



## Obtenção e caracterização físico-química e microbiológica da gelatina de resíduos de matrinxã (*Brycon amazonicus*) e tambaqui (*Colossoma macroponum*)

### Physicochemical and microbiological characterization of gelatin from matrinxã (*Brycon amazonicus*) and tambaqui (*Colossoma macroponum*) residues

Gislene Catarina de Oliveira da Silva, Sumária Sousa e Silva\*, José Wilson Pires Carvalho, Sumaya Ferreira Guedes & Raquel Aparecida Loss

Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, Campus Barra do Bugres- MT

\*Email: sumariasousa@gmail.com

Recebido 3 de Abril de 2018) / Aceito 5 de maio de 2018 / Publicado: 1 de junho de 2018

**Resumo:** O presente trabalho teve como objetivo realizar a obtenção e caracterização físico-química e microbiológica de gelatina de resíduos dos peixes matrinxã (*Brycon amazonicus*) e tambaqui (*Colossoma macroponum*), através de três métodos diferentes a saber: extração por ácido sulfúrico, ácido acético e água. Os parâmetros físico-químicos analisados foram: proteínas, pH, umidade, acidez titulável e cinzas. Os resultados mostraram que o teor de proteína foi semelhante para os dois peixes, variando de 74,64% a 88,43%, principalmente quando se utilizou o método de extração com ácido sulfúrico. O pH apresentou-se ácido para todas as extrações, sendo mais baixos na extração com ácido sulfúrico. Em relação a umidade, não foi observado diferença significativa entre os métodos. O percentual de acidez titulável foi menor para as extrações realizadas com água. Quanto as análises microbiológicas, os resultados mostraram ausência de *Salmonella* sp para as duas gelatinas analisadas. No entanto, foram encontrados coliformes totais e termotolerantes. Pode-se concluir, portanto que é possível realizar o aproveitamento de resíduos de peixes, através da extração da gelatina, agregando valor aos mesmos e minimizando os impactos ambientais. Além de ser uma alternativa as comunidades religiosas (índiana e islâmica) onde não é permitido o consumo de gelatina extraída de bovino e suíno.

**Palavras-Chave:** *Brycon amazonicus*, *Colossoma macroponum*, gelatina.

**Abstract:** The objective of the present work was to perform the physicochemical and microbiological characterization of gelatin from matrinxã (*Brycon amazonicus*) and tambaqui (*Colossoma macroponum*) fish residues through three different methods: sulfuric acid, acetic acid and water. The physical-chemical parameters analyzed were: protein, pH, moisture, titratable acidity and ash. The results showed that the protein content was similar for the two fish, ranging from 74.64% to 88.43%, especially when using the sulfuric acid extraction method. The pH was acid for all the extractions, being lower in the extraction with sulfuric acid. Regarding moisture, no significant difference was observed between the methods. The percentage of titratable acidity was lower for extractions made with water. Regarding the microbiological analyzes, the results showed absence of *Salmonella* sp for the two gelatins analyzed. However, total and thermotolerant coliforms were found. Therefore, it is possible to make use of fish waste, by extracting the gelatine, adding value to them and minimizing the environmental impacts. Apart from being an alternative the religious communities (Indian and Islamic) where it is not allowed the consumption of gelatine extracted from bovine and swine.

**Keywords:** *Brycon amazonicus*, *Colossoma macroponum*, gelatin.

## Introdução

Com o grande crescimento da atividade pesqueira no Brasil, há também um aumento no volume de resíduos provenientes desta atividade. Esses rejeitos trazem grande impacto ambiental, pois grande parte dos mesmos não são aproveitados, sendo depositados na natureza, contaminando os solos e as bacias hídricas (Camargo & Pouey, 2005). Os resíduos são todos os subprodutos e sobras geradas durante o processamento de qualquer alimento, sendo estes considerados de baixo valor comercial.

A indústria que processa o pescado gera grande quantidade de resíduos, isto ocorre principalmente pela falta de conhecimento do processamento da matéria-prima para geração de novos produtos (Bandeira, 2009). Na indústria do pescado, os principais tipos de materiais rejeitados são: as barbatanas, vísceras, cabeças, espinhas, as carnes com coloração escuras, os cortes que não possui os tamanhos ideais para serem industrializadas, e as escamas (Silva, 2010). Estes resíduos são ricos em proteínas, e normalmente utilizados para produção de ração animal. Além disso, os resíduos provenientes da industrialização do pescado são ricos em matéria orgânica, o que acarreta em água residuais com demanda química e demanda bioquímica de oxigênio, gerando assim grande preocupação com o meio ambiente (Felte et al., 2010; Silva, 2010).

Uma alternativa para se reduzir os resíduos sólidos decorrentes do processamento do pescado, como a cabeça, a pele e os ossos, é a utilização desses rejeitos para extração de colágeno, e posteriormente obtenção da gelatina podendo assim, agregar valor comercial a estes resíduos (Bandeira, 2009). O colágeno é caracterizado pelo alto teor de glicina, hidroxiprolina e prolina, sendo estas proteínas desnaturadas na presença de padrões ácidos diluídos e convertidos em proteína solúvel como a gelatina, quando solubilizado em soluções aquecidas (Basso et al., 2013). O colágeno e a gelatina são estruturas diferentes da mesma macromolécula, sendo a gelatina a estrutura fracionada e hidrolisada do colágeno (Bandeira, 2009).

Atualmente as gelatinas comerciais são produzidas a partir de peles, ossos e cartilagem de mamíferos, principalmente de bovinos e suínos. Um fator agravante atrelado a esse tipo de matéria-prima é a presença de doenças como a encefalopatia espongiiforme bovina, popularmente conhecida como o mal da vaca louca, e a febre aftosa. Diante desses problemas uma alternativa seria utilizar resíduos de peixes para produção de gelatina, pois além de incentivar o aproveitamento integral de resíduos orgânicos, gera lucro extra para o produtor e contribui para a redução dos impactos ambientais. Além de agregar valor ao resíduo que seria perdido durante o beneficiamento do pescado, a gelatina obtida a partir de pescado pode ser uma alternativa para as pessoas com restrições sócio-culturais, como por exemplo, os seguidores do Islã que não podem consumir produtos obtidos de fontes de suíno, ou a população indiana que tem o bovino como animal sagrado (Bordignon, 2010; Molinari, 2014; Silva, 2010).

