

# Propriedades reológicas da gelatina obtida a partir de pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*)

## Rheological properties of gelatin from skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*)

RIALA6/1328

Alexandre da Trindade ALFARO<sup>1\*</sup>, Edilson Ferreira da SILVA<sup>2</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Francisco Beltrão, Linha Santa Bárbara, s/nº, CEP 85601-971, Francisco Beltrão/ PR, Brasil E-mail: alexandre@utfpr.edu.br

<sup>2</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco

Recebido: 31.03.2010 – Aceito para publicação: 15.10.2010

### RESUMO

A gelatina foi preparada da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e suas propriedades reológicas foram determinadas. A avaliação da força de gel da gelatina foi realizada por meio de analisador de textura, modelo TA-XTplus e a viscosidade foi determinada por meio de viscosímetro Ostwald-Fenski. As propriedades viscoelásticas foram estimadas em reômetro Rheostress Haake RS-150. Com o tempo de maturação de 18±1h, a força de gel e a viscosidade apresentaram valores, respectivamente, de 243±7,55g e 5,24±0,29cP. O prolongamento do tempo de maturação ocasionou aumento de força de gel e viscosidade. Os pontos de fusão e de formação de gel foram, respectivamente, de 27° e 22,5°C, e o processo resultou em rendimento de 8,85±1,80%. A gelatina de pele de tilápia possui propriedades reológicas intermediárias àquelas descritas na literatura para gelatinas originárias de outros pescados.

**Palavras-chaves.** *Oreochromis niloticus*, propriedades viscoelásticas, força de gel, viscosidade.

### ABSTRACT

Gelatin from the skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*) was prepared, and the rheological properties of this product were determined. The gel strength of gelatin was assessed by texture analyzer, model TA-XTplus, and its viscosity was determined by Ostwald-Fenske viscometer. The viscoelastic properties were estimated on a RheoStress Haake RS-150 rheometer. At maturation period of 18±1h, the gel strength and viscosity showed values of 243±7,55g and 5,24±0,29cP, respectively. The prolongation of maturation period increased the gel strength and viscosity. The gelling and melting points were at 27° and 22.5°C, respectively, and the process yield was 8.85±1.80%. The gelatin from tilapia skin shows intermediate rheological properties when compared with those reported for other fish gelatins.

**Key words.** *Oreochromis niloticus*, viscoelastic properties, gel strength, viscosity.

## INTRODUÇÃO

A gelatina tem muitas aplicações em produtos alimentícios, farmacêuticos e fotográficos, sendo uma substância caracterizada por sua capacidade de formar géis termoreversíveis<sup>1</sup>. É uma substância sem cor e aroma, solúvel em água quente, e que, se presente em 1%, geleifica após o resfriamento, mas perde esta propriedade em fervura contínua. Todas as gelatinas possuem composição similar, contendo água, pequena quantidade de sais minerais e proteína pura do tecido conectivo. No entanto, gelatinas com diferentes propriedades podem ser obtidas, dependendo da matéria-prima e pré-tratamento empregado<sup>2</sup>.

Tradicionalmente a extração de colágeno para produção de gelatinas, é realizada utilizando como matéria-prima ossos e peles de mamíferos, principalmente bovinos e suínos. No entanto, recentes problemas sanitários relacionados com bovinos, como a Encefalopatia Espongiforme Bovina<sup>3,4</sup> e restrições à gelatina de mamíferos em países que predominam religiões como islamismo e judaísmo, onde somente são aceitas se concebidas conforme os requerimentos da religião<sup>5,6,7</sup>, têm despertado um crescente interesse em gelatinas de pescado.

Uma das principais restrições à utilização da gelatina de pescado deve-se às suas inferiores propriedades reológicas, quando comparada à gelatina de mamíferos<sup>6,8</sup>, o que restringe a sua gama de aplicações<sup>3</sup>. Gelatinas de pescado geralmente apresentam temperaturas de geleificação e fusão mais baixas e também menor força de gel do que gelatinas de mamíferos<sup>9</sup>. Colágenos de peixes de água quente possuem conteúdo de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina) superior a peixes de água fria<sup>5</sup>, resultando em gelatinas com melhores propriedades funcionais<sup>10,3</sup>.

