

GISLAINE TRISTÃO DOS SANTOS

Filmes poliméricos biodegradáveis a partir de gelatina extraída da pele de
tilápia-do-Nilo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Aquicultura

Orientador: PhD. Nilton Garcia Marengoni
Coorientadora: Dr.^a Ortencia Leocádia Gonzalez da Silva Nunes

Toledo

2017

FOLHA DE APROVAÇÃO

GISLAINE TRISTÃO DOS SANTOS

Filmes poliméricos biodegradáveis a partir de gelatina extraída da pele de
tilápia-do-Nilo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. PhD. Nilton Garcia Marengoni
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

Prof. Dr.^a Lara Wichr Genovez
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Aprovada em: 01 de Setembro de 2017

Local de defesa: Unioeste, sala 15, bloco E, 2º andar/*Campus* de Toledo.

*A todos aqueles que
contribuíram para sua
realização, dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por toda sua misericórdia e amor. E como disse Shakespeare, “devemos ser gratos a Deus por não nos dar tudo o que lhe pedimos”.

Agradeço ao meu esposo Leonardo e minhas filhas Samantha e Stephanie pelo suporte e compreensão nos momentos de ausência durante todo o tempo em que estive na pós-graduação. Também ao meu tio Zeca, tia Marlene e minha prima Renata pela hospitalidade durante o tempo que estive em São Paulo e pelas maravilhosas refeições depois de um dia difícil e a minha sogra Hélia por cuidar da minha casa e família nos momentos de minha ausência.

Agradeço aos obstáculos pelos quais passei, pois, como Chico Xavier disse uma certa vez “agradeço a todas as dificuldades que tive que enfrentar, pois, se não fosse por elas eu não teria saído do lugar” e como eu sempre digo “ e nas dificuldades que aprendemos”.

Agradeço a grande oportunidade que tive de conhecer e aprender com alguns professores da Universidade Estadual do Oeste do Paraná em especial à minha professora e coorientadora Dr^a Ortencia Leocádia Gonzalez da Silva Nunes, por toda a sua paciência, pelo carinho e por sua gentileza ao ensinar e ao meu orientador Nilton Garcia Marengoni.

Agradeço também as professoras Dr^a Luciana Bill Mikito Kottwitz e a Dr^a Carmen Cecilia Tadine por toda a ajuda no esclarecimento de algumas dúvidas referentes à esta pesquisa, sempre muito gentis e, principalmente, por abrirem as portas de seus laboratórios para que essa pesquisa fosse realizada. Sem esse apoio fundamental, esse trabalho não seria concretizado.

Devo também infinitos agradecimentos aos amigos e colegas que estiveram presente de forma tão positiva e enriquecedora ao longo desse período. Foram horas de estudos, de compartilhamento, de lazer, de tristeza e alegria. Agradeço em especial a Vanilva, Maisa, Elaine, Flávio, Bruna Ahiana e a Dr^a Lara Wichr Genovez pelas aulas maravilhosas, ajuda e disponibilidade contribuindo de forma enriquecedora para o meu crescimento profissional.

Não podendo esquecer também da amiga que adquiri nessa jornada Cristiane Leis que sempre teve uma palavra de conforto e amizade e aos alunos do curso de Farmácia da Unioeste que estiveram comigo no laboratório e a turma maravilhosa que pude lecionar durante o estágio de docência. Aos técnicos de laboratório Fernando (Unioeste Toledo) e Ivonete (Unioeste Cascavel) sempre queridos e prestativos.

Aos secretários maravilhosos Carla e Uiliam por todo o esclarecimento das dúvidas que pareciam problemas difíceis de resolver e as conversas agradáveis e divertidas que tivemos, pois vocês fazem uma tempestade virar um chuvisco.

Às professoras Dr^a Geuza Cantanhede da Silva e Dr^a Josiane Caetano Dragunski que fizeram parte da banca examinadora da qualificação e contribuíram muito com o trabalho, suas observações claras e objetivas, muito obrigada.

Agradeço imensamente à CAPES pela concessão da bolsa de estudo, ao Laboratório de Alimentos do curso de Farmácia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, *Campus* Cascavel, PR, Laboratório de Engenharia de Alimentos do Departamento de Engenharia Química da Universidade de São Paulo - USP, em São Paulo, SP, Laboratório de Liofilização da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, *Campus* Medianeira, PR e às empresa Shimadzu do Brasil, em São Paulo, SP e Tilapia Brazilian em Toledo, PR que forneceram todas as peles de tilápia para a realização deste trabalho.

Filmes poliméricos biodegradáveis a partir de gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo

RESUMO

Os plásticos convencionais geram muitos resíduos no ambiente e com o intuito de aproveitar os descartes gerados pelos processos da indústria pesqueira, os filmes biodegradáveis são alternativas de reaproveitar os subprodutos obtidos nessas indústrias. A pele de peixe é um coproduto que apresenta uma grande concentração de colágeno, que ao ser hidrolisado por método de acidificação, como no presente trabalho, sofre uma modificação nas cadeias moleculares que são rearranjadas e formam um gel, denominado de gelatina que após o processo de polimerização, obtém um filme biodegradável. O objetivo deste trabalho foi extrair a gelatina da pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), caracterizá-la para desenvolver filmes e avaliar a espessura, resistência à tração e permeabilidade. A gelatina foi extraída utilizando ácido acético a 5% nas peles que foram lavadas e aquecidas a 300 °C por 45 minutos e caracterizada por análise centesimal, viscosidade, rendimento e composição química. O protocolo definido para formulações do filme foi desenvolvido a partir de 100% de gelatina extraída e 30% de água deionizada. Após dissolução completa da gelatina em água, foram avaliadas duas medidas de glicerol líquido (92,9%): I) 0,35 g e II) 0,55g em 6 tratamentos variando a concentração de gelatina adicionada na formulação, I (35, 45 e 55 g) e II (20, 30 e 40 g). Os filmes foram desenvolvidos pela técnica de “casting”. Os filmes foram caracterizados mediante a espessura ($84 \pm 10,00$ a $356 \pm 15,62 \mu\text{m}$), permeabilidade ao vapor de água ($7,29 \pm 1,36$ a $32,37 \pm 4,11 \text{ g mm m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$), propriedades mecânicas de força ($10,11 \pm 5,06$ a $62,61 \pm 12,74 \text{ N mm}^{-2}$) e elongação ($82,84 \pm 2,98$ a $100,87 \pm 6,31 \text{ mm}$), luminosidade ($44,41 \pm 0,56$ a $38,29 \pm 0,81$) e composição química. Em suma, a gelatina extraída apresentou resultados de acordo com os parâmetros comerciais nas análises realizadas e foi eficaz como matéria-prima no desenvolvimento dos filmes biodegradáveis. Os tratamentos utilizados podem ser destinados a diferentes aplicações, mas o filme que apresenta maior resistência e provável interesse comercial é o T3 (35 g de gelatina e 0,35 g de glicerol), mas em todos os tratamentos a espessura pode ser melhorada para que os filmes apresentem uniformidade em toda a sua área.

Palavras-chave: Coprodutos, gelatina, filmes, reaproveitamento.

Biodegradable polymeric films from of gelatin extracted from the skin of Nile tilapia

ABSTRACT

The conventional plastics generate many wastes in the environment and in order to take advantage of the discards generated by the fishing industry processes, biodegradable films are alternatives to reuse byproducts obtained in these industries. The fish skin is a coproduct which features a large concentration of collagen, which to be hydrolyzed by acid method, as in the present work, suffers a modification in the molecular chains are rearranged and form a gel, named after the gelatin polymerization process, it gets a biodegradable film. The aim of this work was to extract the skin gelatin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), characterize it for developing films and assess the thickness, tensile strength and permeability. The gelatin was extracted using 5% acetic acid in the skins that have been rinsed and heated to 300 °C for 45 minutes and characterized by centesimal analysis, viscosity, yield and chemical composition. The protocol defined for formulations of the film was developed from 100% gelatin extracted and 30% deionized water. After complete dissolving gelatin in water, were evaluated two measures of glycerol liquid (92.9%): I) 0,35 g and II) 0,55 g in 6 varying treatments gelatin concentration added in formulation, I (35, 45 and 55 g) and II (20, 30 and 40 g). The films were developed for the casting technique, and characterized by thick (84 ± 10.00 to $356 \pm 15.62 \mu\text{m}$), permeability to water vapor (7.29 ± 1.36 to $32.37 \pm 4.11 \text{ g mm m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$), mechanical properties of strength (10.11 ± 5.06 to $62.61 \pm 12.74 \text{ N mm}^{-2}$), elongation (82.84 ± 2.98 to $100.87 \pm 6.31 \text{ mm}$), luminosity (44.41 ± 0.56 to 0.81 ± 38.29) and chemical composition. In summary, the gelatin extracted presented results according to the parameters in business analysis and was effective as a raw material in the development of biodegradable films. The treatments used may be intended for different applications, however the film that offers greater strength and likely commercial interest is the T3 (35 g of gelatin and 0.35 g glycerol) but in all treatments the thickness can be improved so that the films present uniformity throughout your area.

Keywords: Co-products, gelatin, film, characterizes.

