruta obtido através da multiplicação pelo fator 6,25. O conteúdo de lipídios foi determinado pelo método de Soxhlet (nº 960.39) e cinzas por método gravimétrico (nº 920.153) em mufla a 500-600°C.

### 2.4. Caracterização das soluções de gelatina

#### 2.4.1. Rendimento em gelatina

Para determinação do rendimento foi utilizado o método descrito por Yang *et al.*, (2008). A concentração da solução de gelatina foi determinada por refratômetro (Atago nº 1, Japão), e o rendimento calculado segundo a Equação 1.

$$RG = \left( \frac{C_{\text{gelatina}} \cdot V_{\text{solução}}}{m_{\text{cabeça}}} \right) \quad (1)$$

onde RG é o rendimento em gelatina (g<sub>gelatina</sub>/100 g<sub>cabeças</sub>), C<sub>gelatina</sub> é a concentração de proteínas da solução de gelatina (g mL<sup>-1</sup>), V<sub>solução</sub> é o volume da solução de gelatina extraída (mL) e m<sub>cabeças</sub> é a massa da cabeça após a moagem (g).

#### 2.4.2. Força do gel

A força do gel foi determinada baseando-se na metodologia aplicada por Zhou e Regenstein (2005). As soluções de gelatina extraídas foram diluídas à concentração de 3,3% com água destilada, aquecidas a 40°C em banho termostatizado (Quimis 214 D 2, Brasil) por 30 min. Cada diluição teve 10 mL adicionado a frascos preparados para esta análise (25 x 54 mm, fundo liso). Os frascos com as diluições foram levados ao refrigerador (Eletrolux R 250, Brasil) para que as soluções fossem maturadas a 7°C por 17±1 h. Termômetro foi usado para acompanhamento das temperaturas.

A força do gel (em g) das gelatinas foi medido em analisador de textura (TA.XTplus, Stable Micro Systems, Inglaterra), usando sonda de teflon com 12,5 mm de diâmetro pressionando 4 mm na gelatina a velocidade de 1 mm/s. As determinações foram feitas com três repetições.

#### 2.4.3. Ponto de fusão

A determinação do ponto de fusão foi realizada segundo Choi e Regenstein (2000). Soluções de gelatina a 3,3% foram preparadas e uma alíquota de 5 mL foi transferida para pequenos tubos de ensaio. Os tubos foram submetidos ao aquecimento em banho termostatizado (Quimis 214 D 2, Brasil) a 60°C por 15 min, resfriados em banho de gelo e, em seguida, maturados a 10°C em refrigerador (Eletrolux R 250, Brasil) por 17±1 h. A etapa seguinte compreendeu a adição de cinco gotas de uma mistura de 75% de clorofórmio e 25% de corante azul de metileno sobre o gel. Os tubos contendo os géis foram colocados em banho termostatizado a 15°C tendo sua temperatura elevada em 0,5°C a cada 5 min. O ponto de fusão foi o valor da média entre a temperatura em que fosse possível visualizar o momento da penetração das gotas da mistura com o corante nas soluções, e a temperatura em que as soluções encontraram-se completamente coradas.

### 2.5. Balanços de massa e de proteínas nos processos

Os balanços de massa global e de proteínas foram realizados retirando-se aproximadamente 25 g como alíquotas (em triplicata), após cada etapa do processo (moagem, lavagem, pré-tratamento alcalino, pré-tratamento ácido e extração da gelatina).

Para realização dos balanços, foi utilizado apenas um experimento com e um experimento sem a realização de troca de solução alcalina no pré-tratamento, sendo considerada a condição em que se obteve o maior rendimento em gelatina. Os valores obtidos para os balanços foram expostos em percentual.

### 2.6. Metodologia estatística

Para realização da extração de gelatina das peles das cabeças intumescidas de carpa foi utilizado um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> completo (BOX *et al.*, 1978) a fim de se determinar os fatores causas que influenciam as respostas de interesse do processo.

Os fatores de estudo foram concentração alcalina ( $X_1$ ), tempo de pré-tratamento ( $X_2$ ), e troca de solução de NaOH ( $X_3$ ), utilizados na etapa de pré-tratamento das cabeças moídas de carpa. Os valores dos níveis estudados foram determinados a partir de ensaios preliminares e de valores apresentados na literatura (BANDEIRA, 2009; ARNESEN e GILDBERG, 2007) e estão apresentados na Tabela 1. O nível de significância utilizado foi de 95%.

Os experimentos foram realizados em réplicas e estão representados na matriz do planejamento fatorial (Tabela 1) em suas formas codificadas e não-codificadas.

As respostas analisadas foram o rendimento em gelatina (RG) por 100 gramas de cabeça de carpa comum, força do gel (FG) e ponto de fusão (PF).

Tabela 1 – Matriz do planejamento fatorial da etapa de pré-tratamento das cabeças moídas de carpa nas formas codificadas e não-codificadas.

Exp	<i>Fatores de estudo</i>					
	Concentração alcalina		Tempo de pré-tratamento		Troca de solução de NaOH	
	(mol L <sup>-1</sup> )	$X_1$	(min)	$X_2$		$X_3$
1	3	-1	45	-1	Sem	-1
2	4	1	45	-1	Sem	-1
3	3	-1	105	1	Sem	-1
4	4	1	105	1	Sem	-1
5	3	-1	45	-1	Com	1
6	4	1	45	-1	Com	1
7	3	-1	105	1	Com	1
8	4	1	105	1	Com	1

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software Statistica® 6.0 (Statsoft, USA). As equações das funções resposta foram na forma polinomial, considerando apenas efeitos de interação de primeira ordem, onde os termos são constituídos pelos valores codificados das variáveis em estudo, suas interações e seus respectivos coeficientes, além de um coeficiente que representa a média dos valores conforme a Equação 2.

$$Y = A + BX_1 + CX_2 + DX_3 + EX_1X_2 + FX_1X_3 + GX_2X_3 + HX_1X_2X_3 \quad (2)$$

onde Y é a resposta considerada no valor real, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>3</sub> são os fatores de estudo na forma codificada, A, B, C, D, E, F, G, H os coeficientes de ajuste.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Composição química da amostra

As composições centesimais das amostras de cabeça moída, cabeça intumescida, e dos ossos após a extração da gelatina das peles e secagem à temperatura ambiente, em relação ao teor de umidade, proteína, lipídios e cinzas encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição química das amostras das cabeças moídas, cabeças intumescidas e dos ossos das cabeças de carpa comum (em base úmida).

	Cabeça moída	Cabeça intumescida	Ossos remanescentes**
Umidade (%)*	75,6±1,6	57,7±1,4	14,9±1,0
Cinzas (%)*	9,1±0,8	22,1±1,2	51,5±1,9
Proteínas (%)*	9,9±0,5	17,4±0,6	28,9±1,3
Lipídios (%)*	3,8±0,6	1,7±0,2	3,6±0,7

\*Médias ± erro padrão (para três determinações); \*\*Após a extração da gelatina das peles.

Como pode ser observado na Tabela 2 o teor de umidade das cabeças moídas de carpa comum foi semelhante ao valor de 75,3% encontrado por Bandeira (2009) para cabeça moída de carpa cabeça grande. O teor de proteína, o qual representa a máxima produção possível de gelatina que pode ser extraída das cabeças, apresentou valor inferior ao encontrado por este autor (10,7%). Mesmo com a redução da quantidade total de proteínas (com a solubilização de proteínas não-colagênicas) no pré-tratamento, a cabeça intumescida apresentou menor umidade, o que eleva o teor dos outros componentes.

Os valores encontrados para lipídios nas cabeças de carpa comum, apresentados na Tabela 2, foram inferiores aos valores encontrados por Stevanato (2006), para cabeças de outras espécies de água doce, como tilápia (9,56%), e similares aos

encontrados por Bandeira (2009) para outra espécie de carpa (*Aristichthys mobilis*), cujo valor ficou na faixa de 3,7%. Já o teor de lipídios da cabeça intumescida mostrou uma redução em relação ao teor inicial da cabeça moída. Isto aconteceu pela eficiência na remoção deste e de outros componentes durante a etapa dos pré-tratamentos alcalino e ácido.

Para o percentual de cinzas encontrado (Tabela 2), a carpa comum apresentou valor médio superior aos encontrados por Bandeira (2009) para cabeças de carpa cabeça grande e Kołoziejska *et al.* (2008) para cabeças de bacalhau, que foram de 8,7% e 5,2%, respectivamente. A diferença entre os valores pode estar relacionada à elevada quantidade de minerais presentes na fração óssea das cabeças, e que pode variar de acordo com a idade, espécie e época do ano.

Os ossos remanescentes apresentaram substancial aumento de proteínas e cinzas em comparação com os valores encontrados por Bandeira (2009) para ossos de cabeça de carpa cabeça grande. Este fato pode ser explicado pela etapa de secagem à 25°C dos ossos que não foi realizada por este autor.

### 3.2. Balanço de massa e de proteínas nos processos

Os balanços de massa global e de proteínas nos processos sem troca (experimento 1) e com troca (experimento 7) estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Balanço global de massa e de proteínas nos processos sem troca e com troca de solução alcalina no pré-tratamento das cabeças.

Etapa	SEM TROCA DE SOLUÇÃO ALCALINA		COM TROCA DE SOLUÇÃO ALCALINA	
	BMG (%) <sup>*</sup>	Proteína (%) <sup>*</sup>	BMG (%) <sup>*</sup>	Proteína (%) <sup>*</sup>
E1	100,0±0,0	9,9±0,45	100,0±0,0	9,90±0,45
E2	71,9±1,4	13,20±0,51	71,9±1,4	13,20±0,51
E3	66,6±1,6 <sup>a</sup>	12,47±0,91 <sup>a</sup>	53,7±1,1 <sup>b</sup>	15,13±0,84 <sup>a</sup>
E4	45,1±0,7 <sup>a</sup>	17,38±0,64 <sup>a</sup>	46,2±0,8 <sup>a</sup>	16,54±0,75 <sup>a</sup>
E5	41,9±0,8 <sup>a</sup>	13,21±0,73 <sup>a</sup>	37,3±0,5 <sup>b</sup>	15,18±0,68 <sup>a</sup>

<sup>\*</sup>Médias ± erro padrão (para três determinações); BMG = Balanço de massa global; E1 = cabeças moídas antes da lavagem; E2 = cabeças moídas após a lavagem; E3 = cabeças moídas após pré-tratamento alcalino, E4 = cabeças moídas após pré-tratamento ácido e E5 = após a extração da gelatina das peles da cabeça de carpa. Médias na mesma linha com letras sobrescritas distintas são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A Tabela 3 mostra que as etapas 3, 4 e 5 (E3, E4 e E5) não apresentaram diferenças significativas para os teores de proteínas ao nível de 95% ( $p \leq 0,05$ ), nos pré-tratamentos sem e com troca de solução alcalina.

As cabeças moídas de carpa (400 g), após a lavagem apresentaram a massa média de 287,6 g. Após passarem pela etapa do pré-tratamento alcalino, onde proteínas não colagênicas e outras substâncias foram eliminadas, as massas dos pré-tratamentos sem e com troca de solução de NaOH, apresentaram diferença significativa ao nível de 95% (Tabela 3). Os ossos obtidos após a extração de gelatina das peles dos dois pré-tratamentos foram de aproximadamente 168 g para o processo sem troca de solução alcalina e 145 g para o processo com troca de solução alcalina.

O balanço de proteínas no processo de extração de gelatina das peles das cabeças de carpa, do experimento em que se obteve maior rendimento em gelatina (experimento 1) está representado apresentado na Figura 3.