O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial da pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para produção de gelatina, através da determinação das suas principais propriedades reológicas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas peles frescas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) recém-processadas, obtidas junto à empresa localizada na cidade de Pato Branco (Paraná, Brasil). As peles foram estocadas a -18°C até a sua utilização. Todos os reagentes que foram utilizados são de grau analítico (P.A.).

O pré-tratamento e extração seguiram parâmetros definidos por Alfaro<sup>11</sup>. As peles foram lavadas em

água corrente sob agitação contínua para retirada do material superficial aderido, e cortadas em peças de aproximadamente 4 x 4 cm. A seguir, o material foi submetido à imersão em solução salina de NaCl a 0,2% (p/v), por 5 minutos, sob agitação contínua. As peles cortadas foram, então, submetidas a tratamento alcalino, 1:10 (p/v), em solução de NaOH a 0,3% (p/v), por período de 80 minutos, a 10°C. Após esse procedimento, foram lavadas em água corrente para retirada do álcali em excesso, até pH abaixo de 8. A seguir, as peles foram submetidas a tratamento ácido, 1:10 (p/v), em solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 0,3% (p/v), por 80 minutos, e, posteriormente, lavadas em água corrente até pH próximo à neutralidade. As peles foram então submetidas a um segundo tratamento ácido, 1:10 (p/v), em solução de ácido cítrico a 0,7% (p/v), por 80 minutos, e lavadas em água corrente até pH próximo à neutralidade. A extração da gelatina foi realizada em biorreator BIostat B (B. Braun Biotech International, Alemanha) em água deionizada, por 6h a 45°C, mantendo a proporção de 2 mL de solução para 1 g de pele. Após a extração, o material foi filtrado em funil de Büchner com papel de filtro Whatman nº 4, sendo, então, liofilizado e moído.

Umidade e cinzas da pele de tilápia foram determinadas por método gravimétrico, segundo AOAC<sup>12</sup>. Lipídios foram determinados segundo o método de extração de Soxhlet, de acordo com a AOAC<sup>12</sup>. Proteína foi determinada pelo método de Kjeldahl, segundo AOAC<sup>12</sup>, utilizando fator de conversão de 5,4<sup>4</sup>. Umidade, cinzas e lipídios da gelatina foram determinados, segundo o British Standard Institution (BSI)<sup>13</sup>. Proteína foi determinada pelo método de Kjeldahl, segundo AOAC<sup>12</sup>, utilizando fator de conversão de 5,5<sup>14</sup>. Para o cálculo do rendimento foi considerado o peso seco de gelatina, dividido pelo peso úmido das peles, multiplicado por 100.

A força de gel foi determinada na amostra de gelatina a 6,67% (p/v), preparada pela dissolução em água destilada a 60°C, sob agitação mecânica constante por 30 minutos. A amostra foi submetida à refrigeração a 7 ± 1°C (temperatura de maturação) por 18 ± 1h, 42 ± 1h e 66 ± 1h. A força de gel foi determinada em analisador de textura (Stable Microsystems, Surrey, Inglaterra), modelo TA-Xtplus, com célula de carga de 5kg, e velocidades de pré-teste, teste e pós-teste de 1,5 mm/s, 1,0 mm/s e 1,0 mm/s, respectivamente. Utilizou-se probe cilíndrico de Teflon® de 1,27 cm de diâmetro, com base plana. A força de gel foi expressa como a força máxima(g) requerida para penetração de 4mm do probe na amostra, a temperaturas entre 8 e 10°C.

As propriedades viscoelásticas foram determinadas em reômetro Rheostress Haake RS-150 (Haake, Karlsruhe, Alemanha), utilizando software Rheowin Job Manager. Utilizou-se para o estudo dinâmico viscoelástico um cone-placa de 35 mm de diâmetro e 1° de ângulo com gap de 0,14mm. A amostra de gelatina a 6,67% (p/v) foi preparada pela dissolução em água destilada, a 60°C, sob constante agitação mecânica por 30 minutos, antes do início das análises.