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica *Food Chemistry* Disponível em: <<http://www.elsevier.com/journals/food-chemistry/0308-8146/guide-for-authors>>

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	- Extrações da gelatina a partir da pele da tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	19
Tabela 02	- Valores médios e desvios padrões da composição centesimal, viscosidade e rendimento da gelatina obtida a partir da pele de tilápia-do- Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	27
Tabela 03	- Componentes minerais presentes na gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo.....	29
Tabela 04	- Componentes minerais presentes no filme desenvolvido a partir da gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo.....	30
Tabela 05	- Valores médios e desvios padrões para determinações de espessura, permeabilidade ao vapor de água (PVA), força e alongação dos filmes desenvolvidos a partir da gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo, utilizando diferentes concentrações de gelatina e glicerol.....	32
Tabela 06	- Valores médios e desvios padrões dos parâmetros de cor referentes aos filmes desenvolvidos a partir da gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo.....	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	- Fontes naturais de polímeros biodegradáveis (Tharanathan, 2003).....	15
Figura 02	- Esquema de formação da fibra de colágeno (Wolf, 2007).....	17
Figura 03	- Fibra de colágeno aumentado 4x (A) e 20x (B) por Microscópio Eletrônico de Varredura (Wolf, 2007).....	17
Figura 04	- Pele de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) sem raspagem e com raspagem (A), peles durante duas horas de acidificação (B), amostra de gelatina após processo (C) e amostra de gelatina liofilizada e triturada (D).....	21
Figura 05	- Fluxograma de obtenção dos filmes.....	23
Figura 06	- Equipamento texturômetro TAXT Plus (<i>Stable Micro Systems</i> , Reino Unido) com o probe A/TGT (A), filmes acondicionados em recipiente com umidade controlada (B), guilhotina de dois cortes (2G-15, Regmed) (C) e amostra de filme e micrômetro de ponta plana (Mitutoyo, Brasil) (D).....	24
Figura 07	- Molde de corte para o filme (A), equipamento PVA/4 (Regmed Brasil) com uma célula acoplada (B), equipamento com amostra selada (C), cadinho com amostra de filme selada e com sílica ativada (D) e dessecador para armazenar as amostras com umidade controlada (E).....	25
Figura 08	- Espectros da gelatina extraída e do filme desenvolvido a partir da pele de tilápia-do-Nilo.....	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVO GERAL	14
2.1 Objetivos específicos.....	14
3 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Polímeros biodegradáveis	15
3.2 Colágeno	16
3.3 Gelatina.....	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Extração da gelatina.....	20
4.2 Caracterização da gelatina	21
4.2.1 Viscosidade	21
4.2.2 Composição química da gelatina.....	21
4.2.3 Rendimento.....	22
4.3 Desenvolvimento dos filmes	22
4.4 Caracterização dos filmes	23
4.4.1 Propriedades mecânicas	23
4.4.2 Permeabilidade ao vapor de água.....	24
4.4.3 Espessura.....	25
4.4.4 Cor	25
4.4.5 Composição química do filme	28
4.5 Análise de resultados	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1 Análise da gelatina	27
5.1.1 Composição centesimal, viscosidade e rendimento.....	27
5.1.2 Composição química da gelatina e do filme	28
5.2 Caracterização do filme desenvolvido.....	31
5.2.1 Espessura	32
5.2.2 Permeabilidade ao vapor de água	33
5.2.3 Propriedades mecânicas: força e alongação.....	34
5.2.4 Cor.....	34
6 CONCLUSÕES	36
7 REFERÊNCIAS	37

INTRODUÇÃO

Com o intuito de diminuir os resíduos gerados pelos plásticos convencionais e aproveitar os descartes gerados pelos processos da indústria pesqueira, os filmes biodegradáveis são alternativas de reaproveitar os subprodutos obtidos nessas indústrias, a fim de diminuir o impacto ambiental (Davanço et al., 2007; Shimazu, Mali, Grossmann, 2007).

A indústria pesqueira apresenta um crescimento estimado em mais de 100% na produção da pesca e aquicultura no Brasil em 2025, segundo o último relatório divulgado pela FAO (FAO, 2016), aumentando também os resíduos gerados pela indústria pesqueira (Caveen et al., 2017). No caso da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), após a filetagem, o rendimento em filé é de 30% aproximadamente, os 70% restantes que incluem: cabeça, carcaça, vísceras, escamas e pele são pouco reaproveitadas mediante a diversidade de matérias-primas de alta qualidade que podem ser transformadas em subprodutos (Neves et al., 2015; Paiva et al., 2015).

A pele de peixe é flexível e simples para realizar uma extração branda. Esta matéria-prima possui um alto valor de colágeno que é a principal proteína do tecido conectivo e por meio de hidrólise sofre uma modificação nas cadeias moleculares que são rearranjadas e formam um gel com capacidade termorreversível, denominado de gelatina (Yang et al., 2007; Alfaro & Silva, 2010), sendo funcional devido ao baixo custo e tempo otimizado da extração que pode ser feita em algumas horas e com ácidos brandos utilizando ácido acético (Wu et al., 2013).

O ácido acético é muito aplicado em alguns processos industriais, como por exemplo, na emulsificação de cosméticos, polímeros carboximetilcelulose, tratamento de couro e ainda indústria fotográfica. Além do baixo custo o ácido acético possui boa absorção de umidade e tem a vantagem de aderir-se a diferentes fibras, ideal para o tratamento de peles de peixe e extração da gelatina (Silva, Dupim, Chazim, 2015).

O processo de obtenção da gelatina define suas qualidades reológicas e os parâmetros comerciais são a força do gel e sua estabilidade térmica, ambas normalmente estão relacionadas a composição de aminoácidos que é característica da espécie e o peso molar que resulta das condições do processo (Sila et al., 2015). Filmes desenvolvidos a partir da gelatina podem ser reaproveitados por serem termorreversíveis e são biodegradáveis oriundos de uma fonte renovável (Franchetti & Marconato, 2006) com alta resistência mecânica

Os filmes biodegradáveis obtidos a partir de proteínas apresentam maior absorção de umidade e ótima resistência à tração, devido ao teor de colágeno presente no tecido

conjuntivo e apresenta um padrão em forma de escada e ligações cruzadas, sendo ainda, um polimérico biodegradável e termorreverssível (Nelson & Cox, 2002; Mano & Mendes, 1999; Tongnuanchan et al., 2013; Duconseille et al., 2017). No entanto é necessário a adição de glicerol que proporciona alongação nos filmes devido à interação com as cadeias da gelatina, aumentando a mobilidade molecular e proporcionando a flexibilidade (Anker, Stadin, Hermansson, 2001; Al-Hassan & Norziah, 2012; Shimazu, Mali, Grossman, 2007).

O glicerol age no filme como um agente plastificante, sendo ideal para os filmes desenvolvidos a partir de gelatina, pois o mesmo não apresenta separação de fases, resultado contrário obtido com o sorbitol que apresenta força razoável e aumento na umidade ao vapor de água. Segundo Al-Hassan & Norziah (2012), a escolha do plastificante deve ser feita mediante a compatibilidade com o polímero e na quantidade ideal para que o efeito seja o esperado, mantendo a capacidade de alongação e baixa permeabilidade de água (Shimazu, Mali, Grossman, 2007).

Os filmes biodegradáveis podem ser aplicados na indústria farmacêutica, alimentícia e biomédica, empregados como coberturas e microencapsulação de drogas e no preparo de hidrogéis. As vantagens são várias desde a degradação até o reaproveitamento das peles de peixe, sendo uma fonte renovável (Franchetti & Marconato, 2006).

2 OBJETIVO GERAL

Desenvolver filmes à base de gelatina extraída a partir da pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.1 Objetivos específicos

Extrair a gelatina por método de acidificação.

Caracterizar a gelatina por análise centesimal, composição química e rendimento.

Avaliar a composição da gelatina para obter filmes biodegradáveis.

Avaliar a espessura, cor, permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas do filme elaborado.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Filmes biodegradáveis

Devido à necessidade de diminuir as embalagens sintéticas, há um grande interesse comercial e industrial na utilização dos filmes biodegradáveis, levando em conta a quantidade de plásticos produzidos. Este tipo de filme sofre alterações nas estruturas químicas quando submetido a condições ambientais (ASTM, 2003). Segundo Tharanathan (2003) os biopolímeros de ocorrência natural podem ser derivados de quatro fontes: origem animal, resíduos da indústria de processamento de frutos do mar, microbiana e origem agrícola (Figura 1). Devido à sua origem, esses filmes podem ainda ser destinados à compostagem, eliminando grande parte do lixo em aterros sanitários (Kolybaba et al., 2003) e o custo de produção é menor e se torna uma alternativa econômica para os descartes do pescado (Famá et al., 2012; Shimidt et al., 2013; Touchaleaume et al., 2016).

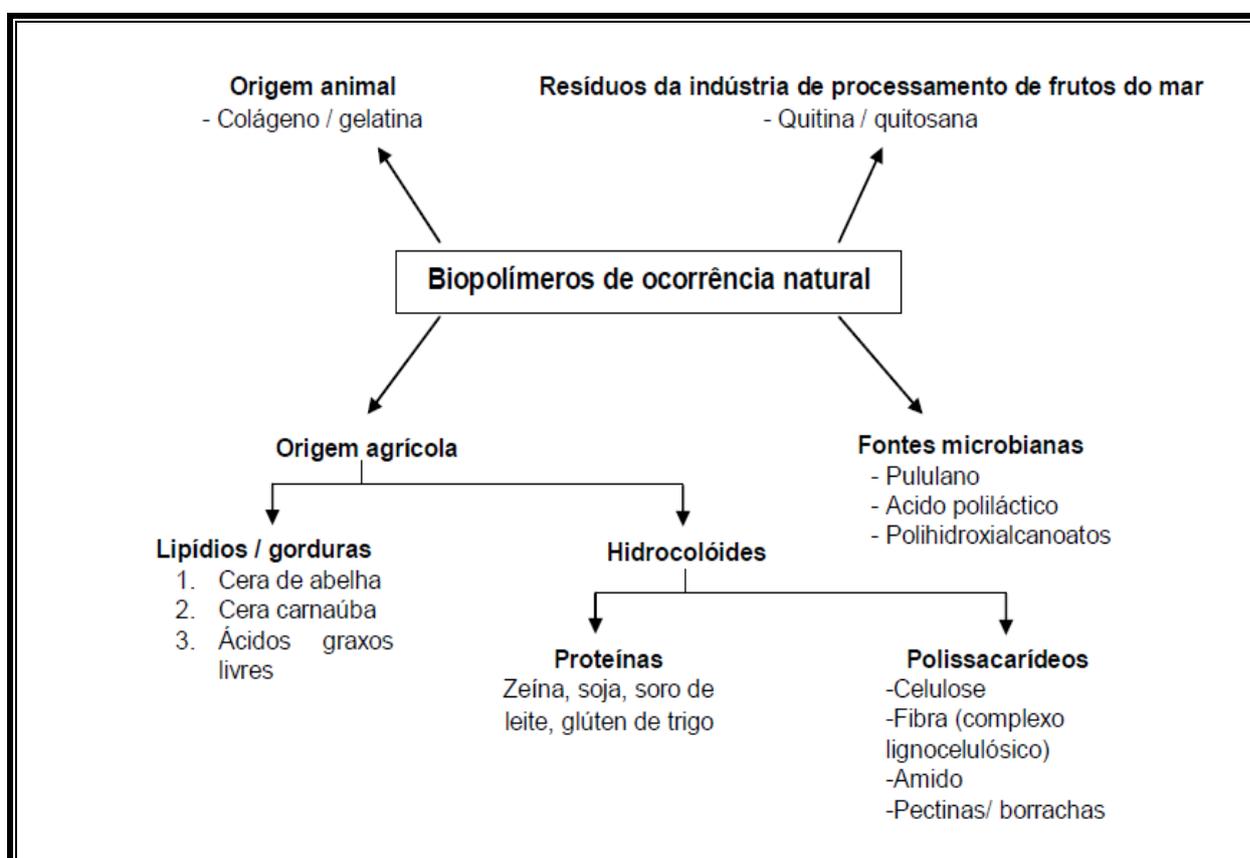


Figura 1. Fontes naturais de polímeros biodegradáveis (Tharanathan, 2003).

