

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE TECNOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

LUÃ CALDAS DE OLIVEIRA

ESTUDO DAS PROPRIEDADES E APLICAÇÕES DA GELATINA DE PIRAMUTABA (*Brachyplatystoma vaillantii*)

BELÉM - PA 2019

LUÃ CALDAS DE OLIVEIRA

ESTUDO DAS PROPRIEDADES E APLICAÇÕES DA GELATINA DE PIRAMUTABA (*Brachyplatystoma vaillantii*)

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pósgraduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia de Fátima Henriques Lourenço

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro

BELÉM - PA 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48e Oliveira, Luã Caldas de ESTUDO DAS PROPRIEDADES E APLICAÇÕES DA GELATINA DE PIRAMUTABA (Brachyplatystoma vaillantii) / Luã Caldas de Oliveira. — 2019. 138 f. : il. color.

> Orientador(a): Prof^a. Dra. Lucia de Fátima Henriques Lourenço

Coorientação: Prof^a. Dra. Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2019.

1. colágeno. 2. caracterização físico-química. 3. metodologia de superfície de resposta. 4. desejabilidade. 5. iogurte. I. Título.

CDD 664

LUÃ CALDAS DE OLIVEIRA

ESTUDO DAS PROPRIEDADES E APLICAÇÕES DA GELATINA DE PIRAMUTABA (*Brachyplatystoma vaillantii*)

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia de Fátima Henriques Lourenço

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro

Data de avaliação: 09 de agosto de 2019

Conceito:_____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço (FEA/ITEC/UFPA - Orientadora)

Prof^a. Dr^a. Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro (IFPA - Co-orientadora)

Prof^a. Dr^a. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele (IFPA - Membro titular da banca)

Prof[°] Dr. Renan Campos Chisté (FEA/ITEC/UFPA – Membro titular da banca)

Prof^o Dr^a. Elen Vanessa Costa da Silva (UEPA – Membro titular da banca)

Prof[°] Dr. Eder Augusto Furtado Araújo (FEA/ITEC/UFPA – Membro titular da banca)

Em memória do meu sogro Henrique Dias, por todo o apoio e amor, que tornaram possível concluir este trabalho

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força e proteção, me guiando para superar os desafios da vida.

Aos meus pais Miguel e Deborah, que sempre acreditaram em mim e sempre fizeram de tudo para que eu tivesse condições de estudar. Muitos não têm a mesma sorte. À minha irmã querida Larissa, por sempre termos um no outro alguém para conversar, rir ou desabafar sobre qualquer coisa.

À minha amada Jessika, por estar ao meu lado por todos esses anos, pela paciência e cumplicidade. Seu amor incondicional e seu apoio é que me fazem seguir em frente, obrigado por tudo. À minha sogra maravilhosa, Fátima Barbosa e a vovó Raimunda. Obrigado por cuidarem de mim. Agradeço também por todo apoio da família Barbosa durante esta jornada.

À minha querida orientadora, Prof^a Lúcia Lourenço, uma pessoa extraordinária, competente, amiga e muito divertida. Obrigado por acreditar neste projeto e por fazer tudo ao seu alcance para meu desenvolvimento como profissional e ser humano.

À minha querida amiga, Prof^a Suezilde Ribeiro, uma mulher incansável, competente e que admiro pela sua fibra, honestidade e excelência. Tenho a senhora como um modelo, tanto na vida pessoal quanto profissional. E obrigado pelos "puxões de orelha" desde a graduação até o doutorado.

Aos professores do programa PPGCTA/UFPA, por todo o aprendizado. Sei que em meio a tantas dificuldades que a universidade pública passa, não desistem de proporcionar a formação de novos cientistas amazônicos. Obrigado pela coragem de resistir e fortalecer a educação em nossa região. Agradeço também à minha banca avaliadora, pelas valiosas correções e sugestões que melhoraram este trabalho.

Aos meus companheiros do LAPOA/UFPA, meu muito obrigado por toda a ajuda no laboratório. Um local que sempre me senti acolhido e onde todos sempre estão dispostos a ajudar nos trabalhos. Aos colegas dos demais laboratórios, LAFAMI/LAOS/LAMEFI/LABIOTEC/LABEX, obrigado pela colaboração quando necessitei. Ao meu amigo Jhonatas Barbosa, por toda a contribuição neste trabalho, sempre em busca da excelência. Ao professor Pedro Campelo, pelas valiosas contribuições a este trabalho.

Um agradecimento especial para a Val e Lene, pessoas humildes, que não importa o cansaço, sempre tem um sorriso no rosto para receber as pessoas para almoçar no ver-o-pesinho. Obrigado por estes 6 anos de convivência diária, vocês me ajudaram a suportar dias difíceis.

Às instituições UFPA e IFPA, pela infraestrutura principal utilizada neste trabalho. Às instituições de fomento, CAPES e CNPq, pelo apoio financeiro. E às instituições que contribuíram com este trabalho, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal de Pelotas e Universidade Federal do Amazonas.

Aos amigos de longa data e todas as pessoas que contribuíram direta e indiretamente nessa jornada que foi o doutorado.

RESUMO GERAL	12
1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 Colágeno e gelatina de peixe	16
3.2 Extração de gelatina de peixe	17
3.2.1 Pré-tratamentos	18
3.4.2 Extração com água quente	19
3.4.3 Secagem	20
3.2 Caracterização de gelatina de peixe	21
3.2.1 Perfil de aminoácidos totais	22
3.2.2 Espectroscopia de Infravermelhos com Transformada de Fourier (FTIR)	22
3.2.3 Distribuição do peso molecular (eletroforese)	22
3.2.4 Perfil de micro e macro elementos	23
3.2.5 Análise de Difração de Raio-X (DRX)	23
3.2.6 Medição de Potencial zeta (ζ, mV) e tamanho da partícula	24
3.3 Propriedades tecno-funcionais da gelatina	24
3.3.1 Força do gel	24
3.3.2 Ponto de fusão	25
3.3.3 Capacidade de Formação de Espuma (CFE) e Capacidade Emulsificante (C	CE) 26
3.3.5 Comportamento reológico	26
3.3.6 Microestrutura	27
3.3.7 Perfil de Textura (TPA) da gelatina	27
3.4 Aplicações	27
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	28
REFERENCIAS	29
CAPÍTULO I	37
1. INTRODUÇÃO	38
2. MATERIAL E MÉTODOS	40

SUMÁRIO

2.1 Coleta e preparo da pele de piramutaba	40
2.2 Pré-tratamentos e extração de gelatina	40
2.3 Perfil de aminoácidos totais da pele e da gelatina	41
2.4 Micro e macro elementos na pele e gelatina	41
2.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier (FTIR gelatina	≀) da 41
2.6 Análise de Difração de Raio-X (DRX) da gelatina	41
2.7 Potencial zeta da gelatina	42
2.8 Distribuição do peso molecular da gelatina	42
2.9 Composição centesimal da pele e gelatina	42
2.10 Propriedades tecnológicas da gelatina	42
2.11 Microestrutura da gelatina	43
2.11.1 Avaliação do comportamento reológico	43
2.11.2 Perfil de textura da gelatina	44
2.11.3 Morfologia da gelatina	45
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
3.1 Perfil de aminoácidos totais da pele e gelatina	46
3.2 Perfil de micro e macro elementos na pele e na gelatina	47
3.3 FTIR e eletroforese da gelatina	50
3.4 Análise de Difração de Raio-X (DRX) da gelatina	51
3.5 Potencial zeta da gelatina	52
3.6 Composição centesimal e propriedades tecnológicas	53
3.7 Microestrutura da gelatina	54
3.7.1 Avaliação do comportamento reológico de gelatina	54
3.7.2 Perfil de textura (TPA) de gelatina	57
3.7.3 Morfologia da gelatina	58
4. CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	60
CAPÍTULO II	66
1. INTRODUÇÃO	67
2. MATERIAL E MÉTODOS	70
2.1 Reagentes químicos	70
2.2 Coleta e preparo da pele de piramutaba	70
2.3 Pré-tratamentos, extração da gelatina e mistura com goma arábica	70

2.4 Definição das condições ótimas de atomização	71
2.5 Atomização da solução aquosa de gelatina e goma arábica	72
2.6 Perfil de aminoácidos totais da pele e do atomizado	72
2.7 Espectroscopia de Infravermelhos com Transformações de Fourier (FTIF da gelatina, goma arábica e atomizado	₹) 72
2.8 Distribuição do peso molecular da gelatina e atomizado	73
2.9 Potencial zeta da gelatina, goma arábica e atomizado	73
2.10 Análise morfológica	73
2.11 Caracterização química da gelatina, goma arábica do complexo polieletrólito atomizado	73
2.12 Propriedades tecnológicas da gelatina, goma arábica do complexo polieletrólito atomizado	74
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
3.1 Análise e ajustes dos modelos	76
3.2 Superfícies de resposta e definição das condições ótimas	78
3.3 Formação de complexo polieletrólito entre gelatina e goma arábica (GP-	GA) 80
3.3.1 Perfil de aminoácidos	80
3.3.2 Distribuição do peso molecular	82
3.3.3 Espectroscopia de Infravermelhos com Transformações de Fourier (FTIR)	83
3.3.4 Potencial zeta	85
3.3.5 Análise morfológica do complexo polieletrólito entre gelatina e goma arábica (GP-GA)	ı 86
3.4 Caraterização da gelatina, goma arábica e complexo polieletrólito (FG-G	A)
~	88
4. CONCLUSAO	91
REFERENCIAS	92
	108
	109
2. MATERIAL E METODOS	111
2.1 Material	111
2.2 Elaboração de logurte	111 ~
2.3 Avallação do efeito da gelatina na acidez do logurte durante a fermentaç	ao 112
2.4 Caracterização química do iogurte	112

2.5 Propriedades tecno-funcionais do iogurte	112
2.5.1 Viscosidade aparente	112
2.5.2 Capacidade de retenção de água	112
2.5.3 Sinerese	113
2.6 Perfil de Textura (TPA)	113
2.7 Análise estatística	113
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	114
3.1 Efeito da gelatina na produção de ácido láctico e na caraci do iogurte	terização química 114
3.2 Propriedades tecno-funcionais do iogurte	115
3.3 Perfil de textura	118
4. CONCLUSÃO	
REFERENCIAS	
CONSIDERAÇÕES FINAIS	
ANEXOS	

RESUMO GERAL

O beneficiamento de piramutaba (Brachyplatystoma vaillantii) no estado do Pará gera grande volume de resíduos e, com isso, o grande potencial para produção de gelatina. Este trabalho teve como objetivo a extração e caracterização da gelatina de piramutaba, a formação de um complexo polieletrólito com goma arábica e a avaliação como estabilizante em iogurte. A gelatina foi extraída a partir das peles de piramutaba (Brachyplatystoma vaillantii), sendo caracterizada através do perfil de aminoácidos, de micro e macro elementos, Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raio-X (DRX), potencial zeta, eletroforese, composição centesimal e propriedades tecnológicas. A microestrutura foi avaliada através do comportamento reológico, perfil de textura e morfologia. A gelatina de peixe apresentou elevado rendimento e características adequadas, sendo qualificada como excelente alternativa às gelatinas bovina e suína. A descoberta de elementos de grande importância nutricional, como o selênio, definiu uma nova perspectiva a respeito de gelatinas de peixes amazônicos, ampliando o potencial para o desenvolvimento de novos produtos e aplicações. A interação entre gelatina e goma arábica gerou um complexo polieletrólito (GP-GA), cujas condições ótimas para formação foram concentração de goma arábica de 33,4% e atomização na temperatura de entrada de 130°C, resultando em 6,62 g/h de rendimento, 0,27 de aw e 247g de força do gel. A formação do GP-GA gerou maior rendimento de atomização, adeguada força do gel, baixa higroscopicidade e alta solubilidade. O GP-GA pode ser usado para aplicações industriais como aditivo em alimentos, estabilizante em produtos lácteos, aumentar a capacidade de retenção de água em produtos cárneos, emulsificante em sorvetes, entre outros. Em relação ao iogurte, o uso de gelatina de piramutaba reduziu o tempo necessário de fermentação em 0,5h, aumentou a viscosidade aparente, capacidade de retenção de água e reduziu a sinerese. A gelatina de piramutaba se apresentou como um excelente espessante/estabilizante para melhorar a textura de iogurtes comerciais, onde os resultados de viscosidade aparente e textura instrumental mais elevados foram obtidos na concentração de 4g de gelatina/kg de iogurte, indicando a melhor condição para seu uso.

Palavras-chave: colágeno, caracterização físico-química, metodologia de superfície de resposta, desejabilidade, perfil de textura, iogurte, leites fermentados.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Gelatina é uma proteína proveniente da degradação parcial, química e estrutural do colágeno. A obtenção da gelatina pode ser feita por diversas técnicas, no entanto, a mais utilizada é a hidrolise parcial ou a degradação térmica do colágeno, que influência nas propriedades da microestrutura, e, portanto, nas suas propriedades reológicas e tecnológicas (SHA et al., 2014).

A extração de gelatina é tradicionalmente realizada a partir de ossos, peles e carcaças de bovinos e suínos (GME, 2015; KARIM; BHAT, 2009). No entanto, existem alguns inconvenientes relacionados a essas fontes, como a possibilidade de transmissão de doenças de bovinos (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002, 2007) e a não aceitação de produtos de origem suína por motivos religiosos (BUENO et al., 2011). Isso tem estimulado a obtenção de gelatina através de outras fontes, como o pescado. Os resíduos do beneficiamento de peixes, como cabeça, peles e parte óssea, não possuem as desvantagens citadas, permitindo a obtenção de lucros extras pelas indústrias processadoras e a redução dos efeitos prejudiciais ao ambiente (LIU et al., 2015).

Desde 2012, o Laboratório de Produtos de Origem Animal (LAPOA) da Universidade Federal do Pará tem desenvolvido pesquisas a respeito da extração de gelatina e suas aplicações, a partir de tambaqui (OLIVEIRA, 2014), filhote (SILVA; PENA; LOURENCO, 2016), dourada (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a) e pescadaamarela (SILVA et al., 2018). As gelatinas obtidas, e seus derivados, possuem diferentes características, em função das espécies estudadas e diferentes métodos de extração. A piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*, Cuvier & Valenciennes, 1840), forma grandes cardumes e é uma das únicas espécies de água doce capturada em escala industrial. Desta forma, o grande volume de resíduos gerados chamou a atenção para a potencialidade desta espécie na obtenção de gelatina, cujos dados são escassos na literatura. Em função disso, foi realizada a investigação das características da gelatina de piramutaba.

O método de secagem de gelatinas é importante para definir suas características, o que torna relevante a comparação de diferentes métodos. Estudos indicam que a atomização pode produzir gelatinas adequadas à indústria de alimentos, sejam elas da pele de cabras (MAD-ALI et al., 2016) ou de pescado

(HAMZEH et al., 2018; KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019), assim como na diminuição do odor característico de gelatinas de peixe (SAE-LEAW; BENJAKUL; O'BRIEN, 2016). Além disso, a atomização é um processo de secagem comum em escala industrial (MARINOPOULOU et al., 2019), o que pode potencializar a produção de gelatina de peixe, tradicionalmente realizada por liofilização.

Após testes preliminares, foram observados problemas na atomização de gelatina de piramutaba, como aderência do material ao corpo do atomizador e queima do material (aparecimento de pontos pretos). Isso, na prática, reduziu o rendimento, em função de alterações significativas nas propriedades físicas e químicas da gelatina, pelo uso de altas temperaturas (KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019).

Para corrigir este problema, a gelatina foi combinada com goma arábica, polissacarídeo de baixo custo, alta disponibilidade, alta solubilidade em água e baixa viscosidade. Estudos comprovaram que a interação entre gelatina e goma arábica formam complexos polieletrólitos, que melhoram as propriedades tecno-funcionais (ESFAHANI et al., 2019; MAHDAVEE KHAZAEI et al., 2014).

A gelatina é utilizada como ingrediente principal de sobremesas e como aditivo, seja para conferir espessamento em confeitos (doces), cremosidade e espalhabilidade em margarinas, gelificação em produtos assados, maior capacidade de retenção de água em produtos cárneos, estabilidade e textura em laticínios (HUANG et al., 2019).

Dentre os produtos lácteos, os leites fermentados possuem baixa consistência e são propensos à separação do soro (QUIROGA, 2017). Polissacarídeos, gelatina bovina, exsudados de plantas, amidos e derivados de celulose foram reportados como aditivos que amenizam estes problemas (NGUYEN et al., 2017). A gelatina de tilápia proporcionou melhorias na textura de leites fermentados (PANG et al., 2015a, 2017), o que reforçou o interesse em investigar o potencial da gelatina de piramutaba para esta finalidade.

Com base no disposto, os resultados desta pesquisa são apresentados da seguinte forma:

Capítulo I: Interação entre as características químicas, reológicas e tecnológicas com a microestrutura da gelatina de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*).

Capítulo II: Melhoramento das características da gelatina de peixe - goma arábica através da formação do complexo polieletrólito.

Capítulo III: Uso de gelatina de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) melhora as propriedades tecno-funcionais de iogurte.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi estudar as características da gelatina obtida da pele de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) e o seu comportamento em iogurte.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a composição centesimal e características físico-químicas da gelatina;
- Determinar as propriedades tecno-funcionais da gelatina;
- Determinar o perfil de aminoácidos, e de micro, macro elementos e contaminantes da gelatina;
- Analisar as ligações químicas, a distribuição do peso molecular e a microestrutura da gelatina;
- Analisar o comportamento reológico e o perfil de textura da gelatina;
- Avaliar a influência das gelatinas no comportamento reológico de iogurte;
- Estudar e caracterizar a interação entre gelatina de piramutaba e goma arábica,
 e seus efeitos na obtenção das condições ótimas de atomização;

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Colágeno e gelatina de peixe

As moléculas de colágeno são compostas por três cadeias tipo α na estrutura de tripla hélice e adotam uma estrutura 3D, que fornece uma geometria ideal para a ligação de hidrogênio entre cadeias. O colágeno possui aproximadamente 300nm de comprimento e peso molecular de aproximadamente 10⁵ kDa. Foram reportadas até vinte e sete tipos de colágeno e os mais relevantes são a tipo I, II, III, que são mais abundantes e formam fibrilas de colágeno típicas (AN; LIN; BRODSKY, 2016). Outros tipos de colágeno ocorrem em menor incidência e em organismos específicos.

Tipo I ocorre largamente na natureza, presente principalmente no tecido conjuntivo, como peles, ossos e tendões de vertebrados. É composta por duas cadeias tipo $\alpha 1$ (idênticas) e uma cadeia $\alpha 2$ (ligeiramente diferente) e não apresenta o aminoácido cisteína (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

Tipo II ocorre quase que exclusivamente no tecido da cartilagem e é utilizado em tratamentos médicos para tendões e ligamentos (OESSER; SEIFERT, 2003).

Tipo III é fortemente dependente da idade: a pele humana jovem pode conter até 50%, mas ao longo do tempo pode reduzir para 5%. É um componente importante das grandes artérias, intestino e útero, mas também é encontrado em quantidades menores em muitos tecidos ricos em colágeno tipo I (KUIVANIEMI; TROMP; PROCKOP, 1997).

Derivado do colágeno, a gelatina possui como estrutura básica o tropocolágeno, formado por três cadeias de polipeptídios. Apresenta algumas características como: natureza anfótera; estrutural helicoidal de tripla hélice (não observada em polímeros sintéticos); interação com a água, que é diferente da encontrada em polímeros sintéticos hidrofílicos (AHMAD; BENJAKUL, 2011; KASANKALA et al., 2007; KOZLOV; BURDYGINA, 1983); é abundante na natureza e possui aplicações nas indústrias farmacêutica, fotográfica e de alimentos (BORAN; REGENSTEIN, 2010).

Dados reportados sobre o perfil de aminoácidos de gelatinas dos peixes *Colossoma macropomum* (OLIVEIRA, 2014), *Brachyplathystoma filamentosum* (SILVA; PENA; LOURENCO, 2016), *Brachyplathystoma rousseauxii* (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a), *Acipenser schrenckii* (NIKOO et al., 2014), *Trachurus* *trachurus* (BADII; HOWELL, 2006), *Sebastes mentella* (WANG et al., 2007) reforçam a presença majoritária de glicina, prolina e hidroxiprolina, respectivamente, além da detecção de quase todos os 20 aminoácidos (WANG; AGYARE; DAMODARAN, 2009).

A glicina é a estrutura fundamental da cadeia de tropocolágeno (DABOOR et al., 2010). Prolina e hidroxiprolina são os chamados "iminoácidos", que contém um grupo imino (>C=NH) e um carboxilo (-COOH) e são responsáveis pela estabilidade da cadeia, formada pela glicina (BINSI et al., 2009; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002; NELSON; COX, 2011). A formação do grupo "imino" é catalisada em meio ácido (IUPAC, 1997), exercendo influência sobre as propriedades tecnológicas, por conferir rigidez à estrutura (HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004). Gelatinas com elevado teor de iminoácidos resultam em alto ponto de fusão e elevada força do gel, o que agrega valor comercial (CHEOW et al., 2007; JOHNSTON-BANKS, 1990).

Apesar das inúmeras características positivas, a gelatina de peixe ainda é considerada inferior à gelatina bovina e suína, pelo fato de possuírem propriedades tecno-funcionais superiores (HUANG et al., 2019). Por isso, inúmeros estudos foram realizados para melhorar essas características, tendo como ponto de partida o método de extração.

3.2 Extração de gelatina de peixe

A gelatina obtida de peixe possui diversas vantagens em comparação com a de fontes bovina e suína. Ela não está associada ao risco de contaminação pela doença encefalopatia espongiforme bovina, e também não sofre restrições da religião muçulmana em relação aos suínos (BADII; HOWELL, 2006). A produção pesqueira, principalmente a pesca de captura, pode fornecer abundante matéria-prima através dos resíduos gerados pelo beneficiamento na produção industrial, além de anular o impacto ambiental.

Estudos sobre extração de gelatina tem registro no ano de 1960, visando aplicações em indústrias não alimentícias (MACDONALD, 1991). Após isso, inúmeros estudos foram publicados de peixes de água quente e fria, como *Macruronus novaezelandiae* (MOHTAR; PERERA; HEMAR, 2014) e *Oreochromis niloticus*

(BUENO et al., 2011), respectivamente. O processo de extração da gelatina pode variar, conforme a espécie e aplicação. Os pré-tratamentos reportados são diversos, e etapas adicionais podem ser implementadas para as diferentes aplicações desejadas (HUANG et al., 2019).

Um dos métodos mais referenciado é o desenvolvido por Montero e Gomez-Guillen (2000), com pré-tratamento misto para hidrólise parcial do colágeno, com posterior extração utilizando água quente. Esse método foi otimizado para o tambaqui em estudo anterior do autor do presente trabalho (OLIVEIRA, 2014), e consiste basicamente em três estágios: pré-tratamento, extração e secagem.

3.2.1 Pré-tratamentos

Foram relatadas combinações entre pré-tratamentos, utilizando solução salina, alcalina e ácida, respectivamente. Diferentes métodos relatados envolvem apenas uma dessas etapas, duas ou todas, conforme a aplicação esperada para a gelatina. Foi demonstrado que o pré-tratamento influencia significativamente nas propriedades tecno-funcionais de gelatina (OLIVEIRA, 2014). Entretanto, não é apenas o pré-tratamento que irá definir as características da gelatina, pois há outras variáveis que devem ser equalizadas.

Em métodos de extração de gelatina de pele de peixes, foi reportado prétratamento salino utilizando-se solução com sal iônico forte, como NaCl, em concentrações de 0,45M (TKACZEWSKA et al., 2018), 0,6M (OLIVEIRA, 2014), 0,8M (MOHTAR; PERERA; QUEK, 2010) e 1% (AKSUN TÜMERKAN et al., 2019), com o objetivo de aumentar a solubilidade das proteínas (*salting in*).

A concentração de NaCl deve ser ajustada conforme a espécie, pois concentrações acima de 2% de NaCl reduziram drasticamente a solubilidade (*salting out*) do colágeno da pele de *Merluccius merluccius* (MONTERO; BORDERÍAS, 1991). Esta propriedade também pode ser utilizada em combinação com centrifugação para precipitar e extrair o colágeno (PAL; SURESH, 2017). Exercendo influência sobre as propriedades tecnológicas, a concentração de 1,5% NaCl aumentou a força iônica da solução de gelatina da pele de *Oreochromis niloticus*, resultando na quebra de ligações entre cadeias tipo α e diminuição da força do gel (SOW; YANG, 2015).

Além desses, são encontrados na literatura pré-tratamentos envolvendo apenas bases diluídas (MONTERO; GOMEZ-GUILLEN, 2000), ácidos diluídos

(MUYONGA; COLE; DUODU, 2004), ou os dois (BUENO et al., 2011; GÓMEZ-GUILLÉN; MONTERO, 2001; OLIVEIRA, 2014). Os pré-tratamentos alcalino e ácido são utilizados para separar o colágeno dos demais compostos presentes na pele.