A amostra foi submetida a uma rampa de temperatura, sendo resfriada de 40 para 7°C, voltando a ser aquecida até 40°C. Os experimentos foram realizados em tensão de 3,0 Pa, frequência de 1Hz e taxa de variação de temperatura de 0,5°C/min, monitorando-se o processo de geleificação, através dos módulos de elasticidade  $G'$  e viscosidade  $G''$ . O ponto de geleificação (*gelling point*) foi determinado pela intersecção dos módulos  $G'$  e  $G''$  durante o resfriamento da amostra, segundo metodologia de Gudmundsson<sup>15</sup>. O ponto de fusão (*melting point*) foi determinado do mesmo modo, durante subsequente aquecimento. As amostras foram mantidas a 7°C durante alguns minutos, antes de serem aquecidas até 40°C, para a avaliação do comportamento dos módulos de elasticidade  $G'$  e viscosidade  $G''$  em temperatura padrão. O ângulo de fase ( $\delta$ ) foi representado em função da temperatura para observação do comportamento viscoelástico da amostra.

Para determinação da viscosidade, a gelatina a 6,67% (p/v) foi preparada pela dissolução em água destilada a 60°C, sob agitação mecânica constante, por 30 minutos e submetida à refrigeração a  $7 \pm 1^\circ\text{C}$  (temperatura de maturação), por  $18 \pm 1\text{h}$ . A viscosidade

foi determinada segundo método do British Standard Institution (BSI)<sup>13</sup>. A amostra foi fundida em banho a 45°C e transferida para viscosímetro de Ostwald-Fensk (n° 100). Para a determinação da viscosidade, o viscosímetro foi colocado em banho a 60°C e aguardados 10 minutos para a estabilização da temperatura.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual médio de gordura da pele de tilápia foi de  $4,05 \pm 0,27\%$  (Tabela1), sendo bastante elevado, portanto, é necessário que os tratamentos prévios à extração sejam eficientes na retirada do material lipídico. Sabe-se, que o odor peculiar das peles de pescado deve-se aos compostos nitrogenados e às gorduras que contêm grandes porcentagens de ácidos graxos não saturados<sup>10</sup>. O conteúdo médio de proteína em base úmida encontrado na pele de tilápia foi de  $22,80 \pm 1,75\%$ , sendo semelhante aos valores descritos para perca do Nilo jovens (20,3%) e adultas (21,6%)<sup>4</sup>. É válido ressaltar que o teor de proteínas presente na pele do pescado, representará a quantidade máxima de colágeno presente no tecido e, portanto, o máximo rendimento possível de gelatina.

A amostra apresentou teor de cinzas em base úmida de  $3,95 \pm 0,42\%$ , sendo este valor, intermediário aos observados por Muyonga et al<sup>4</sup> para espécimes jovens (3,7%) e adultos (6,0%) de perca do Nilo. Segundo os autores, essa diferença deve-se a maior calcificação das escamas em função da idade. No presente trabalho, não foi considerada a idade do animal, não sendo possível, desta forma, traçar um comparativo a essa variável.

**Tabela 1.** Composição centesimal da pele e da gelatina de pele de tilápia

| Componentes % | Pele de tilápia  |       | Gelatina de pele de tilápia |       |
|---------------|------------------|-------|-----------------------------|-------|
|               | B.U.             | B.S.  | B.U.                        | B.S.  |
| Umidade       | $71,4 \pm 1,90$  | -     | $13,5 \pm 1,30$             | -     |
| Gordura       | $4,05 \pm 0,27$  | 13,14 | $0,20 \pm 0,02$             | 0,23  |
| Proteína      | $22,80 \pm 1,75$ | 74,02 | $83,90 \pm 2,80$            | 97,55 |
| Cinzas        | $3,95 \pm 0,42$  | 12,82 | $1,90 \pm 0,18$             | 2,20  |