O colágeno é um produto de alto valor e tem sido fonte de investigação para uso industrial devido à sua abundância no tecido animal (bovinos, suínos, caprinos, ovinos, peixes, anfíbios, entre outros). Dentre os vários organismos utilizados para obtenção de colágeno destacam-se os peixes, especialmente devido a sua disponibilidade, ausência de risco de transmissão de doenças, barreiras religiosas, alto rendimento no processo de extração e ausência de toxicidade (Oliveira et al., 2017). O colágeno é uma molécula com estrutura próxima a 2.800 Å e sua massa molar correspondente a 300 kDa, solidificada com pontes de hidrogênio e por ligações intermoleculares (Silva & Penna, 2012). Até o presente, foram identificados 29 tipos genéticos distintos de colágeno, nove deles são frequentemente disponíveis, incluindo os colágenos dos tipos I, II, III, IV, V, VII, IX, XI e XII e podem ser divididos em tipos fibrilares e colágenos não fibrilares, sendo que os tipos fibrilares (I, II e III) são os colágenos mais abundantes (Oliveira et al., 2017)

O peixe é constituído principalmente de tecido muscular, tecido conjuntivo e gordura, sendo este um alimento rico em proteína, gordura, vitaminas e minerais. A proteína é um dos maiores componentes nitrogenados do pescado, sendo que a presença de aminoácidos essenciais favorece seu valor nutritivo. A proteína presente no pescado é dividida em sarcoplasmática, miofibrilares e insolúveis ou estroma. Também estão presentes no pescado o colágeno e a elastina. Além disso, o pescado também pode apresentar vitaminas A e D, B1 e B2 (Santos, 2006). A quantidade de vitaminas presentes no pescado pode variar dependendo de alguns fatores como a idade, estação do ano, área geográfica e a maturidade sexual (Ordoñez, 2005).

Dentre as espécies de peixes que se destacam no Brasil encontram-se: o matrinxã (*Brycon amazonicus*) e o tambaqui (*Colossoma macroponum*). O primeiro é um peixe oriundo da bacia Amazônica e também é conhecido por outros nomes populares como rabo-de-fogo, sardinha colimorada, sendo este último nome conhecido na Colômbia. É a segunda espécie mais cultivada na região amazônica perdendo somente para a criação do tambaqui (Brandão, Gomes, Chagas, Araújo, & Silva, 2005; Seixas, 2010). O matrinxã pode atingir até 40 cm de comprimento, possui uma cor cinza-amarelada, sendo mais clara na região do ventre, com escamas de bordas escuras (Santos; Ferreira; Zuanon, 2006). Esta espécie atinge facilmente um peso médio de 400 g em 150 dias de criação (Tortolero, Soares, Mera, & Monteiro, 2010). O segundo é um peixe

originário da América do Sul, e destaca-se como um dos pescados mais cultivados na região Amazônica, bem como na piscicultura brasileira em geral, pois pode ser encontrado em todos os estados do território brasileiro (Santos et al., 2013). É um peixe considerado de grande porte, pois pode atingir 100 cm de comprimento e o seu peso pode ultrapassar 30 kg, sendo considerado o segundo maior peixe de escama da América do Sul, perdendo apenas para o pirarucu (*Arapaima gigas*) (Santos, Ferreira, & Zuanon, 2006). O tambaqui possui um rápido crescimento, e ao longo do seu crescimento sua coloração é alterada, quando jovem apresenta manchas escuras arredondadas na região mediana do corpo, quando adulto sua coloração é influenciada pela cor da água em que ele habita (Santos, Ferreira & Zuanon, 2006). Esta espécie adapta-se bem em temperaturas superiores a 17 °C, e possui um hábito alimentar onívoro, porém tem a preferência por frutos e sementes (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária [Embrapa], 2011).

Assim, devido à escassez de estudos sobre a extração de cológeno para produção da gelatina de pescado, neste trabalho teve como objetivo utilizar três métodos diferentes de extração (ácido sulfúrico, ácido acético e água), a partir de resíduos de duas espécies de peixe da bacia amazônica, o matrinxã (*Brycon amazonicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) e realizar análises físico-química e microbiológica da gelatina.

## Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado junto a Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Campus Universitário Deputado Estadual Renê Barbour, localizado na cidade de Barra do Bugres, no estado de Mato Grosso-MT (Latitude: 15° 28' 3" Sul, Longitude: 58° 21' 22" Oeste). Os pescados foram filetados no Laboratório de Processamento de Alimentos, e as análises físico-químicas, e a extração do colágeno e posterior obtenção da gelatina proveniente dos resíduos de peixes foram realizados no Laboratório de Química Geral e Experimental. As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da mesma Instituição.