Foram reportados estudos utilizando bases como NaOH, em concentrações de 0,2 M (MOHTAR; PERERA; QUEK, 2010), 0,3M (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017b), e 0,05M (ABDELHEDI et al., 2017, 2019). O uso de NaOH apresenta as seguintes vantagens: baixo custo, fácil utilização e hidrólise eficiente do colágeno. (AHMAD; BENJAKUL, 2011; ALFARO et al., 2013; NIU et al., 2013).

Como pré-tratamento ácido, foi reportada a utilização de ácido acético (ABEDINIA et al., 2017; AKSUN TÜMERKAN et al., 2019), ácido clorídrico (BORAN; REGENSTEIN, 2009) e ácido cítrico (SAE-LEAW; BENJAKUL; O'BRIEN, 2016), em baixas concentrações, a fim de promover a hidrólise parcial do colágeno. Em relação ao ácido cítrico, seu uso também está associado à remoção de gorduras remanescentes, contribuindo com a remoção de odor residual na gelatina da pele de *Cyprinus carpio, segundo* (TKACZEWSKA et al., 2018). O ácido acético e propanoico promoveram maior capacidade de retenção de água e propriedades gelificantes na extração de gelatina da pele de *Lepidorhombus boscii* (GÓMEZ-GUILLÉN; MONTERO, 2001).

A gelatina é mais solúvel em água quanto mais distante o pH se encontra do seu ponto isoelétrico, pois o desequilíbrio de cargas promove a solubilidade em sistemas aquosos. Por isso, métodos de extração que utilizam exclusivamente prétratamento alcalino resultam em gelatina "tipo-B", com ponto isoelétrico em pH 5. Prétratamento exclusivamente ácido resulta em gelatinas "tipo-A", com ponto isoelétrico entre pH 6 e 9 (HUANG et al., 2019).

3.4.2 Extração com água quente

A extração de gelatina, posterior ao pré-tratamento, geralmente é feita por imersão das peles em água quente. Foi demonstrado que mudanças na temperatura de extração influenciam significativamente as propriedades tecno-funcionais de gelatina de tambaqui (OLIVEIRA, 2014), dourada (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a) e filhote (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017b), entre 30°C e 65°C. Aumento de temperatura de extração tem sido relacionado a redução da resistência do gel, ponto de gelificação e fusão (SHA et al., 2019). Conforme a aplicação da gelatina, estudos procuraram equalizar o tempo e a temperatura, sem prejudicar o rendimento do

processo e a qualidade da gelatina obtida (KITTIPHATTANABAWON et al., 2016; LI et al., 2018). Com a aplicação do calor, forma-se uma solução de água gelatina, que é filtrada e encaminhada para secagem.

3.4.3 Secagem

A última etapa para obtenção da gelatina da pele de peixe é a secagem, promovendo desidratação da solução aquosa de gelatina. O método desenvolvido por Montero e Gomez-Guillen (2000) foi largamente reproduzido e adaptado na extração de gelatina de peixes (LIU et al., 2017; SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017b; SILVA; PENA; LOURENCO, 2016), e por isso, o método de secagem mais utilizado é a liofilização.

3.4.3.1 Liofilização

A liofilização, ou secagem a frio, é um método de desidratação onde a água é congelada e então sublimada, sendo removida do alimento. No processo de extração de gelatina, a liofilização é utilizada por remover água sem causar grandes alterações nas características estruturais, sensoriais e nutricionais, diferente dos métodos tradicionais (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011).

A gelatina liofilizada apresenta estrutura porosa, baixa umidade e capaz de ser reconstituída pela simples adição de água. No entanto, a liofilização possui como desvantagens o alto custo de implantação, operação e mão de obra. Por isso, outros métodos de secagem de gelatina tem sido estudados como estufa de ar (ALTAN KAMER et al., 2019) e atomização (HAMZEH et al., 2018; KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019).

3.4.3.2 Atomização

A secagem por atomização é um processo contínuo, onde um líquido ou pasta é transformado em um produto seco, na forma de pó, caracterizando-se por um tempo de secagem relativamente curto (I RÉ, 1998). O processo consiste basicamente na pulverização do líquido em um compartimento que recebe um fluxo de ar quente, de modo que a rápida evaporação da água permite manter baixa a temperatura das partículas. Desta forma, esta técnica permite a secagem de produtos sensíveis ao calor (alimentícios, biológicos e farmacêuticos), sem afetar demasiadamente a qualidade. Outras vantagens citadas são o processamento contínuo, controle efetivo do processo, menor custo com mão de obra, instalação e operação, quando comparado com a liofilização (FRASCARELI et al., 2012).

Dependendo da composição do produto e das condições de secagem, a superfície das partículas pode permanecer plástica, resultando na aderência às paredes do secador ou mesmo entre as partículas. Desse modo, o produto obtido ao final do processo pode ser tanto um xarope quanto um pó pegajoso, ou ainda um pó com escoamento relativamente livre (KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019). Na prática, a viscosidade crítica é atingida em temperaturas de 10 a 20°C acima da temperatura de transição vítrea. Portanto, pode-se assumir que a superfície das partículas não deve atingir essa temperatura durante o processo de secagem (HAMZEH et al., 2018).

Outras variáveis de processo interferem nas características dos produtos obtidos por atomização, e que devem ser cuidadosamente observadas, estudadas e ajustadas. Dentre elas estão a temperatura do ar de entrada e de saída; fluxo de ar ou do fluído de arraste; distribuição de temperatura e umidade; tempo de residência e geometria da câmara (ZBICINSKI et al., 2000). Ao contrário do que se pensa a respeito de técnicas que utilizam altas temperaturas, a rápida evaporação mantém a temperatura das gotículas relativamente baixa no interior da câmara. Desta forma, é possível a secagem de produtos sensíveis ao calor, produtos biológicos e farmacêuticos (RÉ, 2000).

Em trabalhos envolvendo produtos atomizados, alguns parâmetros têm sido reportados para mensurar as características tecno-funcionais, como Densidade aparente, Higroscopicidade, Índice de Solubilidade em Água (ISA), Índice de Absorção de Água (IAA) (PIRES; PENA, 2017). Esses parâmetros estão relacionados à estabilidade desses produtos frente à umidade ambiente.

3.2 Caracterização de gelatina de peixe

Em pesquisas sobre o uso da gelatina para fins alimentares, destacam-se a caracterização dos seguintes aspectos: Perfil de aminoácidos totais, Espectroscopia

de Infravermelhos com Transformada de Fourier (FTIR), distribuição do peso molecular, perfil de micro e macro elementos, difração de raio-X e potencial zeta.

3.2.1 Perfil de aminoácidos totais

Em função de proteínas representarem o componente predominante em gelatinas, o conhecimento acerca de seus aminoácidos é essencial neste tipo de estudo. A estrutura do tropocolágeno é formada, principalmente, pela sequência Glicina-X-Y (onde X frequentemente é Prolina, e Y na maioria das vezes é Hidroxiprolina) (HUANG et al., 2019). Portanto, mensurar o quantitativo destes e de outros aminoácidos presentes na gelatina é fundamental para o entendimento das demais características. O principal método utilizado para determinar o perfil de aminoácidos em gelatinas de peixe é a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), descrito por WHITE; HART; FRY (1986).

3.2.2 Espectroscopia de Infravermelhos com Transformada de Fourier (FTIR)

Além do conhecimento sobre o quantitativo de aminoácidos, é fundamental entender as ligações químicas estabelecidas no interior da gelatina. Isso reflete o grau de desnaturação que o colágeno sofreu. Assim, uma das análises muito utilizada para verificar os tipos de ligação, interações e grupos funcionais presentes na gelatina é a Espectroscopia de Infravermelhos com Transformada de Fourier (FTIR), realizada em equipamento específico, como o Equinox 55 FTIR (Bruker Co., Ettlingen, GER). Em gelatina de peixe foram identificadas as seguintes vibrações: grupos OH e NH (Amida A), grupos =C-H e -NH₃⁺(amida B), C=O e CN (Amida I), NH e CN (Amida II) e NH e CN (amida III) (LASSOUED et al., 2014; STAROSZCZYK et al., 2012, 2014).

3.2.3 Distribuição do peso molecular (eletroforese)

A distribuição do peso molecular (eletroforese) das proteínas da gelatina é importante para definir os tipos de ligações e, consequentemente, sua aplicação. Quanto menor o peso molecular das cadeias, mais hidrolisada a gelatina, o que nos fornece informações sobre o efeito do processo de extração (MOHTAR; PERERA; QUEK, 2010).

O método de determinação mais difundido é a eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE). Consiste basicamente na injeção da mistura de gelatina e reagentes específicos em gel de poliacrilamida e submetida à eletroforese em equipamento específico, como o Coomassie Brilliant Blue G-250 (Invitrogen[™], Carlsbad, CA, USA) (MOHTAR; PERERA; HEMAR, 2014). Foram reportadas presença majoritária de cadeias a 1 e a 2 para gelatina das espécies (TKACZEWSKA al., 2018), Oreochromis Cyprinus carpio et niloticus (SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008), Lepidorhombus boscii (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002) e Chitala ornata (KITTIPHATTANABAWON et al., 2016), que correspondem a gelatinas do tipo I.

Durante a extração, a quebra de ligações como as pontes de hidrogênio, causa a separação total ou parcial das cadeias de colágeno, como a estrutura de hélice tripla. Após a desnaturação, os peptídeos restantes se apresentam de forma enrolada, similar a estrutura do colágeno (KARIM; BHAT, 2009). As gelatinas industriais são misturas de diferentes cadeias: tipo α (cadeia de um polímero), tipo β (duas cadeias em ligações covalentes) e tipo γ (três cadeias α em ligação covalente) (PAPON; LEBLOND; MEIJER, 2006). A presença e quantidade dessas cadeias define o tipo de gelatina e estão diretamente relacionadas com as condições de extração, como tempo e temperatura (KITTIPHATTANABAWON et al., 2016).

3.2.4 Perfil de micro e macro elementos

Estudos reportaram a determinação do perfil de elementos por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) em gelatina de carpa (TEDESCO et al., 1995; TKACZEWSKA et al., 2018). Essa determinação é importante para verificar quais elementos estão presentes, assim como contaminantes, e dessa forma entender quais as possíveis aplicações da proteína.

3.2.5 Análise de Difração de Raio-X (DRX)

A análise de Difração de Raio-X (DRX) (7000S, Shimadzu Inc., Japão), tem sido reportada na avaliação da interação entre gelatina e quitosana (JRIDI et al., 2014; SIONKOWSKA et al., 2004), da cristalinidade de pós atomizados (SHI; ZHONG, 2015), da cristalinidade de filmes de proteína miofibrilar de corvina (VIEIRA et al., 2018) e da distribuição de fibras de gelatina de carpa (ZHANG; XU; WANG, 2011).

3.2.6 Medição de Potencial zeta (ζ, mV) e tamanho da partícula

A medição do potencial zeta (ζ, mV) é utilizado para determinar ponto isoelétrico e mensurar as interações eletroestáticas entre compostos, geralmente ao longo de faixas de pH (2,0-12,0) através da titulação com solução tampão (GONÇALVES et al., 2018). Foi reportado uso de potencial zeta para avaliar pH ideal para interação entre gelatina e goma arábica (LI et al., 2018), carragenina (SOW et al., 2018a) e alginato de sódio (RAZZAK; KIM; CHUNG, 2016).

O equipamento utilizado para mensurar o potencial zeta (Zetasizer, Malvern Instruments, Reino Unido), também possui a função de medir o tamanho da partícula, através de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS). SOW et al. (2019) avaliaram potencial zeta e tamanho da partícula para descrever a interação entre gelatina de tilápia e alginato de sódio.

3.3 Propriedades tecno-funcionais da gelatina

Em pesquisas sobre o uso da gelatina para fins alimentares, destacam-se a avaliação das seguintes propriedades tecno-funcionais: força do gel, ponto (temperatura) de fusão, capacidade de formação de espuma, capacidade emulsificante, comportamento reológico, microestrutura e perfil de textura.

3.3.1 Força do gel

A força do gel de gelatinas comerciais é expressa em "g Bloom". O método Bloom foi padronizado pela AOAC (American Organization of Analytical Chemists), GMIA (Gelatin Manufacturers Institute of American) e GME (Gelatine Manufacturers of Europe) (GME, 2015) e corresponde à força necessária para empurrar a probe do Reômetro (12,7 mm de diâmetro) por 4 mm a partir da superfície de uma solução de 6,6% (peso/volume) de gelatina (CHOI; REGENSTEIN, 2000). O método necessita muito cuidado na preparação da solução de gelatina e na aferição do equipamento, mas é considerado de alta precisão e reprodutibilidade. Desta forma, tornou-se um método referência para avaliação da qualidade de gelatinas (CHEOW et al., 2007; CHOI; REGENSTEIN, 2000; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004; SONGCHOTIKUNPAN; TATTIYAKUL; SUPAPHOL, 2008).

Os valores de força do gel para gelatinas comerciais devem estar entre 50g e 300g. Classificam-se em alto-bloom (200g a 300g), médio-bloom (100g a 200g) e baixo-bloom (50g a 100g) (EYSTURSKARĐ et al., 2009), com valores desejáveis entre 250g e 260g, pois valores superiores afetam negativamente a palatabilidade de alimentos (KARIM; BHAT, 2009). As gelatinas obtidas a partir de pescado possuem força do gel entre 100g a 300g. Essas variações estão relacionadas com o processo de extração, teores de prolina e hidroxiprolina, hábitat das espécies e à sazonalidade (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2007; GÓMEZ-GUILLÉN; MONTERO, 2001; OLIVEIRA, 2014).

3.3.2 Ponto de fusão

Devido ao comportamento de gel termo reversível, o gel de gelatina irá fundir ao atingir determinada temperatura (KARIM; BHAT, 2009). O método de determinação do ponto de fusão (temperatura de fusão) pode variar muito, o que dificulta a comparação de resultados. A gelatina é um dos únicos compostos que forma géis termo reversíveis, com ponto de fusão próximo ou abaixo da temperatura corporal do homem (KOLI et al., 2011), o que é importante para a indústria de alimentos, como por exemplo, na fabricação de gomas e *marshmallows,* que "derretem na boca".

Um dos métodos mais utilizados para definição do ponto de fusão em gelatina é o da "queda da gota". Consiste basicamente no aquecimento de géis de gelatina até o momento em que as gotas coradas (pingadas na superfície) começam a se mover para o interior do gel (CHOI; REGENSTEIN, 2000). O método é considerado de alta reprodutibilidade, desde de que respeitados os cuidados na execução, e é altamente difundido por ter baixo custo de implementação e operação (SINTHUSAMRAN; BENJAKUL; KISHIMURA, 2014; TABARESTANI et al., 2010). Pontos de fusão reportados para gelatinas obtidas de peixes variam entre 16°C a 29°C, enquanto para bovinos e suínos estão na faixa de 28°C a 31°C. Existe uma maior variação entre gelatinas obtidas de pescado do que de bovinos e suínos (BORAN; REGENSTEIN, 2009; BUENO et al., 2011; MAHMOODANI et al., 2012), e de peixes de água fria é significativamente menor do que mamíferos e peixes de água quente, pelo fato da gelatina possuir menores teores de iminoácidos, o que reduz a resistência da estrutura de tripla hélice (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2002, 2007).

3.3.3 Capacidade de Formação de Espuma (CFE) e Capacidade Emulsificante (CE)

As propriedades de superfície da gelatina estão relacionadas às cargas e radicais disponíveis para interação, sejam eles hidrofílicos ou hidrofóbicos, que reduzem a tensão superficial de soluções aquosas. A Capacidade de Formação de Espuma (CFE) e a Capacidade Emulsificante (CE) estão relacionados com perfil de aminoácidos e a distribuição superficial de cargas (HUANG et al., 2019). Foram reportados métodos envolvendo alteração de volume da solução de gelatina com ar para determinação da CFE, e com óleo para determinação da CE (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a; SILVA; PENA; LOURENCO, 2016; TABARESTANI et al., 2010).

3.3.5 Comportamento reológico

A viscosidade de gelatinas é um importante parâmetro físico, pois baixa viscosidade produz géis limitados e frágeis, enquanto que alta produz géis duráveis e extensíveis (GÓMEZ-GUILLÉN; MONTERO, 2001; KARIM; BHAT, 2009). Em muitas aplicações, são indicadas gelatinas com alta viscosidade, porém isso encarece o processo. A viscosidade é medida em viscosímetro de Ostwald-Fensk (nº 100) e expressa em centipoise (cP) ou Pascal (Pa*s) (BSI, 1975). Outro método utiliza o equipamento *Brookfield Digital Viscometer*, que apresenta alta precisão e repetibilidade para viscosidade aparente e dinâmica (AVENA-BUSTILLOS et al., 2011; MOHTAR; PERERA; QUEK, 2010).

Em relação às gelatinas de pele de peixe, foi reportada viscosidade de 3,48 cP para tambaqui (OLIVEIRA, 2014), 3,40 cP para filhote (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a), 10,8 cP para Hoki (MOHTAR; PERERA; QUEK, 2010), e de 1,56 a 6,62 cP

para carpa (BORAN; REGENSTEIN, 2009). A viscosidade depende da temperatura de extração, pH, adição de sais, teor de iminoácidos e é particularmente influenciada pela distribuição do peso molecular (SPERLING, 2005).

3.3.6 Microestrutura

Na avaliação da microestrutura de gelatina de peixe e derivados, tem sido reportado o uso, principalmente, da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (KWAK et al., 2017; SILVA; PENA; LOURENCO, 2016; STEYAERT et al., 2016). Recentemente, a Microscopia de Força Atômica (AFM) e a Microscopia Confocal a Laser de Varredura (CLSM) revelam detalhes da microestrutura a nível de micro e nanômetros (SOW et al., 2018b, 2019).

3.3.7 Perfil de Textura (TPA) da gelatina

A análise do Perfil de Textura (TPA) tem sido frequentemente usada para avaliar a textura de gomas, gelatina e sobremesas sob diferentes temperaturas (AKSUN TÜMERKAN et al., 2019), e modificações em leites fermentados (PANG et al., 2015b, 2017). Foi observado que a TPA tem sido obtida, frequentemente, através de texturômetro TA-XT2, utilizando probe cilíndrica de aço ou silicone, e os resultados expressos em firmeza (dureza), adesividade, coesividade, gomosidade e mastigabilidade (ALTAN KAMER et al., 2019; LASSOUED et al., 2014; ZHAO et al., 2019).

3.4 Aplicações

Na área de alimentos, a gelatina é comumente utilizada para favorecer a elasticidade, consistência e estabilidade, além de melhorar o valor nutricional (OLIVEIRA et al., 2017). Dentre as pesquisas envolvendo gelatina de peixe, as principais investigações observadas foram sobre a função antioxidante, produção de biofilmes, melhoramento das propriedades tecnológicas, desenvolvimento de novos biopolímeros, modificações no processo de extração, uso como fertilizante de plantas (Tabela 1).

Fonte	Aplicação tecnológica	Referência
Cartilagem	Função antioxidante em alimentos	(JEEVITHAN et al., 2015)
Pele	Produção de Biofilmes	(ELANGO et al., 2017; SILVA et al., 2018; URANGA et al., 2019)
	Melhoramento das propriedades tecno- funcionais	(ALTAN KAMER et al., 2019; HUANG et al., 2017, 2018; PHAWAPHUTHANON et al., 2019)
	Desenvolvimento de novos biopolímeros	(KWAK et al., 2017; SOW et al., 2019; ZHAO et al., 2019)
	Modificações em	(KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019;
	métodos de extração	KITTIPHATTANABAWON et al., 2016; SILVA;
		LOURENÇO; PENA, 2017b; SINTHUSAMRAN;
_		BENJAKUL; KISHIMURA, 2014; TANG et al., 2015)
Escamas	Fertilizantes	(BHAGWAT; DANDGE, 2016)
	nitrogenados para plantas	

Tabela 1. Pesquisas sobre aplicações de gelatina de peixe e derivados em ciência de alimentos

Adaptado de (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011; HUANG et al., 2019)

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Embora diferentes métodos de extração tenham sido largamente pesquisados, ainda existem muitas variáveis a serem ajustadas para a melhoria das características de gelatinas de peixe. É interessante destacar que o avanço nas modificações de gelatina de peixe tem conseguido equiparar suas propriedades tecno-funcionais com as de gelatinas tradicionais.

Quando comparada às gelatinas bovina e suína, a gelatina de peixe não apresenta problemas de aceitação, agregando lucratividade e sustentabilidade à produção pesqueira, em função do beneficiamento dos resíduos. Atualmente, o maior desafio é consolidar a produção de gelatina em escala industrial, equiparando-se as propriedades tecno-funcionais com as de gelatinas tradicionais. Esse cenário ganha força uma vez que países como Inglaterra (URANGA et al., 2019), Malasia (HANANI; YEE; NOR-KHAIZURA, 2019) e EUA (VORON'KO et al., 2017) que já realizam a produção e comercialização de gelatina de peixe.

REFERENCIAS

ABDELHEDI, O. et al. Collagenous proteins from black-barred halfbeak skin as a source of gelatin and bioactive peptides. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 123–133, 1 set. 2017.

ABDELHEDI, O. et al. Rheological and structural properties of Hemiramphus far skin gelatin: Potential use as an active fish coating agent. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 331–341, 1 fev. 2019.

ABEDINIA, A. et al. Extraction and characterization of gelatin from the feet of Pekin duck (Anas platyrhynchos domestica) as affected by acid, alkaline, and enzyme pretreatment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 586–594, 2017.

AHMAD, M.; BENJAKUL, S. Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (Aluterus monoceros) as influenced by acid pretreatment and extraction time. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 381–388, maio 2011.

AKSUN TÜMERKAN, E. T. et al. Physiochemical and functional properties of gelatin obtained from tuna, frog and chicken skins. **Food Chemistry**, v. 287, n. October 2018, p. 273–279, 2019.

ALFARO, A. DA T. et al. Characterization of wami tilapia (Oreochromis urolepis hornorum) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food** science and technology international, 10 jun. 2013.

ALTAN KAMER, D. D. et al. Effect of confectionery solutes on the rheological properties of fish (Oncorhynchus mykiss) gelatin. **LWT**, v. 101, n. November 2018, p. 499–505, mar. 2019.

AN, B.; LIN, Y. S.; BRODSKY, B. Collagen interactions: Drug design and delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 97, p. 69–84, 2016.

AVENA-BUSTILLOS, R. J. et al. Gelation, oxygen permeability, and mechanical properties of mammalian and fish gelatin films. **Journal of food science**, v. 76, n. 7, p. E519-24, set. 2011.

BADII, F.; HOWELL, N. Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 5, p. 630–640, jul. 2006.

BHAGWAT, P. K.; DANDGE, P. B. Isolation, characterization and valorizable applications of fish scale collagen in food and agriculture industries. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 7, p. 234–240, 2016.

BINSI, P. K. et al. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (Priacanthus hamrur) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 1, p. 132–145, jan. 2009.

BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Optimization of gelatin extraction from silver carp skin. **Journal of food science**, v. 74, n. 8, p. E432-41, out. 2009.

BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Fish Gelatin. In: Advances in Food and Nutrition

Research. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2010. v. 60p. 119–143.

BSI. **Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods)**. London: British Standard Institution, 1975.

BUENO, C. M. et al. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 01, p. 65–73, 17 mar. 2011.

CHEOW, C. S. et al. Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (Johnius dussumieri) and shortfin scad (Decapterus macrosoma). **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 386–391, jan. 2007.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and Sensory Characteristics of Fish Gelatin. Journal of Food Science, v. 65, n. 2, p. 194–199, 2000.

DABOOR, S. M. et al. Extraction and purification of collagenase enzymes: A critical review. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 239–263, 2010.

ELANGO, J. et al. Effect of chemical and biological cross-linkers on mechanical and functional properties of shark catfish skin collagen films. **Food Bioscience**, v. 17, p. 42–51, mar. 2017.

ESFAHANI, R. et al. Loading of fish oil into nanocarriers prepared through gelatin-gum Arabic complexation. **Food Hydrocolloids**, v. 90, n. October 2018, p. 291–298, 2019.

EYSTURSKARĐ, J. et al. Structural and mechanical properties of fish gelatin as a function of extraction conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 7, p. 1702–1711, out. 2009.

FRASCARELI, E. C. et al. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 3, p. 413–424, 2012.