Quando comparado com os plásticos sintéticos, os filmes biodegradáveis apresentarem propriedades mecânicas e de barreira ao vapor de água, inferiores, mas têm despertado

interesse industrial em função de suas possibilidades em controlar a migração de gases como oxigênio, dióxido de carbono, etileno, entre outros (Charles, Guillaumea, Gontarda, 2008).

Os filmes biodegradáveis são obtidos a partir de materiais biológicos, como polissacarídeos, proteínas e lipídios. A função destes filmes é proteger os produtos embalados de eventos físicos e biológicos. O processo de obtenção dos filmes biodegradáveis está relacionado à dispersão dos biopolímeros em um solvente como água, etanol ou ácidos orgânicos, juntamente com o uso de aditivos plastificantes como o glicerol, que é um composto orgânico pertencente ao grupo dos álcoois, obtendo-se assim uma solução filmogênica (Kautz et al., 2015).

O glicerol tem a função de diminuir a rigidez dos filmes obtidos por proteínas, agindo como plastificante que tende a modificar as funções reológicas dos filmes e aperfeiçoar as suas propriedades mecânicas. Esse aditivo proporciona maior força e alongação ao filme, porém, a sua adição em excesso pode ocasionar o efeito contrário (Shimazu, Mali, Grossmann, 2007).

Nos filmes biodegradáveis, as proteínas interagem de modo intermolecular, através de ligações de hidrogênio, pontes de dissulfeto e ligações hidrofóbicas, formando uma rede que pouco hidratada, constitui um filme (Cao, Fu, He, 2007; Martucci & Ruseckaite, 2010; Wang, Aut, Kerry, 2010).

3.2 Colágeno

O termo colágeno é utilizado para denominar em torno de 27 formas de proteínas em tecidos conjuntivos, entre eles, a pele (Damoradan, Parkin, Fennema, 2010). Uma proteína fibrosa encontrada em todo o reino animal contém cadeias peptídicas dos aminoácidos glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina e alanina, sendo organizadas de forma paralela a um eixo, formando as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura presente (Silva & Penna, 2012).

A molécula do colágeno é formada por uma tripla hélice, que é constituída por três cadeias denominadas de cadeias alfa que podem ou não ser idênticas dependendo da fonte do colágeno (Figura 2) (Schriber & Gareis, 2007).

O colágeno do tipo I, o mais abundante, apresenta como unidade básica o tropocolágeno constituído de três cadeias polipeptídicas (Torley, D`Arcy, Trout, 2000). A partir do colágeno tipo I são obtidos o colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) e o colágeno hidrolisado (Damoradan et al., 2010; Schriber & Gareis, 2007).

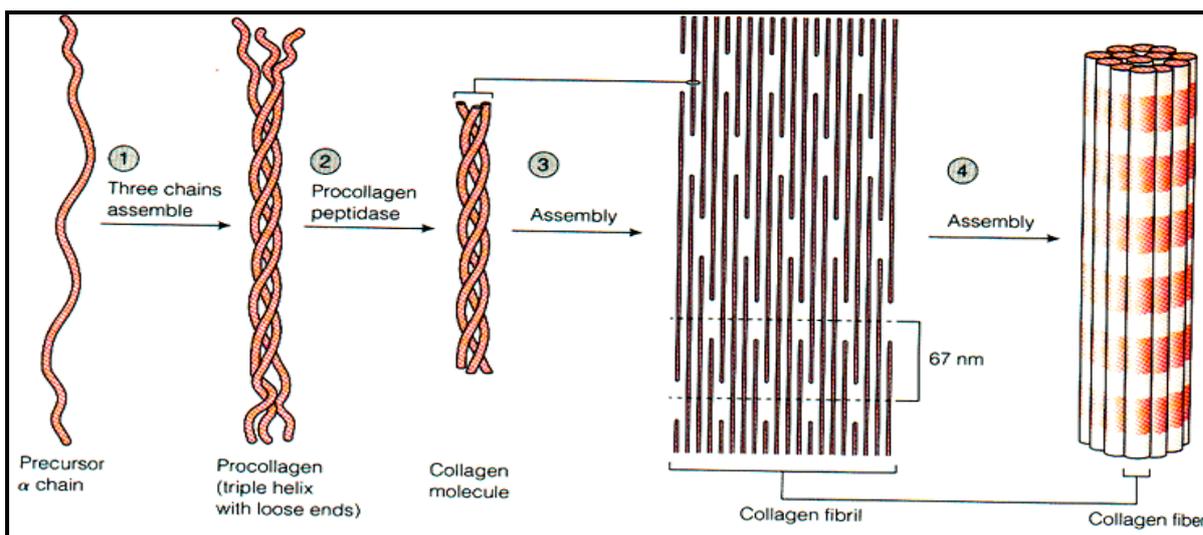


Figura 2. Esquema de formação da fibra de colágeno (Wolf, 2007).

A molécula de colágeno é estruturada e formada pelas cadeias peptídicas que consiste em aproximadamente 1050 aminoácidos como a glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina e alanina, chamada cadeia alfa, que se organizam e formam as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura (Figura 3) (Schriber & Gareis, 2007). A hidroxiprolina é o aminoácido responsável pela manutenção e estabilidade da tripla hélice. Uma quantidade baixa de hidroxiprolina faz com que o colágeno perca a formação da tripla hélice e comprometa a gelificação durante o processo de resfriamento, quando as cadeias podem retroceder e formar novas estruturas em triplas hélices (Gómez-Guillén et al., 2002; FIB, 2011).

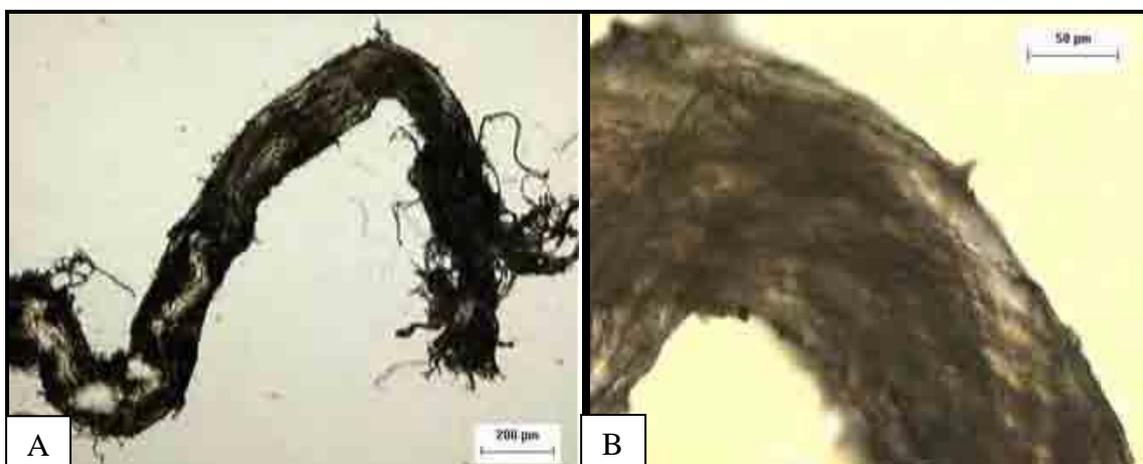


Figura 3. Fibra de colágeno aumentado 4x (A) e 20x (B) por Microscópio Eletrônico de Varredura (Wolf, 2007).

O colágeno parcialmente hidrolisado, ou gelatina, possui um processo mais brando quando comparado ao colágeno hidrolisado que é obtido por hidrólise química ou enzimática sob condições controladas. Na grande maioria, o colágeno não apresenta capacidade de gelificação e se dissolve em água ou salmoura (Schrieber & Gareis, 2007; Damoradan et al., 2010).

3.3 Gelatina

A gelatina é um alimento que possui vários registros históricos, que por sua vez, era consumido no antigo Egito, mais comuns que as trufas e as frutas em géis. O primeiro registro de um procedimento para o cozimento da gelatina foi em 1682 pelo francês Denis Papin (1647-1714), que cozinhou ossos de certos animais. Em 1754 foi registrada a primeira patente da gelatina, derivada do latim *gelatus*, que significa firme, rígido e gelado, termo que só foi utilizado em 1700 (FIB, 2011).

A gelatina é um tipo de proteína obtido a partir da hidrólise do colágeno retirada da pele, ossos, tendões e cartilagens dos mamíferos. Esta macromolécula biológica pode ser utilizada na produção de filmes biodegradáveis.

Sua composição é de cerca de 86% de proteína, 2% de sais minerais e 12% água, não contém gorduras nem colesterol e contém 18 aminoácidos diferentes, incluindo 7 dos 8 essenciais para a dieta humana. A gelatina complementa muitas proteínas alimentares, proporcionando um consumo equilibrado de aminoácidos (Prestes et al., 2013; FIB, 2011)

Outro fator importante da gelatina é o peso molecular que afeta a sua funcionalidade, ou seja, o seu *setting time* (tempo de gelificação) e a viscosidade, que está relacionada com o peso molecular médio (Cao et al., 2007; Wang et al., 2010; Prestes et al., 2013).

A gelatina também pode ser classificada de acordo com o pré-tratamento, podendo obter uma gelatina do tipo A (tratamento ácido) ou tipo B (tratamento alcalino), isso depende da matéria-prima escolhida para o processo (Tabela 1). O processo de obtenção da gelatina ocorre quando o colágeno se torna solúvel e as ligações cruzadas entre as cadeias ficam intactas, porém algumas ligações peptídicas nas cadeias são quebradas, assim ocorre a semi hidrólise do colágeno (Mano & Mendes, 1999; Prestes et al., 2013; FIB, 2011).

A gelatina pode ser usada na indústria de alimentos como agente emulsificante, capaz de produzir géis estáveis abaixo de 40 °C, sem qualquer propriedade nutritiva (Silva & Penna, 2012).