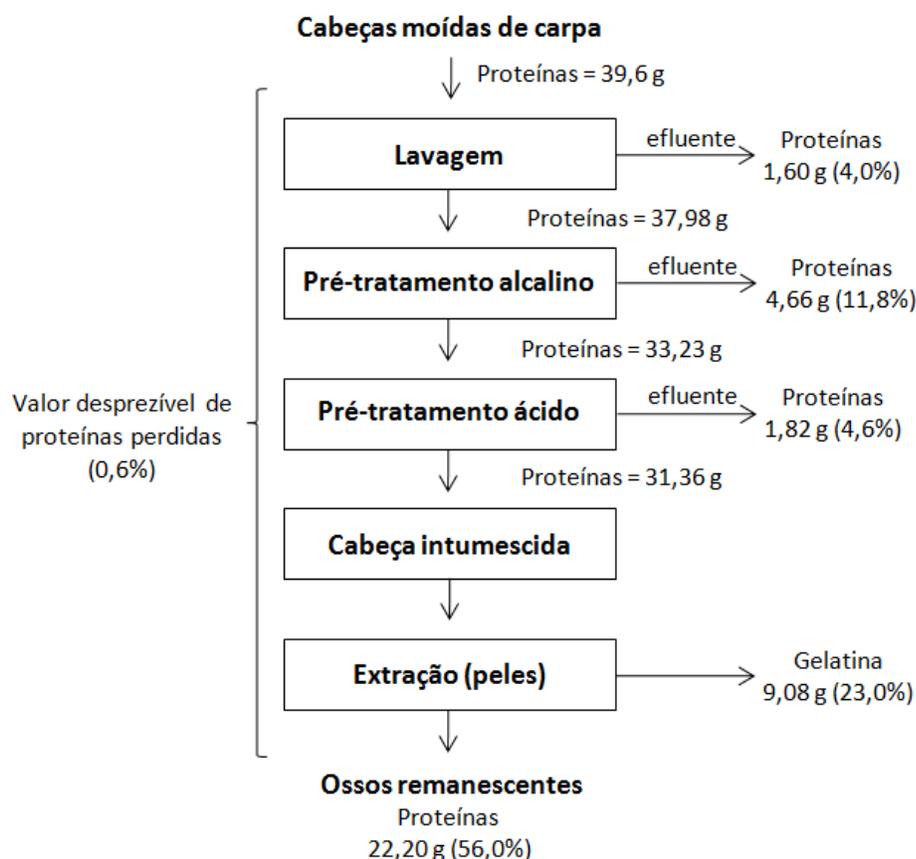


Figura 3 – Balanço de proteínas do processo de obtenção de gelatina das peles de cabeças de carpa comum.

Como pode ser observado na Figura 3, o processo de pré-tratamento alcalino/ácido foi responsável por eliminação de cerca de 20% de proteínas não colagênicas presente nas cabeças de carpa. O balanço de proteínas (Figura 3) mostra ainda, que parte das proteínas presentes nas peles são perdidas no processo. Estas perdas podem ter acontecido pela retenção de material nas paredes dos recipientes ou pelo arraste de material coloidal no descarte do efluente.

Do teor total de proteínas determinado para a cabeça de carpa, aproximadamente 23% foi recuperada na forma de gelatina de peles. Considerando apenas as proteínas da cabeça intumescida, etapa onde já ocorreu a eliminação de grande parte das proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares, indesejáveis ao processo, o rendimento é elevado para 29%. Arnesen e Gildberg (2006) obtiveram resultado bastante inferior (6,3%) para extração de gelatina das peles de cabeça de bacalhau, enquanto Wang *et al.* (2008) conseguiram obter rendimentos em gelatinas de colágeno de carpa capim em torno de 19%.

### 3.3. Análise estatística dos resultados

Os resultados da matriz do planejamento fatorial para os fatores de estudo rendimento em gelatina, força do gel, e ponto de fusão estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados da matriz do planejamento fatorial da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa comum.

Exp (nº)	RG (g <sub>gelatina</sub> /100g <sub>amostra</sub> )*	FG (g)*	PF (°C)*
1	2,27 ± 0,04	215,7 ± 4,1	24,8 ± 0,1
2	2,02 ± 0,06	268,6 ± 6,2	26,3 ± 0,3
3	1,63 ± 0,09	298,7 ± 6,8	29,0 ± 0,3
4	1,49 ± 0,08	250,7 ± 6,6	27,6 ± 0,3
5	1,66 ± 0,06	248,9 ± 3,8	26,0 ± 0,2
6	1,61 ± 0,07	277,4 ± 6,3	29,0 ± 0,4
7	1,98 ± 0,06	240,3 ± 6,3	28,5 ± 0,3
8	1,69 ± 0,08	182,8 ± 5,4	28,2 ± 0,2

\*Média ± erro padrão (para duas repetições); RG=rendimento em gelatina; FG=força do gel; PF=ponto de fusão.

Na Tabela 4 os valores de rendimento em gelatina (RG) das peles das amostras de cabeça intumescida de carpa ficaram na faixa de 1,50 a 2,3 g de gelatina por 100 g de amostra. Segundo a literatura o rendimento de extração de gelatina de pescado é inferior ao da gelatina de mamíferos, que é aproximadamente entre 6% e 19% (JAMILAH e HARVINDER, 2002). De acordo com Karim e Bhat (2008), o processo de extração da gelatina depende dos parâmetros do processo (temperatura, tempo e pH), do pré-tratamento e da quantidade de colágeno na matéria-prima.

Pardi *et al.* (1996) menciona valores de força do gel na faixa de 50 a 300 g para gelatina de mamíferos, no entanto, segundo Karim e Bhat (2008), para gelatina de pescado, o valor típico pode chegar a 270 g. Os valores de força do gel apresentados nos experimentos da Tabela 4 ficaram dentro da faixa citada por estes autores. Para aplicações alimentares, a força do gel é a propriedade mais importante da gelatina, e que determina a qualidade do produto. Essa propriedade é afetada por muitos fatores, tais como a massa e distribuição moleculares, concentração da solução de gelatina, tempo e temperatura de maturação do gel, pH e o teor de sal (KASANKALA *et al.*, 2007).

As Tabelas 5, 6 e 7 apresentam a análise de variância (ANOVA), respectivamente, para as respostas rendimento em gelatina ( $Y_{RG}$ ), força do gel ( $Y_{FG}$ ) e ponto de fusão ( $Y_{PF}$ ), tendo como fatores de estudo a concentração alcalina ( $X_1$ ), tempo de pré-tratamento ( $X_2$ ) e pré-tratamento com ou sem troca de solução de NaOH ( $X_3$ ).

Tabela 5 – Análise de variância para a resposta rendimento das gelatinas obtidas da extração das peles de cabeças de carpa.

Var	SQ	GL	QM	F	p
$X_1$	0,135056	1	0,135056	13,447	0,0063
$X_2$	0,150156	1	0,150156	14,950	0,0048
$X_3$	0,048756	1	0,048756	4,853	0,0499
$X_1X_2$	0,004556	1	0,004556	0,453	0,5196
$X_1X_3$	0,000506	1	0,000506	0,050	0,8280
$X_2X_3$	0,612306	1	0,612306	60,964	<0,0001
Falta de ajuste	0,031506	1	0,031506	3,137	0,1145
Erro puro	0,080350	8	0,010044		
Total	1,066194	15			

Var = variáveis; SQ = soma de quadrados; GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; F = valor F de Fisher; p = significância.

Pode-se observar pela Tabela 5 e pela Figura 4 que, para um nível de 95% ( $p \leq 0,05$ ), todos os efeitos principais e a interação entre o tempo de pré-tratamento e o pré-tratamento com ou sem troca de solução de NaOH ( $X_2X_3$ ) foram significantes para a resposta rendimento em gelatina.

Tabela 6 – Análise de variância para a resposta força do gel das gelatinas obtidas da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa.

Var	SQ	GL	QM	F	p
$X_1$	145,81	1	145,806	2,202	0,1761
$X_2$	361,95	1	361,951	5,467	0,0475
$X_3$	1774,52	1	1774,516	26,805	0,0008
$X_1X_2$	8737,58	1	8737,576	131,986	< 0,0001
$X_1X_3$	288,15	1	288,151	4,353	0,0704
$X_2X_3$	7077,02	1	7077,016	106,903	< 0,0001
Falta de ajuste	55,13	1	55,131	0,833	0,3881
Erro puro	529,61	8	66,201		
Total	18969,75	15			

Var = variáveis; SQ = soma de quadrados; GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; F = valor F de Fisher; p = significância.

Tabela 7 – Análise de variância para a resposta ponto de fusão das gelatinas obtidas da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa.

Var	SQ	GL	QM	F	p
$X_1$	2,17563	1	2,17563	14,565	0,0052
$X_2$	13,14063	1	13,14063	87,971	<0,0001
$X_3$	4,10063	1	4,10063	27,452	0,0008
$X_1X_2$	8,85062	1	8,85062	59,251	<0,0001
$X_1X_3$	1,75562	1	1,75562	11,753	0,0090
$X_2X_3$	3,70563	1	3,70563	24,807	0,0011
Falta de ajuste	0,01563	1	0,01563	0,105	0,7547
Erro puro	1,19200	8	0,14937		
Total	34,93938	15			

Var = variáveis; SQ = soma de quadrados; GL = graus de liberdade; QM = quadrado médio; F = valor F de Fisher; p = significância.

Na Tabela 6, para o nível de significância de 95%, apenas as variáveis concentração alcalina ( $X_1$ ) e a interação desta variável com o pré-tratamento com ou sem troca de NaOH ( $X_1X_3$ ) não produziram um efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) na resposta força do gel.

Para a resposta ponto de fusão, os resultados expressos na Tabela 7 mostram que todas as variáveis foram significativas ao nível de 95%.

As Equações 3, 4 e 5 representam os modelos teórico-estatísticos obtidos a partir das análises de regressão para as respostas rendimento em gelatina ( $Y_{RG}$ ), força do gel ( $Y_{FG}$ ) e ponto de fusão ( $Y_{PF}$ ), considerando os efeitos principais e suas interações na forma codificada que foram significativos na análise ao nível de 95% ( $p \leq 0,05$ ), com coeficientes de determinação de 89,5%, 96,9% e 97,7%, respectivamente.

$$Y_{RG} = 1,79 - 0,09X_1 - 0,09X_2 - 0,11X_3 + 0,19X_2X_3 \quad (3)$$

$$Y_{FG} = 247,9 - 4,76X_2 - 10,53X_3 - 23,37X_1X_2 - 21,03X_2X_3 \quad (4)$$

$$Y_{PF} = 27,44 + 0,74X_1 + 1,81X_2 + 1,01X_3 - 1,49X_1X_2 + 0,66X_1X_3 - 0,96X_2X_3 \quad (5)$$

### 3.4. Rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão

As Figuras 4a, 4b e 4c apresentam os cubos de resposta para o rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão, respectivamente, das gelatinas obtidas da extração das peles das cabeças intumescidas de carpa comum. Os valores nos vértices representam os valores teóricos calculados pelo modelo estatístico representado pelas Equações 3, 4 e 5, e nas arestas estão representados os níveis codificados dos fatores de estudo (concentração alcalina, tempo de pré-tratamento e troca de solução de NaOH).

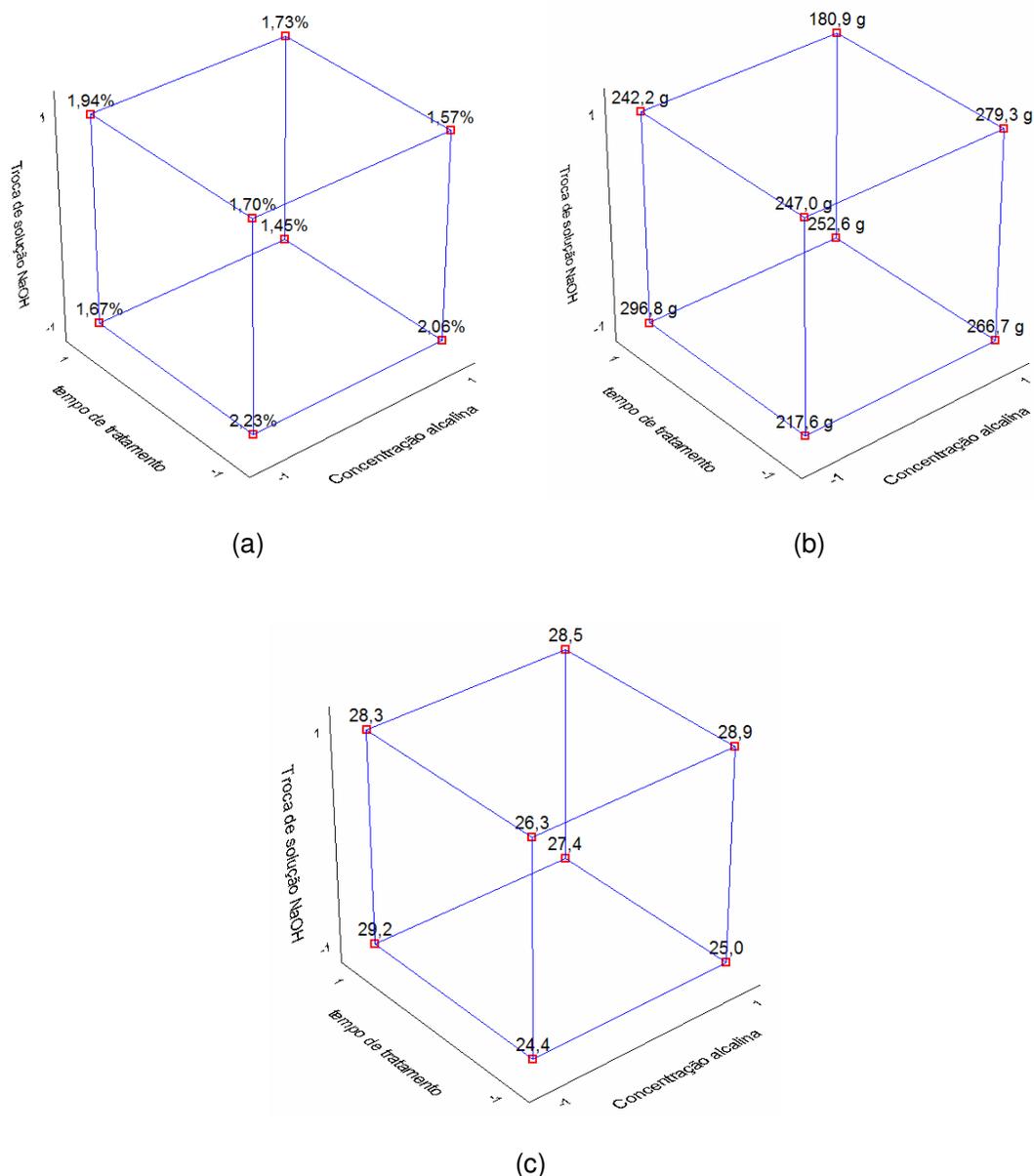


Figura 4 – Cubos de resposta para (a) rendimento em gelatina, (b) força do gel, (c) ponto de fusão, obtidos da extração de gelatina das peles de cabeças de carpa.