GME. **Gelatin Manufacturers of Europe**. Disponível em: http://www.gelatine.org/about-hydrolysed-collagen/history.html. Acesso em: 4 maio. 2018.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. . et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 16, n. 1, p. 25–34, jan. 2002.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (Ugni molinae Turcz). **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1133–1143, out. 2007.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, dez. 2011.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Extraction of Gelatin from Megrim (Lepidorhombus boscii) Skins with. **food chemistry and toxicology**, v. 66, n. 2, p. 213–216, 2001. GONÇALVES, N. D. et al. Comparison of microparticles produced with combinations of gelatin, chitosan and gum Arabic. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, n. May, p. 427–432, set. 2018.

HAMZEH, A. et al. Effect of drying methods on gelatin from splendid squid (Loligo formosana) skins. **Food Bioscience**, v. 26, n. March, p. 96–103, 2018.

HAUG, I. J.; DRAGET, K. I.; SMIDSRØD, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 203–213, mar. 2004.

HUANG, T. et al. Comparison of rheological behaviors and nanostructure of bighead carp scales gelatin modified by different modification methods. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 1256–1265, 2017.

HUANG, T. et al. Rheological behavior, emulsifying properties and structural characterization of phosphorylated fish gelatin. **Food Chemistry**, v. 246, n. October 2017, p. 428–436, abr. 2018.

HUANG, T. et al. Fish gelatin modifications: A comprehensive review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, n. November 2017, p. 260–269, 2019.

I RÉ, M. **Microencapsulation By Spray DryingDrying Technology**, 1998. Disponível em: http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373939808917460

IUPAC. Imines. In: MCNAUGHT, A. D.; WILKINSON, A. (Eds.). . **Compendium of Chemical Terminology (the "Gold Book")**. 2nd. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997.

JEEVITHAN, E. et al. Purification, characterization and antioxidant properties of low molecular weight collagenous polypeptide (37 kDa) prepared from whale shark cartilage (Rhincodon typus). **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6312–6322, 2015.

JOHNSTON-BANKS, F. A. Gelatin. In: HARRIS, P. (Ed.). Food gels. New York, NY: Elsevier Science Publishing Co., p. 233–289, 1990.

JRIDI, M. et al. Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin– chitosan composite edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 373–379, jun. 2014.

KANWATE, B. W.; BALLARI, R. V.; KUDRE, T. G. Influence of spray-drying, freezedrying and vacuum-drying on physicochemical and functional properties of gelatin from Labeo rohita swim bladder. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 135–141, 2019.

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

KASANKALA, L. M. et al. Optimization of gelatine extraction from grass carp (Catenopharyngodon idella) fish skin by response surface methodology. **Bioresource technology**, v. 98, n. 17, p. 3338–43, dez. 2007.

KITTIPHATTANABAWON, P. et al. Gelatin from clown featherback skin: Extraction conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, n. 2016, p. 186–192, 2016.

KOLI, J. M. et al. Improvement of gel strength and melting point of fish gelatin by addition of coenhancers using response surface methodology. **Journal of food science**, v. 76, n. 6, p. E503-9, ago. 2011.

KOZLOV, P. V.; BURDYGINA, G. I. polymer reviews. **POLYMER**, v. 24, p. 651–666, 1983.

KUIVANIEMI, H.; TROMP, G.; PROCKOP, D. J. Mutations in fibrillar collagens (type I, II, III, and XI), fibril-associated collagen (type IX), and network-forming collagen (type X) cause a spectrum of diseases of bone, cartilage, and blood vessels. **Hum Mutat**, v. 9, n. November 1995, p. 300–315, 1997.

KWAK, H. W. et al. Fabrication of an ultrafine fish gelatin nanofibrous web from an aqueous solution by electrospinning. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 1092–1103, 2017.

LASSOUED, I. et al. Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 309–318, dez. 2014.

LI, Y. et al. Investigation on complex coacervation between fish skin gelatin from coldwater fish and gum arabic: Phase behavior, thermodynamic, and structural properties. **Food Research International**, v. 107, n. 1, p. 596–604, 2018.

LIU, D. et al. Collagen and Gelatin. Annual Review of Food Science and Technology, v. 6, n. 1, p. 527–557, 2015.

LIU, Y. et al. Physiochemical and functional properties of chum salmon (Oncorhynchus keta) skin gelatin extracted at different temperatures. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 15, p. 5406–5413, dez. 2017.

MACDONALD, G. A. Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitabilityTrends in Food Science & Technology, 1991.

MAD-ALI, S. et al. Interfacial properties of gelatin from goat skin as influenced by drying methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 102–107, 2016.

MAHDAVEE KHAZAEI, K. et al. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, n. 1, p. 57–62, maio 2014.

MAHMOODANI, F. et al. Optimization and physical properties of gelatin extracted from pangasius catfish (Pangasius sutchi) bone. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 11, p. 3104–3113, 2012.

MARINOPOULOU, A. et al. Production of spray-dried starch molecular inclusion complexes on an industrial scale. **Food and Bioproducts Processing**, maio 2019.

MOHTAR, N. F.; PERERA, C. O.; HEMAR, Y. Chemical modification of New Zealand hoki (Macruronus novaezelandiae) skin gelatin and its properties. **Food chemistry**, v. 155, p. 64–73, 15 jul. 2014.

MOHTAR, N. F.; PERERA, C.; QUEK, S. Y. Optimisation of gelatine extraction from hoki (Macruronus novaezelandiae) skins and measurement of gel strength and SDS-PAGE. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 307–313, 2010.

MONTERO, P.; BORDERÍAS, J. Emulsifying capacity of collagenous material from the muscle and skin of hake (Merluccius merluccius L.) and trout (Salmo irideus Gibb): Effect of pH and NaCl concentration. **Food Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 251–267, 1991.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Extracting Conditions for Megrim (Lepidorhombus boscii) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 434–438, abr. 2000.

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

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger's Principles of Biochemistry. **W. H. Freeman** and Company, 5th Edition, 2011.

NGUYEN, P. T. M. et al. Effect of different hydrocolloids on texture, rheology, tribology and sensory perception of texture and mouthfeel of low-fat pot-set yoghurt. **Food Hydrocolloids**, v. 72, p. 90–104, 2017.

NIKOO, M. et al. Physicochemical properties of skin gelatin from farmed Amur sturgeon (Acipenser schrenckii) as influenced by acid pretreatment. **Food Bioscience**, v. 5, p. 19–26, mar. 2014.

NIU, L. et al. Characterization of tilapia (Oreochromis niloticus) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 336–341, dez. 2013.

OESSER, S.; SEIFERT, J. Stimulation of type II collagen biosynthesis and secretion in bovine chondrocytes cultured with degraded collagen. **Cell and tissue research**, v. 311, n. 3, p. 393–399, 2003.

OLIVEIRA, L. C. Otimização da extração de gelatina a partir de pele de tambaqui (colossoma macropomum). n. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará, 2014.

OLIVEIRA, V. et al. Colágeno: características gerais e produção de peptídeos bioativos - uma revisão com ênfase nos subprodutos do pescado. Acta of Fisheries and Aquatic Resources, v. 5, n. 2, p. 70–82, 2017.

PAL, G. K.; SURESH, P. V. Comparative assessment of physico-chemical characteristics and fibril formation capacity of thermostable carp scales collagen. **Materials Science and Engineering C**, v. 70, p. 32–40, 2017.

PANG, Z. et al. Effect of addition of gelatin on the rheological and microstructural properties of acid milk protein gels. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 340–351, 2015a.

PANG, Z. et al. Effect of addition of gelatin on the rheological and microstructural properties of acid milk protein gels. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 340–351, 2015b.

PANG, Z. et al. Evaluation of tilapia skin gelatin as a mammalian gelatin replacer in

acid milk gels and low-fat stirred yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3436–3447, 2017.

PAPON, P.; LEBLOND, J.; MEIJER, P. H. E. Gelation and Transitions in Biopolymers. p. 189–213, 2006.

PHAWAPHUTHANON, N. et al. Effect of fish gelatine-sodium alginate interactions on foam formation and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 88, n. February 2018, p. 119–126, 2019.

PIRES, F. C. S.; PENA, R. DA S. Optimization of spray drying process parameters for tucupi powder using the response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 3459–3472, 2017.

QUIROGA, A. L. B. Dossiê Espessantes. **Food Ingredients Brasil**, v. 40, p. 20–44, 2017.

RAZZAK, M. A.; KIM, M.; CHUNG, D. Elucidation of aqueous interactions between fish gelatin and sodium alginate. **Carbohydrate Polymers**, v. 148, p. 181–188, 2016.

RÉ, M. I. Microencapsulação: em busca de produtos "inteligentes". **Ciência hoje**, v. 27, n. 162, p. 24–29, 2000.

SAE-LEAW, T.; BENJAKUL, S.; O'BRIEN, N. M. Effect of Pretreatments and Drying Methods on the Properties and Fishy Odor/Flavor of Gelatin from Seabass (*Lates calcarifer*) skin. **Drying Technology**, v. 34, n. 1, p. 53–65, 2016.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. Gelatine handbook: Theory and Industrial Practice. 1st editio ed. Weinhem: Wiley-VCH GmbH & Co, 2007.

SHA, X. M. et al. Effect of ammonium sulfate fractional precipitation on gel strength and characteristics of gelatin from bighead carp (Hypophthalmichthys nobilis) scale. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 173–180, 2014.

SHA, X. M. et al. Effect of extraction temperature on the gelling properties and identification of porcine gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 92, n. November 2018, p. 163–172, 2019.

SHI, X.; ZHONG, Q. Crystallinity and quality of spray-dried lactose powder improved by soluble soybean polysaccharide. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 89–96, 2015.

SILVA, E. V. C. DA; LOURENÇO, L. DE F. H.; PENA, R. DA S. Obtaining Gelatin from the Skin of Gilthead Bream (Brachyplathystoma rousseauxii) using Two Pre-treatment. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 13, n. 5, p. 182–189, 2017a.

SILVA, E. V. C. DA; LOURENÇO, L. DE F. H.; PENA, R. DA S. Optimization and characterization of gelatin from kumakuma (Brachyplatystoma filamentosum) skin. **CyTA - Journal of Food**, v. 15, n. 3, p. 361–368, 3 jul. 2017b.

SILVA, E. V. C. DA; PENA, R. DA S.; LOURENCO, L. DE F. H. Gelatin extraction from Kumakuma (Brachyplathystoma filamentosum) skin using the liming method. African Journal of Agricultural Research, v. 11, n. 30, p. 2678–2688, 28 jul. 2016.

SILVA, N. D. S. E. et al. Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. **CyTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 340–349, 31 jan. 2018.

SINTHUSAMRAN, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (Lates calcarifer) as influenced by extraction conditions. **Food Chemistry**, v. 152, p. 276–284, jun. 2014.

SIONKOWSKA, A. et al. Molecular interactions in collagen and chitosan blends. **Biomaterials**, v. 25, n. 5, p. 795–801, 1 fev. 2004.

SONGCHOTIKUNPAN, P.; TATTIYAKUL, J.; SUPAPHOL, P. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, n. 3, p. 247–255, 1 abr. 2008.

SOW, L. C. et al. Effects of κ -carrageenan on the structure and rheological properties of fish gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 239, p. 92–103, 2018a.

SOW, L. C. et al. Effects of κ -carrageenan on the structure and rheological properties of fish gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 239, n. May, p. 92–103, dez. 2018b.

SOW, L. C. et al. Combination of sodium alginate with tilapia fish gelatin for improved texture properties and nanostructure modification. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. March, p. 459–467, 2019.

SOW, L. C.; YANG, H. Effects of salt and sugar addition on the physicochemical properties and nanostructure of fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 72–82, 2015.

SPERLING, L. H. Dilute Solution Thermodynamics, Molecular Weights, and Sizes. In: **Introduction to Physical Polymer Science**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2005. p. 71–143.

STAROSZCZYK, H. et al. Molecular and structural characteristics of cod gelatin films modified with EDC and TGase. **Food Chemistry**, v. 130, n. 2, p. 335–343, jan. 2012.

STAROSZCZYK, H. et al. Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films: FT-IR study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 707–712, jan. 2014.

STEYAERT, I. et al. Gelatin nanofibers: Analysis of triple helix dissociation temperature and cold-water-solubility. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 200–208, 2016.

TABARESTANI, H. S. et al. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (Onchorhynchus mykiss). **Bioresource technology**, v. 101, n. 15, p. 6207–14, ago. 2010.

TANG, L. et al. Physicochemical properties and film-forming ability of fish skin collagen extracted from different freshwater species. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 1, p. 148–155, 1 jan. 2015.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995.

TKACZEWSKA, J. et al. Characterization of carp (Cyprinus carpio) skin gelatin extracted using different pretreatments method. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 169–179, ago. 2018.

URANGA, J. et al. Citric acid-incorporated fish gelatin/chitosan composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 86, p. 95–103, 1 jan. 2019.

VIEIRA, L. L. et al. Emulsified films produced with proteins extracted from whitemouth croaker byproducts: Development and characterization. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 3, p. e360, 26 jun. 2018.

WANG, L. et al. Isolation and characterization of collagen from the skin of deep-sea redfish (Sebastes mentella). Journal of Food Science, v. 72, n. 8, p. 450–455, 2007.

WANG, S.; AGYARE, K.; DAMODARAN, S. Optimisation of hydrolysis conditions and fractionation of peptide cryoprotectants from gelatin hydrolysate. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 620–630, jul. 2009.

WHITE, J. A; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of automatic chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170–7, jan. 1986.

ZBICINSKI, I. et al. Application of pulse combustion technology in spray drying process. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 17, n. 4, p. 441–450, 2000.

ZHANG, F.; XU, S.; WANG, Z. Pre-treatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 3, p. 185–193, 1 jul. 2011.

ZHAO, X. et al. Vacuum impregnation of fish gelatin combined with grape seed extract inhibits protein oxidation and degradation of chilled tilapia fillets. **Food Chemistry**, v. 294, p. 316–325, 1 out. 2019.
CAPÍTULO I

Interação entre as características químicas, reológicas, tecnológicas e a microestrutura da gelatina de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*)¹

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar as interações entre as características químicas e reológicas, propriedades tecnológicas com a microestrutura da gelatina. A gelatina foi extraída a partir das peles de piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*), sendo caracterizada através do perfil de aminoácidos, de micro e macro elementos, Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier (FTIR), Difração de Raio-X (DRX), potencial zeta, eletroforese, composição centesimal e propriedades tecnológicas. A microestrutura foi avaliada através do comportamento reológico, perfil de textura e morfologia. Os resultados forneceram relevantes informações sobre a utilização da gelatina de piramutaba para fins alimentares. A descoberta de elementos de grande importância nutricional, como o selênio, define uma nova perspectiva a respeito das gelatinas obtidas de peixes amazônicos, ampliando o potencial para o desenvolvimento de novos produtos e aplicações. Apesar de colaborar com o rendimento da extração, o pré-tratamento salino limita diversas propriedades tecnológicas da gelatina. Desta forma, novas pesquisas devem buscar aprimorar a extração de gelatina sem prejudicar as propriedades tecnológicas.

Palavras-chave: colágeno, perfil de textura, Difração de Raio-X, Potencial Zeta, FTIR, ICP-OES, reologia

³⁷

¹ Artigo submetido ao periódico Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie – LWT

1. INTRODUÇÃO

A gelatina é um material biológico proveniente de diversas fontes naturais como ossos e tecidos conjuntivos de mamíferos, peles e cartilagens de peixes, lulas e moluscos (LIU et al., 2015; MAD-ALI et al., 2016). Pode ser obtida por hidrolise parcial ou degradação térmica do colágeno, influenciando sua microestrutura, propriedades reológicas e tecnológicas (SHA et al., 2014).

A gelatina é matéria prima para diversos produtos, devido sua biodegradabilidade, abundância, não toxidade e baixo custo de produção. Aplicada em diversas áreas como medicina, fármacos, alimentos, indústria química, cosméticos e materiais de embalagens (HUANG et al., 2019). Também pode compor nanocápsulas, nanopartículas e matriz carreadora de fármacos, enzimas e polissacarídeos (GASPAR; DE GÓES-FAVONI, 2015; HUANG et al., 2017a).

A qualidade da gelatina depende das características intrínsecas da sua microestrutura, tanto em nível molecular (perfil de aminoácidos, minerais ligados a estrutura das proteínas e outras classes de compostos), assim como no nível microscópico e macroscópico (morfologia e porosidade) (BOR-SEN et al., 2006). Estas características influenciam nas propriedades reológicas, intimamente relacionadas com a elasticidade, força do gel, ponto de gelificação e fusão (HUANG et al., 2017b; RAFE; RAZAVI, 2017).

O comportamento reológico revela muitas peculiaridades da microestrutura em nível molecular, pois reflete a forma (estrutura conformacional) da molécula de gelatina. Também pode estar relacionada à composição de minerais e resíduos de íons que podem influenciar e competir por moléculas de água e por grupos funcionais, durante a solubilização da gelatina (HUANG et al., 2016).

Pesquisas a respeito de novas fontes de obtenção de gelatina, como em pescado, ocorrem devido ao aumento da demanda deste produto (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011), do surgimento de fatores desfavoráveis às fontes tradicionais (HUANG et al., 2019), além de estimular a produção pesqueira no mundo (FENG; FU; YANG, 2017).

A gelatina de peixes já foi considerada inferior à gelatina de mamíferos por apresentar menor ponto de fusão (HUANG et al., 2017a). Por outro lado, ponto de fusão mais baixo e melhores propriedades de microestrutura promovem uma dissolução mais rápida, potencializando a sensação de mastigação (SILVA; BANDEIRA; PINTO, 2014; SOW et al., 2019) ajudando a liberar o flavor de alimentos com mais facilidade (BORAN; LAWLESS; REGENSTEIN, 2010).

Desta forma, este estudo se propõe a elucidar as interações entre as características químicas, reológicas e tecnológicas com a microestrutura da gelatina de piramutaba.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e preparo da pele de piramutaba

As peles de piramutaba foram coletadas em indústria de pesca localizada no município de Belém, estado do Pará, Brasil. As peles foram acondicionadas em embalagens de polietileno e transportadas em caixas isotérmicas ao laboratório. As peles foram lavadas com água destilada e cortadas em 4cm x 4cm. Em seguida, foram novamente embaladas, seladas a vácuo e congeladas a -26 °C, até o processo de extração.

2.2 Pré-tratamentos e extração de gelatina

A metodologia utilizada foi proposta Montero e Gomez-Guillen (2000) e adaptada por Oliveira (2014), com modificações. Antes da extração de gelatina, 20g de pele foram colocadas em erlenmeyer de vidro de 250 mL. Foi utilizado prétratamento salino para aumentar a solubilidade do colágeno, onde foram adicionados 60mL de solução de cloreto de sódio 0,6 M e agitado por 10 min (85 rpm, 25 °C), com posterior lavagem das peles em água destilada para remoção do excesso de sódio. Em seguida, para remoção dos materiais não colagenosos, foram utilizados prétratamentos alcalino e ácido. Foram adicionados 60mL de solução de hidróxido de sódio 0,3 M e agitado por 15 min (85 rpm, 25 °C), lavando-se novamente as peles com água destilada. Após isso, foram adicionados 60mL de ácido acético 0,02M e agitado por 60 min (85 rpm, 25 °C), lavando-se novamente as peles com água destilada. A

Para a extração da gelatina, foi adicionado 100mL de água destilada ao Erlenmeyer contendo as peles e aquecido a 60°C por 12h em banho termo estatizado (modelo TE-057, Tecnal, Brasil). A solução foi filtrada em tecido failet (70 mesh) e o filtrado coletado em bandejas de aço inoxidável. Finalmente, as amostras foram liofilizadas (modelo L101, Liotop, Brasil) por 48h, colocadas em embalagens de polietileno, seladas à vácuo e armazenadas a 25°C até o momento das análises.

2.3 Perfil de aminoácidos totais da pele e da gelatina

O perfil de aminoácidos totais foi determinado utilizando cromatógrafo líquido de alta performance Waters-PICO Tag™, Waters Model 712 WISP (Waters, Watford, Herts, UK) (WHITE; HART; FRY, 1986).

2.4 Micro e macro elementos na pele e gelatina

O conteúdo de micro e macro elementos foi determinado através de Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) (TEDESCO et al., 1995; TKACZEWSKA et al., 2018). Foi realizada a mineralização de 0,5g de amostra em solução de HCI 30% e HNO₃ concentrado, através de microondas à 1400 W, utilizando o equipamento Perkin-Elmer ICP-OES 7300 Dual View apparatus (Perkin-218 Elmer, Waltham, USA).

2.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformadas de Fourier (FTIR) da gelatina

Foi utilizado um espectrômetro Equinox 55 FTIR (Bruker Co., Ettlingen, GER), conforme método descrito por Benjakul *et al.* (2010). Os espectros de FTIR foram obtidos à temperatura de 22°C utilizando uma célula cristalina de Reflectância Total Atenuada (ATR Trough Plate crystal cell, 45° ZnSe, 80 mm long, 10 mm wide, 4 mm thick; PIKE Technology Inc., Madison, WI, USA). Para análise espectral, amostras foram colocadas na célula de cristal, fixada na montagem do espectrômetro. Os espectros foram coletados em 40 varreduras com resolução de 4 cm⁻¹, na faixa de número de onda 4000-500 cm⁻¹, e comparados com o espectro de fundo gravado da célula vazia limpa a 25°.

2.6 Análise de Difração de Raio-X (DRX) da gelatina

Foi realizado em instrumento de DRX (7000S, Shimadzu Inc., Japão), conforme método descrito por Y. Li, Zhang, Zhao, Ding, & Lin (2018). O ângulo de varredura

utilizado variou entre 2° e 100°, com velocidade de 5°/min. As amostras foram irradiadas usando um tubo de cobre a 35 mA e 40 kV.

2.7 Potencial zeta da gelatina

O efeito do pH na densidade de carga superficial (Potencial Zeta) foi determinado em Zetasizer (Malvern Instruments, Reino Unido), conforme método descrito por Campelo et al. (2017).

2.8 Distribuição do peso molecular da gelatina

A distribuição do peso molecular foi determinada por eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme descrito por Chen et al. (2014).

2.9 Composição centesimal da pele e gelatina

Foram realizadas as análises de umidade (método 952.08), proteína bruta (fator de cálculo de 5,55) e cinzas (método 938.08), segundo metodologia descrita pela AOAC (2000). O valor de lipídeos totais foi obtido através de mistura de solventes (BLIGH; DYER, 1956). As determinações foram realizadas em triplicata e os dados foram apresentados como média ± desvio padrão e um valor de probabilidade menor que 0,05 foi considerado significativo. Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o software Statistica Kernel Release 7.1 (StatSoft Inc. 2006, Tulsa, USA).

2.10 Propriedades tecnológicas da gelatina

O rendimento da extração foi calculado pela razão entre o peso de gelatina e o peso de pele úmida. O pH foi mensurado conforme descrito por Schrieber & Gareis, (2007). A força do gel foi determinada pelo método Bloom (CHOI; REGENSTEIN,

2000). A temperatura de fusão (ponto de fusão) foi estabelecido pelo método descrito por Choi e Regenstein (2000). A capacidade de formar espuma (CFE) foi definida em soluções de gelatina em diferentes concentrações (1%, 2% e 3%), homogeneizadas a 1.750 rpm por 60s a 24°C. A CFE foi calculada pela razão entre os volumes antes e após a homogeneização, expressa em porcentagem (TABARESTANI et al., 2010). A capacidade emulsificante (CE) foi obtida através da mistura de 20 mL de solução de gelatina a 3,3% com 20 mL de óleo de soja. Em seguida, foi homogeneizada a 1.750 rpm (30 s, 26°C) e centrifugada a 3.958 rpm (300 s, 26°C). A CE foi calculada pela razão entre o volume da porção emulsificada e o volume inicial, sendo expressa em porcentagem (TABARESTANI et al., 2010).

2.11 Microestrutura da gelatina

2.11.1 Avaliação do comportamento reológico

Foi preparada 30mL de solução aquosa de gelatina a 6,67% (peso/volume), homogeneizada a 30°C (10 min, 150 rpm) e armazenada por 17h a 10°C. Em seguida, a gelatina foi aquecida em viscosímetro Haake (VT550, Karlsruhe, Alemanha), acoplado ao sistema de configuração de cilindros coxiais copo SV e cilindros SV1, e a avaliação do comportamento reológico foi realizada a 30°C, 40°C e 50°C. Foi utilizado um gap (espaço delimitado entre as placas) de 1 mm (MATHIAS et al., 2013). A obtenção de curvas e ajuste dos modelos foram realizadas pelo software *Reowin Data Manager* (Karlsruhe, Alemanha).

As curvas de fluxo e viscosidade foram obtidas pela determinação da tensão e da viscosidade em função da taxa de cisalhamento, respectivamente, mantendo-se a temperatura constante. A taxa de cisalhamento variou entre 0,02 e 100 s (curva ascendente e descendente), com tempo total de análise de 10 min., sendo coletados 40 pontos neste intervalo. Os resultados foram ajustados aos modelos de Bingham, Herschel-Bulkley e Ostwald de Waale, também conhecido como power-law (Tabela 1), para as curvas de fluxo e viscosidade (STEEF, 1996).