Tabela 1. Extrações da gelatina a partir da pele da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

	Extração	Tratamento
Bueno et al. (2011)	ácida	NaCl (0,8 M) 10 min (3x) NaOH (0,2 M) 30 min, lavadas e depois ácido acético (0,05M) 3 horas.
Alfaro & Silva (2010)	ácida	NaCl (0,2% p/v) 5min, NaOH 80 min, lavadas até pH 8, H ₂ SO ₄ (0,3% p/v) 80 min, lavadas até pH próximo de neutro, as peles foram submetidas a um segundo tratamento em solução de ácido cítrico (0,7% p/v) 80 min.
Songchotikunpam, Tattiyakul, Supaphol (2008)	ácida	NaCl (0,4% p/v) 4 horas, as peles foram lavadas com água de torneira, HCl (0,4% p/v) 4 horas e lavadas até atingirem pH neutro.
Bordignon et al. (2012)	ácida	H ₂ SO ₄ (10 N) até o pH das peles atingir 2,8-3,2.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento e as análises foram realizados no Laboratório de Alimentos (LA) do curso de Farmácia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), *Campus* Cascavel, PR, no Laboratório de Qualidade de Alimentos (LQA) do curso de Engenharia de Pesca da Unioeste, *Campus* Toledo, PR, no Laboratório de Engenharia de Alimentos (LEA), do Departamento de Engenharia Química da Universidade de São Paulo (USP), em São Paulo, SP, no Laboratório de Liofilização (LAL) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Campus* Medianeira, PR, no Laboratório de Qualidade de Alimentos (A3Q), em Cascavel, PR e no Laboratório da empresa Shimadzu do Brasil, em São Paulo, SP. A matéria-prima constou de peles de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), amostradas em uma unidade industrial de filetagem de peixes no município de Toledo, PR e, posteriormente, encaminhadas para o LA.

4.1 Extração da gelatina

As peles de tilápia foram lavadas em água corrente para retirada de sujidades, raspadas com espátula de polietileno e submersas em solução de ácido acético a 5% por 2 horas com a finalidade de extrair a gelatina, utilizando a metodologia adaptada de Bueno et al. (2011). Posteriormente, as peles foram lavadas em água corrente para retirada do excesso de ácido e deixadas em peneira granulométrica de 216 mm por 15 minutos para escoamento. Na sequência, foram aquecidas a 300 °C em chapa aquecedora por 45 minutos e homogeneizadas com bastão de vidro. Ao final do aquecimento, o material espesso passou por peneiras granulométricas com aberturas 216 mm, 32 mm e 16 mm para retirada de resíduos de pele não dissolvidos e encaminhado ao LAL para desidratação em liofilizador Labconco (Freezone 6). O material foi congelado a -20 °C e introduzido na câmara de vácuo sob pressão inferior a 0,8 mbar por 36 horas. Em seguida, o liofilizado foi triturado em moinho de facas para homogeneização e análises de caracterização (Figura 4).

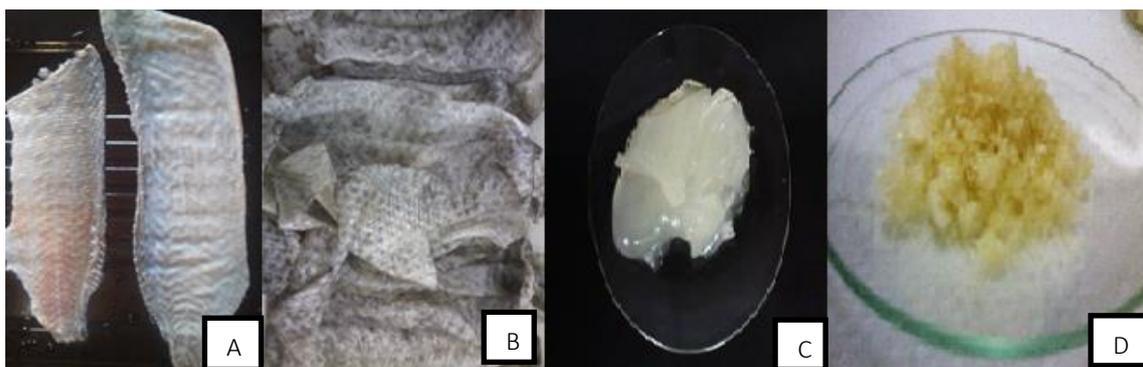


Figura 4. Pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) sem raspagem e com raspagem (A), peles durante duas horas de acidificação (B), amostra de gelatina após processo (C) e amostra de gelatina liofilizada e triturada (D).

4.2 Caracterização da gelatina

A gelatina foi caracterizada por análises físico-químicas. Os teores de umidade, matéria mineral e proteínas totais foram determinados no LQA, enquanto que os lipídios foram determinados no A3Q, ambos analisados de acordo com os Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008). Os resultados das determinações foram expressos em matéria seca e matéria úmida.

4.2.1 Viscosidade

A viscosidade foi determinada em viscosímetro rotativo microprocessado, QUIMIS (Q-860M) a 60 rpm. A amostra analisada em temperatura ambiente, atingindo 50% de leitura em 21 minutos de análise, segundo Chen et al. (2016), com adaptações. A viscosidade foi determinada pelo equipamento em MPa, mas convertido para cP (centipoise).

4.2.2 Composição química da gelatina

A composição química foi determinada por Fluorescência de raios X em 5g de amostra da gelatina colocadas no porta amostra do espectrômetro de fluorescência de raios X por energia dispersiva modelo EDX-7000[®] de acordo com o manual de instrução da Shimadzu (2010). Utilizou-se uma fonte de raios X de Ródio (Rh) em atmosfera a vácuo, com um colimador de 10 mm, tempo de contagem de 100 s e faixa de energia do canal do analito Ti-U de 50 kV e do Na-Sc de 15 kV. O espectro característico de cada elemento foi identificado com o auxílio do software do equipamento.

4.2.3 Rendimento

Para avaliar o rendimento do processo de extração de gelatina, uma vez por semana, durante um mês, 1,0 kg de pele de tilápia foi obtido na unidade industrial de filetagem de Toledo. A cada coleta semanal, as peles foram tratadas conforme descrito anteriormente e após passarem por peneiras granulométricas com aberturas 216, 32 e 16 mm, foram secas em estufa a 105 °C por 4 horas. O cálculo do rendimento foi determinado pela relação entre a massa de gelatina seca dividida pela massa da matéria-prima úmida e multiplicada por 100 (Nishida et al., 2016).

4.3 Desenvolvimento dos filmes

Os filmes foram elaborados pelo método *casting*, que consiste em espalhar a solução do filme em uma superfície lisa e deixar solidificar por secagem do material, segundo Zavaraze et al. (2012) com adaptações. Foram realizados ensaios preliminares para a elaboração dos filmes avaliando a concentração de massa (gelatina) e porcentagem de glicerol. No LA foram testadas diferentes formulações de gelatina com glicerol, em placa de Petri de poliestireno em duplicata, sendo 10; 15; 20; 25, 30; 35; 40; 45; 50; 55; 60 e 65g de gelatina com 0,15; 0,25; 0,35; 0,45; 0,55; 0,65 e 0,75g de glicerol líquido (92,9%).

No LEA, as formulações que não apresentaram filmes quebradiços, rígidos ou flexíveis demais foram repetidas, para gelatina (20; 30; 35; 40; 45; 50 e 55g) com glicerol (0,25; 0,35; 0,45; 0,55 e 0,65g). Os ensaios passaram por avaliação sensorial, de textura, odor e aparência e as formulações que apresentaram maior semelhança com um filme foram selecionadas para repetições e análises.

O protocolo definido para as formulações foi desenvolvido a partir de 100% de gelatina extraída e 30% de água deionizada, formando 6 tratamentos de concentrações de gelatina e glicerol respectivamente T1 (55 e 0,35g), T2 (45 e 0,35g), T3 (35 e 0,35g), T4 (20 e 0,55g), T5 (30 e 0,55g) e T6 (40 e 0,55g).

As soluções filmogênicas foram aquecidas a 40 °C por 15 minutos sob agitação constante vertidas em placas de Petri de poliestireno de 14,0 cm de diâmetro. Os filmes de gelatina, conforme as formulações, foram preparados em triplicata, submetidos à secagem em estufa Fanem, modelo 330 (Fanem Ltda.) a 40 °C por 16 h e posteriormente, colocados em recipiente com umidade controlada a 75% por 48 h para estabilização (Figura 5).

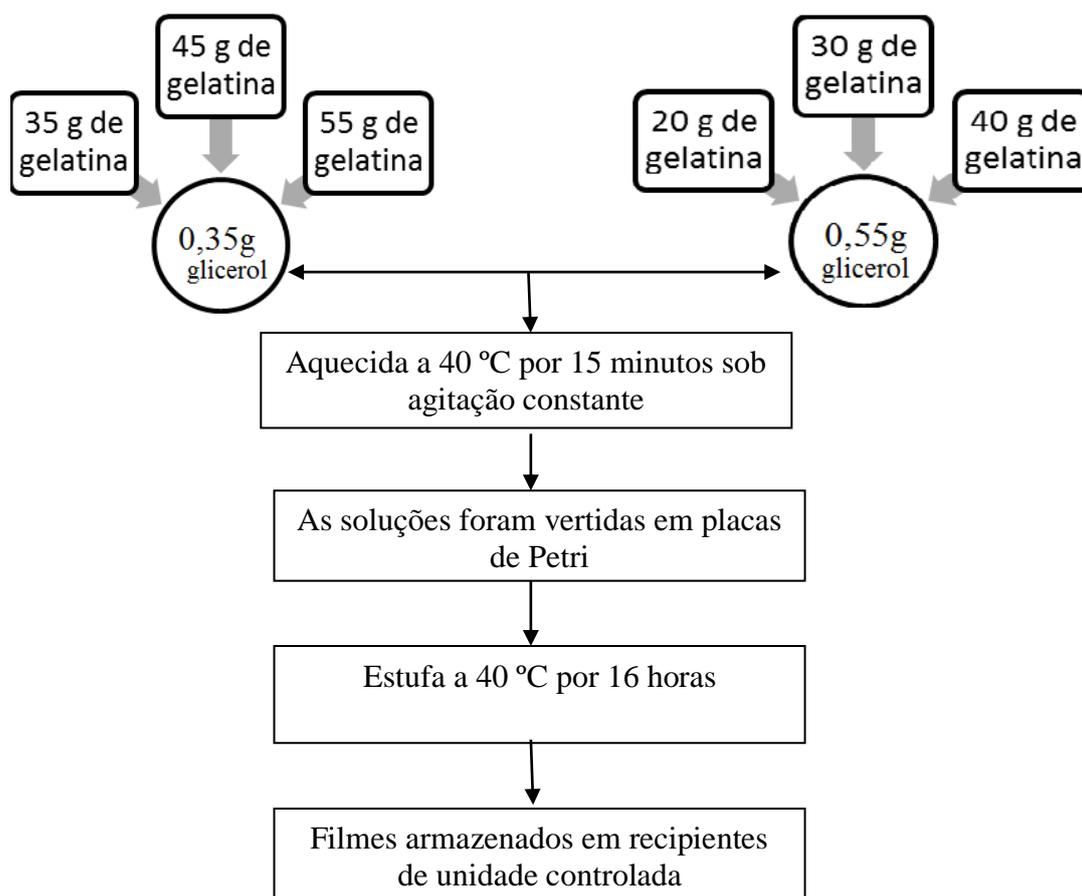


Figura 5. Fluxograma de obtenção dos filmes.