A Figura 4a mostra que o maior rendimento em gelatina foi obtido com pré-tratamento sem troca de solução de NaOH (-1), em menor faixa de tempo de pré-tratamento (-1) e menor concentração alcalina (-1). Este valor foi similar ao alcançado por Bandeira (2009) para extração de gelatina a partir de cabeças de carpa cabeça grande, que obteve rendimentos de 2,0% na mesma concentração alcalina. O uso de menores concentrações de solução alcalina no pré-tratamento das cabeças provocou aumento do volume final do material tratado (cabeças intumescidas), e por isso, pode ter favorecido maior dissolução do colágeno na forma de gelatina. O que pode explicar o

comportamento dos menores rendimentos quando se aplica maiores tempos de pré-tratamento, é que em tempos prolongados a hidrólise das moléculas de colágeno é maior, sendo estas descartadas junto com o sobrenadante do pré-tratamento após a centrifugação. De acordo com Cole (2010), as peles de pescados não possuem tantas ligações químicas, não havendo necessidade de um pré-tratamento alcalino intenso e longo.

Analisando-se as Figura 4b e 4c é possível estabelecer a melhor faixa de trabalho quando se deseja extrair gelatinas mais rígidas. Os resultados mostram que a melhor condição se dá ao trabalhar com maiores tempos de pré-tratamento (+1), menores valores de concentração alcalina (-1), e pré-tratamento sem realização de troca de solução de NaOH (-1). Segundo Cho *et al.* (2004) a força do gel é a propriedade física da gelatina mais importante para aplicações industriais. Na condição mencionada, foi possível obter força do gel e ponto de fusão nas faixas de 300 g e 29 °C, respectivamente. No entanto, nesta condição de pré-tratamento o rendimento é baixo. O valor para a força do gel foi superior aos encontrados por Yang *et al.* (2007), Alfaro (2008) e Bandeira (2009), que obtiveram valores máximos de força do gel de 225, 221 e 246 g em gelatinas extraídas de peles de bagre, peles de tilápia e peles de cabeças de carpa cabeça grande respectivamente, e menor que o encontrado por Cho *et al.* (2005) para gelatina de peles de atum (*Thunnus albacares*), que foi de 426 g. Os valores de ponto de fusão estão dentro da faixa de temperatura de fusão para gelatinas de mamíferos (25 °C a 31 °C em média), e foram superiores aos encontrados por Cho *et al.* (2005) e Alfaro (2008) que conseguiram temperatura de fusão de 24,3 °C para gelatinas de peles de atum e 25 °C para gelatina extraída de peles de tilápia respectivamente.

Através das figuras 4a, 4b e 4c pôde-se constatar que, para obtenção de gelatinas que apresentem bom rendimento e boas propriedades físicas (força do gel e ponto de fusão), a condição mais adequada foi quando se utilizou maior tempo de pré-tratamento (+1), menor valor de concentração alcalina (-1) e troca de solução de NaOH no pré-tratamento (+1), que corresponde ao experimento 7 da Tabela 4. Arnesen e Gildberg (2006) utilizando condição similar para obtenção de gelatina de cabeças de bacalhau com teor de proteínas de 15% encontrou valor de rendimento superior (faixa de 6%) e menor valor de força do gel (123,2 g).

As características de temperatura da gelatina e do colágeno de pele de pescado, e força do gel refletem a temperatura do habitat natural do peixe. As gelatinas de peixe de água morna possuem maior conteúdo de iminoácidos prolina e hidroxiprolina que gelatinas de peixes de água fria, portanto estas apresentam maiores valores de força do

gel e temperaturas de fusão, se assemelhando às gelatinas de mamíferos (HAUG *et al.*, 2004; MUYONGA *et al.*, 2004).

A Tabela 8 mostra a comparação entre os valores de força do gel e ponto de fusão para a de gelatina das peles de cabeças de carpa comum, extraída na condição mais adequada, e de três marcas de gelatinas comerciais de mamíferos.

Tabela 8 – Valores de força do gel e ponto de fusão para a gelatina das peles de cabeças de carpa comum extraída na condição mais adequada e de três marcas comerciais.

<b>Gelatina</b>	<b>Força do gel (g)*</b>	<b>Ponto de fusão (°C)*</b>
GP	240,3±6,3 <sup>a</sup>	28,5±0,4 <sup>a</sup>
Marca A	323,3±8,6 <sup>b</sup>	30,9±0,3 <sup>b</sup>
Marca B	259,9±8,2 <sup>c</sup>	31,1±0,3 <sup>b</sup>
Marca C	189,8±7,9 <sup>d</sup>	30,0±0,3 <sup>a</sup>

\*Média ± erro padrão (para três repetições); Médias na mesma coluna com letras minúsculas sobrescritas distintas são significativamente diferentes, de acordo com o teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ); GP = gelatina da fração peles/músculos da cabeça de carpa comum.

Os resultados apresentados na Tabela 8 sugerem que a gelatina de carpa mostrou ser uma alternativa às gelatinas de mamíferos. O valor da força do gel encontrou-se no intervalo entre os limites inferior e superior dos valores de força do gel para as gelatinas comerciais. O ponto de fusão encontrado foi próximo aos valores obtidos para gelatinas comerciais de mamíferos. Segundo Karim e Bhat (2008) valores típicos de força do gel para gelatina de pescados oscilam em torno de 270 g. Haug *et. al.* (2004) afirmaram que o teor dos aminoácidos prolina e hidroxiprolina presente na estrutura do colágeno de pescados é menor que o presente no colágeno de mamíferos, o que justifica os valores inferiores encontrados para a gelatina de carpa. As diferenças nos valores podem ser explicadas ainda pelos diferentes métodos de produção de gelatina, e pelas propriedades intrínsecas dos diferentes colágeno.

#### 4. CONCLUSÃO

Gelatina de peles de cabeças de carpa comum foi extraída por diferentes condições de pré-tratamento, variando-se a concentração alcalina, tempo de pré-tratamento, e pré-tratamento com e sem troca de solução de NaOH. O maior rendimento (2,27%) representou 29% das proteínas colagênicas recuperadas das peles das cabeças

de carpa comum na forma de gelatina, e foi obtido na concentração de solução de NaOH 3 mol L<sup>-1</sup>, pré-tratamento de 45 min e sem a realização de troca de solução alcalina.

A gelatina apresentou maior força do gel (298,7 g) e maior temperatura de ponto de fusão (29°C) à concentração de solução de NaOH 3 mol L<sup>-1</sup>, pré-tratamento de 105 min e sem a realização de troca de solução alcalina. Estes valores foram similares aos encontrados para gelatinas comerciais de mamíferos.

A condição de pré-tratamento mais adequada, considerando as respostas do presente estudo, para extração de gelatina das peles de cabeças de carpa comum, ocorreram ao se utilizar menor tempo de pré-tratamento (45 min), maior valor de concentração alcalina (4 mol L<sup>-1</sup>) e troca de solução de NaOH. Nesta condição, os valores encontrados foram 1,98 g<sub>gelatina</sub>/100 g<sub>cabeças</sub>, 240,3 g e 28,5°C para o rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão, respectivamente.

## 5. REFERÊNCIAS

ALFARO, A.T. **Otimização das Condições de Extração e Caracterização da Gelatina de Pele de Tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*)**. Tese, Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas. 130p. Pelotas, 2008.

AOAC. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis of AOAC international. 16th ed. Arlington, 1995.

ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. **Process Biochemistry**. v. 41, n. 3, p. 697-700, 2006.

ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction and characterisation of gelatin from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource Technology**. v. 98, n. 1, p. 53-57, 2007.

BANDEIRA, S. F. **Extração e caracterização da gelatina obtida de cabeças de carpa (*Aristichthys mobilis*)**. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande. 72p. Rio Grande, 2009.

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. *Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building*. Wiley & Sons, Inc, New York, ed 1., 1978.

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

CAMARGO, S. G. O.; POUHEY, J. L. O. F. Aquicultura - um mercado em expansão. **R. Bras. Agrociência**. v. 11, n. 4, p. 393-396, 2005.

CHO, S. M.; KWAK, K. S.; PARK, D. C.; GU, Y. S.; JI, C. I.; JANG, D. H.; LEE, Y. B.; KIM, S. B. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. **Food Hydrocolloids**. v. 18, n. 4, p. 575-579, 2004.

CHO, S. M. GU, Y. S.; KIM, S. B. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**. v. 19, n. 2, p. 221-229, 2005.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. **Journal of Food Science**. v. 65, n. 2, p. 194-199, 2000.

COLE, C. G. B. Gelatin Food Science. Disponível em <<http://www.gelatin.co.za>>. Acesso em 18 de fev. 2010.

CREXI, V. T.; GRUNENVALDT, F. F.; SOARES, L. A. S.; PINTO, L. A. A. Refino de óleos de corvina (*Micropogonias furnieri*) provenientes dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha. **Instituto Adolfo Lutz**. v. 66, n. 1, p. 50-56, 2007.

ECHEVENGUÁ, M. M.; FIGUEIREDO, M. R. C.; ABDALLAH, P. R. Avaliação Econômica de um Policultivo de Carpas Chinesas por Pequenos Produtores Rurais e Pescadores Artesanais de Rio Grande e São José do Norte-RS. **Sinergia**. v. 11, n. 1, p. 9-16, 2007.

ECHEVENGUÁ, M. M.; ECHEVENGUÁ, W. O.; CARBONERA, A. A.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; FIGUEIREDO, M. R. C. Qualidade da polpa da carpa Húngara transportada viva ou no gelo. **Ciência Rural [online]**. v. 38, n. 7, p. 2004-2010, 2008.

GELITA. The Gelatine Group. Disponível em <<http://www.gelita.com>>. Acesso em 26 de fev. 2010.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Extraction of gelatin from megrim (*Lepidorhombus boscii*) skins with several organic acids. **Journal of Food Science**. v. 66, n. 2, p. 213-216, 2001.

HAUG, I. J.; DRAGET, K. I.; SMIDSR\_D, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**. v. 18, n. 2, p. 202-213, 2004.

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

KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**. v. 23, n. 3, p. 563-576, 2008.

KASANKALA, L. M.; XUE, Y.; WEILONG, Y.; HONG, S. D.; HE, Q. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish by response surface methodology. **Bioresource Technology**. v. 98, n. 17, p. 3338-3343, 2007.

KLOMKLAO, S.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KISHIMURA, H.; SIMPSON, B. K. Purification and characterization of trypsins from the spleen of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Food Chemistry**. v. 100, n. 4, p. 1580–1589, 2007.

KOŁODZIEJSKA, I; SKIERKA, E; SADOWSKA, M; KOŁODZIEJSKI, W; NIECIKOWSKA, C. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**. v. 107, n. 2, p. 700-706, 2008.