Os testes de tixotropia foram realizados pela aplicação de taxa de cisalhamento constante de 100 s e a determinação da viscosidade em função do tempo de 10 min., com coleta de 40 pontos, à 30°C, 40°C e 50°C. Os resultados deste teste foram

submetidos ao ajuste do modelo de Weltman, dependente do tempo (GONÇALVEZ et al., 2005). A Tabela 1 apresenta os modelos reológicos.

Tabela '	1.	Modelos	testados	para	descrever	а	viscosidade	е	а	tensão	de	cisalhamento	de	solução
aquosa d	de	gelatina												

Modelo	Viscosidade cinemática	Tensão de cisalhamento
Bingham	$\eta = \eta_p + t_0/\gamma$	$\tau=\tau_0+\eta_p\gamma$
Herschel-Bulkley	$\eta = \frac{t_0}{\gamma} + K \gamma^{n-1}$	$\tau=\tau_0+K\gamma^n$
Otswald de waale (Power-law)	$\eta = K \gamma^{n-1}$	$\tau = K \cdot \gamma^n$
Weltman		$\tau = A - B \cdot \log(t)$

η = viscosidade (Pa·s); K = índice de consistência (Pa·sⁿ); n = índice de comportamento (adimensional); τ = tensão de cisalhamento (Pa); γ = taxa de deformação (s⁻¹); η_p = viscosidade plástica; τ₀ = limite de escoamento; A = parâmetro reológico semelhante a τ₀; B = parâmetro reológico que mede a taxa de quebra da estrutura; t = tempo; k = parâmetro de ajuste; E = energia de ativação para viscosidade (J/kg.mol.K); R = Constante Universal dos Gases (1,987 cal/g.mol.k); T = temperatura absoluta (K).

2.11.2 Perfil de textura da gelatina

O perfil de textura (TPA) foi determinado em solução aquosa de gelatina a 6,67% (p/v), com altura de 37,5 mm e diâmetro de 40 mm. A gelatina foi dissolvida em água por 15 min a 45ºC em banho termo estatizado. Em seguida, foi maturada a 4ºC por 17 h em estufa incubadora, conforme método descrito por Yang et al. (2007). Finalmente, a temperatura foi ajustada por 30 min. e a TPA foi determinada em triplicata a 5°C e a 15°C. O texturômetro (modelo CT3 4500, Brookfield, EUA) foi equipado com probe cilíndrico de silicone (diâmetro = 25mm, altura = 40mm) e célula de carga de 4,5kg. As condições de teste foram velocidade de teste constante: 1,0 mm/s; Força programada (trigger force): 0,08 N; distância (deformation): 15 mm. Foram realizados dois ciclos de compressão em cada ensaio e os resultados expressos em firmeza (N), adesividade (Nm), coesividade (razão), elasticidade (mm) e gomosidade (firmeza x coesividade) (FENG; FU; YANG, 2017; SOW; YANG, 2015). As determinações foram realizadas em triplicata, onde os dados foram apresentados como média ± desvio padrão e um valor de probabilidade menor que 0,05 foi considerado significativo. A análise de dados foi realizada por análise de variância e teste de Tukey, utilizando-se o software Statistica Kernel Release 7.1 (StatSoft Inc. 2006, Tulsa, USA).

2.11.3 Morfologia da gelatina

As eletromicrografias foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV equipado com EDS (Leo-1430, Leo, USA), a uma aceleração eletrônica (EHT) de 10 kV, distância de trabalho (WD) variando entre 14 mm e utilizando-se detector de elétrons secundários (SE1). As escalas micrométricas foram projetadas nas mesmas condições ópticas. Na preparação, as amostras foram aderidas a suportes metálicos (stubs) por meio de fita de carbono dupla face e metalizadas com camada de ouro de aproximadamente 20nm de espessura por 150 segundos em corrente de 90 μ A.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Perfil de aminoácidos totais da pele e gelatina

O perfil de aminoácidos obtido para pele e gelatina de piramutaba (Tabela 2) é semelhante a outros peixes amazônicos, como a dourada (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a), e o filhote (kumakuma) (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017b) comprovando que o habitat é determinante na composição. Os aminoácidos predominantes foram a glicina (GLY), prolina (PRO) e hidroxiprolina (HPRO). Em relação aos iminoácidos, é desejável que a gelatina possua maior teor possível, pois influenciam diretamente as propriedades tecno-funcionais, como força do gel e ponto de fusão (OLIVEIRA et al., 2019).

Aspartato (ASP), Ácido glutâmico (GLU), Histidina (HYS), Arginina (ARG) e Lisina (LIS) representam cerca de 30% do total de aminoácidos na pele e gelatina de piramutaba (Tabela 2). Eles possuem grupo R' contendo aminas livres, disponíveis para ligação com ácidos graxos e outros grupos funcionais de carga oposta. Esta propriedade esclarece o mecanismo de combinação entre as proteínas e gorduras presentes na pele da piramutaba.

Resíduos /100 Resíduos		Pele ¹	Gelatina ¹
Aspartato	ASP	6,05	6,04
Ácido glutâmico	GLU	9,09	9,45
Serina	SER	3,97	4,05
Histidina	HYS	1,08	1,07
Taurina	TAU	0,05	0,29
Arginina	ARG	7,90	8,40
Treonina	THR	3,04	2,68
Alanina	ALA	9,43	9,65
Tirosina	TYR	1,12	1,03
Valina	VAL	2,60	2,35
Metionina	MET	1,70	1,63
Cisteína	CYS	1,32	1,17
Isoleucina	ILE	1,84	1,8
Leucina	LEU	3,26	3,04
Fenilalanina	PHE	2,06	2,12
Lisina	LIS	3,88	3,96
Glicina	GLY	21,92	23,76
Prolina	PRO	11,15	11,50
Hidroxiprolina	HPRO	7,05	5,99
Iminoácidos totais	PRO + HPRO	18,20	19,75
TOTAL		98,48	99,98

Tabela 2. Perfil de aminoácidos totais presentes na pele e gelatina de piramutaba

¹Erro máximo de 15% e 5% nos picos mais altos e intermediários, respectivamente

3.2 Perfil de micro e macro elementos na pele e na gelatina

Os macros elementos encontrados em maior quantidade na pele são o fósforo e o cálcio (Tabela 3). Após a extração de gelatina, ocorrem mudanças nos teores de diversos elementos.

Elemento		Pele	Gelatina
Macro (mg/kg)	Na	0,2736	32,6159
	Mg	0,5211	0,3591
	K	1,0934	0,0000
	Ca	7,3563	1,6982
	Р	7,5440	1,2164
Micro (mg/kg)	Cr	0,0273	0,0109
	Mn	0,0075	0,0000
	Fe	0,2878	0,1230
	Ni	0,0026	0,0007
	Zn	0,0648	0,0547
	Cu	0,0179	0,0155
	AI	0,1585	0,0778
	As	0,0484	0,0464
	Se	0,0771	0,0233
	Со	0,0001	0,0011
	Ва	0,0049	0,0106
Metais pesados (mg/kg)	Cd	0,0000	0,0000
	Pb	0,0123	0,0000

Tabela 3. Perfil de micro e macro elementos da pele e gelatina de piramutaba

Fonte: Dados do autor (2019)

O aumento substancial encontrado no teor de sódio da gelatina é proveniente do pré-tratamento salino. Os íons Na⁺ estão normalmente distribuídos ao longo da proteína, ligados aos grupos -COO⁻, enquanto os metais divalentes por ligações iônicas com o grupo -COO⁻.

Há uma redução nos teores de potássio, assim como perdas relevantes nos demais elementos, em função da lixiviação pela água durante os pré-tratamentos (Tabela 3). Pode-se destacar a predominância do ferro, proveniente da hemoglobina do sangue do peixe. Outro elemento importante encontrado foi o selênio, que apresenta propriedades antioxidantes semelhantes ao licopeno (ADADI; BARAKOVA; KRIVOSHAPKINA, 2018), atuação em enzimas (ZHANG et al., 2004), efeito antitumoral (YANG et al., 2012), podendo estar ligado, principalmente, a dois aminoácidos denominados *Selenomethionine* e *Selenocistein* (LI et al., 2019), formas orgânicas de absorção pelo ser humano (KHANAM; PLATEL, 2016). Uma quantidade de selênio semelhante foi relatada em *tempeh*, onde 100g representam aproximadamente 10% da ingestão recomendada de selênio para um adulto/dia (KURNIAWATI et al., 2019). A bioacumulação de selênio no músculo já foi encontrada em carpa de cativeiro (QIN et al., 2015), porém, em pele e gelatina de peixe ainda não havia sido relatada

De maneira geral, os teores de micro e macro elementos estão relacionados com as particularidades de cada espécie. A quantidade de elementos encontrados na gelatina de piramutaba são superiores aos relatados em gelatina de tilápia (SOW et al., 2018), e inferiores aos relatados na pele e gelatina de carpa (TKACZEWSKA et al., 2018).

Quanto aos metais pesados encontrados (Tabela 3), supõe-se que as lavagens com água foram suficientes para remover o teor de chumbo da pele, ainda que a concentração encontrada não seja considerada nociva para o consumo humano (TKACZEWSKA; MIGDAŁ, 2012).

Com base em dados da literatura, propomos um esquema geral da distribuição dos elementos mais relevantes ao longo da cadeia de gelatina (Fig. 1).



Fig. 1. Esquema qualitativo que ilustra a disposição de minerais ao longo da cadeia de gelatina liofilizada de piramutaba

3.3 FTIR e eletroforese da gelatina

A identificação de grupos funcionais é demonstrada nos resultados de FTIR e da distribuição do peso molecular da gelatina pela eletroforese (Fig. 2).



Fig. 2. Espectros FTIR (A) e eletroforese (B) de gelatina de piramutaba liofilizada

Os espectros de FTIR (Fig. 2A) da gelatina liofilizada de piramutaba revelaram os padrões das principais bandas tais como: amida-A (representando estiramento da ligação N-H e/ou O-H), amida-B (ligação C-H), amida-I (ligação C=O), amida II (significa a vibração de flexão dos grupos N-H e estiramento da ligação C-N) e amida III (representa a combinação dos picos entre o estiramento C-N e a deformação N-H) (KAEWPRACHU et al., 2018). Outros trabalhos também relataram picos próximos destas ligações quando estudaram gelatina de carpa (ALI; KISHIMURA; BENJAKUL, 2018; CAI et al., 2017; KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019).

Neste estudo, observou-se que a gelatina apresentou pouca degradação na banda amida A em 3279 cm⁻¹, com uma baixa amplitude. Segundo Staroszczyk, Sztuka, Wolska, Wojtasz-Pająk, & Kołodziejska, 2014), a presença de menor comprimento de onda, em conjunto com maior amplitude de amida A, é associada à degradação de moléculas de gelatina, fornecendo um número maior de grupos amino livres. Esse comportamento está de acordo com o alto conteúdo de peptídeos de alto peso molecular, observados na eletroforese (Fig. 2B). Da mesma forma, a amida B, detectada em 2932 cm⁻¹, refere-se à vibração de estiramento assimétrico de C-H e do –NH₃⁺ (Hamzeh et al., 2018).

A gelatina apresentou banda amida I no comprimento de onda de 1639 cm⁻¹ o que, segundo Yakimets et al. (2005), é característico de estruturas helicoidais aleatórias, onde o pico de absorção em 1633 cm⁻¹ corresponde à estrutura de bobina aleatória. Menor amplitude na amida I foi associada com a maior extensão de deformação ou desordem de uma molécula de gelatina (KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019). Os picos detectados em 1529 cm⁻¹ e 1242 cm⁻¹ correspondem à amida II e III, respectivamente e, segundo Staroszczyk, Sztuka, Wolska, Wojtasz-Pająk & Kołodziejska (2014), estes picos são decorrentes da vibração de oscilação dos grupos CH₂ do esqueleto de glicina e das cadeias laterais de prolina.

O perfil eletroforético da gelatina liofilizada de piramutaba (Fig. 2B) apresenta uma única banda, correspondente a subunidades predominantes de cadeias de alto peso molecular (PM) β e γ (225 a 300 kDa), indicando que houve preservação da estrutura durante o processo de extração. De acordo com Kanwate, Ballari, & Kudre (2019), o desaparecimento das cadeias β e γ está associado a bandas peptídicas de menor peso molecular (PM) (40-60 kDa), influenciando negativamente nas propriedades funcionais (ALI; KISHIMURA; BENJAKUL, 2018), como a força do gel.

3.4 Análise de Difração de Raio-X (DRX) da gelatina

A gelatina de piramutaba apresentou dois picos de difração de raio-X (DRX) bem definidos, em 7,83º e 21,17º, com amplitude em 739 e 1129, respectivamente (Fig. 3). Segundo Sha et al. (2014), picos nestas regiões correspondem a estrutura de tripla hélice. O aspecto geral do DRX obtido é semelhante ao de gelatina de peixe de água fria (ETXABIDE et al., 2015).

Neste estudo, a gelatina apresenta elevada amplitude dos picos, o que está em consonância com o FTIR e eletroforese (Fig. 2), que demonstram a presença de cadeias de alto peso molecular, $\beta \in \gamma$.



Fig. 3. Padrões de difração de raios X para gelatina liofilizada de piramutaba

3.5 Potencial zeta da gelatina

Para a faixa de pH entre 3,0 e 11,0, o potencial zeta variou entre 18,90mV e - 19,10mV (Fig. 4). Juntamente ao elevado peso molecular, esse comportamento é característico de gelatinas do tipo B (KARIM; BHAT, 2009) e é semelhante ao relatado em gelatina de carpa (JANCIKOVA et al., 2019) e tilápia (MENEZES et al., 2019).

A gelatina é um dos poucos hidrocolóides naturais a apresentar comportamento anfótero (HUANG et al., 2019), ou seja, que pode ser comportar como ácido ou base. Em pH <6,3, há uma tendência à protonação de grupos amino da gelatina (Fig. 4), em função do excesso de H⁺. Já em pH >6,3, acontece a desprotonação dos grupos amino e carboxílico, causando a diminuição do potencial zeta, pelo excesso de OH⁻ (MEKA et al., 2017). Em pH 6,3 há um equilíbrio entre as cargas, reduzindo drasticamente a solubilidade (ponto isoelétrico).

O entendimento do potencial zeta da gelatina de piramutaba é imprescindível para o melhoramento de suas características tecno-funcionais, uma vez que ele estabelece as condições para interação eletroestática com goma arábica (LI et al., 2018), sorbitol e sacarose (ALTAN KAMER et al., 2019), alginato de sódio (SOW et al., 2019), entre outros.



Fig. 4. Efeito do pH no potencial zeta de soluções de gelatina a 2% (v/v). Cargas nulas em pH 6,30 (ponto isoelétrico).

3.6 Composição centesimal e propriedades tecnológicas

Os resultados de composição centesimal e propriedades tecnológicas da gelatina encontram-se na Tabela 4.

Composição centesimal ¹	
Umidade (g/100g)	7,68 ±0,13
Proteínas totais (g/100g)	88,77 ±0,87
Lipídeos totais (g/100g)	0,87 ±0,12
Resíduo Mineral Fixo (g/100g)	2,35 ±0,03
Propriedades tecnológicas	
Rendimento (%)	25,04 ±0,78
Força do gel (g Bloom)	250,00 ±10,00
Ponto de Fusão (ºC)	25,00 ±0,50
рН	11,0 ±0,02
Capacidade de Formar Espuma (%)	
Solução 1%	102 ±0,32
Solução 2%	106 ±0,45
Solução 3%	117 ±0,12
Capacidade emulsificante (%)	35,01 ±1,04
¹ Base úmida	

Tabela 4. Composição centesimal e propriedades tecnológicas da pele e gelatina de piramutaba

Fonte: Dados dos autores (2019)

Neste estudo, a umidade e o teor de lipídeos estão próximos ao relatado em gelatinas liofilizadas de peixes amazônicos, como a dourada (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a) e o filhote (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017b). O teor proteínas da gelatina de piramutaba é semelhante ao relatado em carpa (HUANG et al., 2018) e maior que o encontrado em atum (75%) (AKSUN TÜMERKAN et al., 2019). O resíduo mineral fixo encontrado aqui está próximo ao relatado para tilápia (FENG; FU; YANG,

2017) e é um indicador da presença de sais minerais, principalmente associados ao colágeno (DAS; TSIANOU, 2017)

O rendimento de extração de gelatina de piramutaba foi superior ao observado na gelatina de dourada (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a) e tilápia-do-nilo (NIU et al., 2013). Um maior rendimento está associado às condições de pré-tratamento, como etapas de solubilização do colágeno e remoção de material não colagenoso, e de extração, como tempo e temperatura adequados a cada espécie (HUANG et al., 2019).

Os resultados obtidos para força do gel estão em acordo com o recomendado para fins alimentares, entre 250g e 260g, em função da palatabilidade (KARIM; BHAT, 2009). Juntamente com o ponto de fusão, estas propriedades são importantes para avaliar a qualidade de gelatinas, uma vez que estão relacionadas com a capacidade de sua interação com água e, consequentemente, ao teor dos iminoácidos, prolina e hidroxiprolina (Tabela 3). Os tipos de ligações identificadas no FTIR e eletroforese (Fig. 2) esclarecem as condições responsáveis pela força de gel e ponto de fusão na gelatina de piramutaba.

O pH alcalino encontrado na gelatina potencializou o aparecimento de -OH⁻ (SOW; YANG, 2015) e, por isso, é fator limitante para a Capacidade de Formação de Espuma (CFE), favorecida pelo equilíbrio entre ânions e cátions (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2007).

A Capacidade Emulsificante (CE) da gelatina, em geral é menor, quando comparada com outras substâncias redutoras de tensão interfacial, como proteínas e polissacarídeos (HUANG et al., 2018; KARIM; BHAT, 2009). Os resultados de CE estão relacionados aos resíduos hidrofóbicos (ASP, GLU, HYS, ARG e LIS) presentes na gelatina (Tabela 3), e ao elevado peso molecular das cadeias (Fig. 2B), que limitam a dispersão do óleo na gelatina.

3.7 Microestrutura da gelatina

3.7.1 Avaliação do comportamento reológico de gelatina

Todas as soluções de gelatina exibiram comportamento não-Newtoniano com variação de viscosidade em função da taxa de cisalhamento, apresentando índice de

comportamento do fluxo n \neq 1 (Tabela 5) (ECHEVERRÍA; EISENBERG; MAURI, 2014).

Os valores experimentais foram modelados por Binhgam, Herscherl-Bulkley e Ostwald de Waele, no entanto, apenas os modelos Herscherl-Bulkley e Ostwald de Waele foram considerados satisfatórios, baseados no ajuste experimental ($p \le 0,05$) do coeficiente de correlação - R² (Fig. 5). Apesar dos dois modelos apresentaram alta correlação (R²=0,99), o modelo de Otswald não considera a tensão limite de escoamento (τ_0), sendo uma desvantagem para a avaliação do processamento de gelatina. Segundo Binsi, Shamasundar, Dileep, Badii, & Howell (2009), o modelo de Herschel-Bulckley é o mais adequado para descrever o comportamento reológico da gelatina de peixe.



Fig. 5. Análise de modelos a 30°C (5A), 40°C (5B) e 50°C (5C) e efeito da temperatura nas propriedades reológicas (5D) para solução de gelatina a 6,67%

O comportamento reológico das soluções foi influenciado ($p \le 0.05$) pela temperatura (Tabela 5). Observa-se uma tendência dilatante (n > 1) (ECHEVERRÍA; EISENBERG; MAURI, 2014), no comportamento de todas as soluções, com maior viscosidade aparente (η_p) em função do aumento da temperatura quando submetidos a um aumento da taxa de deformação (γ), como pode ser observado no comportamento das curvas de fluxos (Fig. 5A, 5B e 5C). O comportamento dilatante

foi maior para a solução de 30 °C, apresentando maior valor ($p \le 0,05$) de limite de escoamento (τ_{\circ}) para o modelo Herscherl-Bulkley, maior valor ($p \le 0,05$) de índice de consistência (K) (maior resistência ao escoamento) e consequentemente diminuição ($p \le 0,05$) no índice de comportamento do fluxo (n) para o modelo de Ostwald de Waele, coerente com maior ($p \le 0,05$) valor de viscosidade para esta amostra. Portanto, a análise de variância (ANOVA) indicou que a temperatura afeta ($p \le 0,05$) a resposta de τ_{\circ} , K e n, e consequentemente o comportamento reológico das soluções estudadas.

	30°C	40°C	50°C
Bingham			
т₀ (Ра)	2,76±0,38 ^a	3,66±0,06 ^a	3,32±0,19 ^a
η _P (Pa.s)	0,064±0,00 ^a	0,062±0,00 ^a	0,057±0,00 ^b
R ²	0,97±0,00 ^{a,B}	0,97±0,00 ^{a,B}	0,97±0,00 ^{a,B}
Herschel-Bulkley			
т₀ (Ра)	3,07±0,01ª	1,86±0,17 ^b	1,66±0,30 ^b
К	0,001±0,00 ^a	0,001±0,00 ^b	0,001±0,00 ^b
n	1,61±0,01°	1,71±0,02 ^b	1,76±0,05 ^{a,b}
R ²	0,99±0,00 ^{b,A}	0,99±0,00 ^{a,A}	0,99±0,00 ^{a,A}
Ostwald de Waele			
К	0,008±0,00 ^a	0,003±0,00 ^b	0,002±0,00 ^b
n	1,33±0,04 ^b	1,49±0,00 ^a	1,55±0,00 ^a
R ²	0,99±0,00 ^{a,A}	0,99±0,00 ^{a,A}	0,99±0,00 ^{a,A}
Viscosidade aparente (Pas)	0,054±0,004 ^a	0,046±0,001 ^b	0,044±0,001 ^b

Tabela 5. Modelos reológicos de soluções de gelatina a 6,67% (p/v) em diferentes temperaturas

Letras maiúsculas em comum na mesma coluna não diferem entre si (p \leq 0,05). Letras minúsculas em comum na mesma linha não diferem entre si (p \leq 0,05).

As menores viscosidades foram observadas nas temperaturas de 40°C e 50°C, nas taxas de cisalhamento de 0s~100s (Fig. 5A). Com o aumento das taxas de cisalhamento, a viscosidade, nas temperaturas avaliadas, tende a se aproximar. Esse fenômeno ocorre porque o aumento da taxa de cisalhamento promove a quebra das ligações de gelatina com a água (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015).

Em baixa concentração de gelatina e alta taxa de cisalhamento (300s~600s), existe um maior espaçamento intermolecular e competição entre os íons de sódio por moléculas de água, reduzindo a atração com moléculas de gelatina. Por isso, as soluções aquosas de gelatina de piramutaba a 6,67% não apresentaram tixotropia.

Esses resultados diferem do observado na gelatina de bexiga natatória de peixe (CHANDRA; SHAMASUNDAR, 2015), onde soluções aquosas a 6,67% apresentaram

tixotropia, por não ter ocorrido pré-tratamento salino durante a extração, resultando em menor concentração de sódio na gelatina.

3.7.2 Perfil de textura (TPA) de gelatina

O Perfil de Textura (TPA) (Tabela 6), foi determinado com o objetivo de simular a ação da língua e dentes e, portanto, os resultados diferem do teste de força do gel (YANG et al., 2007).

 Tabela 6. Perfil de textura (TPA) em solução de gelatina à 6,67%, nas temperaturas 5°C e 15°C

 Parâmetro

Parametro	Temperatura				
	5°C	15ºC			
Firmeza (g)	549,12 ±0,09 ^a	302,34 ±0,04 ^b			
Adesividade (g)	262,06 ±0,05 ^a	268,69 ±0,02 ^a			
Coesividade (razão)	0,37 ±0,05 ^b	0,79 ±0,01ª			
Elasticidade (mm)	$15,2 \pm 0,1^{a}$	14,3 ±0,3ª			
Gomosidade (g)	203,17 ±0,04 ^b	238,85 ±0,02ª			

^{ab}Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05)

Em função da mudança de temperatura, apenas a firmeza, coesividade e gomosidade apresentaram diferença (p<0,05) no perfil de textura da gelatina (Tabela 5). A firmeza é considerada a força necessária para realizar a quebra do alimento pelos molares (BOURNE, 2002; TKACZEWSKA et al., 2018). Neste estudo, o aumento da temperatura em 10°C promoveu a redução da firmeza em aproximadamente 55%, estando de acordo com trabalhos anteriores com gelatina (FENG; FU; YANG, 2017; SOW et al., 2019). O aumento da temperatura fornece mais energia para o sistema, resultando em mudança conformacional da tripla hélice e redução do número de ligações entre a gelatina e a água, sejam elas pontes de hidrogênio, forças van der Waals ou ligações iônicas. A relação da temperatura com a firmeza é de grande importância para a indústria de alimentos, uma vez que serve de parâmetro para processos envolvendo gelatina em produtos de confeitaria e leite fermentado (AHMAD et al., 2017), geralmente armazenados em temperatura de refrigeração.