### PRÉ-TRATAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA E OBTENÇÃO DA GELATINA

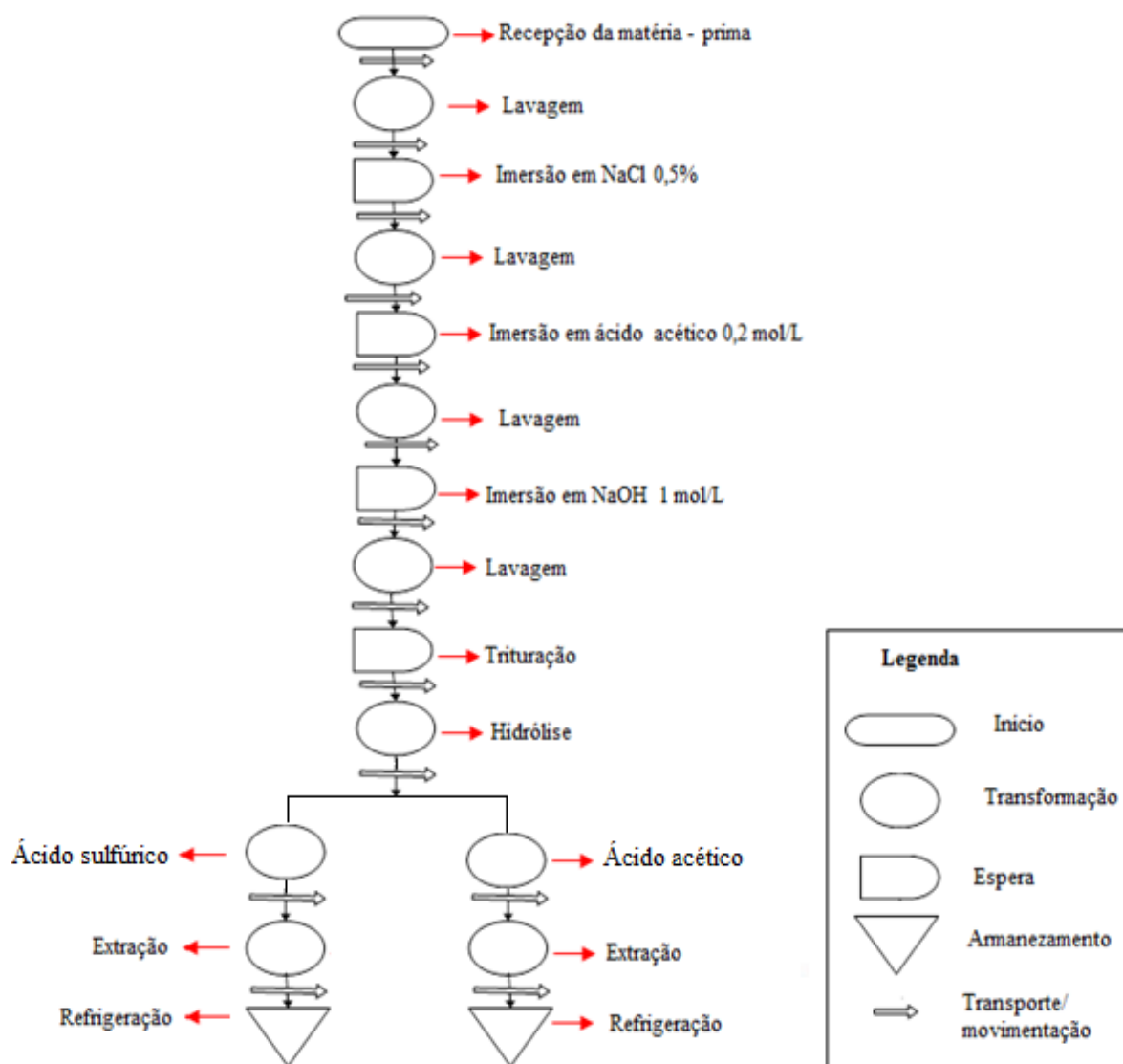
Os peixes foram adquiridos no comércio local do município de Barra do Bugres, MT, em seguida foram filetados e armazenados a -18°C até a realização das análises. A matéria-prima utilizada como fonte de colágeno para produção de gelatina, resultante da filetagem de matrinxã e tambaqui foi constituída principalmente por cabeça, espinhaço, nadadeiras, couro e escamas.

A extração do colágeno para produção de gelatina de pescado foi realizada através de três métodos diferentes de extração: em meio ácido empregando ácido sulfúrico, ácido acético e extração com água. A extração de colágeno dos resíduos de matrinxã e tambaqui por meio ácido empregando ácido sulfúrico e ácido acético foi realizada através da metodologia adaptada de Molinari (2014), onde as etapas do processo podem ser visualizadas no fluxograma da Figura 1.

Para os processos de extração por meio ácido, os resíduos foram fragmentados em tamanhos menores, lavados em água corrente e imersos em NaCl 0,5 % durante 15 minutos. Após essa etapa foram lavados novamente e imersos em uma solução de ácido acético 0,2 mol L<sup>-1</sup> durante 45 minutos. O material então foi neutralizado com uma solução de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> e foi lavado em água corrente. Em seguida, os resíduos foram triturados e submetidos ao processo de extração do colágeno (hidrólise).

A hidrólise foi realizada empregando dois diferentes ácidos: ácido sulfúrico e ácido acético. Para a extração com ácido sulfúrico foram realizados dois tratamentos, um tratamento alcalino e outro ácido. No tratamento alcalino foi utilizada uma solução de NaOH 0,2 mol L<sup>-1</sup> na proporção de 1:3 (resíduo: solução). A mistura foi mantida sob agitação mecânica por 45 minutos em temperatura ambiente, neutralizada com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,0 mol L<sup>-1</sup> e centrifugada por 5 minutos a 5.000 rpm. O precipitado foi pesado e submetido ao tratamento ácido nas mesmas condições operacionais que o alcalino. No tratamento ácido foi utilizado a solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,2 mol L<sup>-1</sup>. Logo após o tratamento ácido, a mistura foi neutralizada até atingir o pH 7,0 centrifugada e o precipitado obtido foi utilizado para preparar a gelatina. Para a extração com ácido acético, após a trituração do resíduo, foi realizado a hidrólise usando ácido acético a 0,2 mol L<sup>-1</sup> na proporção de 1:3 (resíduo: solução). A mistura foi mantida sob agitação mecânica por aproximadamente 45 minutos a 45°C.

Após a extração (ácido sulfúrico e ácido acético), foi realizada a pesagem e acrescentado água destilada pré-aquecida na temperatura de 45 °C na proporção de 1:5 (massa: água), para a extração da gelatina. A mistura foi mantida sob agitação mecânica por 2 h, sendo filtrada a vácuo com papel de filtro qualitativo. O filtrado foi armazenado na geladeira, para o processo de gelatinização.



**Figura 1.** Fluxograma do processo de extração de colágeno para produção de gelatina de pescado por meio ácido.

Para a obtenção da gelatina usando apenas água, os resíduos foram lavados em água corrente por várias vezes, o mesmo foi lavado com água destilada e triturados em liquidificador doméstico. Para a trituração foi adicionada água destilada ao resíduo na proporção de 1:3 (resíduo: água destilada). Após trituração, a mistura foi submetida à fervura a 100 °C, por 20 minutos, filtrada a vácuo com papel de filtro qualitativo. O filtrado foi refrigerado a 4 °C, para que fosse polimerizado, permanecendo somente a fração sólida (gelatina).

#### ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS GELATINAS

As gelatinas obtidas nos diferentes processos de extração foram caracterizadas quanto ao teor de proteína bruta, umidade, conteúdo mineral fixo (cinzas), acidez titulável e pH. Todas as análises físico-químicas foram realizadas no mínimo em triplicata e os resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

A determinação do teor de umidade foi realizada conforme a técnica descrita na *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (1998), cujo método fundamenta-se na perda de umidade e substâncias voláteis a 105°C. Inicialmente foram pesadas aproximadamente 5 g de amostra em cadinhos previamente secos e tarados, aquecidos em estufa a 105 °C por 3 h, resfriados em dessecador até temperatura ambiente e pesados. O método de aquecimento e resfriamento da amostra foi repetido até obter peso constante.