MUYONGA, J. H.; COLE, C.G.B.; DUODU, K.G.. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 81–89, 2004.

PARDI, M. C.; SANTOS, F. I.; SOUZA, E. R; PARDI, H. S. *Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne*. v. 2, CEGRAF/EDUF, Goiânia, 1996.

QUEROL, E.; AZEVEDO, C. L. DE O.; PESSANO, E. F. C.; QUEROL, M. V. M. . Ocorrência da carpa húngara *Cyprinus carpio* (LINNAEUS, 1758) e disseminação parasitária, no arroio Felizardo, bacia do Meio rio Uruguai, Uruguaiana, RS, Brasil. **Biodiversidade Pampeana (Online)**, v. 3, n. 1, p. 21-23, 2005.

STEVANATO, F. B. **Aproveitamento de cabeças de tilápia de cativeiro na forma de farinha como alimento para merenda escolar**. Dissertação, Mestrado em Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

WANG, L.; YANG, B.; DU, X.; YANG, Y.; LIU, J. Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. ***Food Science and Emerging Thecnologies***. v.9, n. 4, p. 604-607, 2008.

YANG, H. WANG, Y.; JIANG, M.; OH, J. H.; HERRING, J.; ZHOU, P. 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelatin. ***Food Chemistry and Toxicology***. v. 72, n. 4, 2007.

YANG, H.; WANG, Y.; ZHOU, P.; REGENSTEIN, J. M. Effects of alkaline and acid pretreatment on the physical properties and nanostructures of the gelatin from channel catfish skins. ***Food Hydrocolloids***. v. 22, n. 8, p. 1541-1550, 2008.

ZHOU, P.; REGENSTEIN, J. M. Effects of alkaline and acid pretreatments on Alaska Pollock skin gelatin extraction. ***Journal of Food Science***. v. 70, n. 6, 2005.

## ARTIGO II - INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA DOS OSSOS DE CABEÇAS DE CARPA COMUM (*Cyprinus carpio*) NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE GELATINA

### RESUMO

A carpa comum (*Cyprinus carpio*) é um dos peixes mais comercializados no mundo, o que favorece geração de grande quantidade de rejeitos ricos em colágeno, mal aproveitados por determinadas indústrias pesqueiras. Estes rejeitos são constituídos por víscera, pele e osso. Este último, pouco explorado, apesar do conteúdo em osseína presente na sua estrutura, e cujo rendimento de sua extração é influenciado pela granulometria dos ossos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da granulometria dos ossos no rendimento, ponto de fusão e força do gel das gelatinas extraídas da fração óssea, remanescente do processo de extração de gelatina das peles das cabeças de carpa comum. Foram utilizadas as granulometrias de 1 e 2 mm, e as médias dos resultados comparadas pela aplicação do teste de Tukey, com intervalo de 95% de confiança. Foram realizadas quatro extrações com pH e temperaturas de cada extração de 5,3-60 °C, 4,4-70 °C, 3,8-80 °C e 3,6-85 °C. O maior rendimento em gelatina (4,86%) foi obtido na granulometria de 1 mm. Os maiores valores de força do gel (128,2 e 131,5 g) não apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) e foram encontrados na primeira extração das granulometrias de 1 e 2 mm, respectivamente. Na fração óssea a 2 mm, foi onde se obteve o maior valor de ponto de fusão (28,5 °C) para a primeira extração. Todos os valores das respostas consideradas foram inferiores aos encontrados nas gelatinas obtidas das peles das cabeças de carpa.

**Palavras-chave:** cabeças de carpa, gelatina, ossos de pescado, rejeito de pescado.

## ABSTRACT

Common carp (*Cyprinus carpio*) is the fish most commonly traded in the world, which favors generation a large amount of waste, rich in collagen, not always used by fisheries industries. These fish waste are generally consisting of offal, skins, heads and bones, rich in collagen. The last one, little explored, although the content in this ossein in its structure, and whose income from the extraction process is influenced by the size of the bones. The aim of this study was to evaluate the influence of particle size of the bones in the gelatin yield, melting point and gel strength of gelatin extracted from the bone fraction remaining from extraction of gelatin from skins of the common carp head, through the average results comparison by the Tukey test, where differences were considered significant at  $p \leq 0.05$ . It was used four extraction with pH and temperature of each extraction 5.3-60 °C, 4.4-70 °C, 3.8-80 °C and 3.6-85 °C. The higher gelatin yield was achieved with size 1 mm (4.86%). The higher gel strength (128.2 and 131.5 g) were not significantly difference, and they were found in the first extraction with bones size 1 and 2 mm, respectively. Using 2 mm of granulometry, it was possible to obtain the higher melting point values, being 28.5 °C to the first extraction. All values were lower than those found by the gelatins from skins of the head of carp. All values were lower than the responses found by the gelatins from skins of the head of carp.

**Keywords:** carp head, fish bones, fish waste, gelatin.

## 1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos saudáveis vêm estimulando a busca por alternativas para formas de cultivo de peixes que complementem a produção natural e que tenham capacidade de suprir a demanda mundial de pescado, buscando também a sustentabilidade econômica e ambiental. Neste caso, foi necessário desenvolver tecnologia para produção em grande escala de peixes cultivados em águas interiores e no mar (ANDRADE e YASUI, 2003). O Brasil é considerado um dos países com maior potencial para expansão da piscicultura, principalmente pela extensão dos recursos hídricos e pela diversidade de microclimas e áreas adequadas ao desenvolvimento da atividade (CAMARGO e POUHEY, 2005; CARNEIRO *et al.*, 2004).

Nas diferentes etapas da cadeia produtiva da piscicultura e devido à heterogeneidade de crescimento dos peixes durante a produção, pode ocorrer o descarte desses animais, quando não atingem o tamanho comercial, sendo possível a sua utilização como rejeitos da produção. Sendo assim, a necessidade do aproveitamento integral dos rejeitos gerados pelo cultivo de peixes é crescente, principalmente devido à porcentagem elevada dos rejeitos após filetagem que tem sido um problema para o produtor ou para o abatedouro (BUENO, 2008). A maioria destes rejeitos são frequentemente utilizados para produção de óleo de pescado, ração animal e fertilizante. Entretanto, estes novos produtos apresentam baixo valor agregado (KIM e MENDIS, 2006).

A carpa comum (*Cyprinus carpio*) está entre as espécies peixe com maior distribuição nacional, sendo que seu cultivo foi registrado oficialmente em 14 estados. Responsável por 51,6% (aproximadamente 23 mil toneladas) da produção nacional, o Rio Grande do Sul é o principal produtor (OSTRENSKY *et al.*, 2007). Os resíduos gerados durante o processamento da carpa (peles, cabeças, espinhaços e vísceras) podem totalizar 60% da matéria-prima (KOŁODZIEJSKA *et al.*, 2008), sendo que para a carpa comum as cabeças representam aproximadamente 22% da matéria-prima (ECHEVENGUÁ *et al.*, 2008).

Em todo o mundo a busca por gelatina não para de crescer. Segundo a Gelatine Manufacturing of Europe - GME (2010) a produção mundial anual de gelatina é de quase 326 mil toneladas, sendo as originárias de peles de suínos responsáveis por 46% do total, as de couros de bovinos por 29,4%, ossos 23,1%, e de outras fontes 1,5%.

A gelatina é um biopolímero funcional importante que é amplamente utilizado em alimentos para melhorar a elasticidade, consistência e estabilidade (ZHOU e REGENSTEIN, 2005). É um polipeptídeo solúvel derivado do colágeno insolúvel. O

procedimento para converter o colágeno em gelatina solúvel envolve a quebra de ligações cruzadas entre cadeias polipeptídicas do colágeno, em meio ácido ou alcalino. Quando os tecidos que contêm colágeno são submetidos a processos de degradação leve, a estrutura fibrosa do colágeno é dividida de forma irreversível e, então, a gelatina é formada (YANG *et al.*, 2007). As principais matérias-primas utilizadas na produção de gelatina são ossos e couros bovinos, pele suína, além peles e ossos de pescado (KIM e MENDIS, 2006).

O processo industrial de obtenção da gelatina consiste de três etapas: o pré-tratamento de matéria-prima, a extração da gelatina e a purificação/secagem. A preparação industrial envolve a hidrólise controlada da estrutura organizada do colágeno para obter gelatina solúvel, através de um pré-tratamento ácido ou alcalino da matéria-prima. É este processo que define o tipo de gelatina extraída. Gelatinas obtidas por pré-tratamento ácido são designadas do tipo A, enquanto que as do tipo B são as obtidas por pré-tratamento alcalino (KARIM e BHAT, 2008).

Diversos estudos têm abordado as propriedades de gelatinas de peles de pescado mostrando que as suas propriedades diferem das gelatinas de mamíferos e variam entre as espécies. A literatura sobre gelatinas de ossos de pescado, no entanto, é limitada (MUYONGA *et al.*, 2004a), mas sabe-se que a granulometria dos ossos causa certo efeito no rendimento de extração (NICOLAS-SIMONNOT *et al.*, 1997). No Brasil os ossos – apesar de seu conteúdo em osseína, que é um importante elemento colagênico – não são aproveitados como matéria-prima na fabricação de gelatina comestível. São usados na elaboração de colas e na produção de filmes fotográficos, sempre mais valorizados, porém exigem técnicas mais sofisticadas e dispendiosas (PARDI *et al.*, 1996).

As propriedades funcionais das gelatinas são dependentes das suas propriedades físico-químicas e estruturais, que serão determinantes para definir sua aplicabilidade. A força do gel é a principal propriedade reológica da gelatina, e o seu valor comercial está baseado principalmente no seu valor de força do gel, que é o poder geleificante (CHOI e REGENSTEIN, 2000). Outra característica importante é a temperatura na qual uma solução de gelatina muda do estado sólido ao estado líquido e vice-versa (temperatura de solidificação/fusão). As gelatinas de alto bloom têm altas temperaturas de solidificação (COLE, 2010). O teor de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina) é de particular importância para ambas propriedades, onde gelatinas com altos níveis destes iminoácidos tendem a uma maior força do gel e ponto de fusão (ARNESEN e GILDBERG, 2006; MUYONGA *et al.*, 2004b).

Este trabalho teve por objetivo avaliar, na extração de gelatina, a influência da granulometria dos ossos das cabeças de carpa comum (*Cyprinus carpio*), remanescentes do processo de extração de gelatina das peles das cabeças deste pescado.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Matéria-prima**

As matérias-primas utilizadas como fonte de colágeno para a produção de gelatina foram cabeças de carpa comum (*Cyprinus carpio*). As cabeças, descartadas na industrialização do pescado, foram obtidas de piscicultores da cidade de Roca Sales-RS.

O material foi acondicionado em caixas com gelo e transportados até o Laboratório de Operações Unitárias da Escola de Química e Alimentos (EQA), da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), onde permaneceram armazenados em freezer (Consul CHB53C, Brasil) dentro de embalagens plásticas à temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , até serem utilizados. Os reagentes químicos utilizados nas análises foram todos de grau analítico.

O preparo das amostras foi realizado segundo metodologia aplicada por Arnesen e Gildberg (2006) adaptada por Bandeira (2009). As cabeças de carpa comum, com no máximo 90 dias de estocagem, foram descongeladas a  $4^{\circ}\text{C}$  por aproximadamente 20 h, para em seguida, serem moídas na granulometria de 5 mm em moinho de facas (Wiley Mill Standard, model nº 3, EUA). Em cada experimento foi utilizado aproximadamente 1 kg de cabeça de carpa. As amostras foram lavadas com água (1:6 p/v) a  $4^{\circ}\text{C}$  por 10 min, e centrifugadas (Centrífuga Sigma 94317, Alemanha) a 7000 g por 5 min para eliminação do excesso de água.

### **2.2. Pré-tratamento das amostras e Extração da gelatina**

Na Figura 1 é apresentado o fluxograma do pré-tratamento da matéria-prima e extração de gelatina das cabeças de carpa comum.

Os pré-tratamentos das peles e ossos das cabeças de carpa e as condições de extrações das gelatinas seguiram metodologia aplicada por Arnesen e Gildberg (2006) adaptada por Bandeira (2009). Após extração da gelatina das peles das cabeças, os ossos remanescentes do processo foram submetidos à secagem com circulação de ar à temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C}$ ) por 10 h. Em seguida, os ossos secos foram moídos de

acordo com as granulometrias de estudo (1 e 2 mm), para serem submetidos ao pré-tratamento ácido. O material foi suspenso em HCl 0,6 mol L<sup>-1</sup> por 20 h em banho termostático (Quimis 214 D 2, Brasil) à temperatura de 10°C, posteriormente centrifugados (Sigma 94317, Alemanha) a 4000 g por 15 min para remoção do excesso de ácido, e lavados com água destilada (1:4 p/v).