A coesividade é uma medida do grau de dificuldade em quebrar a estrutura interna do gel (YANG et al., 2007). Neste estudo, a maior coesividade observada em 15°C está relacionada ao aumento da desorganização do complexo gelatina-água, o que resulta em menor friabilidade (facilidade da estrutura se romper). Desta forma, a

força necessária para deformar uma estrutura com menor friabilidade é maior (BOURNE, 2002).

A gomosidade é definida como a energia necessária para desintegrar um alimento semissólido para deglutição (BOURNE, 2002). Neste estudo, a gelatina de piramutaba apresentou gomosidade quatro vezes menor que a da carpa a 10°C (HUANG et al., 2018) e dez vezes menor que a de peixe unicórnio a 4°C (KAEWRUANG et al., 2014). Entende-se que uma menor gomosidade facilita a mastigação e está associada à melhor palatabilidade, devido a liberação de flavor do alimento. Isso é particularmente importante para doces e produtos de confeitaria que contém gelatina como ingrediente (BOURNE, 2002; NISHINARI; DOI, 1993).

Diferenças em TPA de gelatinas estão relacionadas à composição de aminoácidos e minerais, distribuição de peso molecular, tipos de interações intramoleculares, processo de extração de gelatina e método de maturação (ALTAN KAMER et al., 2019; FENG; FU; YANG, 2017; KAEWRUANG et al., 2014; YANG et al., 2007).

3.7.3 Morfologia da gelatina

A microestrutura da gelatina (Fig. 6) revela morfologia típica de materiais gelatinosos, com características de densas redes de fibras finas em forma de folhas separadas por espaços vazios heterogêneos (XU et al., 2017). Também apresentam tubos foliados irregulares, com pequenas fissuras. Além disso, a microestrutura porosa é semelhante a gelatina de carpa (ALI; KISHIMURA; BENJAKUL, 2018) e tilapia (SINTHUSAMRAN; BENJAKUL; KISHIMURA, 2014).

A gelatina liofilizada apresenta estrutura menos compacta, desta forma possui maior área superficial, melhorando a solubilização e, consequentemente, as propriedades reológicas e tecnológicas (LIN et al., 2017). Pode-se observar na micrografia (Fig. 6B) a presença de elementos como o sódio, ligado a estrutura da gelatina, contribuindo com a solubilidade.



Fig. 6. Micrografias de gelatina da pele de piramutaba liofilizada nas ampliações: 0x (4A) e 321x (4B). Destaque para os elementos C, O, Na, Cu e S, obtidos por EDS (Spectrum 1).

4. CONCLUSÃO

O presente trabalho fornece importantes informações a respeito das interações que resultam na microestrutura. Os fatores responsáveis pela microestrutura de gelatina de piramutaba são determinantes para o processamento de alimentos, como em produtos lácteos (fermentados ou não), cárneos, sorvetes, entre outros que utilizem gelatina, principalmente como estabilizante. Além disso, por apresentar elevado rendimento e características adequadas, a piramutaba se apresenta como excelente fonte alternativa às gelatinas bovina e suína.

A descoberta de elementos de grande importância nutricional, como o selênio, define uma nova perspectiva a respeito de gelatinas de peixes amazônicos, ampliando o potencial para o desenvolvimento de novos produtos e aplicações. Apesar de colaborar com o rendimento da extração, o pré-tratamento salino limita diversas propriedades tecnológicas da gelatina. Desta forma, novas pesquisas devem buscar aprimorar a extração de gelatina sem prejudicar as propriedades tecnológicas.

REFERÊNCIAS

ADADI, P.; BARAKOVA, N. V.; KRIVOSHAPKINA, E. F. Selected Methods of Extracting Carotenoids, Characterization, and Health Concerns: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 24, p. 5925–5947, 20 jun. 2018.

AHMAD, T. et al. Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic extraction: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 85–96, 2017.

AKSUN TÜMERKAN, E. T. et al. Physiochemical and functional properties of gelatin obtained from tuna, frog and chicken skins. **Food Chemistry**, v. 287, n. October 2018, p. 273–279, 2019.

ALI, A. M. M.; KISHIMURA, H.; BENJAKUL, S. Physicochemical and molecular properties of gelatin from skin of golden carp (Probarbus Jullieni) as influenced by acid pretreatment and prior-ultrasonication. **Food Hydrocolloids**, v. 82, p. 164–172, 2018.

ALTAN KAMER, D. D. et al. Effect of confectionery solutes on the rheological properties of fish (Oncorhynchus mykiss) gelatin. **LWT**, v. 101, n. November 2018, p. 499–505, mar. 2019.

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. **HORWITZ, W, 17^a ed. Arlington: AOAC Inc.**, 2000.

BENJAKUL, S. et al. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (Priacanthus tayenus and Priacanthus macracanthus). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 1, p. 132–138, 15 jan. 2010.

BINSI, P. K. et al. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (Priacanthus hamrur) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 1, p. 132–145, jan. 2009.

BLIGH, E. G.; DYER, W. G. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can.J.Biochem.Physiol**, v. 37, p. 911–917, 1956.

BOR-SEN, C. et al. Rheological and mechanical properties of cross-linked fish gelatins. **Polymer**, v. 47, p. 6379–6386, 2006.

BORAN, G.; LAWLESS, H. T.; REGENSTEIN, J. M. Effects of Extraction Conditions on the Sensory and Instrumental Characteristics of Fish Gelatin Gels. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 9, 2010.

BOURNE, M. C. Food texture and viscosity: Concept and Measurement. 2. ed. New York: Elsevier Science & Technology Books, 2002.

CAI, L. et al. Confectionery gels: Effects of low calorie sweeteners on the rheological properties and microstructure of fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 67, p. 157–165, 2017.

CAMPELO, P. H. et al. Stability of lime essential oil emulsion prepared using biopolymers and ultrasound treatment. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 1, p. S564–S579, 2017.

CHANDRA, M. V.; SHAMASUNDAR, B. A. Rheological properties of gelatin prepared from the swim bladders of freshwater fish Catla catla. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 47–54, 2015.

CHEN, L. et al. Effects of pressure on gelatinization of collagen and properties of extracted gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 316–322, 2014.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and Sensory Characteristics of Fish Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 194–199, 2000.

DAMODARAN, I. S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Fennema's food chemistry. (pp. 923–973). London: CRC Press. Wang, 2007.

DAS, B. P.; TSIANOU, M. From polyelectrolyte complexes to polyelectrolyte multilayers: Electrostatic assembly, nanostructure, dynamics, and functional properties. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 244, p. 71–89, 2017.

ECHEVERRÍA, I.; EISENBERG, P.; MAURI, A. N. Nanocomposites films based on soy proteins and montmorillonite processed by casting. **Journal of Membrane Science**, v. 449, p. 15–26, 1 jan. 2014.

ETXABIDE, A. et al. Effects of cross-linking in nanostructure and physicochemical properties of fish gelatins for bio-applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 94, p. 55–62, 2015.

FENG, X.; FU, C.; YANG, H. Gelatin addition improves the nutrient retention, texture and mass transfer of fish balls without altering their nanostructure during boiling. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 142–151, 2017.

GASPAR, A. L. C.; DE GÓES-FAVONI, S. P. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: a review. **Food chemistry**, v. 171, p. 315–22, 2015.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, dez. 2011.

GONÇALVEZ, D. et al. Effect of thickeners on the texture of stirred yogurt. **Alimentos** e **Nutrição**, v. 16, n. 3, p. 207–211, 2005.

HAMZEH, A. et al. Effect of drying methods on gelatin from splendid squid (Loligo formosana) skins. **Food Bioscience**, v. 26, n. March, p. 96–103, 2018.

HUANG, J. et al. Steady, dynamic, and creep-recovery rheological properties of myofibrillar protein from grass carp muscle. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 48–56, 2016.

HUANG, T. et al. Comparison of rheological behaviors and nanostructure of bighead

carp scales gelatin modified by different modification methods. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 1256–1265, 2017a.

HUANG, T. et al. Pectin and enzyme complex modified fish scales gelatin: Rheological behavior, gel properties and nanostructure. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 294–302, 2017b.

HUANG, T. et al. Rheological behavior, emulsifying properties and structural characterization of phosphorylated fish gelatin. **Food Chemistry**, v. 246, n. October 2017, p. 428–436, abr. 2018.

HUANG, T. et al. Fish gelatin modifications: A comprehensive review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, n. November 2017, p. 260–269, 2019.

JANCIKOVA, S. et al. Furcellaran/gelatin hydrolysate/rosemary extract composite films as active and intelligent packaging materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 19–28, jun. 2019.

KAEWPRACHU, P. et al. Characterization of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1463–1473, 2018.

KAEWRUANG, P. et al. Impact of divalent salts and bovine gelatin on gel properties of phosphorylated gelatin from the skin of unicorn leatherjacket. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 477–482, 2014.

KANWATE, B. W.; BALLARI, R. V.; KUDRE, T. G. Influence of spray-drying, freezedrying and vacuum-drying on physicochemical and functional properties of gelatin from Labeo rohita swim bladder. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 135–141, 2019.

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

KHANAM, A.; PLATEL, K. Bioaccessibility of selenium, selenomethionine and selenocysteine from foods and influence of heat processing on the same. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1293–1299, 2016.

KURNIAWATI, S. et al. The selenium content of Tempeh in Indonesia and its potential contribution to the dietary selenium requirements for adults. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 82, n. January, p. 103222, 2019.

LI, J. et al. A combination of selenium and polysaccharides: Promising therapeutic potential. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, n. June 2018, p. 163–173, 2019.

LI, Y. et al. Investigation on complex coacervation between fish skin gelatin from coldwater fish and gum arabic: Phase behavior, thermodynamic, and structural properties. **Food Research International**, v. 107, n. 1, p. 596–604, 2018.

LIN, L. et al. An overview of gelatin derived from aquatic animals: Properties and modification. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 102–112, out. 2017.

LIU, D. et al. Collagen and Gelatin. Annual Review of Food Science and Technology, v. 6, n. 1, p. 527–557, 2015.

MAD-ALI, S. et al. Interfacial properties of gelatin from goat skin as influenced by drying methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 102–107, 2016.

MATHIAS, T. R. DOS S. et al. Avaliação do comportamento reológico de diferentes iogurtes comerciais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 12–20, 2013.

MEKA, V. S. et al. A comprehensive review on polyelectrolyte complexes. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 11, p. 1697–1706, 2017.

MENEZES, M. DO L. L. R. et al. Effect of tannic acid as crosslinking agent on fish skin gelatin-silver nanocomposite film. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, n. November 2018, p. 7–15, mar. 2019.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Extracting Conditions for Megrim (Lepidorhombus boscii) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 434–438, abr. 2000.

NISHINARI, K.; DOI, E. (EDS.). Food Hydrocolloids. Boston, MA: Springer US, 1993.

NIU, L. et al. Characterization of tilapia (Oreochromis niloticus) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 336–341, dez. 2013.

OLIVEIRA, L. C. DE et al. Improvement of the characteristics of fish gelatin – gum arabic through the formation of the polyelectrolyte complex. **Carbohydrate Polymers**, v. 223, n. July, p. 115068, nov. 2019.

OLIVEIRA, L. C. Otimização da extração de gelatina a partir de pele de tambaqui (colossoma macropomum). n. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará, 2014.

QIN, D. et al. Determination of 28 trace elements in three farmed cyprinid fi sh species from Northeast China. **Food Control**, v. 50, p. 1–8, 2015.

RAFE, A.; RAZAVI, S. M. A. Scaling law, fractal analysis and rheological characteristics of physical gels cross-linked with sodium trimetaphosphate. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 58–65, 2017.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. Gelatine handbook: Theory and Industrial Practice. 1st editio ed. Weinhem: Wiley-VCH GmbH & Co, 2007.

SHA, X. M. et al. Effect of ammonium sulfate fractional precipitation on gel strength and characteristics of gelatin from bighead carp (Hypophthalmichthys nobilis) scale. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 173–180, 2014.

SILVA, E. V. C. DA; LOURENÇO, L. DE F. H.; PENA, R. DA S. Obtaining Gelatin from the Skin of Gilthead Bream (Brachyplathystoma rousseauxii) using Two Pre-treatment. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 13, n. 5, p. 182–189, 2017a.

SILVA, E. V. C. DA; LOURENÇO, L. DE F. H.; PENA, R. DA S. Optimization and characterization of gelatin from kumakuma (Brachyplatystoma filamentosum) skin. **CyTA - Journal of Food**, v. 15, n. 3, p. 361–368, 3 jul. 2017b.

SILVA, R. S. G.; BANDEIRA, S. F.; PINTO, L. A. A. Characteristics and chemical composition of skins gelatin from cobia (Rachycentron canadum). **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 580–585, jul. 2014.

SINTHUSAMRAN, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (Lates calcarifer) as influenced by extraction conditions. **Food Chemistry**, v. 152, p. 276–284, jun. 2014.

SOW, L. C. et al. Effects of κ -carrageenan on the structure and rheological properties of fish gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 239, p. 92–103, 2018.

SOW, L. C. et al. Combination of sodium alginate with tilapia fish gelatin for improved texture properties and nanostructure modification. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. March, p. 459–467, 2019.

SOW, L. C.; YANG, H. Effects of salt and sugar addition on the physicochemical properties and nanostructure of fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 72–82, 2015.

STAROSZCZYK, H. et al. Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films: FT-IR study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 707–712, jan. 2014.

STEEF, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2^a ed. Michigan: Freeman Press, 1996.

TABARESTANI, H. S. et al. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (Onchorhynchus mykiss). **Bioresource technology**, v. 101, n. 15, p. 6207–14, ago. 2010.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995.

TKACZEWSKA, J. et al. Characterization of carp (Cyprinus carpio) skin gelatin extracted using different pretreatments method. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 169–179, ago. 2018.

TKACZEWSKA, J.; MIGDAŁ, W. COMPARISON OF SLAUGHTER YIELD, CONTENTS OF BASIC NUTRIENTS, AND HEAVY METALS LEVELS IN MUSCLES OF CARP (CYPRINUS CARPIOL.) FARMED IN VARIOUS REGIONS IN POLAND. **Zywnosc.Nauka.Technologia.Jakosc/Food.Science.Technology.Quality**, v. 6, n. 85, p. 180–189, 17 dez. 2012.

WHITE, J. A; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of automatic chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170–7, jan. 1986.

XU, M. et al. Physicochemical and functional properties of gelatin extracted from Yak

skin. International Journal of Biological Macromolecules, v. 95, p. 1246–1253, 2017.

YAKIMETS, I. et al. Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. **Polymer**, v. 46, n. 26, p. 12577–12585, 2005.

YANG, F. et al. Surface decoration by Spirulina polysaccharide enhances the cellular uptake and anticancer efficacy of selenium nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 835–844, fev. 2012.

YANG, H. et al. 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (Ictalurus punctatus) skin gelatin. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 4, p. 188–195, 2007.

ZHANG, J. et al. Nano red elemental selenium has no size effect in the induction of seleno-enzymes in both cultured cells and mice. Life Sciences, v. 75, n. 2, p. 237–244, maio 2004.

CAPÍTULO II

Melhoramento das características da gelatina de peixe - goma arábica através da formação do complexo polieletrólito²

RESUMO

O objetivo deste estudo foi estudar e caracterizar a interação entre gelatina e goma arábica e seus efeitos na obtenção das condições ótimas de atomização. As condições ótimas (D=0,866) obtidas foram concentração de goma arábica de 33,4% e temperatura do ar de entrada de 130 °C. Estas condições proporcionaram 6,62 g/h de rendimento, 0,27 de aw e 247g de força do gel, características adequadas para gelatinas com fins alimentares. O complexo formado (GP-GA) foi obtido com êxito, como demonstram os resultados de perfil de aminoácidos, eletroforese, FTIR, potencial zeta e morfologia. Também foi verificado que a formação do GP-GA promove alterações positivas, como maior rendimento de atomização, adequada força do gel, baixa higroscopicidade e alta solubilidade. As propriedades tecnológicas do GP-GA estão de acordo com o preconizado para produtos atomizados e gelatinas para uso na indústria de alimentos e demais áreas.

Palavras-chave: colágeno, secagem, interação eletroestática, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia FTIR, eletroforese, perfil de aminoácidos.

² Artigo aceito no periódico Carbohydrate Polymers (em anexo).

1. INTRODUÇÃO

A gelatina, como biopolímero, apresenta características importantes tais como, sua natureza anfótera, estrutura helicoidal de cadeia tripla específica (não observado em polímeros sintéticos) e sua interação com a água, que é diferente da encontrada em polímeros sintéticos hidrofílicos (AHMAD; BENJAKUL, 2011; KASANKALA et al., 2007; KOZLOV; BURDYGINA, 1983).

Contém quantidades relativamente elevadas de aminoácidos, tais como glicina, prolina, hidroxiprolina e alanina (WANG; AGYARE; DAMODARAN, 2009). O tropocolágeno é a unidade básica do colágeno e é composto por três cadeias de polipeptídios com idêntica ou diferente sequência de aminoácidos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2007). O perfil de aminoácidos está diretamente correlacionado com as propriedades viscoelásticas da gelatina. Autores como Al-Hassan & Norziah (2012), Cheow, Norizah, Kyaw, & Howell (2007) e Liu et al. (2012) relataram que é necessário determinar o perfil de aminoácidos para uma completa compreensão das propriedades funcionais e caracterização nutricional.

A gelatina é uma proteína solúvel obtida da hidrólise parcial do colágeno, presente em ossos, cartilagens e peles de animais de abate (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011). No entanto, a possibilidade de transmissão de doenças de bovinos (KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019) e a não aceitação de produtos de origem suína por motivos religiosos (Bueno et al., 2011) tem impulsionado a obtenção de gelatina a partir de outras fontes, como o pescado.

Na indústria de alimentos, a gelatina proporciona espalhabilidade em margarinas, estabilidade em produtos lácteos, gelificação em produtos assados e retenção de água em produtos cárneos, entre outros (HUANG et al., 2019). Essas funcionalidades estão relacionadas à estrutura do tropocolágeno, obtido conforme o tipo de matéria-prima, métodos de extração e de secagem (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2011). A secagem realiza transferência de calor e massa, provocando a ruptura de ligações intra e intermoleculares na estrutura do tropocolágeno (HAMZEH et al., 2018). Deve, portanto, ser estudada para aumentar o rendimento e obter propriedades adequadas, como força do gel, capacidade de formar espuma e capacidade emulsificante.

Estudos indicam que a atomização pode gerar gelatinas adequadas à indústria de alimentos, sejam elas da pele de cabras (MAD-ALI et al., 2016), de pescado

(HAMZEH et al., 2018; KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019), assim como na diminuição do odor característico de gelatinas de peixe (SAE-LEAW; BENJAKUL; O'BRIEN, 2016). A goma arábica tem sido largamente utilizada como material de parede, na atomização, em função do baixo custo, alta disponibilidade, alta solubilidade em água e baixa viscosidade. Este polissacarídeo pode formar complexos polieletrólitos que modificam as propriedades da gelatina e melhoram o rendimento do processo (ESFAHANI et al., 2019; MAHDAVEE KHAZAEI et al., 2014).

Os polieletrólitos são definidos como qualquer macromolécula com unidades repetitivas que se dissociam em uma solução ionizante, contendo uma macromolécula altamente carregada, formando um complexo polimérico. Os complexos formados possuem propriedades diferentes das macromoléculas individuais e assumem comportamentos específicos dependendo das condições em que são expostos (KUMAR et al., 2015). Os polieletrólitos são classificados com base em sua natureza, podendo ser policatiônico, ionizam-se em solução formando cargas positivas (gelatina), ou poliânions, ionizam-se em solução formando sítios negativos (goma arábica) (DAS; TSIANOU, 2017). Devido estas características do sistema para formação de complexos polieletrólitos em solução iônicas, estes vêm se destacando em diversas aplicações químicas, farmacêuticas e biotecnológicas, pois diferentes graus de estabilidade, tamanho, viscosidade e morfologia do complexos polieletrólitos podem ser alcançados (BONFERONI et al., 2014; MEKA et al., 2017).

Existem pesquisas relacionadas a extração de gelatina de pele de peixes de diferentes espécies em vários países (CHEOW et al., 2007; CHO et al., 2004; MONTERO; GOMEZ-GUILLEN, 2000; NIU et al., 2013) e no Brasil (ALFARO et al., 2013), onde foi extraída gelatina de tambaqui (OLIVEIRA, 2014), de filhote (Silva, Pena & Lourenço, 2016) e de dourada (Silva, Lourenço & Pena, 2017). A piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*), tem potencial para extração de gelatina, devido à grande produção e pela subutilização das peles. Com isso são geradas gigantescas quantidade de resíduos pelas indústrias de peixe do estado do Pará, Brasil. No entanto, ainda existem poucos estudos sobre as características dessa pele, da gelatina extraída, da formação do complexo polieletrólito com goma arábica e seus efeitos na secagem por atomização.

O interesse pela formação de complexos e atomização tem como foco reduzir os custos, ampliar e otimizar a produção de gelatina de peixe para escala industrial, além de que o aproveitamento das peles reduz o impacto ambiental da atividade. Nesta perspectiva, o objetivo deste trabalho foi estudar e caracterizar a interação entre gelatina e goma arábica e seus efeitos na obtenção das condições ótimas de atomização. As condições ótimas foram definidas através de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), Análise de Variância (ANOVA) e Metodologia de Superfície de Resposta (MSR). A interação foi avaliada através de caracterização química, propriedades tecnológicas, morfologia, perfil de aminoácidos totais, FTIR, potencial zeta e eletroforese.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes químicos

Dodecilsulfato de sódio (SDS) 95% e β-mercaptoetanol (≥99%) (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) foram adquiridos da Loba Chemie, Mumbai, Índia. Marcador padrão proteico e Coomassie Blue R-250 foram adquiridos da Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA. Goma arábica (P.A. 99%) foi adquirida da Êxodo Científica, Brasil. Os outros reagentes químicos utilizados neste estudo foram de grau analítico.

2.2 Coleta e preparo da pele de piramutaba

As peles de piramutaba foram coletadas em indústria de pesca localizada no município de Belém, estado do Pará, Brasil, latitude 1°27'06.0"S, longitude 48°30'11.3"W. As peles foram acondicionadas em embalagens de polietileno, transportadas em caixas isotérmicas com gelo por 60 min até o laboratório. As peles foram imediatamente lavadas com água destilada e cortadas em 4cm x 4cm. Em seguida, foram novamente embaladas, seladas a vácuo e congeladas a -26°C, até o processo de extração.

2.3 Pré-tratamentos, extração da gelatina e mistura com goma arábica

A metodologia foi proposta por Montero e Gomez-Guillen (2000) e adaptada por Oliveira (2014), com modificações. Antes da extração de gelatina, 60g de pele foi adicionada em erlenmeyer de vidro de 250 mL, agitada em NaCl 0,6 M (10 min, 85 rpm, 25°C), em NaOH 0,3 M (15 min, 85 rpm, 25°C) e em CH₃COOH 0,02 M (60 min, 85rpm, 25°C), na proporção 1/3 (peso/volume), para aumentar a solubilidade do colágeno. A agitação foi realizada em incubadora Shaker (modelo Luca-223, Lucadema, Brasil). As peles foram lavadas em água destilada imediatamente após cada uma destas etapas.

Para a extração da gelatina, foi adicionada água destilada na proporção 1/5 (peso/volume) nas peles e mantidas a 60°C por 12h em banho termo estatizado (modelo TE-057, Tecnal, Brasil). A solução aquosa de gelatina (96% de proteína em base seca) foi filtrada em tecido failet (70 mesh) para remover resíduos não

colagenosos. Posteriormente, goma arábica foi adicionada à solução de gelatina em diferentes proporções, segundo o planejamento experimental. Finalmente, a solução foi homogeneizada em incubadora Shaker (150 rpm,15 min, 25°C) e atomizado.

2.4 Definição das condições ótimas de atomização

Testes preliminares e revisão da literatura definiram os parâmetros e os níveis do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) (Tabela 1). O percentual de adição de goma arábica (X₁, %) e temperatura do ar de entrada (X₂, °C) foram definidos como variáveis independentes, enquanto as respostas avaliadas foram: rendimento da atomização (Y₁), atividade de água (Y₂) e força do gel (Y₃).