A análise do teor de proteína bruta foi realizada pelo método Kjeldahl, conforme técnicas da AOAC (1998). Este método consiste de três etapas: processo de digestão para a conversão dos compostos orgânicos e posterior separação da amônia por destilação, a qual é recolhida por uma solução ácida receptora contendo indicador ácido-base sendo titulada com ácido até a viragem. Nesse caso, foram pesadas 0,2 g de amostra no

tubo de digestão, onde foi adicionado 10 mL de ácido sulfúrico concentrado e 0,5 g de mistura catalítica. Os tubos foram levados até o digestor, onde ficaram sob aquecimento (400 °C) por aproximadamente 4 h. Após digestão os tubos foram acoplados ao destilador de nitrogênio e titulados com NaOH 40 % e amostra foi destilada. O destilado foi recolhido em erlenmeyer contendo 30 mL de uma solução de ácido bórico (4 %), juntamente com 5 gotas de indicador de proteína da cor vermelho de metila. A solução foi então titulada com ácido clorídrico 0,02 mol L<sup>-1</sup> até o ponto de viragem.

A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada conforme técnica da AOAC (1998), que consiste em calcinar a amostra em mufla a 550 °C durante 24 h. A determinação da acidez foi realizada pela técnica descrita no Instituto Adolfo Lutz (2008), que consiste na titulação de 2,0 g de amostra homogeneizada em 25 mL de água destilada com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup> padronizada, até o aparecimento da coloração rósea do indicador fenolftaleína. Como indicador foi usado fenolftaleína. A determinação do pH foi realizada por potenciometria, usando equipamento calibrado com soluções tampão (pH 4,0 e 7,0 - padrão comercial) a 25°C (AOAC, 1998).

#### ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As amostras de gelatina obtidas a partir de diferentes processos de extração foram submetidas as análises microbiológicas de *Salmonella* sp., coliformes totais e termotolerantes. Para as análises de *Salmonella* sp. foram utilizadas 25 g da amostra, pré-enriquecida em 225 mL de caldo lactosado (Acumedia- Neogen, Indaiatuba, Brasil) a 37°C por 24 h. A partir deste caldo foi inoculado 1 mL para tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo selenito cistina (*Himedia Laboratories*, Pennsylvania, USA) e caldo tetracionato (Acumedia-Neogen, Indaiatuba, Brasil). Após crescidas nestes meios de cultura foram estriadas em placas contendo ágar verde brilhante (Acumedia- Neogen, Indaiatuba, Brasil) e ágar entérico de Hektoen (HEA) (*Himedia Laboratories*, Pennsylvania, USA) e Agar SS – *Salmonella Shigella* (*Himedia Laboratories*, Pennsylvania, USA) e incubadas a 37 °C por 24 h. Decorrido o período de incubação, as colônias que apresentaram comportamento semelhante a *Salmonella* (colônias verdes azuladas podendo ou não apresentar centro negro em meio Hektoen; colônias de vermelho a rosada em meio verde brilhante e incolores com ou sem centro negro em meio *Salmonella Shigella* ) foram estriadas em placas contendo ágar tríplice açúcar ferro (TSI) (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil) e incubadas a 37 °C por 24 h (Siqueira, 1995). O teste bioquímico para a confirmação de *Salmonella* foi realizado em triplicata e consistiu em utilizar uma gota do reagente de Kovacs (Merck, Porto Alegre, Brasil) para o teste do indol. Os tubos que apresentaram um anel vermelho-violeta foram consideradas positivos (indol- positivo), e aqueles que se mantiveram amarelo foram considerados negativos (indol- negativo) para a presença de *Salmonella* sp. (Silva et al., 2010).

Para a determinação de coliformes totais utilizou-se a técnica do número mais provável. Para tanto pesou-se 25 g da amostra, diluída e homogeneizada em solução salina (NaCl 0,85 %) e submetida a três diluições seriadas. Em cada diluição foi utilizado 1mL de amostra e transferida para tubos com 9 mL de caldo lactosado (Acumedia- Neogen, Indaiatuba, Brasil) e tubo coletor de gás (tubo de Durham), sendo incubado a 35 °C por 48 h. Posteriormente observou se houve turvação do meio e/ou produção de gás, aqueles que apresentaram esse comportamento foram considerados positivos. Para os tubos considerados positivos, prosseguiu-se os testes confirmativos para coliformes totais com meio verde brilhante bile 2% (VB) (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, Brasil), incubado por 35 °C por 24 h e para coliformes termotolerantes foram repicados para caldo EC (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil), com tubo coletor de gás e incubado por 24 h a 45°C. Após o período de incubação aqueles que apresentaram turvação ou produção de gás foram considerados positivos (Franco & Landgraf, 2008). A enumeração de coliformes foi efetuada de acordo com a tabela de Número Mais Provável e expressa em NMP mL<sup>-1</sup>.

#### ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos ao teste de Tukey, com nível de significância de 5 % de probabilidade (p < 0,05). O tratamento dos dados foi feito por meio do software *Statistica Trial* versão 13.2.