Foram realizadas quatro extrações, em banho termostático (Quimis 214 D 2, Brasil), com adição de água destilada (1:1 p/v), em pH (pHmetro Marte MB10/MB-10P, Brasil) e temperaturas de cada extração de 5,3-60°C, 4,4-70°C, 3,8-80°C e 3,6-85°C, respectivamente, por 30 min. As soluções de gelatina extraídas da fração óssea foram filtradas em funil de Büchner com papel filtro Whatman nº 4.

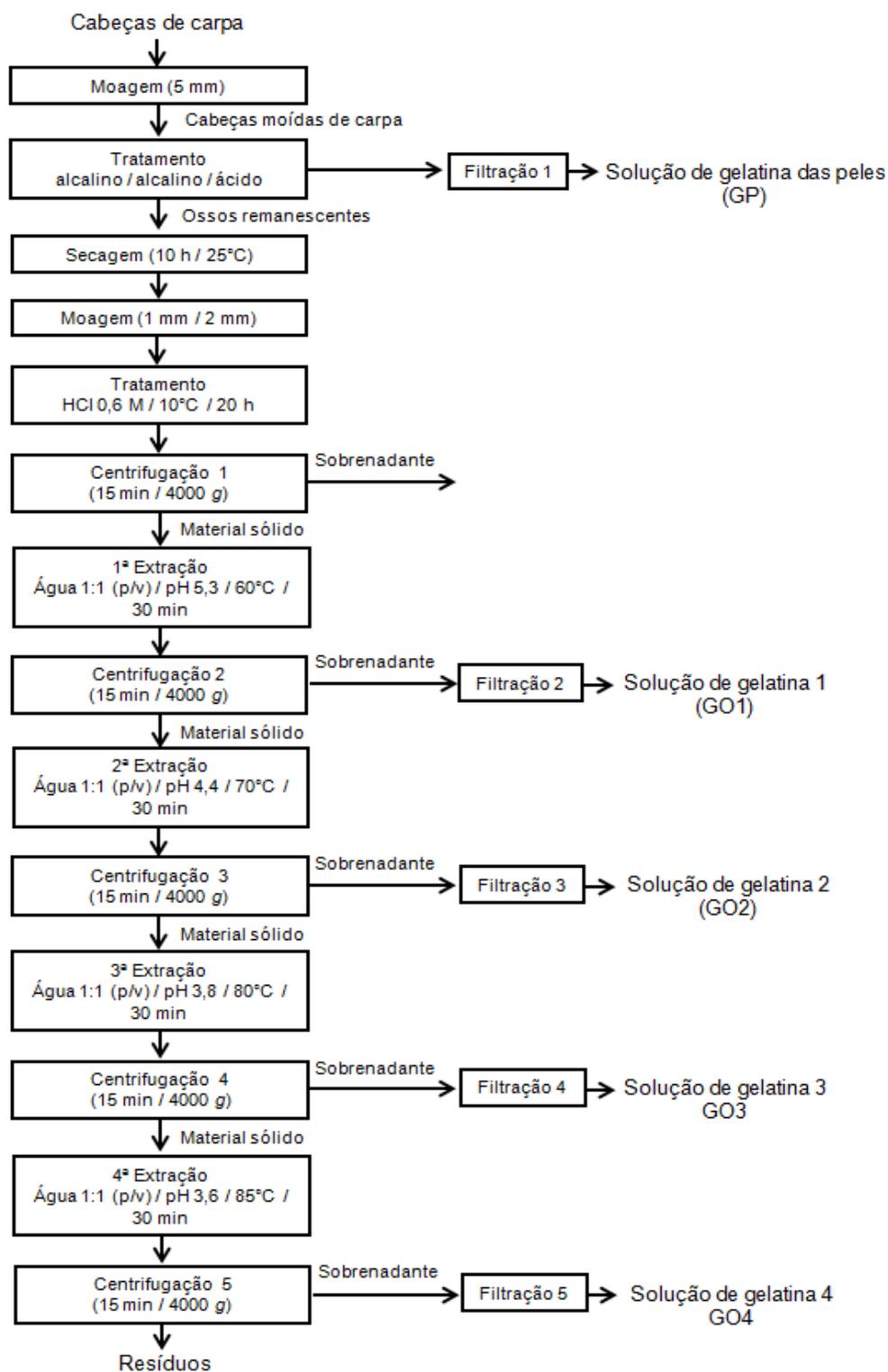


Figura 1 – Fluxograma do processo de pré-tratamento e extração de gelatina de peles e ossos de cabeças de carpa comum.

### 2.3. Composição química das amostras

Os procedimentos para determinação das composições químicas das cabeças moídas e dos ossos seguiram as metodologias da AOAC (1995). A umidade foi determinada de acordo com o método gravimétrico (nº 950.46) em estufa a 105 °C. O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl (nº 928.08), tendo-se o teor de proteína bruta obtida através da multiplicação pelo fator 6,25. O conteúdo de lipídios foi determinado pelo método de Soxhlet (nº 960.39), e cinzas por método gravimétrico (nº 920.153) em mufla a 500-600 °C.

### 2.4. Caracterização das soluções de gelatina

#### 2.4.1. Rendimento em gelatina

Para determinação do rendimento foi utilizado o método descrito por Yang *et al.*, (2008). A concentração da solução de gelatina foi determinada por refratômetro (Atago nº 1, Japão) e o rendimento calculado segundo a Equação 1.

$$RG = \left( \frac{C_{\text{gelatina}} \cdot V_{\text{solução}}}{m_{\text{cabeça}}} \right) \quad (1)$$

onde RG é o rendimento em gelatina ( $g_{\text{gelatina}}/100g_{\text{cabeças}}$ ),  $C_{\text{gelatina}}$  a concentração de proteínas da solução de gelatina (g/mL),  $V_{\text{solução}}$  o volume da solução de gelatina extraída (mL) e  $m_{\text{cabeça}}$  a massa da cabeça moída (g).

#### 2.4.2. Força do gel

A força do gel foi determinada baseando-se na metodologia aplicada por Zhou e Regenstein (2005). As soluções de gelatina extraídas foram diluídas à concentração de 3,3% com água destilada, aquecidas a 40 °C em banho termostatizado (Quimis 214 D 2, Brasil) por 30 min. Cada diluição teve 10 mL adicionados a frascos preparados para esta análise (25 x 54 mm, fundo liso). Os frascos com as diluições foram levados ao refrigerador (Eletrolux R 250, Brasil) para que as soluções fossem maturadas a 7 °C por 17±1 h. Termômetro foi usado para acompanhamento das temperaturas.

A força do gel (em g) das gelatinas foi medido em analisador de textura (TA.XTplus, Stable Micro Systems, Inglaterra), usando sonda de teflon com 12,5 mm de

diâmetro pressionando 4 mm na gelatina a velocidade de 1 mm/s. As determinações foram feitas com três repetições.

#### *2.4.3. Ponto de fusão*

A determinação do ponto de fusão foi realizada segundo Choi e Regenstein (2000). Soluções de gelatina a 3,3% foram preparadas e uma alíquota de 5 mL foi transferida para pequenos tubos de ensaio. Os tubos foram submetidos ao aquecimento em banho termostatzado (Quimis 214 D 2, Brasil) a 60°C por 15 min, resfriados em banho de gelo e, em seguida, maturados a 10°C em refrigerador (Eletrolux R 250, Brasil) por 17±1 h. A etapa seguinte compreendeu a adição de cinco gotas de uma mistura de 75% de clorofórmio e 25% de corante azul de metileno sobre o gel. Os tubos contendo os géis foram colocados em banho termostatzado (Quimis 214 D 2, Brasil) a 15°C tendo sua temperatura elevada em 0,5°C a cada 5 min. O ponto de fusão foi o valor da média entre a temperatura em que fosse possível visualizar o momento da penetração das gotas da mistura com o corante nas soluções, e a temperatura em que as soluções encontraram-se completamente coradas.

#### **2.5. Balanço de massa e de proteínas no processo**

Os balanços de massa e de proteínas foram realizados retirando-se aproximadamente 25 g como alíquotas (em triplicata), após cada etapa dos processos de obtenção de gelatina das peles e dos ossos (moagem das cabeças, lavagem, pré-tratamento alcalino para as peles, pré-tratamento ácido para as peles, extração da gelatina das peles, pré-tratamento ácido para os ossos, e extrações das gelatinas dos ossos).

Para realização dos balanços, foi utilizado apenas um experimento com e um experimento sem a realização de troca de solução alcalina no pré-tratamento, sendo considerada a condição em que se obteve o maior rendimento em gelatina. Os valores obtidos para os balanços foram expostos em percentual.

## 2.6. Metodologia estatística

A análise estatística dos dados foi efetuada por meio de análises de variância (ANOVA) e do teste de Tukey, o qual foi utilizado para determinar as diferenças significativas nas médias das análises realizadas nas gelatinas, com intervalo de 95% de confiança ( $p \leq 0,05$ ). O programa computacional Statistica® 6.0 (Stasoft, USA) foi utilizado para os cálculos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Composição química das amostras

As composições centesimais das cabeças moídas e dos ossos das cabeças de carpa comum após as etapas de extração da gelatina das peles e secagem estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição química das amostras de cabeças moídas e dos ossos das cabeças de carpa comum após a extração de gelatina das peles das cabeças e secagem (em base úmida).

	Cabeças moídas*	Ossos remanescentes*
Umidade (%)	75,9±1,4	15,1±0,9
Cinzas (%)	9,2±0,7	51,2±1,7
Proteínas (%)	9,7±0,6	28,3±1,3
Lipídios (%)	3,6±0,6	3,3±0,5

\*Média ± erro padrão (para três determinações).

Mesmo com a eliminação de proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas (proteínas não-colagênicas) durante o pré-tratamento da matéria-prima (cabeças moídas) para extração de gelatina das peles, o nível de proteínas nos ossos das cabeças mantiveram-se elevados, conforme mostra a Tabela 1. A redução total de proteínas não foi refletida em percentual, uma vez que a umidade do material ósseo foi reduzida em maiores proporções.

A Tabela 1 mostra que o teor de umidade encontrado para os ossos das cabeças de carpa comum foi inferior ao encontrado por Alfaro *et al.* (2004) para ossos de carcaças de pescada cujo valor ficou em torno de 44%, e por Bandeira (2009) para cabeças de

carpa cabeça grande, que encontrou valores próximos de 25%. Todos os outros valores, com exceção de lipídios, foram superiores aos apresentados por estes autores. Alfaro *et al.* (2004) determinou teores de 14,6% e 34,8% para proteínas e cinzas respectivamente, enquanto que os encontrados por Bandeira (2009) foram 16,5% e 48,5%. O conteúdo de lipídios mostrou-se próximo ao valor encontrado por Alfaro *et al.* (2004), que determinou para os ossos de carcaças de pescada 3,9%, e inferior ao encontrado por Bandeira (2009) para ossos da cabeça de carpa cabeça grande que foi de 5,5%

A grande diferença de valores na composição centesimal dos ossos remanescentes em relação aos valores de Alfaro *et al.*, (2004) e Bandeira (2009), podem ter se dado pela etapa de secagem a 25°C, não utilizada por estes autores antes da retirada da alíquota para determinação da composição centesimal dos ossos. A redução de umidade no material é responsável pela elevação do teor dos outros componentes. O alto teor de cinzas é decorrente da elevada quantidade de minerais presentes na fração óssea, o que pode indicar, ao final do processo de produção de gelatina, conteúdo elevado de cálcio e outros minerais presentes. O baixo teor de lipídios pode estar relacionado ao pré-tratamento alcalino, que pode ter sido suficiente para remoção dos mesmos.

### **3.2. Rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão**

Os valores do rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão para a gelatina extraída das peles de cabeça de carpa comum, segundo metodologia de Arnesen e Gildberg (2006), foram  $2,01 \pm 0,08$  g<sub>gelatina</sub>/100g<sub>amostra</sub>,  $243,3 \pm 7,7$  g e  $28,6 \pm 0,2$ °C, respectivamente.