As características desejadas para a gelatina, neste estudo, foram: máximo rendimento, mínima atividade de água e força do gel entre 250g e 260g. Foi utilizado DCCR de 2^2 , com quatro pontos fatoriais (níveis ±1), três replicatas no ponto central (nível 0), quatro pontos axiais (duas variáveis no nível ±1,41 e duas variáveis no nível 0), totalizando 11 ensaios (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978). Os ensaios foram aleatorizados para minimizar o efeito de fatores externos.

A Eq. 1 foi utilizada para avaliar os efeitos lineares, quadráticos e de interação das variáveis independentes sobre a resposta selecionada. Onde Y é a variável dependente, β_0 é a constante, β_i , $\beta_{ii} \in \beta_{iii}$ são coeficientes de regressão e $X_i \in X_j$ são os níveis das variáveis independentes.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta i X i + \sum_{i=1}^k \beta i i X i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=i+1}^k \beta i i X i X j + \varepsilon$$
(Eq. 1)

Os modelos foram avaliados pelo teste F, para a regressão e falta de ajuste, além de análise de variância (ANOVA), do coeficiente de correlação (R²) e o ajustado (Adj-R²). Após a avaliação dos modelos, somente variáveis significativas (p<0,05) foram mantidas. A partir dos modelos ajustados foram geradas as Superfície de Resposta (MSR) para a análise de comportamento. O nível ótimo de cada resposta foi definido em conjunto com a função Desejabilidade, por ser uma ferramenta útil para projetar modelos experimentais e permitir avaliar múltiplas variáveis ao mesmo tempo (BUKZEM et al., 2016). Essas análises foram realizadas utilizando o software Statistica Kernel Release 7.1 (StatSoft Inc. 2006, Tulsa, OK, USA).

O rendimento da atomização (Y₁) foi calculado através da Eq. 1. A atividade de água (*aw*) foi determinada utilizando-se um higrômetro eletrônico (Aqualab, 3TE -

Decagon Devices Inc., USA). Para determinar a força do gel (Y₃), foi utilizado o método Bloom (CHOI; REGENSTEIN, 2000).

Rendimento $(g/h) = \frac{\text{Peso do pó atomizado (g)}}{\text{Tempo de atomização (h)}}$ (Eq. 1)

2.5 Atomização da solução aquosa de gelatina e goma arábica

O atomizador (modelo AS0340, Niro Atomizer, Dinamarca) utilizado possui disco rotativo de 0,03m de diâmetro, alimentado com ar comprimido na pressão de 0,39 MPa. A câmara de secagem tem capacidade de evaporação máxima de 85 kg de água/h, acoplada a um separador de ciclone e exaustor. A solução aquosa de gelatina e goma arábica foi injetada em fluxo paralelo ao líquido no interior da câmara de secagem através de bomba peristáltica a 0,6 L/h de atomização. O pó atomizado foi coletado na base do ciclone em embalagens de polietileno, selado à vácuo e armazenado a 25°C até o momento das análises.

2.6 Perfil de aminoácidos totais da pele e do atomizado

O perfil de aminoácidos totais foi determinado utilizando cromatógrafo líquido de alta performance Waters-PICO Tag™, Waters Model 712 WISP (Waters, Watford, Herts, UK) (WHITE; HART; FRY, 1986).

2.7 Espectroscopia de Infravermelhos com Transformações de Fourier (FTIR) da gelatina, goma arábica e atomizado

A espectroscopia de Infravermelho com Transformações de Fourier (FTIR) foi realizada conforme método descrito por Benjakul *et al.* (2010). Os espectros de FTIR foram obtidos à temperatura de 22°C utilizando uma célula cristalina de Reflectância Total Atenuada (ATR Trough Plate crystal cell, 45° ZnSe, 80 mm long, 10 mm wide, 4 mm thick; PIKE Technology Inc., Madison, WI, USA). Foi utilizado um espectrômetro Equinox 55 FTIR (Bruker Co., Ettlingen, GER). Para análise espectral, amostras foram colocadas na célula de cristal, fixada na montagem do espectrômetro. Os espectros na faixa de número de onda 4000-500 cm⁻¹ foram coletados em 40 varreduras com
resolução de 4 cm⁻¹ e comparados com o espectro de fundo gravado da célula vazia limpa a 25°.

2.8 Distribuição do peso molecular da gelatina e atomizado

A distribuição do peso molecular foi determinada por eletroforese em gel de poliacrilamida de dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme descrito por Chen et al. (2014).

2.9 Potencial zeta da gelatina, goma arábica e atomizado

A densidade de carga superficial (Potencial Zeta) foi medida em Zetasizer (Malvern Instruments, Reino Unido), conforme método descrito por Campelo et al., (2017). As amostras foram dissolvidas em água Milli-Q (Millipore, Bedford, USA) até 2,0% (v/v) de acordo com a faixa de detecção ótima do equipamento. As medições foram realizadas em duplicata (10 avaliações por corrida) a 25°C.

2.10 Análise morfológica

A morfologia foi obtida por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). As amostras foram aderidas a suportes metálicos (stubs) por meio de fita de carbono dupla face e metalizadas com camada de ouro de aproximadamente 20nm de espessura por 150 segundos em corrente de 90 µA. As eletromicrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura (Leo-1430, Leo, USA), a uma aceleração eletrônica (EHT) de 10 kV, distância de trabalho (WD) variando entre 14 mm e utilizando-se detector de elétrons secundários (SE1). As escalas micrométricas foram projetadas nas mesmas condições ópticas.

2.11 Caracterização química da gelatina, goma arábica do complexo polieletrólito atomizado

A caracterização físico química foi determinada por meio das análises de umidade (método 952.08), proteína bruta (fator de cálculo de 5,55) e cinzas (método

938.08), todas de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2000). O valor de lipídeos totais foi feito utilizando mistura de solventes (BLIGH; DYER, 1956). A teor de glicídios totais foi realizado conforme método de Lane-Eynon (LUTZ, 2008) e o pH segundo Schrieber & Gareis, (2007).

2.12 Propriedades tecnológicas da gelatina, goma arábica do complexo polieletrólito atomizado

A capacidade de formar espuma (CFE) foi determinada em soluções de gelatina em diferentes concentrações (0,1; 0,2 e 0,3 g/L), homogeneizadas a 1.750 rpm por 60s a 24°C. A CFE foi calculada pela razão entre os volumes antes e após a homogeneização, expressa em porcentagem (TABARESTANI et al., 2010). A capacidade emulsificante (CE) foi obtida através da mistura de 20 mL de solução de gelatina a 3,3% com 20 mL de óleo de soja. Em seguida, foi homogeneizada a 1.750 rpm (30 s, 26°C) e centrifugada a 3.958 rpm (300 s, 26°C). A CE foi calculada pela razão entre o volume da porção emulsificada e o volume inicial, sendo expressa em porcentagem (TABARESTANI et al., 2010).

A viscosidade aparente foi determinada em solução a 6,67% (peso/volume) colocada em banho termo estatizado (Tecnal, TE-057, Brasil) a 45°C e transferida para o viscosímetro de Ostwald-Fensk (nº 100) (BSI, 1975). O viscosímetro foi colocado em banho a 60°C durante 10 minutos para a estabilização da temperatura, sendo expressa em Pascal por segundo (Pa·s⁻¹). Para determinar a densidade aparente, a amostra foi transferida para uma proveta graduada até o volume de 10 mL e pesada (TONON et al., 2009). A higroscopicidade foi determinada pelo método descrito por Cai e Corke (2000), onde 1g de amostra foi pesado em becker de vidro e colocado em dessecador contendo solução saturada de NaCI (UR de 74,95%) à 25°C. Após 7 dias, as amostras foram pesadas novamente para cálculo da higroscopicidade, expressa em g de água por g de sólidos secos (base seca).

O Índice de Absorção de Água (IAA) e o Índice de Solubilidade em Água (ISA) foram determinados segundo Anderson, Conway e Peplinski (1970) e adaptado por Pires e Pena (2017). Foi adicionada 1g de amostra a um becker de vidro contendo 12mL de água destilada, em seguida, homogeneizada (modelo BK-HG160, Biobase, China) a 1.700 rpm (1.800 s a 26°C) e centrifugada a 2.348 rpm (600 s, 26°C). O sobrenadante foi transferido para a placa de Petri de vidro e seco até peso constante

(60°C, 0,08 MPa). IAA foi expressa como a massa do resíduo centrifugado (g) pela massa de sólidos do resíduo centrifugado (g), enquanto a ISA foi expressa como a massa do resíduo de evaporação por 100g de amostra (base seca).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise e ajustes dos modelos

Os valores obtidos no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para rendimento, a_w e força do gel encontram-se na Tabela 1. Os efeitos lineares, quadráticos e de interação para cada resposta, juntamente com o R² e Adj-R² estão na Tabela 2.

	codificadas)		Resposias			
	GA (X1,%)	TE (X ₂ , ^o C)	Y ₁	Y ₂	Y ₃	
1	15,00 (-1)	110,00 (-1)	3,51 ±0,02	0,33 ±0,01	230,00 ±2,00	
2	15,00 (-1)	150,00 (+1)	8,21 ±0,09	0,25 ±0,01	218,00 ±3,00	
3	35,00 (+1)	110,00 (-1)	7,76 ±0,12	0,23 ±0,01	215,00 ±5,00	
4	35,00 (+1)	150,00 (+1)	7,38 ±0,25	0,28 ±0,01	265,00 ±6,00	
5	11,00 (-1,41)	130,00 (0)	5,11 ±0,17	0,30 ±0,01	235,00 ±2,00	
6	39,00 (+1,41)	130,00 (0)	7,84 ±0,12	0,29 ±0,01	250,00 ±3,00	
7	25,00 (0)	102 (-1,41)	5,97 ±0,01	0,24 ±0,01	205,00 ±5,00	
8	25,00 (0)	158 (+1,41)	8,12 ±0,36	0,22 ±0,01	232,00 ±6,00	
9	25,00 (0)	130,00 (0)	5,52 ±0,39	0,28 ±0,01	238,00 ±2,00	
10	25,00 (0)	130,00 (0)	5,44 ±0,47	0,26 ±0,01	240,00 ±4,00	
11	25,00 (0)	130,00 (0)	5,58 ±0,14	0,28 ±0,01	243,00 ±3,00	

Tabela 1. Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) e os resultados das respostasEnsaiosVariáveis independentes (originais eRespostas

GA Concentração de goma arábica, TE Temperatura do ar de entrada, Y₁ Rendimento da atomização (g/h), Y₂ aw, Y₃ Força do gel (g)

 Tabela 2. Efeitos lineares, quadráticos e de interação dos polinômios de segunda ordem (Eq. 1)

 associada à significância para cada resposta estudada (erro puro)

	Rendimento (Y ₁ , g/h)		a _w (Y ₂)		Força do gel (Y ₃ , g)	
Fatores	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor	Efeito	p-valor
Constante	5,51427	0,000054	0,273197	0,000595	240,3107	0,000037
X ₁	1,82879	0,000744	-0,021212	0,122712	13,3838	0,017392
X 11	0,94441	0,004001	0,027460	0,108198	3,1013	0,285433
X ₂	1,85101	0,000726	-0,014646	0,216216	19,1414	0,008617
X ₂₂	1,52604	0,001538	-0,038866	0,058644	-21,3885	0,009926
X ₁₂	-2,54000	0,000764	0,065000	0,030139	31,0000	0,006526

X1 Efeito Linear de GA, X2 Efeito Linear de TE, X11 Efeito Quadrático de GA, X22 Efeito Quadrático de TE, X12 Efeito de interação GA(TE). Valores em negrito indicam permanência no modelo ajustado final

De acordo com a avaliação dos efeitos (Tabela 2) para Rendimento, todos os efeitos demonstraram ser significativos. Para o modelo de a_w , o efeito X_{22} foi mantido em função de estar próximo ao limite de avaliação (p<0,05). Para a Força do gel, somente o efeito X_{11} foi removido. Na Tabela 3 encontram-se a Análise de Variância

(ANOVA), teste F para a regressão e falta de ajuste, coeficiente de correlação (R²) e os modelos ajustados para as respostas.

Fontes de variação	SQ	GL	MQ	F _{Cal}	FTab	R ²		
Rendimento (Y ₁ , g/h)								
Regressão	24,2830	5	4,8566	984,4479	19,30	0,99		
Resíduo	0,2410	5	0,0482					
Falta de ajuste	0,23113	3	0,077043	15,617	19,16			
Erro Puro	0,00987	2	0,004933					
Total	24,52404	10						
Modelo ajustado: Y ₁ = 11,76398 +0,68084X ₁ +0,00472X ₁₁ -0,29094X ₂ +0,00191X ₂₂ -0,00635X ₁₂								
a _w (Y ₂)								
Regressão	0,0075	2	0,0037	28,06	19,00	0,70		
Resíduo	0,0032	8	0,00040					
Falta de ajuste	0,4288	6	0,00049	3,68	19,33			
Erro Puro	0,000267	2	0,00013					
Total	0,0107	10						
Modelo ajustado: Y ₂ = 0,30632 -0,0000086X ₂₂ -0,000006806 X ₁₂								
Força do gel (Y ₃ , g)								
Regressão	2782,7645	4	695,6911	109,85	19,25	0,98		
Resíduo	45,4173	6	7,56955					
Falta de ajuste	32,7506	4	8,18765	1,29	19,25			
Erro Puro	12,6667	2	6,33333					
Total	2828,1818	10						
Modelo ajustado: $Y_3 = -55,8000 -9,4058X_1 +5,7792X_2 -0,0278X_{22} +0,0775X_{12}$								

 Tabela 3. Análise de variância (ANOVA) para Rendimento, aw e Força do gel em função das variáveis independentes, teste F e R²

SQ: Soma dos quadrados; GL: Graus de liberdade; MQ: Média quadrática; X1 Efeito Linear de GA, X2 Efeito Linear de TE, X11 Efeito Quadrático de GA, X22 Efeito Quadrático de TE, X12 Efeito de interação GA(TE).

Todos os modelos ajustados foram significativos (Fcal>Ftab), enquanto que a falta de ajuste não foi significativa. Além disso, o rendimento e a Força do gel apresentaram $R^2 > 0,90$, indicando alta correlação entre os dados experimentais e os preditos para a equação polinomial de segundo grau. O modelo ajustado da a_w pode ser classificado como não preditivo ($R^2 < 0,90$), em função da baixa variabilidade da resposta, no entanto, ele pode ser utilizado para observar a tendência do comportamento.

3.2 Superfícies de resposta e definição das condições ótimas

Após a análise e ajustes dos modelos, o comportamento dos modelos ajustados para rendimento, a_w e força do gel foram avaliados através dos gráficos de superfícies de resposta (Fig. 1).



Fig. 1. Superfície de resposta para o rendimento (1A), a_w (1B), e Força do gel (1C), em função da concentração de goma arábica (GA) e temperatura do ar de entrada (TE).

O rendimento da atomização foi influenciado positivamente pelo aumento do valor das variáveis (Fig. 1A), individualmente e pela interação. Os rendimentos obtidos (Tabela 1) representam um aumento considerável quando comparado com a liofilização, técnica tradicional na secagem de gelatina de pele de peixes. Silva, Lourenço e Pena (2016) encontraram que são necessárias 48 horas para produzir 11,40g de gelatina, a partir de 60g de pele de filhote (kumakuma) por liofilização.

Dentro da faixa estudada (3g a 8g), os maiores resultados estão em função da interação positiva entre a temperatura do ar de entrada (TE) e concentração de goma arábica (GA). Apesar da superfície de resposta indicar um aumento de rendimento em TE>158°C (Fig. 1A), foram observadas, durante os ensaios, alterações nas características estruturais e físico-químicas do pó. Ocorreu aderência do material ao corpo do atomizador e queima do material (aparecimento de pontos pretos). Isso, na prática, reduz o rendimento, pois a aplicação de altas temperaturas resulta em alterações significativas nas propriedades físicas e químicas na atomização de gelatina (KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019). Em relação à GA, a formação de um complexo polieletrólito fortemente ligado, dependente de pH (ANVARI; JOYNER (MELITO), 2018) proporcionou aumento do rendimento. Esse complexo é formado, principalmente, pela neutralização da carga positiva (-NH₃⁺) da gelatina e a negativa (-COO⁻) da goma arábica (BRAGA, 2013).

Os valores obtidos para a_w foram de 0,22 a 0,33 (Tabela 2) indicando estabilidade microbiológica em todos os ensaios experimentais (*a*_w<0,6) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2007). A baixa variabilidade de a_w, resultando em curva de tendência, também ocorreu na microencapsulação de antocianinas de açafrão com goma arábica (MAHDAVEE KHAZAEI et al., 2014). A diminuição da a_w em função do aumento de GA e TE ocorreu também na atomização da cultura liofilizada de *Lactobacillus acidophilus* (AREPALLY; GOSWAMI, 2019). Os parâmetros temperatura do ar de entrada, velocidade de bombeamento e pressão do ar, nos níveis utilizados, apresentaram maior influência na obtenção da faixa de a_w encontrada neste estudo (HUANG et al., 2019; KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

A força do gel apresentou diferentes comportamentos em função de cada um dos efeitos e da interação. O uso de temperaturas elevadas, sem o aumento de GA, resultou em menor força do gel, em função da quebra de ligações covalentes e não covalentes da estrutura proteica. Esse comportamento também foi relatado na atomização de gelatina da bexiga natatória de *Labeo rohita* (KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019). Mantendo-se a temperatura constante, ao se atingir determinada concentração de GA (Fig. 3), observa-se um aumento da força do gel, demonstrando que a interação entre os dois efeitos possui maior impacto nesta resposta. Neste estudo, a adequada formação do complexo polieletrólito entre goma arábica e gelatina depende de uma concentração de GA entre 25% a 35%, para que resulte nas

características desejadas (250g a 260g). Todos os valores experimentais estão relacionados a gelatinas de "alto bloom" (200 a 300g) (EYSTURSKARĐ et al., 2009) e quanto maior o Bloom, menos gelatina é necessária para obter os efeitos desejados (GME, 2012).

A condição ótima para formação do complexo polieletrólito foi na concentração de goma arábica de 33,4% (g/100g de gelatina) e atomização com temperatura de ar de entrada de 130°C. Estas condições proporcionaram 6,62 g/h de rendimento, 0,27 de aw e 247g de força do gel, características adequadas para gelatinas de fins alimentares (HUANG et al., 2019; ISHWARYA; ANANDHARAMAKRISHNAN; STAPLEY, 2015; KARIM; BHAT, 2009; WASTE; IN; PROCESSING, 2011). Ensaios foram realizados para obter o complexo entre gelatina e goma arábica nas condições ótimas e as respostas foram comparadas com os valores previstos. A diferença entre os valores experimentais e previstos apresentou baixo desvio relativo (1% para rendimento e força do gel e 0,01% para aw), o que demonstra que o método estabelecido pode ser utilizado para prever essas características no complexo formado.

3.3 Formação de complexo polieletrólito entre gelatina e goma arábica (GP-GA)

3.3.1 Perfil de aminoácidos

O perfil de aminoácidos da pele e do complexo polieletrólito entre gelatina e goma arábica (GP-GA) está disposto na tabela 4.

Resíduo /100 Resíduos	Pele	GP-GA
Aspartato	6,05	4,42
Ácido glutâmico	9,09	8,89
Serina	3,97	4,03
Histidina	1,08	1,06
Taurina	Não detectado	Não detectado
Arginina	7,90	8,21
Treonina	3,04	2,76
Alanina	9,43	10,17
Tirosina	1,12	0,96
Valina	2,60	2,51
Metionina	1,70	1,49
Cisteína	1,32	1,13
Isoleucina	1,84	1,73
Leucina	3,26	3,11
Felilalanina	2,06	1,99
Lisina	3,88	3,42
Triptofano	Não detectado	Não detectado
Glicina	21,92	23,85
Prolina	11,15	12,14
Hidroxiprolina	7,05	9,25
TOTAL	98,48	97,11
Iminoácidos	18,20	17,39

Tabela 4. Perfil de aminoácidos totais presentes na pele de piramutaba e no complexo polieletrólito de gelatina e goma arábica (GP-GA).

¹Fonte: Nelson e Cox (2011); Nur Hanani, Roos e Kerry (2014)

De maneira geral, o perfil de aminoácidos encontrados na pele e no CP-GA (Tabela 4) são semelhantes aos relatados para filhote (SILVA; PENA; LOURENCO, 2016), tubarão-baleia (JEEVITHAN et al., 2015), tilápia e carpa (TANG et al., 2015). Os aminoácidos que compõem o tropocolágeno, glicina, prolina e hidroxiprolina (DABOOR et al., 2010), apresentaram pequena diferença, o que corresponde a adequada extração de gelatina. Nos iminoácidos prolina e hidroxiprolina, a cadeia lateral propil é ligada covalentemente tanto ao átomo de carbono α como ao grupo α amina, formando uma estrutura de anel pirrolidina (HAUG; DRAGET; SMIDSRØD, 2004; MUYONGA; COLE; DUODU, 2004), que confere rigidez à cadeia, aumentando a força do gel, viscosidade aparente e ponto de fusão (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2007). Sabe-se que quanto maior o teor de iminoácidos, maior é a estabilidade da hélice através das ligações de hidrogênio inter-cadeia e, portanto, maior a força do gel. Este fenômeno ocorre de duas formas: primeiro, com a ligação direta entre o hidrogênio e uma molécula de água de ligação; e segundo, através da ligação do hidrogênio ao grupo carbonila (AHMAD; BENJAKUL, 2011).

O perfil de aminoácidos encontrado no CP-GA (Tabela 4) influencia diretamente as propriedades da força do gel (Bloom). Esse parâmetro é considerado uma das propriedades mais importantes de gelatinas e pode ser influenciado também pela matéria-prima, método de extração e coadjuvantes formadores de complexos polieletrólitos como polissacarídeos e ácidos orgânicos poliméricos (BUTSTRAEN; SALAÜN, 2014). Além disso, os resultados da otimização (Fig. 1C), demonstram que a força do gel também sofre influência dos parâmetros da atomização, como a temperatura do ar de entrada e concentração de goma arábica.

3.3.2 Distribuição do peso molecular

Na Fig. 2, observa-se que a distribuição do peso molecular de GP-GA e da gelatina indicam a presença de cadeias β (duas cadeias com ligação covalente) (PAPON; LEBLOND; MEIJER, 2006). Após a formação do complexo, houve uma redução da banda e diminuição da intensidade, o que corresponde à menor disponibilidade destas cadeias, além do aumento peso molecular. Esta redução corresponde a formação de um complexo polieletrólito entre gelatina e goma arábica (SINTHUSAMRAN et al., 2017; SINTHUSAMRAN; BENJAKUL; KISHIMURA, 2014).



Fig. 2. Análise eletroforética complexo polieletrólito entre Gelatina e Goma Arábica (GP-GA) e da gelatina.

A goma arábica apresenta grupos carboxilas com cargas negativas, assim considerados polissacarídeos aniônicos. Os grupos de ácidos carboxílicos estão ligados ao monômero principal constituído de (3,6-linked β -D-galactopyranose substituted in position 6 by side chains of 3-linked α -L-arabinofuranose). Devido ao baixo ponto isoelétrico da goma arábica, este polissacarídeo deve interagir de forma precisa com proteínas anfóteras, como é o caso da gelatina (ESPINOSA-ANDREWS et al., 2013).

A medida que a concentração de goma arábica aumenta, a carga das moléculas de gelatina que circundam as de goma arábica são neutralizadas por interações moleculares cada vez mais fortes, até o momento em que a rede formada é estável, reforçada por interações fracas entre dipolos de colomb e pontes de hidrogênio (WAGONER; VARDHANABHUTI; FOEGEDING, 2016).

A quantidade de resíduos com cargas positivas (Lys, His e Arg) é de 12,69/100 resíduos (Tabela 4). O nível destes aminoácidos básicos carregados é relativamente pequeno, e praticamente todos participam em interação eletrostática. O aumento de número de partículas no sistema devido as interações moleculares entre gelatina e goma arábica é também influenciado pela temperatura e pela força centrifuga do atomizador (ISHWARYA; ANANDHARAMAKRISHNAN; STAPLEY, 2015).

3.3.3 Espectroscopia de Infravermelhos com Transformações de Fourier (FTIR)

A interação entre moléculas de gelatina e goma arábica também é confirmada pelo deslocamento das bandas nos espectros FTIR (Fig. 3).