4.4 Caracterização dos filmes

No LEA foram realizados os ensaios para determinar as propriedades mecânicas (PM), permeabilidade ao vapor de água (PVA), espessura do filme e análises de cor.

4.4.1 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas foram desenvolvidas em texturômetro (TA.XTPlus, *Stable Micro Systems*, Reino Unido) com o probe A/TGT (Figura 6) e obtiveram-se os resultados de resistência máxima à tração ($R_{m\acute{a}x}$) [MPa] e porcentagem de alongação na ruptura (E) [%], por força-deformação, utilizando o Software Exponente, versão 4.0.13.0, de acordo com adaptações da metodologia ASTM D882-02 (ASTM, 2002). Os filmes foram cortados nas dimensões de 80 mm x 25 mm com guilhotina de dois cortes (2G-15, Regmed) pré-condicionadas (25 °C/75% UR) no mínimo por 48 h e para cada formulação foram utilizadas nove amostras. A espessura de cada amostra foi obtida por um micrômetro de ponta plana (Mítutoyo, Brasil) com resolução de 1µm. As medidas foram retiradas de cinco pontos aleatórios de cada amostra.

Para calcular a $R_{m\acute{a}x}$ foi utilizada a Equação 1, onde $F_{m\acute{a}x}$ é a força máxima, A_{min} a área mínima inicial do corpo de prova, L os valores da largura e e_{min} a espessura mínima. A $R_{m\acute{a}x}$ é a relação entre a $F_{m\acute{a}x}$ medida a A_{min} e calculada com os valores de L e e_{min} .

$$R_{m\acute{a}x} = \frac{F_{m\acute{a}x}}{A_{min}} = \frac{F_{m\acute{a}x}}{L \times e_{min}} \quad (1)$$

A porcentagem de alongação na ruptura foi determinada como E utilizando a Equação 2, sendo a relação percentual em alongação (E_{rup}) do corpo de prova na ruptura e o seu comprimento inicial corresponde à distância entre as garras (D_{garras}). As condições dos testes foram à distância das garras de 50 mm, a velocidade de 10 mm s⁻¹ e a força de 0,1g.

$$E = \frac{E_{rup}}{D_{garras}} \times 100 \quad (2)$$

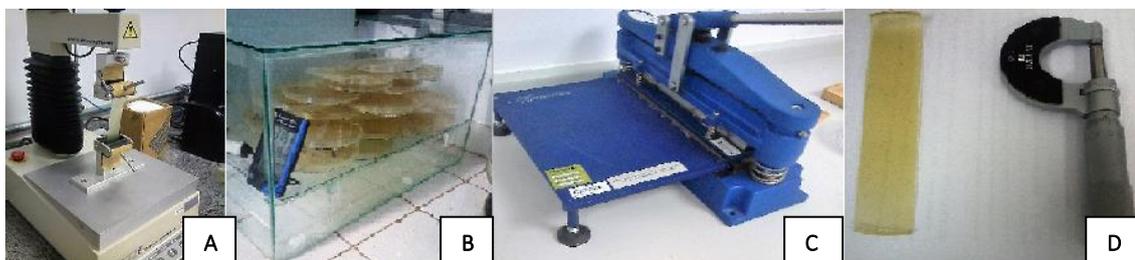


Figura 6. Equipamento texturômetro (TA.XT Plus, Stable Micro Systems, Reino Unido) com o probe A/TGT (A), filmes acondicionados em recipiente com umidade controlada (B), guilhotina de dois cortes (2G-15, Regmed) (C) e amostra de filme e micrômetro de ponta plana (Mitutoyo, Brasil) (D).

4.4.2 Permeabilidade ao vapor de água

Os ensaios de permeabilidade ao vapor de água (PVA) seguiram o método gravimétrico de acordo com a ASTM E96/E96M-10 (ASTM, 2010). Foi utilizado o equipamento PVA/4 (Regmed, modelo 2G-15), onde as amostras, cortadas em círculos, foram colocadas em cápsula de permeação feita em alumínio, com área de 44 cm² e selada com parafina (Figura 7).

Dentro da cápsula foi colocado o dessecante, sílica gel, ativado previamente em estufa a 100 °C por 24 h e considerado com 0% de umidade. O dessecante ficou posicionado a 6 mm do filme. Quatro cápsulas foram preparadas, três delas contendo sílica gel e o filme, e uma cápsula com amostra de filme apenas, considerada o controle. As cápsulas foram acondicionadas em dessecador com umidade relativa controlada a 75% com solução saturada

de cloreto de sódio e, ao longo do tempo, a sílica ganhou massa de vapor de água que permeou o filme de fora para dentro. Por pesagens a cada duas horas, foi determinado o ganho de massa referente à permeabilidade de vapor de água.

A taxa de permeabilidade do vapor de água [$\text{g h}^{-1} \text{m}^{-2}$] e w/t [g h^{-1}] foram obtidas da regressão linear da curva de ganho de massa por tempo, sendo A a área exposta do filme [m^2]. Foram realizadas dez pesagens, seis no primeiro dia e quatro no segundo. A PVA foi calculada em $\text{g mm m}^{-2} \text{d}^{-1} \text{kPa}^{-1}$ de acordo com a Equação 3, considerando a taxa de permeabilidade do vapor de água (TPVA), a espessura do filme (e) em μm , a pressão de saturação do vapor na temperatura do ensaio (p_s) em kPa, umidade relativa interna (UR_1) e a umidade relativa externa (UR_2) da cápsula

$$PVA = TPVA \times \frac{e}{p_s(UR_1 - UR_2)} \quad (3)$$

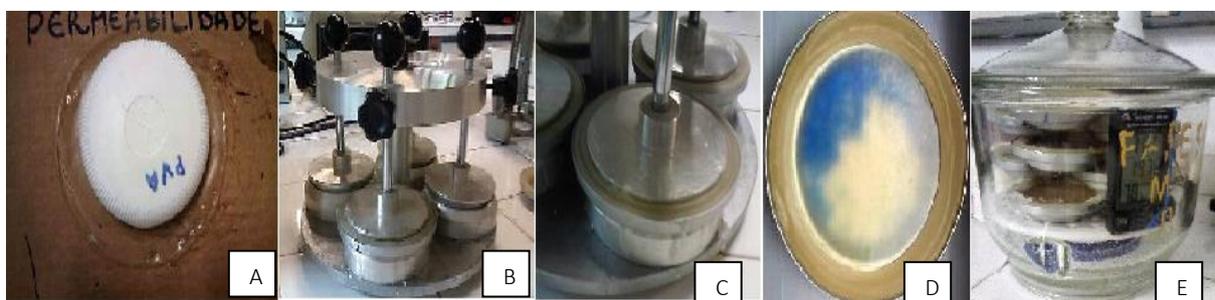


Figura 7. Molde de corte para o filme (A), equipamento PVA/4 (Regmed Brasil) com uma célula acoplada (B), equipamento com amostra selada (C), cadinho com amostra de filme selada e com sílica ativada (D) e dessecador para armazenar as amostras com umidade controlada (E).

4.4.3 Espessura

A espessura média das amostras de filmes pré-condicionadas a $23\text{ }^\circ\text{C}$ e 75% UR, foi determinada com micrômetro de ponta plana (Mitutoyo, Sul Americana Ltda., modelo 103-137), resolução de $1\mu\text{m}$, em cinco posições aleatórias diferentes no entorno dos filmes (Zavaraze et al., 2012).

4.4.4 Cor

A cor foi determinada em aparelho ColorQuest XE (Hunterlab, USA) e para a interpretação dos dados foi utilizado o sistema CIELab, iluminante D65 e ângulo observador padrão 10° , segundo metodologia ASTM D 2244-09b (ASTM, 2009).

O ensaio da análise de cor foi realizado em triplicata e as amostras foram avaliadas nos comprimentos de onda de 400 nm a 700 nm com posição de filtro UV nominal, com área de visão de uma polegada quadrada no modo de transmitância total. O equipamento ColorQuest XE (Hunterlab, USA) calcula o parâmetro dE^* , associado à intensidade de cor a partir dos parâmetros da escala Lab, medido pelo equipamento e calculado ΔL^* , Δa^* e Δb^* que são os diferenciais entre os parâmetros de cor das amostras.

4.4.5 Composição química do filme

Para a análise de composição química, o filme desenvolvido foi pesado em balança analítica Shimadzu, modelo AUX. Os filmes foram cortados nas dimensões de 80 mm x 25 mm com guilhotina de dois cortes (Regmed, modelo 2G-15) acondicionados no interior do porta amostra e expostos aos raios X, para detecção do espectro característico de cada um dos elementos presentes, e identificados com o auxílio do software do equipamento. Os ensaios foram realizados em triplicata, em filmes de 20 g.

4.5 Análises dos resultados

Os resultados dos ensaios foram submetidos ao teste de Levene e análise de variância (ANOVA), seguido por teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o software *STATISTICA*® 7.1 (STATSOFT, 2005), sob o domínio da Unioeste, conforme a licença de utilização número 0607a.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises da gelatina

A gelatina extraída a partir da pele de tilápia apresentou uma coloração clara, sendo classificada como Tipo A, devido à extração em meio ácido e pH variando entre 4,2 a 5,3. O processo de obtenção da gelatina determina suas qualidades de acordo com as propriedades físico-químicas, as quais são fortemente influenciadas pela severidade do processo de manufatura, seja ele por ácidos ou bases menos abrasivos ou o tempo de permanência nas soluções (Songchotikunpan et al., 2008).

5.1.1 Composição centesimal, viscosidade e rendimento

A composição centesimal, viscosidade e o rendimento da gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios e desvios padrões da composição centesimal, viscosidade e rendimento da gelatina obtida a partir da pele de tilápia-do-Nilo.

	Base seca (b.s%)	Base úmida (b.u%)
Umidade	-	12,45 ± 0,71
Proteína	96,77 ± 0,26	88,73 ± 1,07
Lipídeos	1,35 ± 0,05	0,56 ± 0,08
Cinza	-	-
Viscosidade a 25 °C (cP)	-	2,51 ± 0,71
Rendimento (%)	-	23,72 ± 3,61

O teor médio da umidade da gelatina foi 12,45 ± 0,71% em base úmida, estando na faixa descrita para as gelatinas comerciais de 9 a 14% (Alfaro & Silva, 2010), sendo superior aos valores relatados por Bueno et al. (2011) e Songchotikunpan et al. (2008) que obtiveram respectivamente 9,3% e 7,3% de umidade, ambas as amostras extraídas também a partir da pele de tilápia-do-Nilo.