As Tabelas 2, 3 e 4 expressam os valores para o rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão obtidos nas quatro extrações de gelatina dos ossos das cabeças de carpa comum, nas granulometrias de 1 e 2 mm.

Tabela 2 – Rendimentos em gelatina obtidos após as extrações de gelatina dos ossos das cabeças de carpa nas granulometrias de 1 e 2 mm.

	T <sub>extração</sub> (°C)	Rendimento (g <sub>gelatina</sub> /100 g <sub>cabeça</sub> )*	
		1 mm	2 mm
GO1	60	1,54±0,06 <sup>a, A</sup>	1,40±0,05 <sup>b, A</sup>
GO2	70	1,23±0,05 <sup>a, B</sup>	0,93±0,04 <sup>b, B</sup>
GO3	80	1,43±0,08 <sup>a, C</sup>	1,07±0,07 <sup>b, C</sup>
GO4	85	0,66±0,08 <sup>a, D</sup>	0,82±0,06 <sup>b, D</sup>
Total		4,86±0,08 <sup>a</sup>	4,23±0,13 <sup>b</sup>

\*Média ± erro padrão (para duas repetições); GO1 = gelatina da primeira extração da fração óssea; GO2 = gelatina da segunda extração da fração óssea; GO3 = gelatina da terceira extração da fração óssea; GO4 = gelatina da quarta extração da fração óssea. Médias na mesma linha com letras minúsculas sobrescritas distintas e médias na mesma coluna com letras maiúsculas sobrescritas distintas são significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 3 – Força do gel para as gelatinas extraídas dos ossos das cabeças de carpa nas granulometrias de 1 e 2 mm.

	T <sub>extração</sub> (°C)	Força do gel (g)*	
		1 mm	2 mm
GO1	60	128,2±1,8 <sup>a, A</sup>	131,5±3,2 <sup>a, A</sup>
GO2	70	108,2±2,0 <sup>b, B</sup>	123,6±3,1 <sup>a, A</sup>
GO3	80	96,7±4,1 <sup>a, C</sup>	93,6±3,9 <sup>a, B</sup>
GO4	85	74,4±4,3 <sup>a, D</sup>	54,7±3,5 <sup>b, C</sup>

\*Média ± erro padrão (para duas repetições); GO1 = gelatina da primeira extração da fração óssea; GO2 = gelatina da segunda extração da fração óssea; GO3 = gelatina da terceira extração da fração óssea; GO4 = gelatina da quarta extração da fração óssea. Médias na mesma linha com letras minúsculas sobrescritas distintas e médias na mesma coluna com letras maiúsculas sobrescritas distintas são significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 4 – Ponto de fusão para as gelatinas extraídas dos ossos das cabeças de carpa nas granulometrias de 1 e 2 mm.

	T <sub>extração</sub> (°C)	Ponto de fusão (°C)*	
		1 mm	2 mm
GO1	60	26,2±0,3 <sup>a, A</sup>	27,8±0,3 <sup>b, A</sup>
GO2	70	25,0±0,4 <sup>a, B</sup>	27,3±0,3 <sup>b, A</sup>
GO3	80	23,2±0,2 <sup>a, C</sup>	26,5±0,3 <sup>b, B</sup>
GO4	85	22,1±0,2 <sup>a, D</sup>	24,6±0,2 <sup>b, C</sup>

\*Média ± erro padrão (para duas repetições); GO1 = gelatina da primeira extração da fração óssea; GO2 = gelatina da segunda extração da fração óssea; GO3 = gelatina da terceira extração da fração óssea; GO4 = gelatina da quarta extração da fração óssea. Médias na mesma linha com letras minúsculas sobrescritas distintas e médias na mesma coluna com letras maiúsculas sobrescritas distintas são significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores de rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão para a gelatina extraída das peles da cabeça de carpa, foram maiores que os valores encontrados para as gelatinas extraídas dos ossos da cabeça deste pescado (Tabelas 2, 3 e 4). Arnesen e Gildberg (2006) afirmaram que a utilização de condições mais severas na extração de gelatina de ossos frente às de peles, é devido as cadeias do colágeno ósseo apresentarem ligações cruzadas mais estáveis, e pela presença da estrutura mineral que confere proteção física aos mesmos. Por este motivo, o rendimento individual por extração e as características físicas da gelatina das peles de cabeça de carpa foram superiores as dos ossos.

A Tabela 2 mostra que todas as extrações de gelatina de ossos de cabeça de carpa apresentaram diferença significativa ao nível de 95% para os rendimentos. Como podem ser observados, os rendimentos médios em gelatina foram maiores ou similares aos encontrados por Bandeira (2009) para extração de gelatina da fração óssea das cabeças de carpa cabeça grande (4,1%), sendo que para a granulometria de 1 mm o rendimento foi maior que o encontrado para a granulometria de 2 mm. Liu *et al.* (2008) caracterizaram gelatina extraída de ossos de cabeça de bagre com granulometria de 0,5 mm, e obtiveram rendimento máximo de 8,4%. Nicolas-Simonnot *et al.* (1997) relataram maior rendimento em gelatina, quando a extração foi feita de partículas muito pequenas (0,125-0,25 mm). Isto justifica os maiores valores do rendimento para os ossos de granulometria de 1 mm. A redução no tamanho das partículas é responsável pela elevação do rendimento do processo, pois quanto maior a superfície de contato dos ossos no pré-tratamento ácido, maior será a desmineralização.

A Tabela 3 mostra que não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os valores de força do gel da primeira extração de gelatina da fração óssea das cabeças de carpa comum nas duas granulometrias, e que houve diferença ao nível de 95% em cada extração, considerando a mesma granulometria, sendo que os maiores valores foram inferiores aos encontrados por Muyonga *et al.* (2004a) para os ossos de cabeças de perca-do-Nilo a 50 °C (179 g) e Bandeira (2009) para ossos de cabeças de carpa cabeça grande, cujos valores foram de 158,6 e 88,9 g para a primeira e quarta extrações, respectivamente. Os resultados mostram que a força do gel foi reduzida com aumento da temperatura de extração para ambas granulometrias. Segundo Arnesen e Gildberg (2006) os valores de força do gel são inversamente proporcionais ao aumento de temperatura na extração.

A Tabela 4 mostra que, similar ao comportamento de força do gel, os maiores pontos de fusão foram encontrados em menores temperaturas de extração, e que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os valores de cada extração para uma mesma

granulometria, sendo os valores dos pontos de fusão para a gelatina extraída de ossos com granulometria de 2 mm, maiores que os da extraída dos ossos de 1 mm. Arnesen e Gildberg (2006) utilizaram o mesmo diâmetro ao avaliarem as propriedades viscoelásticas das soluções de gelatina de ossos da cabeça de bacalhau, e relataram que as temperaturas de fusão encontradas para a duas primeiras extrações foi de 25,1 e 22,9°C, respectivamente, sendo estes valores inferiores aos encontrados para a primeira e segunda extrações de gelatina dos ossos da cabeça de carpa comum.

Estudo realizado por Liu *et al.* (2008), para ossos de cabeça de bagre (*Ictalurus Punctatus*), mostrou o mesmo comportamento, tendo como valores máximo e mínimo 25,1 e 20,7°C respectivamente, na granulometria de 0,5 mm. Bandeira (2009) encontrou valor menor (25,8°C) para o ponto de fusão de gelatina extraída dos ossos de cabeça de carpa cabeça grande com 2 mm de granulometria, que o maior valor apresentado na Tabela 5 na mesma granulometria. Segundo Liu *et al.* (2008), há uma relação entre o ponto de fusão e o massa molar da gelatina, onde gelatinas com maiores massas moleculares sempre apresentarão maiores pontos de fusão.

Arnesen e Gildberg (2006) comprovaram pela distribuição de massa molar, que o tamanho das cadeias peptídicas diminui com o aumento do número de extrações. Provavelmente a redução nos valores de força do gel e ponto de fusão tenha se dado por uma maior taxa de hidrólise química de proteínas em virtude da maior superfície de contato do material com menor granulometria (MUYONGA *et al.*, 2004a).

### **3.3. Balanço de massa e de proteínas no processo**

A Figura 2 mostra o balanço global de massa e de proteínas para o processo de obtenção de gelatina de cabeças de carpa comum.

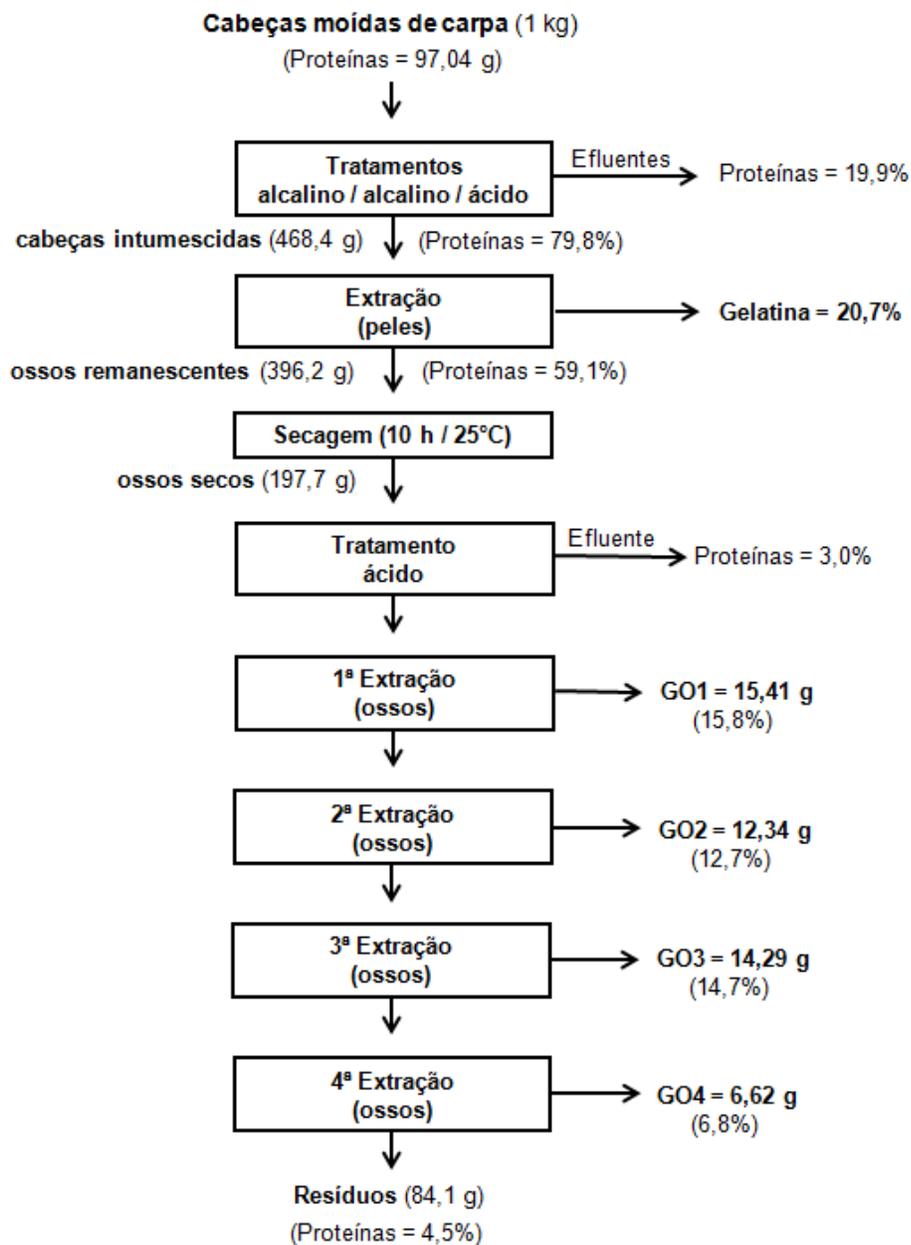


Figura 2 – Balanço global de massa e de proteínas para o processo de obtenção de gelatina de cabeça de carpa comum.

As cabeças moídas de carpa (1 kg) após passarem pelas etapas de pré-tratamento (intumescimento das cabeças) tiveram sua massa reduzida em aproximadamente 55% da massa inicial. O valor do material sólido (ossos) remanescente da extração de gelatina das peles das cabeças representou cerca de 40% da massa inicial das cabeças de carpa. Ao fim do processo de extração de gelatina de cabeças de carpa comum (peles e ossos) 8,4% da massa inicial das cabeças representaram os resíduos. Considerando apenas o processo de obtenção de gelatina dos ossos das

cabeças, ao fim das quatro extrações os resíduos representaram 21% da massa inicial dos ossos remanescentes antes da etapa de secagem. A etapa de desmineralização foi responsável por redução de grande parte da massa dos ossos (aproximadamente 43%), que foram eliminadas com o efluente.