Valores médios referentes a três determinações  $\pm$  desvio padrão

B.U. = base úmida; B.S. = base seca

Observou-se na gelatina um conteúdo de cinzas em base úmida de  $1,90 \pm 0,18\%$  (Tabela 1), valor superior aos relatados para gelatina de peixes de águas frias (0,82%)<sup>16</sup>, entretanto, inferior ao máximo teor de cinzas recomendado que é de 2,6%<sup>17,4</sup>. Segundo Jones<sup>17</sup>, o

conteúdo de cinzas é frequentemente especificado, porém não deve ser considerado como um fator indispensável, exceto pelo fato de indicar o conteúdo máximo de cálcio da amostra, informação de grande importância em algumas aplicações da gelatina.

Observa-se na Tabela 1, que o teor lipídico foi baixo ( $0,20 \pm 0,02\%$ ), sendo semelhante aos descritos para gelatinas de outras espécies de pescado, de  $0,21\%^8$  e  $0,20\%^4$ , indicando que os sucessivos banhos, nas etapas prévias a extração, foram eficientes na remoção do conteúdo lipídico das peles de tilápia. O teor médio de umidade da gelatina foi  $13,5 \pm 1,30\%$ , estando na faixa descrita para gelatinas comerciais, que geralmente apresentam conteúdo de umidade entre  $9-14\%^{14}$ .

O rendimento médio da gelatina de pele de tilápia foi  $8,85 \pm 1,80\%$ . Esse valor é superior aos valores relatados para gelatinas de pele de tilápia negra e vermelha, que foram de  $5,39$  e  $7,81\%$ , respectivamente<sup>7</sup>; e menor que os rendimentos descritos por Grossman e Bergman<sup>10</sup> para tilápia sp ( $15\%$ ), e por Holzer<sup>18</sup>, que relatou método de extração de gelatina de pele com possibilidade de atingir rendimentos superiores a  $20\%$ .

Sabe-se que baixas temperaturas resultam em rendimentos inferiores e incompleta extração, enquanto, temperaturas mais elevadas tendem a degradar a gelatina produzida, afetando sua qualidade<sup>18</sup>. No entanto, a temperatura empregada neste estudo na etapa de extração foi semelhante a dos trabalhos citados anteriormente, indicando que os diferentes rendimentos encontrados, provavelmente devem-se à excessiva perda de colágeno durante as etapas iniciais de lavagem.

A gelatina de pele de tilápia possui força de gel de  $243 \pm 7,55$ g (Tabela 2), sendo superior aos valores reportados por Jamilah e Harvinder<sup>7</sup> para gelatinas de pele de tilápia negra ( $180,76$ g) e vermelha ( $128,11$ g), e inferior aos valores descritos por Grossman e Bergman<sup>10</sup> para tilápia sp ( $263$ g). Zhou e Regenstein<sup>19</sup> e Cho et al<sup>8</sup> relataram valores de força de gel para gelatinas de polaca do Alasca e atum de cauda amarela de  $400$  e  $426$ g, respectivamente, consideravelmente maiores aos encontrados neste trabalho. Gómez-Guillén et al<sup>20</sup> reportaram diferenças na força de gel para gelatinas obtidas de pele de linguado ( $\sim 350$ g), linguado areeiro ( $340$ g), bacalhau ( $70$ g) e merluza ( $100$ g). As variações acima observadas poderiam ser explicadas por diferenças entre os processos de obtenção da gelatina e o conteúdo de iminoácidos das respectivas espécies de pescado. Sabe-se que as propriedades da gelatina são largamente influenciadas pelo processo de extração e pelo colágeno original<sup>21</sup>, que pode variar significativamente de acordo com a espécie<sup>5,4</sup>, sendo largamente dependente da temperatura do habitat do peixe<sup>5</sup>.