Os valores de lipídeos determinados foram 1,35 ± 0,05% em base seca e 0,56 ± 0,08% em base úmida, sendo superiores aos valores encontrados nas gelatinas extraídas em outras

espécies de pescados variaram de 0,20 a 0,21% (Alfaro & Silva, 2010). Tais diferenças podem ter ocorrido porque neste trabalho não foi realizada a etapa de desengorduramento das peles de tilápia-do-Nilo utilizadas para a extração da gelatina.

O teor de cinzas não foi detectado pelo método utilizado. Bueno et al. (2011) obtiveram um valor de 0,3% de cinzas em gelatina extraída de peixe. O valor encontrado na amostra pode ser explicado devido às perdas por volatilização ou mesmo pela reação entre os componentes, sendo um indicativo de qualidade da gelatina e eficiência na lavagem e desmineração das peles (Alfaro et al., 2009).

O valor médio da viscosidade obtido foi de $2,51 \pm 0,71$ cP e está de acordo com parâmetros comerciais de 2,0 a 7,0 cP que são reportados. Um dos fatores que influencia na viscosidade está relacionado à quantidade de lipídeos da amostra que proporciona maior viscosidade. No entanto, a gelatina que apresenta baixa viscosidade, resulta em gel frágil e, a gelatina com alto valor de viscosidade, o gel é consistente e extenso (Alfaro & Silva, 2010). Outro fator que influencia a viscosidade é a quantidade de ácido presente na amostra fazendo com que a gelatina obtenha uma textura menos rígida, pois quanto mais próxima de pH neutro as moléculas da gelatina diminuem e isso ocorre também com temperaturas acima de 40 °C (Songchotikunpan et al., 2008; Silva & Penna, 2012).

O rendimento da gelatina obtido foi de $23,72 \pm 3,61\%$, valor maior quando comparado com os resultados obtidos por Bueno et al. (2011) e Songchotikunpan et al. (2008) que obtiveram respectivamente 18,3% e 18,1%. O rendimento da gelatina pode variar de acordo com a forma de tratamento ou com a idade entre juvenis e adultos, espécies ou a sazonalidade (Jongiareonrak, Benjakul, Visessanguan, 2006; Alfaro et al. 2013).

5.1.2 Composição química da gelatina e do filme

Os componentes químicos encontrados na gelatina e no filme diferem tanto na composição, quanto no teor, conforme apresentado nas Tabelas 3 e 4. Isso pode ter ocorrido pela disposição desses elementos no aditivo utilizado para a elaboração do filme.

Os elementos enxofre (S), zinco (Zn) e cálcio (Ca) são predominantes na análise por serem característicos do pescado. O S que é decorrente dos aminoácidos metionina e cistina, presente na proteína encontrada na pele da tilápia (Mano & Mendes, 1999), apresentou maior teor, tanto na gelatina quanto no filme. O teor de Zn pode ser devido ao habitat do pescado, devido ao ambiente lodoso ou alimentação de sedimentos (Castro et al., 1999).

O Ca é essencial para o metabolismo celular da pele, impede a formação de enzimas responsáveis pela degradação das fibras elásticas, estimulam a produção do colágeno e também

a dos lipídeos intercelulares, por isso está presente na composição química da gelatina e do filme.

Tabela 3. Componentes minerais presentes na gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo.

Componente determinado	Teor médio (ppm)	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Amplitude
S	111,50	0,02	11,13	11,18	0,05
Zn	76,40	0,12	7,52	7,75	0,23
Ca	46,50	0,03	4,63	4,69	0,07
K	14,50	0,00	1,45	1,46	0,01
Fe	11,30	0,98	0,00	1,71	1,71
P	10,40	0,00	1,04	1,04	0,00
Si	400,00	0,00	0,04	0,05	0,01

Os elementos químicos alumínio (Al) e o manganês (Mn) presentes no filme não foram verificados na gelatina. É possível que esses elementos sejam decorrentes das impurezas presentes no glicerol utilizado no processo (Dias et al., 2013), pois o glicerol utilizado não era de grau alimentício.

O valor do Cu encontrado na amostra pode ter ocorrido devido esse elemento ser considerado o mais imóvel dos metais, sendo fortemente fixado pela matéria orgânica, por óxidos de ferro e alumínio (Mano & Mendes, 1999).

Verificam-se na Figura 8 os espectros médios da composição da gelatina e do filme, que representadas pelas intensidades apresentadas nos espectros em contagens por segundos (cps). Os principais constituintes da gelatina e do filme são o enxofre e o cálcio. O enxofre é representado na faixa espectral, aproximadamente em 2,3 keV e o Ca em duas faixas espectrais na linha $K\alpha$ e $K\beta$ (transições atômicas entre as camadas L e K, e M e K) nos valores de 3,69 e 4,02 keV. A área total média dos picos S e Ca, ambos na linha $K\alpha$, utilizando o canal Na-Sc, no filme correspondem os valores respectivos de 11,014 e 3,187 (cps uA^{-1}) e na gelatina os valores de 11,153 e 4,654 (cps uA^{-1}).

Tabela 4. Componentes minerais presentes no filme desenvolvido a partir da gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo.

Componente determinado	Teor médio (ppm)	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Amplitude
S	110,20	0,02	11,00	11,04	0,05
Zn	86,00	0,23	8,36	8,81	0,45
Cu	55,50	0,06	5,50	5,62	0,12
Ca	31,90	0,00	3,18	3,19	0,01
Fe	23,30	0,23	2,16	2,59	0,43
K	6,90	0,01	0,67	0,70	0,03
P	6,10	0,01	0,60	0,63	0,02
Mn	5,90	0,11	0,53	0,72	0,19
Si	1,50	0,01	0,15	0,16	0,01
Al	300,00	0,00	0,03	0,03	0,00

A presença do elemento ródio (Rh) é decorrente da utilização do material que constitui o alvo metálico no tubo gerador de raios X (Figura 8). Esse tipo de pico espectral é característico do espalhamento da radiação em amostras com matrizes orgânicas (Ferreti, 2008).

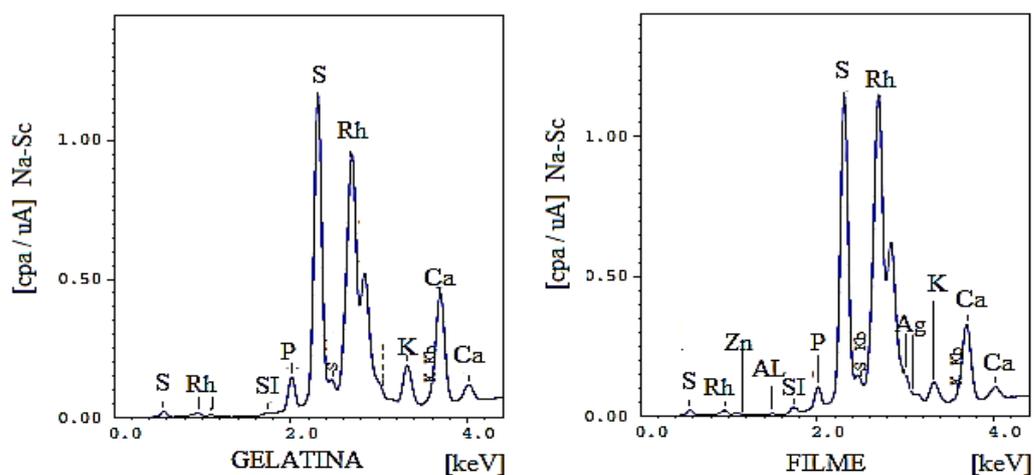


Figura 8. Espectros da gelatina extraída e do filme desenvolvido a partir da pele de tilápia-do-Nilo.

5.2 Caracterização do filme desenvolvido

Os filmes elaborados apresentam características opacas devido ao alto teor de colágeno e flexível. A flexibilidade do filme está relacionada com a umidade do ambiente a que ele é submetido, quanto mais úmido for o ambiente, mais flexível se torna o filme, sendo necessário a adição de um surfactante na formulação, para não ocorrer a interação ar-água. Os filmes que apresentaram bolhas ou qualquer outra deformidade foram selecionados e descartados, pois as deformidades são pontos de ruptura que interferem nas análises.

A proporção de gelatina e glicerol utilizada na elaboração dos filmes pode resultar na interação por uma ligação de hidrogênio que induz a uma diminuição da mobilidade molecular e da capacidade de ligação com a água (Shimazu et al., 2007). Essa proporção influencia diretamente a qualidade do filme, quanto maior a concentração de gelatina e menor a concentração de glicerol o filme tende a ser mais opaco e mais resistente e, quanto menor a concentração de gelatina o filme tende a ser mais flexível e menos resistente (Tongnuanchan, Benjakul, Podpran, 2013). A porcentagem menor que 0,35g de glicerol induz aos filmes quebradiços, sem flexibilidade, enquanto que porcentagem superior a 0,55g proporciona filmes viscosos com aderência indesejada, como observado em ensaios prévios.

Nas concentrações mais baixas de glicerol devem-se preparar filmes mais espessos, com mais massa. Entretanto, com concentrações mais altas de glicerol, os filmes devem ser mais finos, com menos massa. Portanto, o binômio, concentração de glicerol x gelatina influencia na espessura dos filmes (Davaço et al., 2007; Dias et al., 2013; Chen et al., 2016).

A Tabela 5 apresenta os resultados de propriedades mecânicas, espessura e permeabilidade ao vapor de água dos filmes de gelatina, nas diferentes relações entre a gelatina e o glicerol.

Tabela 5. Valores médios e desvios padrões para determinações de espessura, permeabilidade ao vapor de água (PVA), força e alongação dos filmes desenvolvidos a partir da gelatina extraída da pele de tilápia-do-Nilo, utilizando diferentes concentrações de gelatina (g) e glicerol (v/v).