### Resultados e Discussão

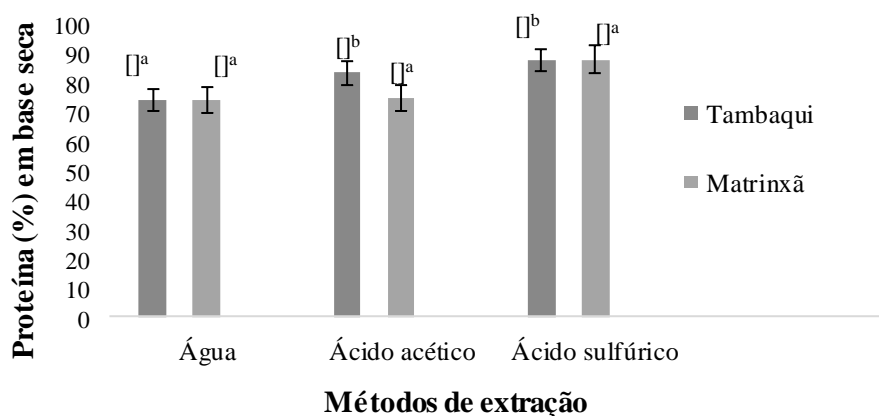
#### EXTRAÇÃO DO COLÁGENO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS GELATINAS

O colágeno obtido a partir dos resíduos de tambaqui e matrinxã através de diferentes métodos de extração, apresentou aspectos diferentes. Pelo método do ácido sulfúrico o colágeno apresentou coloração esbranquiçada e uma consistência firme tanto para o tambaqui como para a matrinxã. Quando se utilizou o método ácido acético observou-se diferença na coloração, para aquela oriunda do resíduo de tambaqui apresentou uma coloração mais clara do que a de matrinxã que obteve uma coloração mais escura, quanto a

consistência observou-se uma consistência menos firme. Já para as gelatinas obtidas através da extração utilizando a água obteve-se uma aparência translúcida para os dois, e sua consistência ficou bem próxima as gelatinas extraídas com ácido acético. As amostras de gelatinas obtidas a partir de resíduo de matrinxã e tambaqui empregando diferentes métodos de extração foram caracterizadas em relação à proteína bruta, umidade, acidez e pH. Para as amostras obtidas a partir da extração em meio ácido empregando ácido sulfúrico, além das análises acima citadas foi realizado a análise do conteúdo mineral fixo (cinzas).

De acordo com Bandeira (2009), a gelatina possui nove aminoácidos dos dez essenciais ao organismo humano com exceção do triptofano, com isto é uma proteína de simples digestão e pode ter diversas aplicações.

As amostras de matrinxã e tambaqui foram caracterizadas quanto ao teor de proteínas para todas as metodologias de extração utilizadas como apresenta Figura 3. Os resultados obtidos mostraram valores que variaram entre 74,42 e 88,09% para as amostras de gelatina de tambaqui e 74,64 a 88,43% para a gelatina de matrinxã (Figura 2).



**Figura 2.** Resultado do teor de proteínas das gelatinas obtidas a partir de resíduos de tambaqui e a matrinxã, comparação entre os três métodos de extração (água, ácido acético e ácido sulfúrico). Médias da mesma espécie seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os teores de proteínas obtidos no presente estudo foram semelhantes a alguns resultados obtidos por outros autores como apresenta a Tabela 1.

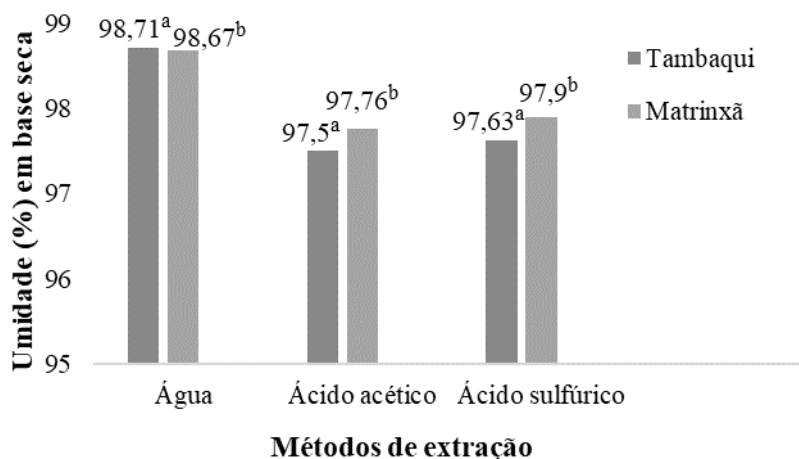
**Tabela 1.** Comparação com diversos autores em relação a proteína.

Matéria-prima	Métodos de extração	Proteínas (%) em base seca	Autores
Pele de Tilápia congelada e salgada	Água	84,47 e 85,65	Bordignon (2010)
Pele de Tilápia	Ácido clorídrico, água, ácido acético, ácido acético seguido de evaporação	77,96 - 81,56	Molinari (2014)
Pele de Tilápia	Usando variados tipos de ensaios e temperaturas.	81,16	Alfaro (2008)
Tarso de frango	Ácido acético	78,53	Almeida (2012)
Pele de Tilápia	Ácido sulfúrico e posteriormente utilizou-se ácido acético.	83,90	Alfaro & Silva (2010)
Peixe cinzento	Ácidos	89,94	Jellouli et al. (2011)
Tilápia do Nilo	Ácido acético com secagem em estufa.	84,40- 88,90	Bueno (2008)
Tambaqui e Matrinxã	Água, Ácido acético e Ácido sulfúrico	74,42 - 88,09 e 74,64 - 88,43	Neste estudo

Na Tabela 1 é possível observar que independente da espécie e do método de extração, o teor de proteínas tende a ser superior a 80 % na gelatina de peixe. Em relação as gelatinas obtidas de outras fontes, é possível comparar que não há diferença no teor de proteínas, como foi o caso da gelatina obtida a partir do tarso de frango, pesquisa está realizada por Almeida (2012), tendo assim um produto rico em proteína.

A formação de gel na gelatina pode estar relacionada a vários fatores tais como: a maturação (temperatura e tempo de estocagem) ou ao ponto isoelétrico, podendo este ser controlado até certo ponto pelo ajuste do pH, obtendo-se desta forma géis mais espessos e rígidos (Bueno, 2008).

A Figura 3 apresenta a umidade das gelatinas obtidas a partir de resíduo de matrinxã e tambaqui empregando diferentes métodos de extração.



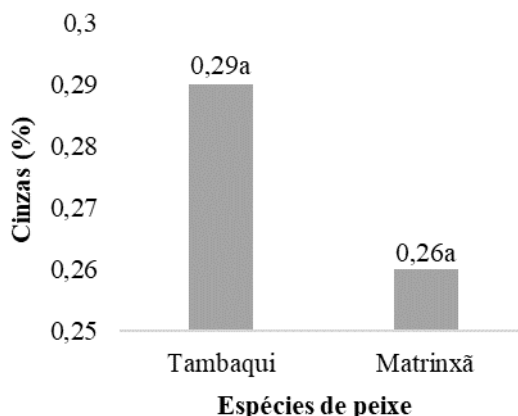
**Figura 3.** Umidade da gelatina de resíduos de tambaqui e matrinxã, para os três métodos de extração. Médias da mesma espécie seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A determinação da umidade foi realizada antes que a mesma se gelatiniza. Para as análises de umidade utilizando os três métodos com ácido sulfúrico, água e ácido acético, o tambaqui apresentou 97,63%; 98,71%; 97,50% respectivamente. Já a matrinxã apresentou 97,90%; 98,67%; 97,76%; para os três métodos acima. Nota-se que mesmo utilizado três diferentes métodos de extração com duas espécies distinta de pescado para a análise de umidade não apresentaram diferenças expressivas.