A Figura 2 mostra ainda que a recuperação de proteínas na forma de gelatina extraída da cabeça de carpa comum ficou na faixa de 71%, sendo a recuperação da gelatina extraída apenas dos ossos da cabeça cerca de 85%. Além disso, aproximadamente 1,5% de proteínas foram perdidas no processo. Estas perdas aconteceram por arraste de material com o efluente.

#### **4. CONCLUSÃO**

O rendimento total em gelatina extraída da fração óssea foi maior para a granulometria de 1 mm (4,86%), entretanto as extraídas dos ossos com granulometria de 2 mm apresentaram melhores características físicas, sendo que para a força do gel não houve diferença significativa entre as granulometrias utilizadas para a primeira e terceira extrações. As gelatinas extraídas das peles da cabeça de carpa mostraram maior rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão quando comparadas às gelatinas extraídas de ossos.

O rendimento total em gelatina obtida das cabeças de carpa comum (peles e ossos) foi de 6,87% em relação as amostras de cabeças moídas. A recuperação de proteínas dos ossos das cabeças de carpa comum na forma de gelatina ficou na faixa de 85% e a recuperação total de proteínas na forma de gelatina das cabeças de carpa foi maior que 70%.

A condição de processo mais adequada na obtenção de gelatina de ossos de cabeça de carpa comum se deu ao se utilizar granulometria de 2 mm. Nesta condição se obteve valores de rendimento em gelatina consideráveis e melhores característica físicas do gel, quando comparado ao processo em que se utilizou granulometria de 1 mm.

## 5. REFERÊNCIAS

ALFARO, A. T.; COSTA, C. S.; JESUS, F. R.; COSTA, R.; KUHN, C.; BORGES, C.; PRENTICE, C. Processamento e caracterização de gelatina de ossos de pescada (*Macrodon ancylodon*). In: XIII Congresso de Iniciação Científica e VI Encontro de Pós-Graduação – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004. Disponível em <[http://www.ufpel.edu.br/cic/2004/arquivos/conteudo\\_CA.html#01245](http://www.ufpel.edu.br/cic/2004/arquivos/conteudo_CA.html#01245)>. Acesso em 05 de dez. 2009.

ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S.; O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Reprodução Animal**. v.27, n. 2, p.166-172, 2003.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC international. 16th ed. Arlington, 1995.

ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extration of muscle proteins and gelatine from cod head. **Process Biochemistry**. v. 41, n. 3, p. 697-700, 2006.

BANDEIRA, S. F. **Extração e caracterização da gelatina obtida de cabeças de carpa (*Aristichthys mobilis*)**. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande. 72p. Rio Grande, 2009.

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

CAMARGO, S. G. O.; POUEY, J. L. O. F. Aquicultura - um mercado em expansão. **Agrociência**. v. 11, n. 4, p. 393-396, 2005.

CARNEIRO, R.L.; SILVA, J. A. M.; ALBINATI, R. C. V. B.; SOCORRO, E. P.; NEVES, A. P. Uso do microcrustáceo branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*) na ração para tucunaré. **Saúde e Produção Animal**. v. 5, n. 1, p. 18-24, 2004.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. **Journal of Food Science**. v. 65, n. 2, p. 194-199, 2000.

COLE, C. G. B. Gelatin Food Science. Disponível em <<http://www.gelatin.co.za>>. Acesso em 18 de fev. 2010.

ECHEVENGUÁ, M. M.; ECHEVENGUÁ, W. O.; CARBONERA, A. A.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; FIGUEIREDO, M. R. C. Qualidade da polpa da carpa Húngara transportada viva ou no gelo. **Ciência Rural [online]**. v.38, n.7, p. 2004-2010, 2008.

GME - Gelatin Manufacturers of Europe. disponível em <<http://www.gelatine.org/en/gelatine/overview/127.htm>>. Acesso em 28 de abr. 2010.

KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**. v. 23, n. 3, p. 563-576, 2008.

KIM, S. K.; MENDIS, E. Bioactive compounds from marine processing byproducts - A review. **Food Research International**. v. 39, n. 4, p. 383-393, 2006.

KOŁODZIEJSKA, I; SKIERKA, E; SADOWSKA, M; KOŁODZIEJSKI, W; NIECIKOWSKA, C. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**. v. 107, n. 2, p. 700-706, 2008.

LIU, H. Y.; HAN, J.; GUO, S. D. Characteristics of the gelatin extracted from Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) head bones. **LWT - Food Science and Technology**. v. 42, n. 2, p. 540-544, 2008.

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

MUYONGA, J. H. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 81-89, 2004b.

NICOLAS-SIMONNOT, M. O.; TREGUER, V.; LECLERC, J. P.; SARDIN, M.; BRAJOUX, J. P.; MOY, J.; TAKERKART, G.; Experimental study and modelling of gelatin production from bone powder: elaboration of an overall kinetic scheme for the acid process. **Chemical Engineering Journal**. v. 67, n. 1, p. 55-64, 1997.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Estudo setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável no Brasil**. 279p. Curitiba, 2007.

PARDI, M. C.; SANTOS, F. I.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. *Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne*. v. 2, CEGRAF/EDUF, Goiânia, 1996.

YANG, H.; WANG, Y.; JIANG, M.; OH, J. H.; HERRING, J.; ZHOU, P. 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus*

*punctatus*) skin gelatin. **Food Chemistry and Toxicology**. v. 72, n. 4, p. C188-C195, 2007.

YANG, H.; WANG, Y.; ZHOU, P.; REGENSTEIN, J. M. Effects of alkaline and acid pretreatment on the physical properties and nanostructures of the gelatin from channel catfish skins. **Food Hydrocolloids**. v. 22, n. 8, p. 1541-1550, 2008.

ZHOU, P.; REGENSTEIN, J. M. Effects of alkaline and acid pretreatments on Alaska Pollock skin gelatin extraction. **Journal of Food Science**. v. 70, n. 6, 2005.

**CAPÍTULO IV**  
**CONCLUSÃO GERAL**

#### 4. CONCLUSÃO GERAL

Gelatinas de peles de cabeça de carpa comum foram extraídas por diferentes condições de pré-tratamento, variando-se a concentração alcalina, tempo de pré-tratamento, e pré-tratamento com e sem troca de solução de NaOH. O maior rendimento ( $2,27 \text{ g}_{\text{gelatina}} / 100 \text{ g}_{\text{cabeça}}$ ) foi obtido na concentração de solução de NaOH  $3 \text{ mol L}^{-1}$ , pré-tratamento de 45 min e sem a realização de troca de solução alcalina. As gelatinas obtidas das peles das cabeças de carpa apresentaram maiores força do gel (298,7 g) e ponto de fusão ( $29^{\circ}\text{C}$ ) na concentração de solução de NaOH  $3 \text{ mol L}^{-1}$ , pré-tratamento de 105 min e sem a realização de troca de solução alcalina, sendo estes valores similares às forças do gel encontradas para gelatinas de mamíferos de marcas comerciais.

O rendimento total em gelatina extraída da fração óssea foi maior para a granulometria de 1 mm ( $4,86 \text{ g}_{\text{gelatina}}/100 \text{ g}_{\text{cabeça}}$ ), entretanto as extraídas dos ossos com granulometria de 2 mm apresentaram melhores valores de ponto de fusão e força do gel.

Os maiores valores de rendimento em gelatina, ponto de fusão e força do gel para a gelatina extraída das peles das cabeças de carpa comum, foram superiores aos maiores valores das mesmas respostas para a gelatina extraída da fração óssea das cabeças deste pescado.

O rendimento global em gelatina em relação às cabeças moídas de carpa foi de 7,13%, considerando as melhores condições de pré-tratamento. A recuperação de proteínas na forma de gelatina, do processo de extração de gelatina de cabeça de carpa comum foi de 71%. Considerando, no entanto, apenas recuperação de proteínas colagênicas, o rendimento ficou na faixa de 85%.

A condição de pré-tratamento mais adequada, para obtenção de gelatina de peles e ossos de cabeças de carpa comum, é alcançada quando se utiliza tempo de pré-tratamento de 45 min, concentração de solução de NaOH  $4 \text{ mol L}^{-1}$ , troca de solução alcalina e granulometria dos ossos de 2 mm. Nesta condição os valores de rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão, para as peles, foram de 1,98%, 240,3 g e  $28,5^{\circ}\text{C}$ , respectivamente, enquanto que para os ossos os maiores valores de rendimento em gelatina, força do gel e ponto de fusão foram de 4,23%, 131,5 g e  $27,8^{\circ}\text{C}$ .

#### **4.1. Sugestões para trabalhos futuros**

- Otimização do processo de extração de gelatina de rejeitos de carpa, com caracterização da gelatina baseada no teor de prolina e hidroxiprolina.
- Obtenção e caracterização de gelatina de outras espécies de pescados ainda não estudados.
- Estudo da etapa de purificação/secagem da gelatina extraída de pescados.
- Utilização de eletrólitos para melhoria das características físicas de gelatina de pescados.
- Estudo dos efeitos da mistura de gelatina de pescados com carboidratos ou outras proteínas na formação de filme de gelatina.

**CAPÍTULO V**  
**REFERÊNCIAS**

## 5. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. *Resíduos sólidos: Classificação*. n.01.043. NBR 1004, 1987.

ALFARO, A. T. **Otimização do Processo e Determinação das Propriedades Funcionais da Gelatina de ossos de pescado**. Dissertação, Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande. 103p. Rio Grande, 2004.

ALFARO, A. T.; COSTA, C. S.; JESUS, F. R.; COSTA, R.; KUHN, C.; BORGES, C.; PRENTICE, C. Processamento e caracterização de gelatina de ossos de pescada (*Macrondon ancylodon*). In: XIII Congresso de Iniciação Científica e VI Encontro de Pós-Graduação – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004. Disponível em <[http://www.ufpel.edu.br/cic/2004/arquivos/conteudo\\_CA.html#01245](http://www.ufpel.edu.br/cic/2004/arquivos/conteudo_CA.html#01245)>. Acesso em 05 de dez. 2009.

ALFARO, A. T. **Otimização das Condições de Extração e Caracterização da Gelatina de Pele de Tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*)**. Tese, Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas. 130p. Pelotas, 2008.

ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S.; O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Reprodução Animal**. v. 27, n. 2, p.166-172, 2003.

AOAC. *Official Method of Analysis of the Association Official Analytical Chemists*. 16ed., Arlington, 1995.

ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Preparation and characterization of gelatine of skin of harp seal (*Phoca groenlandica*). **Bioresource Technology**. v. 82, n. 2, p. 191-194, 2002.

ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extration of muscle proteins and gelatine from cod head. **Process Biochemistry**. v. 41, n. 3, p. 697-700, 2006.

ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction and characterisation of gelatin from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. **Bioresource Technology**. v. 98, n. 1, p. 53-57, 2007.

BANDEIRA, S. F. **Extração e caracterização da gelatina obtida de cabeças de carpa (*Aristichthys mobilis*)**. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande. 72p. Rio Grande, 2009.

BLOOM, M.; FAWCETT, D. W. *Tratado de histologia*. 10. ed., Interamericana, 940p. Rio de Janeiro, 1977.

BOWER, C. K.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; OLSEN, C. W.; McHUGH, T. H.; BECHTEL, P. J. Characterisation of fish-skin gelatin gels and films containing the antimicrobial enzyme lysozyme. ***Journal of Food Science***. v. 71, n. 5, 2006.

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. *Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis, and Model Building*. Wiley & Sons, Inc, New York, ed 1., 1978.

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

CAMARGO, S. G. O.; POUHEY, J. L. O. F. Aquicultura - um mercado em expansão. ***Agrociência***. v. 11, n. 4, p. 393-396, 2005.

CARNEIRO, R.L.; SILVA, J. A. M.; ALBINATI, R. C. V. B.; SOCORRO, E. P.; NEVES, A. P. Uso do microcrustáceo branchoneta (*Dendrocephalus brasiliensis*) na ração para tucunaré. ***Saúde e Produção Animal***. v. 5, n. 1, p. 18-24, 2004.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. *Bioquímica ilustrada*. v. 2, 343p. 1996.

CHO, S. M.; KWAK, K. S.; PARK, D. C.; GU, Y. S.; JI, C. I.; JANG, D. H.; LEE, Y. B.; KIM, S. B. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. ***Food Hydrocolloids***. v. 18, n. 4, p. 575-579, 2004.