Gelatina /glicerol		Espessura	PVA	Força	Elongação
(g)	(g)	(μm)	($\text{g mm m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ kPa}^{-1}$)	(N mm^{-2})	(mm)
T1 (55 e 0,35)		347 \pm 39,11 ^a	26,72 \pm 1,34 ^{a,b}	24,22 \pm 2,84 ^{a,b,c}	85,68 \pm 6,03 ^a
T2 (45 e 0,35)		350 \pm 43,31 ^a	30,31 \pm 5,44 ^{a,b}	16,14 \pm 0,47 ^{b,c}	88,54 \pm 2,98 ^a
T3 (35 e 0,35)		356 \pm 15,62 ^a	32,37 \pm 4,11 ^a	62,61 \pm 12,74 ^a	89,21 \pm 2,98 ^a
T4 (20 e 0,55)		84 \pm 10,00 ^b	7,29 \pm 1,36 ^c	10,11 \pm 5,06 ^c	82,84 \pm 2,98 ^a
T5 (30 e 0,55)		248 \pm 70,89 ^a	21,16 \pm 4,18 ^b	28,57 \pm 16,73 ^{a,b}	100,87 \pm 6,31 ^a
T6 (40 e 0,55)		306 \pm 91,84 ^a	25,93 \pm 4,98 ^{a,b}	42,73 \pm 15,97 ^{a,b}	88,88 \pm 2,22 ^a

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05)

5.2.1 Espessura

Os diferentes tipos de tratamentos influenciaram significativamente (p<0,05) na característica do filmes devido à quantidade de massa destinada para cada filme e ao método *casting* utilizado no desenvolvimento (Tabela 5).

As formulações nos tratamentos T1, T2 e T3 apresentaram um valor alto na espessura, devido ao teor de gelatina e glicerol na formulação. A gelatina por ser hidrofílica, faz com que as moléculas de água adicionadas no processo para a dissolução se mantenham em uma estrutura sólida flexível, já o glicerol, com características higroscópicas, absorve umidade do ambiente, fazendo com que o mesmo adquira maior espessura (Dias et al., 2013; Chen et al., 2016). O T3 pode ter adquirido maior espessura devido à interação ar-água, já que o mesmo obteve maior permeabilidade ao vapor de água, diferentes dos tratamentos T1 e T2, que possuíam maior quantidade de gelatina. A formulação com maior teor de gelatina possui maior quantidade de água interna devido a sua característica hidrofílica, (Tabela 5).

Nos filmes T4, T5 e T6 as formulações apresentaram menor teor de gelatina e maior teor de glicerol em relação aos três primeiros tratamentos. Nesse caso a espessura foi menor, inclusive no T4 que difere dos outros tratamentos e obteve 84 μm , valor inferior quando

comparados a T5 e T6 (Tabela 5). Isso ocorreu devido à solução aplicada na placa de petri ter sido em menor quantidade de massa, fazendo com que a mesma seja espalhada com maior facilidade e apresente maior uniformidade. A espessura fina adquirida por esse filme também está relacionada com a quantidade de massa utilizada, menor concentração de gelatina. Porém, os filmes mais finos que requerem maiores quantidades de glicerol para que não fiquem quebradiços. Durante o processo de aquecimento dos filmes na estufa, por serem mais finos, a água presente na gelatina evapora com maior facilidade e a adição de glicerol tem a função de hidratar, fazendo com que os filmes apresentem as flexibilidades desejadas.

O T5 e o T6 apresentaram grande variabilidade nos valores da espessura do filme devido à forma de coleta dos dados, pois são retirados 5 pontos aleatórios de três filmes e os filmes não apresentam total uniformidade, devido a esse fato os filmes podem apresentar essa variação (Tabela 5).

5.2.2 Permeabilidade ao vapor de água

Os resultados dos filmes obtidos no parâmetro de permeabilidade ao vapor de água (PVA) apresentaram diferenças entre si ($P < 0,05$). A permeabilidade foi gradativa de acordo com a espessura dos filmes, ou seja, quanto maior os valores da espessura maior a permeabilidade (Tabela 5).

Os valores de PVA variaram de $7,29 \pm 1,36$ a $32,37 \pm 4,11$ g mm m⁻² d⁻¹ kPa⁻¹ sendo superiores aos valores encontrados por Nakashima et al. (2016) que obtiveram uma variação de $0,77 \pm 0,04$ a $4,99 \pm 1,62$ g mm m⁻² d⁻¹ kPa⁻¹ em filmes a base de colágeno. Davaço et al. (2007), obtiveram menores valores de permeabilidade dos filmes de gelatina com adição de surfactantes de $1,9 \pm 0,4$ a $9,5 \pm 0,5$ g mm m⁻² d⁻¹ kPa⁻¹.

A permeabilidade ao vapor de água é alta nos filmes a base de gelatina porque as macromoléculas de proteínas presentes na gelatina formam grupos hidrofílicos, ou seja, substâncias que interagem com a água, essas substâncias quando aquecidas desenrolam-se formando grupos polares e formam ligações de hidrogênio que se ligam as moléculas de água aumentando a permeabilidade do filmes (Gómez-Guillén et al., 2009). O glicerol é um plastificante higroscópico, que absorve a umidade do ar e aumenta o volume livre das moléculas que proporciona maior permeabilidade ao vapor de água (Al-Hassan & Norziah, 2012). Pela interação de uma substância higroscópica e uma hidrofílica é tendencioso que a permeabilidade ao vapor de água seja elevada (Davaço et al., 2007; Al-Hassan & Norziah, 2012).

5.2.3 Propriedades mecânicas: força e alongação

Todos os filmes apresentaram alta resistência em relação à força e a alongação (Tabela 5), porém em T5 obteve maior alongação, pois nesse caso esta formulação foi a que apresentou maior flexibilidade em relação aos demais tratamentos.

Os tratamentos T1 e T3 não apresenta diferença significativa entre si nos resultados de alongação dos filmes, porém a força em T3 foi maior que em T2 e T4. Na média o T3 necessitou de mais força e foi o que obteve maior alongação, mas o T2 utilizou a menor força entre os três tratamentos e obteve uma alongação semelhante ao T3. Isso pode ter ocorrido por causa da variabilidade do corpo de prova, sendo que no quesito alongação os três tratamentos não diferem entre si (Tabela 5).

Nos tratamentos T4, T5 e T6, a força utilizada foi gradativa com a espessura obtida nos filmes, menor espessura utilizou menor força, porém para alongação não houve efeito ($P > 0,05$) entre as diferentes combinações da quantidade de gelatina e glicerol utilizada na elaboração dos filmes.

Os filmes de proteínas miofibrilares desenvolvidos por Zavaraze et al. (2012) obtiveram um desempenho diferente $5,76 \pm 0,12$ MPa de força e $193,1 \pm 7,2$ mm de alongação, em relação aos encontrados neste estudo. Estas diferenças nos valores podem ocorrer devido à quantidade de glicerol utilizado na elaboração dos filmes, assim também pela quantidade de proteína presente na formulação (Nakashima, Chevalier, Cortez-Veja, 2016). Os resultados de T4, T5 e T6 apresentam filmes com menor espessura obtiveram maior alongação utilizando menor força, inclusive o T5, que utilizou menos força, mas obteve maior alongação.

5.2.4 Cor

As medidas de cor foram avaliadas pela transmitância da luz através dos filmes. Os transparentes absorvem e transmitem parcialmente a luz, enquanto que filmes opacos absorvem mais luz e transmite menos.

De acordo com os parâmetros de L^* , a^* e b^{**} , os valores obtidos em L^* indicam que os filmes são opacos, pois se aproximam mais do valor de $L = 0$. Os valores de a^* mostram a tonalidade verde, pois os valores obtidos pela análise são negativos e b^* para o azul, devido à obtenção de valores positivos, segundo o sistema Cielab.

Os resultados obtidos na luminosidade nos tratamentos T1, T2 e T3, não se diferem entre si, o T1 apresentou maior luminosidade, evidenciando maior opacidade (Tabela 6).

Os valores a^* apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos T4 e T5. Quanto ao parâmetro b^* não houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os tratamentos, no entanto se percebem que todos os valores tendem a cor amarela devido à presença de colágeno utilizado elaboração dos filmes.

Tabela 6. Valores médios e desvios padrões dos parâmetros de cor referente aos filmes desenvolvidos a partir da gelatina extraída a partir da pele de tilápia-do-Nilo.

	ΔL^*	Δa^*	Δb^*
T1	$44,41 \pm 0,56^a$	$-0,71 \pm 0,15^{a,b}$	$0,31 \pm 0,54^a$
T2	$43,83 \pm 1,11^a$	$-0,75 \pm 0,33^{a,b}$	$0,57 \pm 0,75^a$
T3	$38,29 \pm 0,80^c$	$-0,82 \pm 0,03^{a,b}$	$1,73 \pm 0,04^a$
T4	$41,02 \pm 2,44^{a,b,c}$	$-0,42 \pm 0,11^a$	$0,49 \pm 0,58^a$
T5	$38,93 \pm 2,28^{b,c}$	$-0,96 \pm 0,26^b$	$1,20 \pm 0,86^a$
T6	$43,31 \pm 2,01^{a,b}$	$-0,68 \pm 0,04^{a,b}$	$1,58 \pm 0,07^a$

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$)

Os valores dos parâmetros de cor obtidos por Nakashima et al. (2016) de filmes de colágeno foram de $66,76 \pm 3,66$ a $96,03 \pm 0,42$, ou seja, são filmes considerados claros. Contudo, os filmes desenvolvidos por Wu et al. (2013) obtiveram valores de ΔL^* de 0,03 a 77,8. Conforme as concentrações utilizadas no filme, a margem de valores que obtidas por Wu et al., (2013) abrangem valores semelhantes aos filmes desenvolvidos, que possuem alta opacidade devido o teor de proteína presente na matéria-prima (Zavaraze et al., 2012).

6 CONCLUSÕES

Foi possível a extração da gelatina a partir das peles de tilápia-do-Nilo pelo método de acidificação. A gelatina obtida apresentou resultados de acordo com os parâmetros comerciais nas análises de composição centesimal, composição química, viscosidade e rendimento. A obtenção dos filmes biodegradáveis a partir da gelatina extraída não apresentou contaminação, no entanto, a espessura pode ser melhorada para que os filmes apresentem uniformidade em toda a sua área e, dessa forma, diminua os valores de permeabilidade ao vapor. Os filmes possuem ótimas propriedades mecânicas. Os tratamentos utilizados podem ser destinados a diferentes aplicações, mas o T3 (35g de gelatina e 0,35 g de glicerol) foi o que obteve melhores resultados nas propriedades mecânicas, pois se trata de um filme de maior resistência e de provável interesse comercial.