Estudos na literatura também relatam que a gelatina de pescado apresentou elevada umidade. Ferreira (2013), avaliou a extração de gelatina a partir de pés de frangos utilizado quatro diferentes ácidos na extração: ácido acético com evaporação, ácido acético sem evaporação, ácido clorídrico e ácido sulfúrico, obtendo umidades de 91,10%; 95,0%; 97,2; 97,7%, respectivamente. Bordignon (2010), analisou a gelatina obtida a partir da pele congelada e da pele salgada de tilápia do Nilo e observou que a gelatina da pele congelada apresentou 97,68% de umidade, e para a gelatina da pele salgada a umidade foi de 96,08%.

Segundo Silva (2010) a umidade das gelatinas comercializadas varia de 9 a 14%, sendo que gelatina com valores entre 6 e 8 % é bastante higroscópica, o que impede a medida dos seus atributos físicos com precisão. Assim, na literatura científica também é possível encontrar trabalhos que avaliaram a umidade de gelatinas em pó (seca), obtidas a partir da liofilização da gelatina líquida ou através da secagem em estufa seguida do processo de moagem. Bueno (2008) encontrou uma umidade de 9,3% para a gelatina obtida da pele da tilápia do Nilo. Molinari (2014) por sua vez identificou em seu trabalho uma variação no teor de umidade entre 5,34 a 9,54% para a gelatina produzida com subproduto da tilápia. No entanto Prestes (2013) verificou o teor de umidade de 12,3% para gelatina produzida a partir do colágeno de bovino.

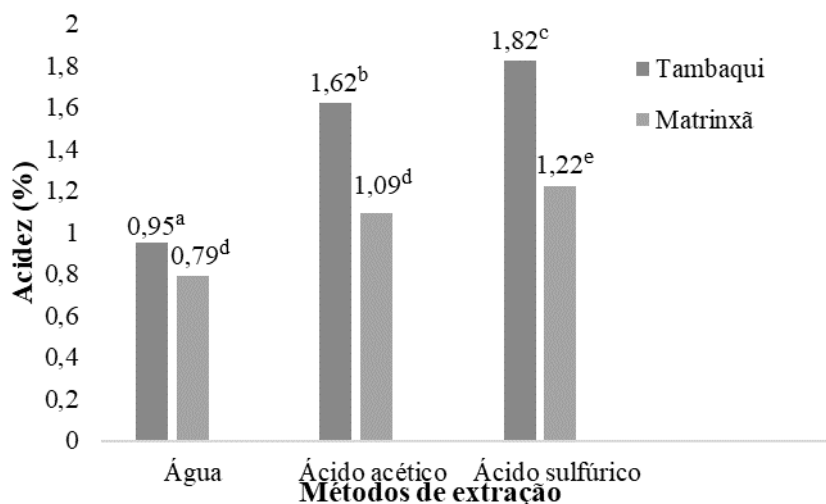
A Figura 4 apresenta a resíduo mineral fixo obtidas a partir de resíduo de matrinxã e tambaqui empregando ácido sulfúrico na extração em meio ácido dos dois peixes.



**Figura 4.** Resíduo mineral fixo da gelatina dos resíduos de tambaqui e matrinxã obtidas pelo método de extração com ácido sulfúrico. Médias da mesma espécie seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O teor de conteúdo mineral fixo (cinzas) foi de 0,29% para a gelatina extraída do tambaqui e 0,26% para a gelatina obtida da matrinxã. Os teores de cinzas encontrados foram próximos ao valor encontrado por Bueno (2008) que observou um valor de 0,3% para gelatina extraída a partir de tilápia. Brazeiro, Duarte, Massuquini, & Moura (2014), por sua vez encontraram em seus estudos teores de cinzas de 0,9% para a gelatina de pescado e 0,8% para suínos. Teores de cinzas semelhantes também foram encontrados por Jongjareonrak et al, (2010) que obteve 0,33% de cinzas para a gelatina extraída do peixe-gato. Além disso, segundo Silva (2010) baixos teores de resíduo mineral fixo (cinzas), podem significar baixo conteúdo de cálcio, fato de fundamental importância em algumas aplicações, sendo que o valor é aceitável para os alimentos até 2,6 %, de maneira que o teor de cinzas encontrado no para a gelatina de matrinxã foi de 0,26% e para o tambaqui de 0,29% estando os resultados obtidos de acordo com o aceitável para alimentos.

A Figura 5 apresenta a acidez das gelatinas obtidas a partir de resíduo de matrinxã e tambaqui empregando diferentes métodos de extração.

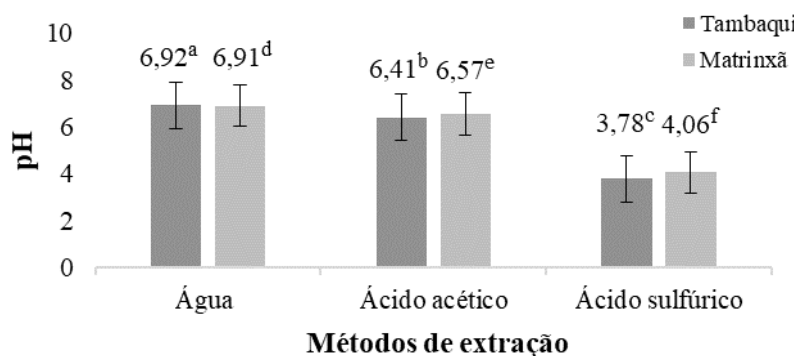


**Figura 5.** Acidez titulável para as gelatinas de pescado (tambaqui e matrinxã), obtida em três métodos diferentes. Médias da mesma espécie seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Em relação à acidez titulável o tambaqui apresentou valores superiores para todos os métodos de extração, sendo que a extração em meio ácido empregando ácido sulfúrico foi a que apresentou a maior acidez e a extração com água foi a que apresentou menor acidez. A análise de acidez não foi encontrada na literatura.