O prolongamento do tempo de maturação para  $42 \pm 1$ h e  $66 \pm 1$ h propiciou uma elevação aproximada

de  $10$  e  $15\%$ , respectivamente, na força de gel da gelatina de tilápia. Sabe-se que, o tempo e temperatura de maturação influenciam nas propriedades dos géis de gelatina<sup>22</sup>. Arnesen e Gildberg<sup>23</sup> relataram aumento de  $250\%$  na força de gel da gelatina de pele de bacalhau, quando o tempo de estocagem foi prolongado para  $144$ h ( $6$  dias). O fortalecimento do gel durante a maturação é principalmente atribuído à regeneração da estrutura helicoidal pelas cadeias polipeptídicas do colágeno e à formação de ligações de hidrogênio entre os aminoácidos hidroxilados e as moléculas de água<sup>16,23</sup>.

**Tabela 2.** Força de gel da gelatina de pele de tilápia em diferentes tempos de maturação

| Gelatina de pele de tilápia | Força de gel (g) 18 ± 1h | Força de gel (g) 42 ± 1h | Força de gel (g) 66 ± 1h |
|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                             | 243 ± 7,55               | 266 ± 6,25               | 279 ± 9,20               |

Valores médios referentes a três determinações  $\pm$  desvio padrão

O comportamento dos módulos de elasticidade  $G'$ , viscosidade  $G''$  (a) e ângulo de fase  $\delta$  (b), monitorados durante o resfriamento de  $40$  para  $7^\circ\text{C}$ , podem ser observados na Figura 1. Em temperatura próxima a  $25,5^\circ\text{C}$  observa-se o incremento do módulo elasticidade  $G'$ , em relação ao módulo viscosidade  $G''$  (Figura 1a), denotando o início do processo de geleificação; efeito confirmado pelo decréscimo do ângulo de fase  $\delta$  (Figura 1b), demonstrando o comportamento viscoelástico da gelatina e a tendência ao predomínio do componente elástico, abaixo dessa temperatura. Então, o processo ocorre rapidamente até o ponto de geleificação (*gelling point*), em torno de  $22,5^\circ\text{C}$ , onde acontece a intersecção dos módulos de elasticidade  $G'$  e viscosidade  $G''$ .

Após o resfriamento, a gelatina de pele de tilápia foi submetida a aquecimento para avaliar o seu comportamento viscoelástico (Figura 2). Observa-se que em torno de  $18,5^\circ\text{C}$  inicia-se a fusão da gelatina, visto o rápido decréscimo do módulo elasticidade  $G'$ , em relação ao módulo viscosidade  $G''$  (Figura 2a) e o consequente aumento ângulo de fase (Figura 2b). Então, com a tendência contínua ao decréscimo do componente elástico  $G'$ , o ponto de fusão (*melting point*) é observado em temperatura próxima a  $27^\circ\text{C}$  (Figura 2a).

Fernandéz-Díaz et al<sup>9</sup> e Alfaro et al<sup>24</sup> relataram em seus trabalhos a influência do tempo de maturação, sobre as propriedades viscoelásticas da gelatina de pescado,

aumentando seus pontos de fusão. Para avaliação da influência do frio sobre as propriedades viscoelásticas da gelatina, a amostra foi mantida a 7°C, por alguns minutos, antes do início do aquecimento. Observa-se (Figura

2a) que ocorre um aumento do módulo elasticidade  $G'$ , durante esse intervalo de tempo. Segundo Gómez-Guillén et al<sup>20</sup>, esta elevação da elasticidade é resultante da rápida maturação causada pelo frio.