Fig. 3. Espectros FTIR para as amostras de gelatina nativa, mistura de gelatina-goma arábica (GP-GA) e goma arábica nativa

Observa-se que o espectro FTIR para a gelatina de piramutaba (Fig. 3) está semelhante a de gelatina comercial de peixe (SINTHUSAMRAN et al., 2017) e de truta (ALTAN KAMER et al., 2019). A distribuição do espectro da gelatina (Fig. 3) exibe bandas de absorção característica em faixas específicas. As bandas de absorção próximas a 3275 cm⁻¹ correspondem a amida A e, segundo Jridi et al. (2014), se referem à vibrações de grupos OH e NH. As bandas de absorção próximas a 2922 cm⁻¹ correspondem a amida B e, segundo Hamzeh et al. (2018), correspondem às vibrações dos grupos =C-H e -NH₃⁺. Bandas de absorção relacionadas às vibrações de amidas I e, segundo Liu et al. (2012), estão relacionadas às vibrações de amida II e, segundo Staroszczyk, Sztuka, Wolska, Wojtasz-Pająk & Kołodziejska (2014), correspondem às vibrações de grupos NH e CN. Por fim, as bandas em 1242 cm⁻¹ são do grupo amida III e, segundo Staroszczyk et al. (2014), correspondem ao alongamento das vibrações de grupos NH e CN.

No espectro FTIR referente à GP-GA (Fig. 3), observa-se que várias faixas de absorção são deslocadas. A da região amida A se desloca para 3267 cm⁻¹, e a da amida B para 2918 cm⁻¹. Estas mudanças indicam a formação de ligações de hidrogênio intermolecular entre a gelatina e a goma arábica (LASSOUED et al., 2014; STAROSZCZYK et al., 2012, 2014). Foram observados, por espectroscopia FTIR, efeitos semelhantes em estudos envolvendo gelatinas e filmes de gelatinas adicionadas de polissacarídeos, como k-carragenina (Pranoto, Lee, & Park, 2007; Voron'ko, Derkach, Kuchina, & Sokolan, 2016), quitosana (QIAO et al., 2017; STAROSZCZYK et al., 2014; VORON'KO et al., 2016) ou combinações de goma arábica, quitosana e gelatina (GONÇALVES et al., 2018).

A adição de goma arábica à gelatina produz efeitos de diminuição da amplitude das bandas de amida I e amida III. A diminuição das bandas de amida I de 1639 cm⁻¹ para 1628 cm⁻¹ e a amida III de 1242 cm-1 para 1238 cm-1, corresponde a perda da estrutura tripla helicoidal, atribuídos a redução das interações intermoleculares entre as cadeias de gelatina. A diminuição destas conformações estérico protegidas torna a estrutura mais suscetíveis a interação eletrostáticas como bobina aleatória (FAKHREDDIN HOSSEINI et al., 2013; JRIDI et al., 2014).

A utilização de goma arábica também resulta na mudança de deslocamento das bandas amida II para 1523 cm⁻¹. O deslocamento confirma a presença de

interações eletrostáticas entre polieletrólitos do grupo carboxila da goma arábica, ligados ao monômero principal (3,6-linked β -D-galactopyranose substituted in position 6 by side chains of 3-linked α -L-arabinofuranose) e os grupos amino de Lys, Hyl, His e Arg (STAROSZCZYK et al., 2014). O deslocamento da amida II entre 1535 cm⁻¹ para 1523 cm⁻¹, segundo Staroszczyk et al. (2012), 2014), resulta da formação de pontes de hidrogênio entre grupos -NH da gelatina com outros grupos.

3.3.4 Potencial zeta

A fig. 4 mostra o efeito do pH sobre o potencial zeta da gelatina (FG), goma arábica (GA) e complexo formado (FG-GA).





O potencial zeta de FG passou de 19,14 para –19,34mV, na variação de pH de 3,1 a 11,3. Até o ponto isoelétrico (pH <6,30), os grupos NH₃⁺ estão protonados, em função do pH ácido. Com o aumento do pH, ocorre a desprotonação do NH₃⁺ e COO⁻, causando a diminuição do potencial zeta (MEKA et al., 2017). O ponto isoelétrico (pH 6,30) da FG é característico de gelatinas do tipo B (KARIM; BHAT, 2009; PRATA; GROSSO, 2015). Comportamento semelhante foi observado em GA, com variação - 1,68 a -24,88mV, em função da desprotonação dos grupos COO⁻ (HU et al., 2019).

A interação entre FG e GA pode ser observada no gráfico através de uma curva intermediaria de FG-GA (Fig. 4). O potencial zeta de FG-GA passou de 10,66 para - 24,88mV, entre pH 3,1 a 11,3. O FG-GA apresenta características anfóteras, semelhantes à gelatina nativa, mas com ponto isoelétrico em pH 5,57. O quantitativo de cargas é influenciado pelo pH, no entanto, isto não foi um fator impeditivo para a formação do complexo. Mesmo que haja um desbalanceamento de cargas, a

interação polieletrólita é favorecida pelo atrito (MEKA et al., 2017) gerado durante a atomização, principalmente pelo uso de alta pressão (0,39 MPa) e rotação no disco atomizador.

3.3.5 Análise morfológica do complexo polieletrólito entre gelatina e goma arábica (GP-GA)

A análise dos dados obtidos neste estudo e na literatura, dão subsídios para propor um esquema geral da formação do complexo polieletrólito entre gelatina e goma arábica (GP-GA) (Fig. 5).

87



Fig. 5 Esquema qualitativo que ilustra a formação de complexo polieletrólito entre a gelatina de piramutaba e goma arábica (GP-GA). Complexo atomizado nas ampliações: 0x (i), 3880x (ii) e 4950x (iii)

A formação de um complexo polieletrólito entre polissacarídeos e proteínas aumenta à medida que as cargas são neutralizadas, como no ponto isoelétrico. Desta forma, para o par polieletrólito de goma arábica e gelatina a proporção apropriada deve ser 1:1 (BORAL; BOHIDAR, 2010), para que as cargas positivas da gelatina sejam neutralizadas por cargas negativas da goma arábica. É provável que cada macromolécula de goma arábica seja estabilizada no interior da gelatina, estequiometricamente balanceada, contida em um invólucro de gelatina polieletrólito que bloqueia a ação de outras cargas, assumindo uma forma compacta (Fig. 5). (KIZILAY et al., 2013; WAGONER; VARDHANABHUTI; FOEGEDING, 2016).

Neste estudo, o disco atomizador produziu partículas enrugadas, porosas e achatadas (Fig. 5), semelhantes aos resultados obtidos em encapsulamento de probióticos (AREPALLY; GOSWAMI, 2019) e compostos bioativos (RAJABI et al., 2015) que utilizaram gelatina e goma arábica.

3.4 Caraterização da gelatina, goma arábica e complexo polieletrólito (FG-GA)

A caracterização da gelatina, goma arábica e complexo polieletrólito (FG-GA) encontra-se na Tabela 5.

Parâmetros	FG	GA	FG-GA
Umidade (g/100g) ¹	7,68 ±0,13	6,10 ±0,13	9,42 ±0,43
Proteínas totais (g/100g) ¹	88,77 ±0,87	4,25 ±0,05	66,04 ±0,22
Lipídeos totais (g/100g) ¹	0,87 ±0,12	*	0,71±0,19
Resíduo Mineral Fixo (g/100g) ¹	2,35 ±0,03	2,70 ±0,07	2,41 ±0,25
Glicídios totais (g/100g)1	*	88,02 ±0,12	21,89 ±0,65
aw	0,63 ±0,01	0,36 ±0,01	0,27 ±0,01
рН	11,0 ±0,02	4,30 ±0,05	9,34 ±0,09
Capacidade de Formar Espuma (%)			
Solução 0,1 g/L	102,00 ±0,32	110,00 ±0,12	102,00 ±0,37
Solução 0,2 g/L	106,00 ±0,45	111,00 ±0,09	107,00 ±0,47
Solução 0,3 g/L	117,00 ±0,12	113,00 ±0,05	113,00 ±0,03
Capacidade emulsificante (%)	35,01 ±1,04	24,17 ±2,89	5,01 ±1,69
Viscosidade Aparente (Pa·s)	3,90 ·10 ⁻³ ±0,10	5,50 ·10 ⁻³ ±0,10	6,90 · 10 ⁻³ ±0,20
Densidade aparente (g/cm ³)	0,41 ±0,10	0,72 ±0,01	0,66 ±0,02
Higroscopicidade ² (%)	11,18 ±0,47	$30,76 \pm 1,03$	5,55 ±0,66
Índice de Solubilidade em Água ¹ (%)	86,22 ±0,47	94,87 ±0,24	88,10 ±0,89
Índice de Absorção de Água ² (g/g)	9,32 ±0,01	5,13 ±0,14	6,91 ±0,85

Tabela 5. Caraterização de gelatina (FG), goma arábica (GA) e complexo polieletrólito (FG-GA) atomizado sob condições ótimas

¹Base úmida; ²Base seca

*Não detectado

O complexo (FG-GA) apresentou umidade abaixo de 15%, encontrando-se dentro do limite estabelecido para gelatinas com fins alimentares e produtos atomizados (HAMZEH et al., 2018). Os teores de glicídios detectados são provenientes da adição de goma arábica. O pH > 5 proporciona condições para proliferação de bactérias proteolíticas (GME, 2012), entretanto, espera-se que as baixas umidade e a_w , associadas ao armazenamento à vácuo sejam suficientes para a conservação. O pH encontrado é característico, principalmente, do pré-tratamento (salino, alcalino e ácido) e de gelatinas comestíveis do tipo B (GME, 2015; JONES, 1977).

A Capacidade de Formar Espuma (CFE) apresentou comportamento esperado, onde aumento da concentração do complexo produziu maior CFE. Estudos demonstram que espumas de proteínas são mais estáveis em pH próximo ao ponto isoelétrico, em função da proximidade da quantidade de cátions e ânions, o que confere maior estabilidade da interface (PHAWAPHUTHANON et al., 2019). O comportamento da CFE pode ser atribuído ao pré-tratamento salino (*salting in*), desnaturação (extração com água quente) e pela presença de íons Ca²⁺ e Mg²⁺, que favorecem a formação de ligações cruzadas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2007). Foram encontrados resultados semelhantes de CFE na gelatina de filhote (SILVA; LOURENÇO; PENA, 2017a).

Neste estudo, os baixos valores de Capacidade Emulsificante (CE) estão associados à formação do complexo entre a gelatina e a goma arábica, o que diminui a presença de peptídeos livres para fazer ligação com o óleo. Além disso, a CE encontrada está próxima à gelatina atomizada de fontes marinhas (KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019), indicando que é afetada diretamente pelo processo de secagem. Em proteínas a CE está relacionada ao grau de exposição dos resíduos apolares (Tabela 5), ao teor de tirosina, processo de extração, pH final, força iônica, presença de surfactantes, açúcares, entre outros (SHYNI et al., 2014).

Outro parâmetro que demonstra a formação do complexo aqui estudado é a viscosidade aparente que reflete o grau de interação intermolecular entre a gelatina e a goma arábica. Esta interação, em meio aquoso, tem comportamento de um liquido não newtoniano pseudoplástico (PAL; GIRI; BANDYOPADHYAY, 2016). A presença de ramificações na estrutura do polissacarídeo aumenta a viscosidade, em função da interação de pontes de hidrogênio com a água, aumentando a superfície da rede tridimensional (RAFE; RAZAVI, 2017).

A Densidade Aparente (DA) está relacionada ao tamanho e integridade das partículas, friabilidade e propriedades de escoamento (MAHDAVEE KHAZAEI et al., 2014). Ao observar a eletroforese (Fig. 3) e a estrutura microscópica (Fig. 5) verificase que o alto peso molecular (225kda a 150kda) e o achatamento, comum em produtos atomizados, promove melhor acomodação dos espaços entre as partículas, resultando em maior densidade aparente. Desta forma, o aumento da concentração da goma arábica também promove maior densidade aparente (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2013; TONON; BRABET; HUBINGER, 2010).

A formação do complexo polieletrólito e a atomização removeram a maior parte da água produzindo a ocupação dos radicais hidrofílicos (-O e -OH). Consequentemente, formou-se um menor gradiente de concentração para a umidade relativa do ar, resultando em baixa higroscopicidade. Esta hipótese é reforçada pela baixa aw (0,27), e pelos resultados da distribuição de peso molecular (Fig. 2). Comportamento semelhante foi encontrado na atomização de café (FRASCARELI et al., 2012) e óleo essencial de alecrim (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2013), ambos utilizando goma arábica como material de parede. Índice de Solubilidade em Água (ISA) e Índice de Absorção em Água (IAA) também estão relacionados à disponibilidade de radicais hidrofílicos. Observa-se na Fig. 5 a formação de uma superfície porosa, resultado da elevada velocidade de rotação do disco atomizador, o que proporcionou aumento de ISA e IAA. A solubilidade do complexo está próximo às gelatinas atomizadas de pele de Iula (HAMZEH et al., 2018) e bexiga natatória de carpa (KANWATE; BALLARI; KUDRE, 2019). A absorção de água está diretamente ligada à disponibilidade de radicais hidrofílicos livres, dependente da temperatura de extração e da atomização. A estrutura do tropocolágeno tende a se abrir com o aumento da temperatura, permitindo maior interação com água e maior Força do gel (Fig. 1C). No entanto, a formação do complexo, proporciona menos radicais hidrofílicos disponíveis, limitando a IAA.

4. CONCLUSÃO

A interação entre gelatina e goma arábica gerou um complexo polieletrólito (FG-GA), como demonstram os resultados de perfil de aminoácidos, eletroforese, FTIR, potencial zeta e MEV. A formação do GP-GA promoveu alterações positivas, como maior rendimento de atomização, adequada força do gel, baixa higroscopicidade e alta solubilidade.

De acordo com os modelos propostos, as condições ótimas para formação do GP-GA foi concentração de goma arábica de 33,4% e atomização na temperatura de entrada de 130°C, que resultaram em 6,62 g/h de rendimento, 0,27 de a_w e 247g de força do gel. As propriedades tecnológicas do FG-GA estão de acordo com o preconizado para produtos atomizados e gelatinas para uso na indústria de alimentos e demais áreas. O complexo formado pode ser usado para aplicações industriais como aditivo em alimentos, como na função estabilizante em produtos lácteos, aumentar a capacidade de retenção de água em produtos cárneos, emulsificante em sorvetes, entre outros.

REFERÊNCIAS

ABDELHEDI, O. et al. Collagenous proteins from black-barred halfbeak skin as a source of gelatin and bioactive peptides. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 123–133, 1 set. 2017.

ABDELHEDI, O. et al. Rheological and structural properties of Hemiramphus far skin gelatin: Potential use as an active fish coating agent. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 331–341, 1 fev. 2019.

ABEDINIA, A. et al. Extraction and characterization of gelatin from the feet of Pekin duck (Anas platyrhynchos domestica) as affected by acid, alkaline, and enzyme pretreatment. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 586–594, 2017.

ADADI, P.; BARAKOVA, N. V.; KRIVOSHAPKINA, E. F. Selected Methods of Extracting Carotenoids, Characterization, and Health Concerns: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 24, p. 5925–5947, 20 jun. 2018.

AHMAD, M.; BENJAKUL, S. Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (Aluterus monoceros) as influenced by acid pretreatment and extraction time. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 381–388, maio 2011.

AHMAD, T. et al. Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic extraction: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 85–96, 2017.

AKSUN TÜMERKAN, E. T. et al. Physiochemical and functional properties of gelatin obtained from tuna, frog and chicken skins. **Food Chemistry**, v. 287, n. October 2018, p. 273–279, 2019.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Starch–gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 108–117, jan. 2012.

ALFARO, A. DA T. et al. Characterization of wami tilapia (Oreochromis urolepis hornorum) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food** science and technology international, 10 jun. 2013.

ALI, A. M. M.; KISHIMURA, H.; BENJAKUL, S. Physicochemical and molecular properties of gelatin from skin of golden carp (Probarbus Jullieni) as influenced by acid pretreatment and prior-ultrasonication. **Food Hydrocolloids**, v. 82, p. 164–172, 2018.

ALTAN KAMER, D. D. et al. Effect of confectionery solutes on the rheological properties of fish (Oncorhynchus mykiss) gelatin. **LWT**, v. 101, n. November 2018, p. 499–505, mar. 2019.

AN, B.; LIN, Y. S.; BRODSKY, B. Collagen interactions: Drug design and delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 97, p. 69–84, 2016.

ANDERSON, R. A.; CONWAY, H. F.; PEPLINSKI, A. J. Gelatinization of Corn Grits by

Roll Cooking, Extrusion Cooking and Steaming. **Starch - Stärke**, v. 22, n. 4, p. 130–135, 1970.

ANVARI, M.; JOYNER (MELITO), H. S. Effect of fish gelatin and gum arabic interactions on concentrated emulsion large amplitude oscillatory shear behavior and tribological properties. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 518–525, jun. 2018.

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. **HORWITZ, W, 17^a ed. Arlington: AOAC Inc.**, 2000.

AREPALLY, D.; GOSWAMI, T. K. Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. **Lwt**, v. 99, n. September 2018, p. 583–593, 2019.

ARES, G. et al. Influence of gelatin and starch on the instrumental and sensory texture of stirred yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, n. 4, p. 263–269, nov. 2007.

AVENA-BUSTILLOS, R. J. et al. Gelation, oxygen permeability, and mechanical properties of mammalian and fish gelatin films. **Journal of food science**, v. 76, n. 7, p. E519-24, set. 2011.

BADII, F.; HOWELL, N. Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 5, p. 630–640, jul. 2006.

BENJAKUL, S. et al. Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (Priacanthus tayenus and Priacanthus macracanthus). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 1, p. 132–138, 15 jan. 2010.

BEUSCHEL, B. C. et al. Gelation and Emulsification Properties of Partially Insolubilized Whey Protein Concentrates. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 3, p. 605–609, maio 1992.

BHAGWAT, P. K.; DANDGE, P. B. Isolation, characterization and valorizable applications of fish scale collagen in food and agriculture industries. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 7, p. 234–240, 2016.

BINSI, P. K. et al. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (Priacanthus hamrur) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 1, p. 132–145, jan. 2009a.

BINSI, P. K. et al. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (Priacanthus hamrur) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 1, p. 132–145, jan. 2009b.

BLIGH, E. G.; DYER, W. G. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can.J.Biochem.Physiol**, v. 37, p. 911–917, 1956.

BONFERONI, M. C. et al. Advances in oral controlled drug delivery: the role of drugpolymer and interpolymer non-covalent interactions. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 12, n. 3, p. 441–453, 2014. BOR-SEN, C. et al. Rheological and mechanical properties of cross-linked fish gelatins. **Polymer**, v. 47, p. 6379–6386, 2006.

BORAL, S.; BOHIDAR, H. B. Effect of Ionic Strength on Surface-Selective Patch Binding-Induced Phase Separation and Coacervation in Similarly Charged Gelatin–Agar Molecular Systems. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 37, p. 12027–12035, 23 set. 2010.

BORAN, G.; LAWLESS, H. T.; REGENSTEIN, J. M. Effects of Extraction Conditions on the Sensory and Instrumental Characteristics of Fish Gelatin Gels. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 9, 2010.

BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Optimization of gelatin extraction from silver carp skin. **Journal of food science**, v. 74, n. 8, p. E432-41, out. 2009.

BORAN, G.; REGENSTEIN, J. M. Fish Gelatin. In: **Advances in Food and Nutrition Research**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2010. v. 60p. 119–143.

BOURNE, M. C. Food texture and viscosity: Concept and Measurement. 2. ed. New York: Elsevier Science & Technology Books, 2002.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. Statistics for experiments: An introduction to design, data analysis and model building. [s.l: s.n.].

BRAGA, A. H. F. Elaboração e caracterização de filmes coacervados à base de gelatina/quitosana, gelatina/pectina e gelatina/goma arábica. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997**, p. 7, 1997.

BRASIL. Resolução RDC nº 360 de 23 de Dezembro de 2003. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 46, de 23 de Outubro de 2007. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, p. 16, 2007.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 45, de 03 de Novembro de 2010. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

BSI. Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods). London: British Standard Institution, 1975.

BUENO, C. M. et al. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 01, p. 65–73, 17 mar. 2011.

BUKZEM, A. L. et al. Optimization of carboxymethyl chitosan synthesis using response surface methodology and desirability function. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 615–624, abr. 2016.

BUTSTRAEN, C.; SALAÜN, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 608–616, 2014.

CAI, L. et al. Confectionery gels: Effects of low calorie sweeteners on the rheological properties and microstructure of fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 67, p. 157–165, 2017.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1248–1252, out. 2000.

CAMPELO, P. H. et al. Stability of lime essential oil emulsion prepared using biopolymers and ultrasound treatment. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 1, p. S564–S579, 2017.

CHANDRA, M. V.; SHAMASUNDAR, B. A. Rheological properties of gelatin prepared from the swim bladders of freshwater fish Catla catla. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 47–54, 2015.

CHEN, L. et al. Effects of pressure on gelatinization of collagen and properties of extracted gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 316–322, 2014.

CHENG, N.; BARBANO, D. M.; DRAKE, M. A. Effect of pasteurization and fat, protein, casein to serum protein ratio, and milk temperature on milk beverage color and viscosity. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 3, p. 2022–2043, mar. 2019.

CHEOW, C. S. et al. Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (Johnius dussumieri) and shortfin scad (Decapterus macrosoma). **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 386–391, jan. 2007.

CHO, S. . et al. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (Isurus oxyrinchus) cartilage. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 4, p. 573–579, jul. 2004.

CHOI, S. S.; REGENSTEIN, J. M. Physicochemical and Sensory Characteristics of Fish Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 2, p. 194–199, 2000.

CORREDIG, M. et al. Invited review: Understanding the behavior of caseins in milk concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 6, p. 4772–4782, jun. 2019.

CROWLEY, S. V. et al. Colloidal properties of protein complexes formed in β-casein concentrate solutions as influenced by heating and cooling in the presence of different solutes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, n. October 2018, p. 343–351, 2019.

DABOOR, S. M. et al. Extraction and purification of collagenase enzymes: A critical review. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 6, n. 4, p. 239–263, 2010.

DALGLEISH, D. G.; CORREDIG, M. The Structure of the Casein Micelle of Milk and Its Changes During Processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 449–467, 2012.

DAMODARAN, I. S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Fennema's food chemistry. (pp.

923–973). London: CRC Press. Wang, 2007.

DAS, B. P.; TSIANOU, M. From polyelectrolyte complexes to polyelectrolyte multilayers: Electrostatic assembly, nanostructure, dynamics, and functional properties. Advances in Colloid and Interface Science, v. 244, p. 71–89, 2017.

DAS, K.; CHOUDHARY, R.; THOMPSON-WITRICK, K. A. Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. **LWT**, v. 108, n. October 2018, p. 69–80, jul. 2019.

DING, L. et al. Impact of pH, ionic strength and chitosan charge density on chitosan/casein complexation and phase behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 208, n. September 2018, p. 133–141, 2019.

DÖNMEZ, Ö.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 901–907, 2017.

DUARTE TELES, C.; HICKMANN FLÔRES, S. The influence of additives on the rheological and sensory properties of nonfat yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, n. 4, 2007.

ECHEVERRÍA, I.; EISENBERG, P.; MAURI, A. N. Nanocomposites films based on soy proteins and montmorillonite processed by casting. **Journal of Membrane Science**, v. 449, p. 15–26, 1 jan. 2014.

ELANGO, J. et al. Effect of chemical and biological cross-linkers on mechanical and functional properties of shark catfish skin collagen films. **Food Bioscience**, v. 17, p. 42–51, mar. 2017.

ESFAHANI, R. et al. Loading of fish oil into nanocarriers prepared through gelatin-gum Arabic complexation. **Food Hydrocolloids**, v. 90, n. October 2018, p. 291–298, 2019.

ESPINOSA-ANDREWS, H. et al. Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 161–166, 2013.

ETXABIDE, A. et al. Effects of cross-linking in nanostructure and physicochemical properties of fish gelatins for bio-applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 94, p. 55–62, 2015.

EYSTURSKARĐ, J. et al. Structural and mechanical properties of fish gelatin as a function of extraction conditions. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 7, p. 1702–1711, out. 2009.

FAKHREDDIN HOSSEINI, S. et al. Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. **Food Chemistry**, v. 136, n. 3–4, p. 1490–1495, 2013.

FENG, X.; FU, C.; YANG, H. Gelatin addition improves the nutrient retention, texture and mass transfer of fish balls without altering their nanostructure during boiling. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 142–151, 2017.

FERNANDES, R. V. DE B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 171–178, fev. 2013.

FRANCIS, M. J. et al. Acoustic characterisation of pH dependant reversible micellar casein aggregation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 568, n. February, p. 259–265, maio 2019.

FRASCARELI, E. C. et al. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 3, p. 413–424, 2012.

GASPAR, A. L. C.; DE GÓES-FAVONI, S. P. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: a review. **Food chemistry**, v. 171, p. 315–22, 2015.

GME. Gelatin Handbook. Gelatin Manufacturers Institute of America, 2012.

GME. **Gelatin Manufacturers of Europe**. Disponível em: http://www.gelatine.org/about-hydrolysed-collagen/history.html. Acesso em: 4 maio. 2018.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. . et al. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v. 16, n. 1, p. 25–34, jan. 2002.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Edible films made from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murta ecotypes leaves (Ugni molinae Turcz). **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 7, p. 1133–1143, out. 2007.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. et al. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, dez. 2011.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Extraction of Gelatin from Megrim (Lepidorhombus boscii) Skins with. **food chemistry and toxicology**, v. 66, n. 2, p. 213–216, 2001.