A Figura 6 apresenta o valor do pH das gelatinas obtidas a partir de resíduo de matrinxã e tambaqui empregando diferentes métodos de extração.





**Figura 6.** Valores de pH para as gelatinas de tambaqui e matrinxã obtidas através de três métodos de extração (água, ácido acético e ácido sulfúrico). Médias da mesma espécie seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A gelatinas extraídas a partir do ácido sulfúrico apresentaram um pH de 3,78 para o peixe tambaqui e de 4,06 para o peixe matrinxã. As gelatinas utilizando-se ácido acético mostraram valores mais elevados, pH de 6,41 para o tambaqui e de 6,57 para a matrinxã, sendo estes valores semelhantes as gelatinas obtidas empregando-se água, que obteve um pH de 6,91 para o tambaqui e de 6,57 para a matrinxã. Assim, é possível observar que os valores de pH apresentaram valores semelhantes, em relação as duas espécies de peixe utilizadas no estudo. Porém, quando comparados os diferentes métodos, observa-se que o ácido sulfúrico apresenta os menores valores de pH e isto pode ser devido ao fato do ácido sulfúrico ser um ácido forte e o ácido acético um ácido fraco.

Estudos realizados por Bandeira (2009), com gelatina extraída da cabeça de carpa mostraram pH variando entre 3,5 a 4,8 empregando vários ensaios diferentes, sendo estes valores semelhantes aos obtidos no presente estudo para ambos os peixes e empregando ácido sulfúrico. Outros autores, que extraíram gelatina de pescado, também observaram pH ácido. Alfaro, Fonseca, Balbinot, Machado, & Prentice (2013), extraíram gelatina da pele de tilápia utilizando ácido sulfúrico e obteve pH de 4,66. Biluca, Marquetti & Alfaro (2011) extraíram gelatina de pele de bagre empregando método ácido, através da utilização de ácido sulfúrico e ácido cítrico e obtiveram pH de 3,20.

#### ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

A gelatina obtida empregando ácido sulfúrico foi submetida as análises microbiológicas de *Salmonella* e coliformes totais e termotolerantes, conforme mostra a Tabela 2.

**Tabela 2.** Análises microbiológicas da gelatina extraída com ácido sulfúrico

Espécie de peixe	<i>Salmonella sp.</i>	Coliformes totais (NMP mL <sup>-1</sup> )	Termotolerantes (NMP mL <sup>-1</sup> )
Tambaqui	Ausente	3,0	3,0
Matrinxã	Ausente	6,1	3,0

A RDC, n° 12 do dia 2 de janeiro de 2001, que aprovou o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos como: produtos em pó, capsulas, drágeas e similares, como a gelatina, guaraná, catuaba marapuama, lecitina e outros, isolados ou mistura. De acordo com essa legislação, a quantidade permitida de micro-organismo presente nesses tipos de alimentos não podem ultrapassar 10 NMP mL<sup>-1</sup> para coliformes termotolerantes, enquanto que a *Salmonella sp* tem que estar ausente em cada 25 g (Brasil, 2001). Assim, todos os micro-organismos analisados no presente estudo encontram-se em conformidade com os limites estabelecidos pela legislação, uma vez que a *Salmonella sp* mostrou-se ausente e os coliformes fecais foram menores que 10 NMP mL<sup>-1</sup>, para ambas as gelatinas.

De acordo com Alfaro (2008), os valores encontrados para coliformes a 45° C foram de 2,3 NMP mL<sup>-1</sup>, valores bem próximos ao encontrado neste estudo para a gelatina obtida dos resíduos de tambaqui, no entanto houve variação em relação a matrinxã que obteve o valor de 6,1 NMP mL<sup>-1</sup>, porém dentro dos limites estipulados pela legislação brasileira. Alfaro (2008), também não encontrou a presença de *Salmonella* em suas análises, resultados semelhantes aos encontrados neste estudo.

Basso, Urnau, Brandalize, & Simões (2013) realizaram análises na pele de tilápia e no colágeno extraído, e para a pele de tilápia os coliformes totais foram maiores que 1,10 x 10<sup>3</sup> NMP mL<sup>-1</sup> e para o colágeno 3,0

NMP mL<sup>-1</sup>. O resultado obtido por este autor para o colágeno está próximo ao valor encontrado para a gelatina de tambaqui, no entanto comparada com a gelatina de matrinxã notou-se um valor superior.

## Conclusões

Diante dos resultados aqui apresentados, pôde-se concluir que foi possível extrair colágeno de resíduos dos pescados de tambaqui e matrinxã para obtenção de uma gelatina com alto teor de proteína, independente dos três métodos de extração avaliados água, ácido sulfúrico e ácido acético. As análises físico-químicas se encontraram em conformidade com a literatura, os parâmetros microbiológicos mostraram-se de acordo com os limites estabelecidos pela legislação vigente.

## Agradecimentos

À Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), pelo apoio estrutural, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pelo apoio financeiro (processos n°160889/2014, n°575980/2017 e n°0214457/2017) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de pesquisa DCR.