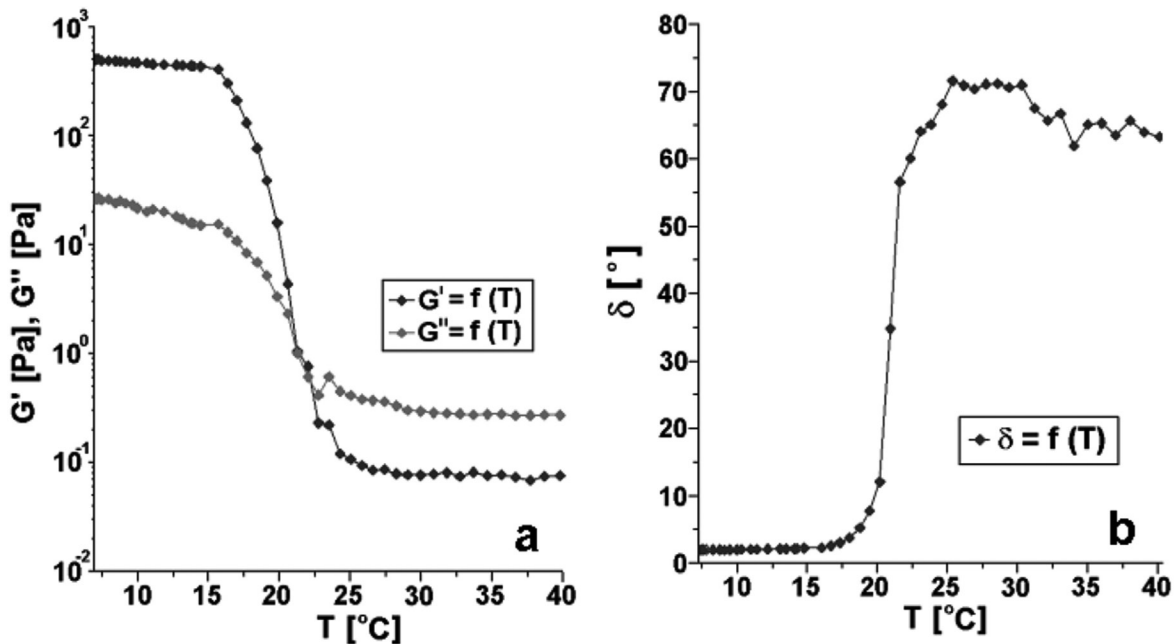


Figura 1. Módulos de elasticidade  $G'$  e viscosidade  $G''$  (a) ângulo de fase  $\delta$ , (b) durante resfriamento de 40°C para 7°C da amostra de gelatina de pele de tilápia

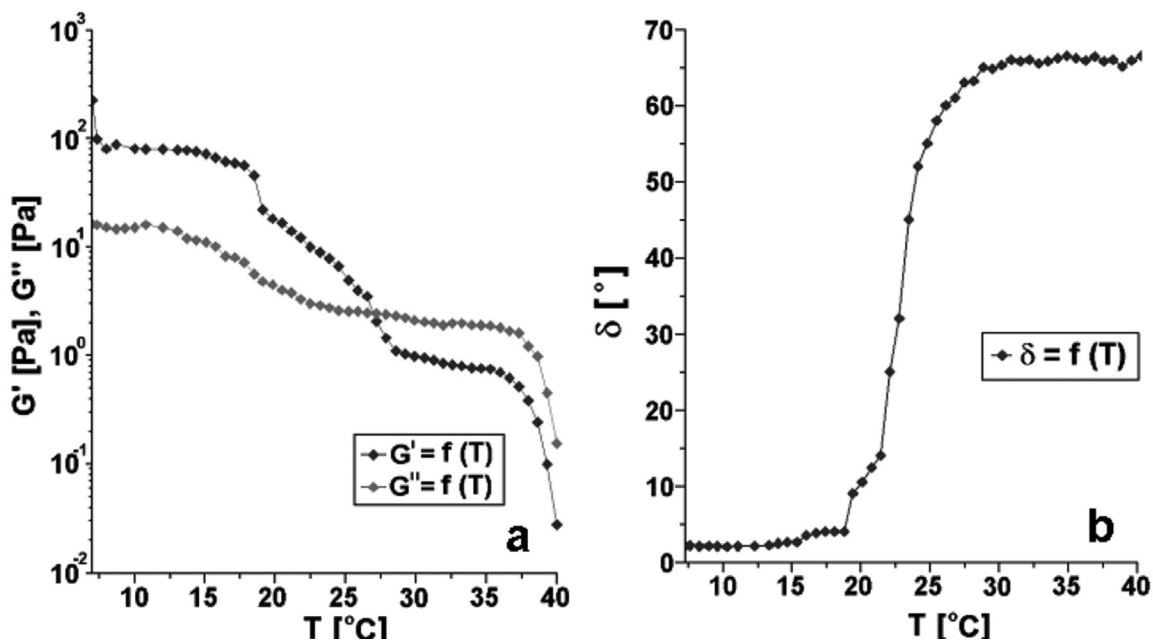


Figura 2. Módulos de elasticidade  $G'$  e viscosidade  $G''$  (a) ângulo de fase  $\delta$ , (b) durante aquecimento de 7°C para 40°C da amostra de gelatina de pele de tilápia