CHO, S. M. GU, Y. S.; KIM, S. B. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. ***Food Hydrocolloids***. v. 19, n. 2, p. 221-229, 2005.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. ***Journal of Food Science***. v. 65, n. 2, p. 194-199, 2000.

COELHO, H. S.; MORANDINI, L. M. B.; ROSA, C. S.; SANTANA, A. M.; TERRA, N. N.; KUBOTA, E. H. Obtenção do couro suíno cozido para adição em embutidos cárneos. In: XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Anais v. 2, 1998.

COLE, C. G. B.; ROBERTS, J. J. Gelatine colour measurement. **Meat Science**, v. 45, n. 1, p. 23-31, 1997.

COLE, C. G. B. Gelatin Food Science. Disponível em <<http://www.gelatin.co.za>>. Acesso em 18 de fev. 2010.

CREXI, V. T.; GRUNENVALDT, F. F.; SOARES, L. A. S.; PINTO, L. A. A. Refino de óleos de corvina (*Micropogonias furnieri*) provenientes dos processos de ensilagem ácida e termomecânico de farinha. **Instituto Adolfo Lutz**. v. 66, n. 1, p. 50-56, 2007.

DIEGUES, A. C. Banco Mundial / FAO - Para uma aquicultura sustentável. n. 3. São Paulo, 2006. Disponível em <<http://www.usp.br/nupaub/aquicultura.pdf>>. Acesso em 21 de jan. 2010.

DUAN, R.; ZHANG, J.; DU, X.; YAO, X.; KONNO, K. Proprieties of collagen from skin, scale and bone carp (*Cyprinus carpio*). **Food Chemistry**. v.112, n. 3, p. 702-706, 2009.

ECHEVENGUÁ, M. M.; FIGUEIREDO, M. R. C.; ABDALLAH, P. R. Avaliação Econômica de um Policultivo de Carpas Chinesas por Pequenos Produtores Rurais e Pescadores Artesanais de Rio Grande e São José do Norte-RS. **Sinergia**. v. 11, n. 1, p. 9-16, 2007.

ECHEVENGUÁ, M. M.; ECHEVENGUÁ, W. O.; CARBONERA, A. A.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; FIGUEIREDO, M. R. C. Qualidade da polpa da carpa Húngara transportada viva ou no gelo. **Ciência Rural [online]**. v. 38, n. 7, p. 2004-2010, 2008.

ESPÍNDOLA FILHO, A.; OETTERER, M.; TRANI, P. E.; ASSIS, A. Processamento agroindustrial de resíduos de peixes, camarões, mexilhões e ostras pelo sistema cooperativado. **Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 52-61, 2001.

EUROPEAN COMMISSION. Disponível em <[http://ec.europa.eu/fisheries/marine\\_species/wild\\_species/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/fisheries/marine_species/wild_species/index_en.htm)>. Acesso em 29 de ago. 2010.

FERNÁNDEZ-DÍAS, M. D.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Effect of freezing fish skins on molecular and rheological properties of extracted gelatin. **Food Hydrocolloids**. v. 17, n. 3, p. 281-286, 2003.

FROESE, R.; PAULY, D. FishBase. Wolrd Wide Web electronic publication. Disponível em <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em 14 de jan. 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. Review of the current state of world aquaculture insurance. FAO Fisheries Technical Paper, n.493, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. The state of the world fisheries and aquaculture. Roma, 2009.

FRIESS, W. Collagen - Biomaterial for Drug Delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 45, n. 2, p. 113-136, 1998.

GELITA. The Gelatine Group. Disponível em <<http://www.gelita.com>>. Acesso em 26 de fev. 2010.

GILSENAN, P. M.; ROSS-MURPHY, S. B. Rheological characterization of gelatins from mammalian and marine sources. **Food Hydrocolloids**. v. 14, n. 3, p. 191-195, 2000.

GME - Gelatin Manufacturers of Europe. Disponível em <<http://www.gelatine.org/en/gelatine/overview/127.htm>>. Acesso em 28 de abr. 2010.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Extraction of gelatin from megrim (*Lepidorhombus boscii*) skins with several organic acids. **Journal of Food Science**. v. 66, n. 2, p. 213-216, 2001.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; TURNAY, J.; FERNANDEZ-DIAZ, M. D.; ULMO, N., LIZAEBE, M. A.; MONTERO, P. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species. **Food Hydrocolloids**. v. 16, n. 1, p. 25-34, 2002.

GONZÁLES, C. G.; SERENO, J. F. T. *Tecnología de los productos de charcutería y salazones*. 556p. ED. Acribia, Zaragoza, 2002.

GUDMUNDSSON, M.; HAFSTEINSSON, H. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 1, p. 37-39, 1997.

HAUG, I. J.; DRAGET, K. I.; SMIDSR\_D, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**. v. 18, n. 2, p. 202-213, 2004.

IBAMA. Estatística da Pesca 2006. Brasil - Grandes regiões e unidades de federação. Brasília. 147p., 2008.

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

KARIM, A. A.; BHAT, R. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. **Food Science & Technology**. v. 19, n. 12, p. 1-13, 2008.

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

KASANKALA, L. M.; XUE, Y.; WEILONG, Y.; HONG, S. D.; HE, Q. Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Catenopharyngodon idella*) fish by response surface methodology. **Bioresource Technology**. v. 98, n. 17, p. 3338-3343, 2007.

KIM, S. K.; MENDIS, E. Bioactive compounds from marine processing byproducts - A review. **Food Research International**. v. 39, n. 4, p. 383-393, 2006.

KLOMKLAO, S.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KISHIMURA, H.; SIMPSON, B. K. Purification and characterization of trypsins from the spleen of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Food Chemistry**. v. 100, n. 4, p. 1580–1589, 2007.

KOŁODZIEJSKA, I; SKIERKA, E; SADOWSKA, M; KOŁODZIEJSKI, W; NIECIKOWSKA, C. Effect of extracting time and temperature on yield of gelatin from different fish offal. **Food Chemistry**. v. 107, n. 2, p. 700-706, 2008.

LEDWARD, D. A. Gelation of gelatin. In: J. R. MITCHELL; D. A. LEDWARD (Eds.), *Functional properties of food macromolecules*, London: Elsevier, p. 171–201, 1986.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, L. D.; COX, M. M. *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers, Inc. New York, 1993.

LINDEN, G.; LORIENT, D. Bioquímica Agroindustrial – *Revalorización alimentaria de la producción agrícola*. Zaragoza: Acribia, S. A. 1994.

LIU, H. Y.; HAN, J.; GUO, S. D. Characteristics of the gelatin extracted from Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) head bones. **LWT - Food Science and Technology**. v. 42, n. 2, p. 540-544, 2008.

MONTEIRO, E. M. *Inter-relação da estrutura muscular e textura da carne*. Circular Técnica, n. 18, 35p., Embrapa Pecuária Sul, 2000.

- MONTERO, P.; FERNÁNDEZ-DÍAS, M. D.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Characterization of gelatin gels induced by high pressure. **Food Hydrocolloids**. v. 16, n. 3, p. 197-205, 2002.
- MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R. P.; ZIMMERMANN, S. *Fundamentos da moderna aquicultura*. Editora ULBRA, Canoas, 2001.
- MUYONGA, J. H.; COLE, C. G. B.; DUODU, K. G. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. **Food Hydrocolloids**. v. 18, n. 4, p. 581-592, 2004a.
- MUYONGA, J. H. Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 81–89, 2004b.
- NICOLAS-SIMONNOT, M. O.; TREGUER, V.; LECLERC, J. P.; SARDIN, M.; BRAJOUX, J. P.; MOY, J.; TAKERKART, G.; Experimental study and modelling of gelatin production from bone powder: elaboration of an overall kinetic scheme for the acid process. **Chemical Engineering Journal**. v. 67, n. 1, p. 55-64, 1997.
- NORLAND, R. R. Fish gelatin. Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability. Lancaster: Technomic Publishing Co., p. 325-333, 1990.
- OETTERER M. Produção de silagem a partir da biomassa residual de pescado. **Alimentos e Nutrição**. v. 5, n. 1, p. 119-131, 1994.
- OGAWA, M.; MAIA, E. L. *Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado*. v.1, 430p., São Paulo, 1999.
- OSBORNE, K.; VOIGHT, M. N.; HALL, D. E. Utilization of Lumpfish (*Cyclopterus lumpus*) carcasses for the production of gelatin. Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability Lancaster: Technomic Publishing Co., p. 143-151., 1990.
- OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. **Estudo setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável no Brasil**. 279p. Curitiba, 2007.
- PARDI, M. C.; SANTOS, F. I.; SOUZA, E. R; PARDI, H. S. *Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne*. v. 2, CEGRAF/EDUF, Goiânia, 1996.
- POPPE, J. Gelatin. In: A. IMESON (Eds.), Thickening and gelling agents for food. 1992. p. 98–123. Glasgow, UK: Blackie, 1997.

QUEROL, E. ; AZEVEDO, C. L. DE O. ; PESSANO, E. F. C. ; QUEROL, M. V. M. . Ocorrência da carpa húngara *Cyprinus carpio* (LINNAEUS, 1758) e disseminação parasitária, no arroio Felizardo, bacia do Meio rio Uruguai, Uruguaiana, RS, Brasil. ***Biodiversidade Pampeana (Online)***, v. 3, n. 1, p. 21-23, 2005.

RIBEIRO, R. M. **Tratamento do resíduo da indústria de gelatina através da compostagem, com emprego de serragem e palha de café**. Dissertação de Mestrado em Engenharia Agrícola – Universidade Federal de Lavras, 73p., Lavras, 2007.

RUSTAD, T. Utilization of marine by-products. ***Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry***. v. 2, n. 4, p. 458-463, 2003.

SCHOTT, A. Functions of gelatin in food applications. ***American Association of Cereal Chemists, Inc.*** v. 46, n. 9, p. 414-416, 2001.

SEIBEL, N. F.; de SOUZA-SOARES, L. A. Produção de silagem química com resíduos de pescado marinho. ***Brazilian Journal of Food Technology***. v. 6, n. 2, p. 333-337, 2003.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, Degradações, Modificações**; Ed. Varela, São Paulo, 1999.

STEVANATO, F. B. **Aproveitamento de cabeças de tilápia de cativeiro na forma de farinha como alimento para merenda escolar**. Dissertação, Mestrado em Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

VANDEPUTTE, M.; KOCOUR, M.; MAUGER, S.; RODINA, M.; LAUNAY, A.; GELA, D.; DUPONT-NIVET, M.; HULAK, M.; LINHART, O. Genetic variation growth at one and two summers of age in the common carp (*Cyprinus carpio* L.): Heritability estimate and response to selection. ***Aquaculture (Online)***, v. 277, n. 1-2, p. 7-13, 2008.

VARGAS, D. M.; AUDÍ, L.; CARRASCOSA, A. Peptídeos derivados do colágeno: novos marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. ***Associação Médica Brasileira***. v. 43, n. 4, p. 367-370, 1997.

WANG, L.; YANG, B.; DU, X.; YANG, Y.; LIU, J. Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. ***Food Science and Emerging Thecnologies***. v. 9, n. 4, p. 604-607, 2008.

WARD; A. COURTS (Eds.). *The science and technology of gelatin*. London. Academic Press, p. 508–557, 1977.

YANG, H.; WANG, Y.; JIANG, M.; OH, J. H.; HERRING, J.; ZHOU, P. 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelatin. **Food Chemistry and Toxicology**. v. 72, n. 4, 2007.

YANG, H.; WANG, Y.; ZHOU, P.; REGENSTEIN, J. M. Effects of alkaline and acid pretreatment on the physical properties and nanostructures of the gelatin from channel catfish skins. **Food Hydrocolloids**. v. 22, n. 8, p. 1541-1550, 2008.

ZHOU, P.; REGENSTEIN, J. M. Effects of alkaline and acid pretreatments on Alaska Pollock skin gelatin extraction. **Journal of Food Science**. v. 70, n. 6, 2005.

ZHOU, P.; REGENSTEIN, J. M. Determination of Total Protein Content in Gelatin Solutions with the Lowry or Biuret Assay. **Journal of Food Science**. v. 71, n. 8, 2006.

ZHOU, P.; MULVANEY, S. J.; REGENSTEIN, J. M. Properties of Alaska Pollock Skin Gelatin: A Comparison with Tilapia and Pork Skin Gelatins. **Food Chemistry and Toxicology**. v. 71, n. 6, 2006.