## Referências

- Alfaro, A.T. (2008). *Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (Oreochromis urolepishornorun)* (Tese de doutorado). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.
- Alfaro, A.T. & Silva, E.F. (2010). Propriedades reológicas da gelatina obtida a partir de pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 69(4): 555-561. Recuperado de <http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/viewFile/6316/6010>
- 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(3): 592-595. Recuperado de [http://www.scielo.br/pdf/cta/v33n3/aop\\_cta\\_6087.pdf](http://www.scielo.br/pdf/cta/v33n3/aop_cta_6087.pdf). doi: 10.1590/S0101-20612013005000069
- Almeida, P.F. (2012). *Análise da qualidade de gelatina obtida de tarso de frango e aspecto envolvidos no processo produtivo* (Dissertação de mestrado). Universidade Nove de Julho, São Paulo, SP, Brasil.
- AOAC. (1998). *Official methods of analysis of AOAC international* (16a ed.). Arlington: Association of Official Analytical Chemists.
- Bandeira, S.F. (2009). *Extração e caracterização da gelatina obtida de cabeça de carpa (Aristichthys mobilis)* (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.
- Basso, T.R., Urnau, R.M., Brandalize, C. & Simões, M. R. (2013, Outubro). Extração e caracterização de colágeno obtido de peles do processamento de tilápia, *Anais do III Encontro Paranaense de Engenharia e Ciências*, Toledo, PR, Brasil. Acessado em <http://www.unioeste.br/eq/IIIepec/artigos/Trab35-Basso%20et%20a.pdf>
- Biluca, F.C., Marquetti C. & Alfaro, A.T. (2011) Produção de gelatina de pele e ossos de bagre (*Clarias gariepinus*). *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 5(1): 418 - 426. Recuperado de <https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/947/718>. doi:10.3895/S1981-36862011000100005S1
- Brandão, F.R., Gomes, L. de C., Chagas, E.C., Araújo, L.D. de, & Silva, A.L.F da. (2005). Densidade de estocagem de matrinxã (*Brycon amazonicus*) na recria em tanque-rede. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(3), 299-303. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/0D/pab/v40n3/a14v40n3.pdf>
- Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológico para alimentos. Diário Oficial da União, Brasília – DF, 10 de janeiro de 2001
- Brazeiro, F.S.G, Duarte, L.S., Massuquini, C.S. & Moura, C.M. de. (2014, Outubro). Filme de gelatina suína e de pescado com glicerol: Avaliação da permeabilidade ao vapor de água. *Anais do XXVI Congresso Regional de Iniciação Científica e Tecnológica em Engenharia- CRICTE*. Alegrete, RS, Brasil, 26. Recuperado de <http://livrozilla.com/doc/592542/filmes-de-gelatina-su%C3%ADna-e-de-pescado-com-glicerol>
- Bordignon, A.C. (2010). *Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de tilápia do nilo (Oreochromis niloticus)* (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

- Bueno, C.M.M. (2008). *Extração e caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coarcação complexa* (Dissertação de mestrado), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.
- Camargo, S.G.O. & Pouey, J.L.O.F. (2005). Aquicultura - um mercado em expansão. *Revista Brasileira Agrociências*, 11(4): 393 - 396. Recuperado de <https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/viewFile/1273/1060>
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2011). *Revisão de literatura: exigências de trabalho, formulação de ração adequada e desafios futuros*. Manaus: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Embrapa Amazônia Ocidental.
- Feltes, M.M.C., Correia, J.F.G., Beirão, L.H., Block, J.M., Ninow, J.L. & Spiller, V.R. (2010). Alternativas para agregação de valor aos resíduos de industrialização de peixe. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 14 (6):669 - 677. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v14n6/a14v14n6.pdf>
- Ferreira, M.F. (2013). *Extração e caracterização de gelatina proveniente de subproduto do frango: Pés*. (Trabalho de conclusão de curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, PR, Brasil.
- Franco, D.G.M.F. & Landgraf, M. (2008). *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu.
- Instituto Adolfo Lutz. (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.
- Jellouli, K., Balti, R., Bougatef, A., Hmidet, N., Barkia, A. & Nasri, M. (2011). Chemical composition and characteristics of skin gelatin from grey triggerfish (*Balistes capriscus*). *LWT- Food Science and Technology*, 44(9): 1965 -1970. Doi 10.1016/j.lwt.2011.05.005
- Jongjareonrak, A., Rawdkuen, S., Chaijan, M., Benjakul, S., Osako, K. & Tanaka, M. (2010). Chemical compositions and characterisation of skin gelatin from farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*). *LWT- Food Science and Technology*, 43(1):161-165. doi: 10.1016/j.lwt.2009.06.012
- Molinari, M.C. (2014). *Extração e caracterização de gelatina a partir de subprodutos de tilápia* (Trabalho de conclusão de curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, PR, Brasil.
- Oliveira, V.M., da Cunha, M.N.C., Nascimento, T.P., Assis, C.R.D., Bezerra, R.S., & Porto, A.L.F. (2017). Colágeno: função, classificação e produção de peptídeos bioativos a partir da pele de peixes. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, 5(2), 70-82. Doi 10.2312/ActaFish.2017.5.2.70-82
- Ordóñez, J.A. (2005). *Tecnologia de alimentos*. Porto Alegre: Artmed, 2, 219-239.
- Prestes, R.C. (2013). Colágeno e seus derivados: Características e aplicações em produtos cárneos. *Journal of Health Science*, 15(1):65-74. Recuperado de <http://www.pgskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/view/791/758>
- Santos, C. A. M. L. (2006). A qualidade do pescado e a segurança dos alimentos. *Simpósio de Controle do Pescado*, 2.
- Santos, G.M., Ferreira, E.J.G. & Zuanon, J.A.S. (2006). *Peixes Comerciais de Manaus*. Manaus: Ibama/AM, ProVárzea.
- Santos, E. F., Tavares-Dias, M., Pinheiro, D. A., Neves, L. R., Marinho, R. D. G. B., & Dias, M. K. R. (2013). Fauna parasitária de tambaqui *Colossoma macropomum* (Characidae) cultivado em tanque-rede no Estado do Amapá, Amazônia Oriental. *Revista Acta Amazônica*, 43(1), 107-114.
- Seixas, M. S. (2010). *Uso do sistema de fluxo contínuo de água na recria de juvenis de matrinxã (Brycon amazonicus spix e agassiz, 1829)* (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Amazonas, Manaus (AM).
- Silva, R. S. G. (2010). *Obtenção de gelatina utilizando cabeças de carpa comum (Cyprinus carpio): Avaliação das etapas de pré-tratamento e extração* (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande (RS).
- Silva, T. F. & Penna, A. L. B. (2012). Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, 71(3), 530-539.
- Silva, N., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. A., Taniwaki, M. H., Santos, R. F. S. & Gomes, R. A. R. (2010). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água* (4a ed). São Paulo: Virela.
- Siqueira, R. S. (1995). *Manual de Microbiologia de Alimentos*. Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa e Tecnologia Agroindustrial de Alimentos. Rio de Janeiro-RJ.
- Tortolero, S. A. R., Soares, M. D. C. F., Mera, P. A. S., & Monteiro, J. M. F. (2008). Efeito da densidade de estocagem no crescimento do matrinxã, *Brycon amazonicus* (spix & agassiz, 1829) em gaiolas de pequeno volume. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, 5(1), 81-92.