As temperaturas de geleificação e fusão das gelatinas vem sendo relacionadas com a proporção de prolina e hidroxiprolina da molécula de colágeno original<sup>3,16</sup>, e com o tratamento utilizado no processo<sup>25,26</sup>. Portanto, os pontos de geleificação e fusão das gelatinas são fortemente dependentes da sua distribuição de peso molecular e composição de aminoácidos<sup>21</sup>.

Os valores de viscosidade para a maioria das gelatinas comerciais têm sido reportados entre 2,0 - 7,0cP, e acima de 13,0 cP para gelatinas especiais<sup>21,5,7</sup>. A viscosidade das gelatinas também é um importante parâmetro para determinação de seu valor comercial. Sob aspecto de funcionalidade, a viscosidade da solução de gelatina é a sua segunda mais importante propriedade física<sup>27</sup>. Gelatinas com baixa viscosidade resultam em géis frágeis, enquanto aquelas de alta viscosidade produzem géis consistentes e extensíveis<sup>28</sup>.

Observa-se (Tabela 3) que a gelatina apresentou maior viscosidade ( $5,24 \pm 0,29$ cP), que o valor descrito por Grossman e Bergman<sup>10</sup> para gelatina de pele de tilápia sp. ( $5,1$ cP). Segundo Gudmundsson<sup>15</sup>, o comportamento viscoso da gelatina é resultante da espécie e das condições de processo, utilizadas na sua manufatura. Sabe-se que a viscosidade das gelatinas é parcialmente influenciada pela distribuição de pesos moleculares e polidispersia<sup>5,7</sup>. Segundo Johnston-Banks<sup>21</sup>, a viscosidade das gelatinas aumenta com a maior quantidade de compostos de alto peso molecular.

O prolongamento do tempo de maturação para  $42 \pm 1$  h acarretou um aumento de aproximadamente 17%, enquanto, em tempo de  $66 \pm 1$  h a gelatina teve um incremento em torno de 30% na sua viscosidade.

**Tabela 3.** Viscosidade da gelatina de pele de tilápia em diferentes tempos de maturação

| Gelatina de pele de tilápia | Viscosidade (cP) | Viscosidade (cP) | Viscosidade (cP) |
|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|
|                             | 18 ± 1 h         | 42 ± 1 h         | 66 ± 1 h         |
|                             | 5,24 ± 0,29      | 6,15 ± 0,22      | 6,83 ± 0,44      |

Valores médios referentes a três determinações ± desvio padrão

## CONCLUSÃO

A gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*) possui propriedades reológicas intermediárias às descritas na literatura, para outras gelatinas de pescado. O prolongamento do tempo de maturação propicia a elevação da sua viscosidade e força de

gel. Alguns agentes, como sais e enzimas poderiam ser utilizados com intuito de maximizar as suas propriedades reológicas.

## AGRADECIMENTOS

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA SUÍNOS E AVES, Concórdia (SC), pela liofilização das amostras.

Ao Laboratório de Biopolímeros da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) pela disponibilização do equipamento para as análises viscoelásticas.

Ao Laboratório de Tecnologia de Pescados da Universidade do Rio Grande (FURG), pela disponibilização do equipamento para as análises de força de gel.