7 REFERÊNCIAS

- Alfaro, A. T., Costa, C. S., Fonseca, G. G. & Prentice, C. (2009). Effect of extraction parameters on the properties of gelatin from king weakfish (*Macrodon ancylodon*) bones. *Food Science and Technology International*, 15, 553-562.
- Alfaro, A. T. & Silva, E. F. (2010). Propriedades reológicas da gelatina obtida a partir de pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 69, 55-61.
- Alfaro, A. T., Fonseca, G. G., Balbinot, E., Machado, A. & Prentice, C. (2013). Physical and chemical properties of wami tilapia skin gelatin. *Food Science and Technology*, 33, 592-595.
- Al-Hassan, A. A. & Norziah, M. H. (2012). Starche-gelatin edible films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 26, 108-117.
- Anker, M., Stading, M. & Hermansson, A. (2001). Aging of whey protein films and the effect on mechanical and barrier properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 989-995.
- ASTM. (2003). Standard test methods of water vapor transmission of materials, Philadelphia: American Society for Testing and Materials, D5338-98.
- ASTM. (2002). Tensile properties of thin plastic sheeting. Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia: American Society for Testing and Materials, D 882.
- ASTM. (2009). Standard practice for calculation of color tolerances and color differences from instrumentally measured color coordinates, Philadelphia: American Society for Testing and Materials, D2244-09.
- ASTM. (2010). Standard test methods of water vapor transmission of materials, Philadelphia: American Society for Testing and Materials, E 96-96.

- Bordignon, A. C, Franco, M. L. R. S., Gasparino, E., Yajima, E. M., Vesco, A. P. D., Visentainer, J. V. & Mikcha, E. G. (2012). Aproveitamento de peles de tilápia-do-nilo congeladas e salgadas para extração de gelatina em processo batelada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 473-478.
- Bueno, C. M., Alvim, I. D., Koberstein, T. C. R. D., Portella, M. C. & Grosso, C. (2011). Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. *Brazilian Journal of Food Technology*, 14, 65-73.
- Cao, N., Fu, Y. & He, J. (2007). Preparation and physical properties of soy protein isolate and gelatin composite films. *Food Hydrocolloids*, 21, 1153-1162.
- Castro, A. C. L. Garcia, M. R. S.; Cavalcante, P. R. S. & Rojas, M. O. A. I. (1999). Avaliação dos níveis de Cu e Zn no tecido muscular de *Mugil gaimardianus* (Pisces, Osteichthyes) no estuário do rio Tibiri, Ilha de São Luís- MA. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, 12, 65-73.
- Caveen, A. J., Lart, W., Duggan, H. & Pickerell, T. (2017). The Risk Assessment for Sourcing Seafood (RASS): empowering businesses to buy responsibly. *Marine Policy*, 75, 1-10.
- Charles, F. Guillaumea, C. Gontarda, N. A. (2008). Effect of passive and active modified atmosphere packaging on quality changes of fresh endives. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 22-29.
- Chen, S., Tang L., Halo, G., Wing, W., Osaka, K. & Tanaka, M. (2016). Effects of $\alpha 1/\alpha 2$ ratios and drying temperatures on the properties of gelatin films prepared from tilapia (*Tilapia zillii*) skins. *Food Hydrocolloids*, 52, 573-580.
- Damoradan, S. Parkin, K. & Fennema, O.R., *Química de alimentos de Fennema*. (4 ed). Porto Alegre: Artmed, (Cap. 5).

- Davaço, T., Tanada-Palmu, P. & Grosso, C. (2007). Filmes compostos de gelatina, triacetina, ácido esteárico ou capríco: efeito do pH e da adição de surfactantes sobre a funcionalidade dos filmes. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27, 408-416, 2007.
- Dias, T. P., Grosso, C. R. F., Andreuccetti, C., Carvalho, R. A., Galicia-García, T. & Martinez-Bustos, F. (2013). Effect of the addition of soy lecithin and *Yucca schidigera* extract on the properties of gelatin and glycerol based biodegradable films. *Polímeros*, 23, 339-345.
- Duconseille, A., Andueza, D., Picard, F., Sante-Lhoutellier, V. & Astruc, T. (2017). Variability in pig skin gelatin properties related to production site: a near infrared and fluorescence spectroscopy study. *Food Hydrocolloids*, 63, 108-119.
- Famá, L., Rojoe, P. G., Bernal, C. & Goyanes, S. (2012). Biodegradable starch based nanocomposites with low water vapor permeability and high storage modulus. *Carbohydrate Polymers*, 87, 1989-1993.
- FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (2016). Food Outlook: biannual report on global food markets. Rome: FAO.
- FIB. FOOD INGREDIENTS BRAZILIAN. (2011). A gelatina e seus benefícios para a saúde humana, 18, 56-63.
- Ferreti, M. (2008). Princípios e aplicações de espectroscopia de fluorescência de raios X (FRX) com instrumentação portátil para estudo de bens culturais. *Revista CPC*, 7, 74-98.
- Franchetti, S. M. M. & Marconato, J. C. (2006). Polímeros biodegradáveis - uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. *Química Nova*, 29, 811-816
- Gómez-Guillén, M.C., Fernández-Díaz, M.D., Ulmo, N., Lizarbe, M.A. & Montero, P. (2002). Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16, 25-34.

- Gómez-Guillén, M. C., Pérez Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B. & Montero, P. (2009). Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 3-16.
- Jongiaronrak, A., Benjakul, S. & Visessanguan, W. (2006). Skin gelatin from bigeye snapper and brownstripe red snapper: chemical compositions and effect of microbial transglutaminase on gel properties. *Food Hydrocolloids*, 20, 1216-1222.
- Instituto Adolfo Lutz. (2008). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: IMESP, pp. 21-22.
- Kautz, J., Felting, W., Sales, S. E., Eifler-Lima, V. L. & Merlo, A. A. (2015). Condensation reaction of glycerol and carbonyl compounds: synthesis, characterization, and derivatization for liquid crystals. *Química Nova*, 38, 053-1062.
- Kolybaba, M, Tabil, L. G., Panigrahi, S., W. J. Crerar, W. J. T. Powell, T., B. & Wang, B. (2003). Biodegradable polymers: past, present, and future. *The Society for Engineering in Agricultural, Food and Biological Systems*, 3, 1-15.
- Mano, E. B. & Mendes, L. C. (1999). *Introdução a polímeros*. (2 ed). São Paulo: Edgard Bücher (Cap. 17).
- Martucci, R. A. & Ruseckaite, R. A. (2010). Biodegradable three-layer film derived from bovine gelatin. *Journal of Food Engineering*, 99, 377-383.
- Nakashima, A. Y., Chevalier, R. C. & Cortez-Veja, W. R. (2016). Desenvolvimento e caracterização de filmes de colágeno com adição de óleo essencial de cravo-da-índia. *Journal Bioenergy Food Science*, 3, 50-57.
- Nelson, D. L.; Cox, M. Lehninger. (2002). *Princípios de bioquímica*. (3 ed). São Paulo: Sarvier.
- Neves, H. C. N., Amancio, A. L. L, Queiroga, R. C. R. E., Evangelista, G. M., Santos, J. G., Oliveira, M. E. G. & Jesus, V. E. (2015). Características físico-química e sensorial de

tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) proveniente da pesca extrativa e da criação intensiva em tanques rede. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 8, 84-96.

Nishida, W., Fernandes, A. C., Veiros, M. B., González Chica, D. A. & Proença, R. P. C. (2016). A comparison of sodium contents on nutrition information labels of foods with and without nutrition claims marketed in Brazil. *British Food Journal*, 118, 1594-1609.

Paiva, R. P., Casotti, R., Rodrigues, R. L. & Freitas, R. R. (2015). Cultivo e beneficiamento de *Oreochromis niloticus* e *Centropomus parallelus* em região estuarina no sudeste do Brasil. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, 3, 54-64.

Prestes, R. C., Golunski, S. M., Toniazzo, G., Kempka, A. P. & Luccio, M. D. (2013). Caracterização da fibra de colágeno, gelatina e colágeno hidrolisado. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*. 15, 375-382.

Schrieber, R. & Gareis, H.(2007). *Gelatine handbook theory and industry practice*. (1ed.). Germany: Wiley-VCH (Cap. 20).

Shimazu, A. A., Mali, S. & Grossmann, M. V. E. (2007). Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. *Semina: Ciências Agrárias*, 28, 79-88.

Shimadzu (2010). Shimadzu energy dispersive x-ray fluorescence spectrometer edx series instruction manual beginners' book, 25 p.

Shimidt, V. C. R., Portoa, L. M, Laurindoa, J. B. & Menegalli, F. C. (2013). Water vapor barrier and mechanical properties of starch films containing stearic acid. *Industrial Crops and Products*, 41, 227-234.

Sila, A., Martinez-Alvarez, O., Haddar, A., Gómez-Guillén, M. C., Nasri, M. M. Montero, P. & Bougatef, A. (2015). Recovery, viscoelastic and functional properties of Barbel skin gelatine: Investigation of anti-DPP-IV and anti-prolyl endopeptidase activities of generated gelatine polypeptides. *Food Chemistry*, 168, 478-486.

- Silva, P. A. S., Dupim, M. S., Chazim, E. L. (2015). Ácido acético. *Revista Virtual de Química*, 7, 2647-2662.
- Silva, T. F., Penna, A. L. B. (2012). Colágeno: características químicas e propriedades funcionais. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 71, 530-539.
- Songchotikunpan, P., Tattiyakul, J. & Supaphol, P. (2008). Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 42, 247-255.
- STAT SOFT, STATISTICA. (2005). Data analysis software system. Version 7.1
- Tharanathan, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. (2003). *Trends in Food Science & Technology*, 14 (3), 71-78.
- Torley, P. J. D'Arcy, B. R. & Trout, G. R. (2000). The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and preblending on the functional properties of normal and pale, soft, exudative (PSE) pork. *Meat Science*, 55, 451-462.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S. & Prodpran, T. (2013). Physic-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. *Journal of Food Engineering*, 117, 350-360.
- Touchaleaumea, F., Martin-Closasb, L., Angellier-Coussya, H., Chevillarda, A., Cesarc, G., Gontarda, N. & Gastaldia, E. (2016). Performance and environmental impact of biodegradable polymers as agricultural mulching films. *Chemosphere*, 144, 433-439.
- Wang, L., Auty, M. A. E. & Kerry, J. P. (2010). Physical assessment of composite biodegradable films manufactured using whey protein isolate, gelatin and sodium alginate. *Journal Food Engineering*, 96, 199-207.
- Wolf, K. L. *Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno.*(2007). Dissertação(Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos), Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, São José de Rio Preto, 103.

- Wu, J., Chen, S., Ge, S., Miao, J., Li, J. & Zhang, Q. (2013). Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 32, 42-51.
- Yang, H., Wang, Y., Jiang, M., Oh, J., Herring, J. & Zhou, P. (2007). 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) skin gelatin. *Food Chemistry and Toxicology*, 72, 188-195.
- Zavareze, E. R., Halal, S. L. M. E., Telles, A. C. & Prentice-Hernández, C. (2012). Filmes biodegradáveis à base de proteínas miofibrilares de pescado. *Brazilian Journal of Food Technology*, 4, 53-57.