## REFERÊNCIAS

1. Simon A, Vandanjon L, Levesque G, Bourseau P. Concentration and desalination of fish gelatin by ultrafiltration and continuous diafiltration processes. Desalination. 2000; 144: 313-8.
2. Schott A. Functions of gelatine in food applications. Am Assoc Cereal Chemists, Inc. 2001; 46: 414-6.
3. Gilsenan PM, Ross-Murphy SB. Rheological characterisation of gelatins from mammalian and marine sources. Food Hydrocoll. 2000; 14: 191-5.
4. Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. Food Hydrocoll. 2004; 18: 581-92.
5. Gudmundsson M, Hafsteinsson H. Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. J Food Sci. 1997; 62: 37-9.
6. Choi SS, Regenstein JM. Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. J Food Sci. 2000; 65: 194-9.
7. Jamilah B, Harvinder KG. Properties of gelatins from skins of fish: black tilápia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilápia (*Oreochromis nilotica*). Food Chem. 2002; 77: 81-4.
8. Cho SM, Gu YS, Kim SB. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. Food Hydrocoll. 2004; 19: 221-9.

9. Fernandez-Díaz MD, Montero P, Gómez-Guillén MC. Effect of freezing fish skins on molecular and rheological properties of extracted gelatin. *Food Hydrocoll*. 2003; 17: 281-6.
10. Grossman S, Bergman M, inventores. Process for the production of gelatin from fish skins. US Patent 5,093,474. 1992 Mar 3.
11. Alfaro AT. Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*). [Tese de doutorado]. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2008.
12. Association of Official Agricultural Chemist's International - AOAC. Official Methods of the Association of Official Agricultural Chemist's International. 17th ed., Gaithersburg: AOAC International; 2000.
13. British Standards Institution - BSI. Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods). London; 1975.
14. Eastoe JE, Leach AA. Chemical constitution of gelatin. In: Ward AG, Courts A. organizadores. The science and technology of gelatin. London: Academic Press; 1977. p. 73-108.
15. Gudmundsson M. Rheological properties of fish gelatin. *J Food Sci*. 2002; 67: 2172-6.
16. Haug IJ, Draget KI, Smidsrod O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. *Food Hydrocoll*. 2004; 18: 203-13.
17. Jones NR. Uses of gelatin in edible products. In: Ward AG, Courts A. organizadores. The science and technology of gelatin. London: Academic Press; 1977. p. 365-94.
18. Holzer D, inventor. Gelatin production. US Patent 5,484,888; 1996 jan 16.
19. Zhou P, Regenstein JM. Effects of alkaline and acid pretreatments on Alaska Pollock skin gelatin extraction. *J Food Sci*. 2005; 70: 392-6.
20. Gómez-Guillén MC, Turnay J, Fernandez-Díaz MD, Ulmo N, Lizarbe M, Montero P. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocoll*. 2002; 16: 25-34.
21. Johnston-Banks FA. Gelatin. In: Harris P. organizador. Food gels. London: Elsevier Applied Science; 1990. p. 233-89.
22. Kolodziejka I, Kaczorowski K, Piotrowska B, Sadowska M. Modification of the properties of gelatin from skins of Baltic cod (*Gadus morhua*) with transglutaminase. *Food Chem*. 2003; 86(2): 203-9.
23. Arnesen JA, Gildberg A. Extraction and characterization of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Bioresource Technol*. 2007; 98: 53-7.
24. Alfaro AT, Costa CS, Prentice C. Propiedades reológicas, estructurales y físico-químicas de gelatina de huesos de pescadilla (*Macrodon ancylodon*) sometidos a tratamiento ácido preliminar. *Alimentaria*. 2005; 367: 66-73.
25. Montero P, Fernandez-Díaz MD, Gómez-Guillén MC. Characterization of gelatin gels induced by high pressure. *Food Hydrocoll*. 2002; 16: 197-205.
26. Alfaro AT, Fonseca GG, Costa CS, Prentice C. Effect of extraction parameters on the properties of gelatin from King weakfish (*Macrodon ancylodon*) bones. *Food Sci Technol Int*. 2009; 15: 553-62.
27. Cole CGB. Gelatin Food Science. [acesso 19 set 2009] Disponível em: [<http://www.gelatin.co.za>].
28. Wainwright FW. Physical tests for gelatin and gelatin products. In: Ward AG, Courts A. organizadores. The science and technology of gelatin. London: Academic Press; 1977. p. 508-57.