GONÇALVES, N. D. et al. Comparison of microparticles produced with combinations of gelatin, chitosan and gum Arabic. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, n. May, p. 427–432, set. 2018.

GONÇALVEZ, D. et al. Effect of thickeners on the texture of stirred yogurt. **Alimentos** e **Nutrição**, v. 16, n. 3, p. 207–211, 2005.

HAMZEH, A. et al. Effect of drying methods on gelatin from splendid squid (Loligo formosana) skins. **Food Bioscience**, v. 26, n. March, p. 96–103, 2018.

HAUG, I. J.; DRAGET, K. I.; SMIDSRØD, O. Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 203–213, mar. 2004.

HU, B. et al. Preparation and emulsifying properties of trace elements fortified gum arabic. **Food Hydrocolloids**, v. 88, p. 43–49, 1 mar. 2019.

HUANG, J. et al. Steady, dynamic, and creep-recovery rheological properties of myofibrillar protein from grass carp muscle. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 48–56, 2016.

HUANG, T. et al. Comparison of rheological behaviors and nanostructure of bighead carp scales gelatin modified by different modification methods. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 1256–1265, 2017a.

HUANG, T. et al. Pectin and enzyme complex modified fish scales gelatin: Rheological behavior, gel properties and nanostructure. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 294–302, 2017b.

HUANG, T. et al. Rheological behavior, emulsifying properties and structural characterization of phosphorylated fish gelatin. **Food Chemistry**, v. 246, n. October 2017, p. 428–436, abr. 2018.

HUANG, T. et al. Fish gelatin modifications: A comprehensive review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, n. November 2017, p. 260–269, 2019.

I RÉ, M. **Microencapsulation By Spray DryingDrying Technology**, 1998. Disponível em: http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373939808917460

ISHWARYA, S. P.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; STAPLEY, A. G. F. Sprayfreeze-drying: A novel process for the drying of foods and bioproducts. **Trends in Food Science and Technology**, v. 41, n. 2, p. 161–181, 2015.

IUPAC. Imines. In: MCNAUGHT, A. D.; WILKINSON, A. (Eds.). . **Compendium of Chemical Terminology (the "Gold Book")**. 2nd. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997.

JANCIKOVA, S. et al. Furcellaran/gelatin hydrolysate/rosemary extract composite films as active and intelligent packaging materials. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 19–28, jun. 2019.

JAUREGUI, C. A.; REGENSTEIN, J. M.; BAKER, R. C. A Simple Centrifugal Method for Measuring Expressible Moisture, A Water-Binding Property of Muscle Foods. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 4, p. 1271–1271, jul. 1981.

JEEVITHAN, E. et al. Purification, characterization and antioxidant properties of low molecular weight collagenous polypeptide (37 kDa) prepared from whale shark cartilage (Rhincodon typus). **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6312–6322, 2015.

JOHNSTON-BANKS, F. A. Gelatin. In: HARRIS, P. (Ed.). Food gels. New York, NY: Elsevier Science Publishing Co., p. 233–289, 1990.

JONES, N. R. Uses of gelatine in edible products. In A. Ward & A. Courts (Eds.). London: Academic Press Inc. **The science and technology of gelatine**, 1977.

JRIDI, M. et al. Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin– chitosan composite edible films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 373–379, jun. 2014.

KAEWPRACHU, P. et al. Characterization of fish myofibrillar protein film incorporated with catechin-Kradon extract. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1463–1473, 2018.

KAEWRUANG, P. et al. Impact of divalent salts and bovine gelatin on gel properties of phosphorylated gelatin from the skin of unicorn leatherjacket. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 477–482, 2014.

KANWATE, B. W.; BALLARI, R. V.; KUDRE, T. G. Influence of spray-drying, freezedrying and vacuum-drying on physicochemical and functional properties of gelatin from Labeo rohita swim bladder. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 135–141, 2019.

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

KASANKALA, L. M. et al. Optimization of gelatine extraction from grass carp (Catenopharyngodon idella) fish skin by response surface methodology. **Bioresource technology**, v. 98, n. 17, p. 3338–43, dez. 2007.

KHARLAMOVA, A.; NICOLAI, T.; CHASSENIEUX, C. Heat-induced gelation of mixtures of casein micelles with whey protein aggregates. **Food Hydrocolloids**, v. 92, p. 198–207, 1 jul. 2019.

KITTIPHATTANABAWON, P. et al. Gelatin from clown featherback skin: Extraction conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, n. 2016, p. 186–192, 2016.

KIZILAY, E. et al. Evolution of hierarchical structures in polyelectrolyte-micelle coacervates. **Soft Matter**, v. 9, n. 30, p. 7320–7332, 2013.

KOLI, J. M. et al. Improvement of gel strength and melting point of fish gelatin by addition of coenhancers using response surface methodology. **Journal of food science**, v. 76, n. 6, p. E503-9, ago. 2011.

KOZLOV, P. V.; BURDYGINA, G. I. polymer reviews. **POLYMER**, v. 24, p. 651–666, 1983.

KUIVANIEMI, H.; TROMP, G.; PROCKOP, D. J. Mutations in fibrillar collagens (type I, II, III, and XI), fibril-associated collagen (type IX), and network-forming collagen (type X) cause a spectrum of diseases of bone, cartilage, and blood vessels. **Hum Mutat**, v. 9, n. November 1995, p. 300–315, 1997.

KUMAR, P. et al. A Review: Overview of Novel Polyelectrolyte Complexes as Prospective Drug Bioavailability Enhancers. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 64, n. 18, p. 955–968, 2015.

KWAK, H. W. et al. Fabrication of an ultrafine fish gelatin nanofibrous web from an

aqueous solution by electrospinning. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 1092–1103, 2017.

LASSOUED, I. et al. Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 41, p. 309–318, dez. 2014.

LCG, S. et al. Growth and Energy Metabolism of Tambaqui (Colossoma Macropomum) Fed Diets with Different Levels of Carbohydrates and Lipids. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 08, n. 03, p. 1–7, 2017.

LI, J. et al. A combination of selenium and polysaccharides: Promising therapeutic potential. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, n. June 2018, p. 163–173, 2019.

LI, Y. et al. Investigation on complex coacervation between fish skin gelatin from coldwater fish and gum arabic: Phase behavior, thermodynamic, and structural properties. **Food Research International**, v. 107, n. 1, p. 596–604, 2018.

LIN, L. et al. An overview of gelatin derived from aquatic animals: Properties and modification. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 102–112, out. 2017.

LIU, D. et al. Collagen and Gelatin. Annual Review of Food Science and Technology, v. 6, n. 1, p. 527–557, 2015.

LIU, Y. et al. Physiochemical and functional properties of chum salmon (Oncorhynchus keta) skin gelatin extracted at different temperatures. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 15, p. 5406–5413, dez. 2017.

LIU, Z. et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films. **Food Hydrocolloids**, v. 26, n. 1, p. 311–317, jan. 2012.

LUTZ, I. A. Métodos físicos-quimicos para análise de Alimentos. **Métodos físicosquimicos para análise de Alimentos**, p. 589–625, 2008.

MACDONALD, G. A. Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitabilityTrends in Food Science & Technology, 1991.

MAD-ALI, S. et al. Interfacial properties of gelatin from goat skin as influenced by drying methods. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 102–107, 2016.

MAHDAVEE KHAZAEI, K. et al. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, n. 1, p. 57–62, maio 2014.

MAHMOODANI, F. et al. Optimization and physical properties of gelatin extracted from pangasius catfish (Pangasius sutchi) bone. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 11, p. 3104–3113, 2012.

MARINOPOULOU, A. et al. Production of spray-dried starch molecular inclusion complexes on an industrial scale. **Food and Bioproducts Processing**, maio 2019.

MARKOVIC, M. D. et al. Casein-poly(methacrylic acid) hybrid soft networks with easy tunable properties. **European Polymer Journal**, v. 113, n. December 2018, p. 276–288, abr. 2019.

MATHIAS, T. R. DOS S. et al. Avaliação do comportamento reológico de diferentes iogurtes comerciais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 12–20, 2013.

MEKA, V. S. et al. A comprehensive review on polyelectrolyte complexes. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 11, p. 1697–1706, 2017.

MENEZES, M. DO L. L. R. et al. Effect of tannic acid as crosslinking agent on fish skin gelatin-silver nanocomposite film. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, n. November 2018, p. 7–15, mar. 2019.

MOHTAR, N. F.; PERERA, C. O.; HEMAR, Y. Chemical modification of New Zealand hoki (Macruronus novaezelandiae) skin gelatin and its properties. **Food chemistry**, v. 155, p. 64–73, 15 jul. 2014.

MOHTAR, N. F.; PERERA, C.; QUEK, S. Y. Optimisation of gelatine extraction from hoki (Macruronus novaezelandiae) skins and measurement of gel strength and SDS-PAGE. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 307–313, 2010.

MONTERO, P.; BORDERÍAS, J. Emulsifying capacity of collagenous material from the muscle and skin of hake (Merluccius merluccius L.) and trout (Salmo irideus Gibb): Effect of pH and NaCl concentration. **Food Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 251–267, 1991.

MONTERO, P.; GOMEZ-GUILLEN, M. C. Extracting Conditions for Megrim (Lepidorhombus boscii) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 3, p. 434–438, abr. 2000.

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

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger's Principles of Biochemistry. **W. H. Freeman** and Company, 5th Edition, 2011.

NGUYEN, P. T. M. et al. Effect of different hydrocolloids on texture, rheology, tribology and sensory perception of texture and mouthfeel of low-fat pot-set yoghurt. **Food Hydrocolloids**, v. 72, p. 90–104, 2017.

NIKOO, M. et al. Physicochemical properties of skin gelatin from farmed Amur sturgeon (Acipenser schrenckii) as influenced by acid pretreatment. **Food Bioscience**, v. 5, p. 19–26, mar. 2014.

NISHINARI, K.; DOI, E. (EDS.). Food Hydrocolloids. Boston, MA: Springer US, 1993.

NIU, L. et al. Characterization of tilapia (Oreochromis niloticus) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 336–341, dez. 2013.

NUR HANANI, Z. A.; ROOS, Y. H.; KERRY, J. P. Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 71, p. 94–102, 2014.

OBEID, S. et al. The phase and charge of milk polar lipid membrane bilayers govern their selective interactions with proteins as demonstrated with casein micelles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 534, p. 279–290, 2019.

OESSER, S.; SEIFERT, J. Stimulation of type II collagen biosynthesis and secretion in bovine chondrocytes cultured with degraded collagen. **Cell and tissue research**, v. 311, n. 3, p. 393–399, 2003.

OLIVEIRA, L. C. Otimização da extração de gelatina a partir de pele de tambaqui (colossoma macropomum). n. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará, 2014.

OLIVEIRA, V. et al. Colágeno: características gerais e produção de peptídeos bioativos - uma revisão com ênfase nos subprodutos do pescado. Acta of Fisheries and Aquatic Resources, v. 5, n. 2, p. 70–82, 2017.

PAL, A.; GIRI, A.; BANDYOPADHYAY, A. Influence of hydrodynamic size and zeta potential of a novel polyelectrolyte poly(acrylic acid) grafted guar gum for adsorption of Pb(II) from acidic waste water. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 4, n. 2, p. 1731–1742, 2016.

PAL, G. K.; SURESH, P. V. Comparative assessment of physico-chemical characteristics and fibril formation capacity of thermostable carp scales collagen. **Materials Science and Engineering C**, v. 70, p. 32–40, 2017.

PANG, Z. et al. Effect of addition of gelatin on the rheological and microstructural properties of acid milk protein gels. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 340–351, 2015a.

PANG, Z. et al. Effect of addition of gelatin on the rheological and microstructural properties of acid milk protein gels. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 340–351, 2015b.

PANG, Z. et al. Evaluation of tilapia skin gelatin as a mammalian gelatin replacer in acid milk gels and low-fat stirred yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3436–3447, 2017.

PANG, Z. et al. Physiochemical properties of modified starch under yogurt manufacturing conditions and its relation to the properties of yogurt. **Journal of Food Engineering**, v. 245, n. April 2018, p. 11–17, 2019.

PAPON, P.; LEBLOND, J.; MEIJER, P. H. E. Gelation and Transitions in Biopolymers. p. 189–213, 2006.

PHAWAPHUTHANON, N. et al. Effect of fish gelatine-sodium alginate interactions on foam formation and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 88, n. February 2018, p. 119–126, 2019.

PIRES, F. C. S.; PENA, R. DA S. Optimization of spray drying process parameters for tucupi powder using the response surface methodology. **Journal of Food Science**

and Technology, v. 54, n. 11, p. 3459–3472, 2017.

POWER, O. M. et al. Dephosphorylation of caseins in milk protein concentrate alters their interactions with sodium hexametaphosphate. **Food Chemistry**, v. 271, n. January 2018, p. 136–141, 2019.

PRANOTO, Y.; LEE, C. M.; PARK, H. J. Characterizations of fish gelatin films added with gellan and κ -carrageenan. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 5, p. 766–774, jun. 2007.

PRATA, A. S.; GROSSO, C. R. F. Production of microparticles with gelatin and chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 292–299, 13 fev. 2015.

QIAO, C. et al. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. **Food Chemistry**, v. 235, p. 45–50, nov. 2017.

QIN, D. et al. Determination of 28 trace elements in three farmed cyprinid fi sh species from Northeast China. **Food Control**, v. 50, p. 1–8, 2015.

QUIROGA, A. L. B. Dossiê Espessantes. **Food Ingredients Brasil**, v. 40, p. 20–44, 2017.

RAFE, A.; RAZAVI, S. M. A. Scaling law, fractal analysis and rheological characteristics of physical gels cross-linked with sodium trimetaphosphate. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 58–65, 2017.

RAJABI, H. et al. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. **Food Hydrocolloids**, v. 51, n. 2015, p. 327–337, 2015.

RAZZAK, M. A.; KIM, M.; CHUNG, D. Elucidation of aqueous interactions between fish gelatin and sodium alginate. **Carbohydrate Polymers**, v. 148, p. 181–188, 2016.

RÉ, M. I. Microencapsulação: em busca de produtos "inteligentes". **Ciência hoje**, v. 27, n. 162, p. 24–29, 2000.

REHAN, F.; AHEMAD, N.; GUPTA, M. Casein nanomicelle as an emerging biomaterial—A comprehensive review. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 179, n. February, p. 280–292, jul. 2019.

RIENER, J. et al. A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1108–1113, 2010.

ROCHA, C. et al. Elaboration and evaluation of yogurt with cerrado fruits taste. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 255–266, 2008.

SAE-LEAW, T.; BENJAKUL, S.; O'BRIEN, N. M. Effect of Pretreatments and Drying Methods on the Properties and Fishy Odor/Flavor of Gelatin from Seabass (*Lates calcarifer*) skin. **Drying Technology**, v. 34, n. 1, p. 53–65, 2016.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. Gelatine handbook: Theory and Industrial Practice. 1st editio ed. Weinhem: Wiley-VCH GmbH & Co, 2007.

SHA, X. M. et al. Effect of ammonium sulfate fractional precipitation on gel strength and characteristics of gelatin from bighead carp (Hypophthalmichthys nobilis) scale. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 173–180, 2014.

SHA, X. M. et al. Effect of extraction temperature on the gelling properties and identification of porcine gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 92, n. November 2018, p. 163–172, 2019.

SHI, J.; HAN, Y.; ZHAO, X. Quality attributes of set-style skimmed yoghurt affected by the addition of a cross-linked bovine gelatin. **CyTA - Journal of Food**, v. 00, n. 00, p. 1–6, 2016.

SHI, X.; ZHONG, Q. Crystallinity and quality of spray-dried lactose powder improved by soluble soybean polysaccharide. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 89–96, 2015.

SHYNI, K. et al. Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (Katsuwonus pelamis), dog shark (Scoliodon sorrakowah), and rohu (Labeo rohita). **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 68–76, ago. 2014.

SILVA, D. C. G. DA; ABREU, L. R. DE; ASSUMPÇÃO, G. M. P. Addition of watersoluble soy extract and probiotic culture, viscosity, water retention capacity and syneresis characteristics of goat milk yogurt. **Ciência Rural**, v. 42, n. 3, p. 545–550, mar. 2012.

SILVA, E. V. C. DA; LOURENÇO, L. DE F. H.; PENA, R. DA S. Obtaining Gelatin from the Skin of Gilthead Bream (Brachyplathystoma rousseauxii) using Two Pre-treatment. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 13, n. 5, p. 182–189, 2017a.

SILVA, E. V. C. DA; LOURENÇO, L. DE F. H.; PENA, R. DA S. Optimization and characterization of gelatin from kumakuma (Brachyplatystoma filamentosum) skin. **CyTA - Journal of Food**, v. 15, n. 3, p. 361–368, 3 jul. 2017b.

SILVA, E. V. C. DA; PENA, R. DA S.; LOURENCO, L. DE F. H. Gelatin extraction from Kumakuma (Brachyplathystoma filamentosum) skin using the liming method. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 30, p. 2678–2688, 28 jul. 2016.

SILVA, N. D. S. E. et al. Development and optimization of biodegradable fish gelatin composite film added with buriti oil. **CyTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 340–349, 31 jan. 2018.

SILVA, R. S. G.; BANDEIRA, S. F.; PINTO, L. A. A. Characteristics and chemical composition of skins gelatin from cobia (Rachycentron canadum). **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 580–585, jul. 2014.

SINGH, J. et al. Ultra high temperature (UHT) stability of casein-whey protein mixtures at high protein content: Heat induced protein interactions. **Food Research International**, v. 116, n. October 2018, p. 103–113, 2019.

SINTHUSAMRAN, S. et al. Physical and rheological properties of fish gelatin gel as influenced by κ-carrageenan. **Food Bioscience**, v. 20, n. May, p. 88–95, 2017.

SINTHUSAMRAN, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (Lates calcarifer) as influenced by extraction conditions. **Food Chemistry**, v. 152, p. 276–284, jun. 2014.

SIONKOWSKA, A. et al. Molecular interactions in collagen and chitosan blends. **Biomaterials**, v. 25, n. 5, p. 795–801, 1 fev. 2004.

SOFRONOVA, A.; SEMENYUK, P.; MURONETZ, V. The influence of β -casein glycation on its interaction with natural and synthetic polyelectrolytes. **Food Hydrocolloids**, v. 89, n. November 2018, p. 425–433, 2019.

SONGCHOTIKUNPAN, P.; TATTIYAKUL, J.; SUPAPHOL, P. Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 42, n. 3, p. 247–255, 1 abr. 2008.

SOW, L. C. et al. Effects of κ -carrageenan on the structure and rheological properties of fish gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 239, p. 92–103, 2018a.

SOW, L. C. et al. Effects of κ -carrageenan on the structure and rheological properties of fish gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 239, n. May, p. 92–103, dez. 2018b.

SOW, L. C. et al. Combination of sodium alginate with tilapia fish gelatin for improved texture properties and nanostructure modification. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. March, p. 459–467, 2019.

SOW, L. C.; YANG, H. Effects of salt and sugar addition on the physicochemical properties and nanostructure of fish gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 72–82, 2015.

SPERLING, L. H. Dilute Solution Thermodynamics, Molecular Weights, and Sizes. In: **Introduction to Physical Polymer Science**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2005. p. 71–143.

STAROSZCZYK, H. et al. Molecular and structural characteristics of cod gelatin films modified with EDC and TGase. **Food Chemistry**, v. 130, n. 2, p. 335–343, jan. 2012.

STAROSZCZYK, H. et al. Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films: FT-IR study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 707–712, jan. 2014.

STEEF, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2^a ed. Michigan: Freeman Press, 1996.

STEYAERT, I. et al. Gelatin nanofibers: Analysis of triple helix dissociation temperature and cold-water-solubility. **Food Hydrocolloids**, v. 57, p. 200–208, 2016.

TABARESTANI, H. S. et al. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (Onchorhynchus mykiss). **Bioresource technology**, v. 101, n. 15, p. 6207–14, ago. 2010.

TANG, L. et al. Physicochemical properties and film-forming ability of fish skin collagen extracted from different freshwater species. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 1, p. 148–155, 1 jan. 2015.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: UFRGS, 1995.

TKACZEWSKA, J. et al. Characterization of carp (Cyprinus carpio) skin gelatin extracted using different pretreatments method. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 169–179, ago. 2018.

TKACZEWSKA, J.; MIGDAŁ, W. COMPARISON OF SLAUGHTER YIELD, CONTENTS OF BASIC NUTRIENTS, AND HEAVY METALS LEVELS IN MUSCLES OF CARP (CYPRINUS CARPIOL.) FARMED IN VARIOUS REGIONS IN POLAND. **Zywnosc.Nauka.Technologia.Jakosc/Food.Science.Technology.Quality**, v. 6, n. 85, p. 180–189, 17 dez. 2012.

TONON, R. V. et al. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (Euterpe oleracea Mart.) juice. **Journal of Food Engineering**, v. 94, n. 3–4, p. 215–221, 2009.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (Euterpe oleracea Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, n. 3, p. 907–914, 2010.

URANGA, J. et al. Citric acid-incorporated fish gelatin/chitosan composite films. **Food Hydrocolloids**, v. 86, p. 95–103, 1 jan. 2019.

VIEIRA, L. L. et al. Emulsified films produced with proteins extracted from whitemouth croaker byproducts: Development and characterization. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 3, p. e360, 26 jun. 2018.

VORON'KO, N. G. et al. The chitosan–gelatin (bio)polyelectrolyte complexes formation in an acidic medium. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 265–272, mar. 2016.

WAGONER, T.; VARDHANABHUTI, B.; FOEGEDING, E. A. Designing Whey Protein– Polysaccharide Particles for Colloidal Stability. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 93–116, 28 fev. 2016.

WANG, L. et al. Isolation and characterization of collagen from the skin of deep-sea redfish (Sebastes mentella). **Journal of Food Science**, v. 72, n. 8, p. 450–455, 2007.

WANG, S.; AGYARE, K.; DAMODARAN, S. Optimisation of hydrolysis conditions and fractionation of peptide cryoprotectants from gelatin hydrolysate. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 620–630, jul. 2009.

WANG, X.; KRISTO, E.; LAPOINTE, G. The effect of apple pomace on the texture, rheology and microstructure of set type yogurt. **Food Hydrocolloids**, v. 91, n. December 2018, p. 83–91, 2019.

WASTE, S.; IN, M.; PROCESSING, F. No Title. v. 6983, p. 29–54, 2011.

WHITE, J. A; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of automatic chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170–7, jan. 1986.

XU, K. et al. Okra polysaccharide: Effect on the texture and microstructure of set yoghurt as a new natural stabilizer. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 117–126, 2019.

XU, M. et al. Physicochemical and functional properties of gelatin extracted from Yak skin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 1246–1253, 2017.

YAKIMETS, I. et al. Mechanical properties with respect to water content of gelatin films in glassy state. **Polymer**, v. 46, n. 26, p. 12577–12585, 2005.

YANG, F. et al. Surface decoration by Spirulina polysaccharide enhances the cellular uptake and anticancer efficacy of selenium nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 835–844, fev. 2012.

YANG, H. et al. 2-Step optimization of the extraction and subsequent physical properties of channel catfish (Ictalurus punctatus) skin gelatin. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 4, p. 188–195, 2007.

ZBICINSKI, I. et al. Application of pulse combustion technology in spray drying process. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 17, n. 4, p. 441–450, 2000.

ZHANG, F.; XU, S.; WANG, Z. Pre-treatment optimization and properties of gelatin from freshwater fish scales. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 3, p. 185–193, 1 jul. 2011.

ZHANG, J. et al. Nano red elemental selenium has no size effect in the induction of seleno-enzymes in both cultured cells and mice. **Life Sciences**, v. 75, n. 2, p. 237–244, maio 2004.

ZHAO, X. et al. Vacuum impregnation of fish gelatin combined with grape seed extract inhibits protein oxidation and degradation of chilled tilapia fillets. **Food Chemistry**, v. 294, p. 316–325, 1 out. 2019.

ZHU, Y.; BHANDARI, B.; PRAKASH, S. Tribo-rheology characteristics and microstructure of a protein solution with varying casein to whey protein ratios and addition of hydrocolloids. **Food Hydrocolloids**, v. 89, n. November 2018, p. 874–884, 2019.

CAPÍTULO III

Os complexos proteicos entre gelatina de peixe e proteínas do leite melhoram as propriedades tecno-funcionais do iogurte³

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito que complexos proteicos entre a gelatina de peixe e as proteínas do leite exercem nas características químicas, propriedades tecno-funcionais e no perfil de textura de iogurte natural. A adição de gelatina de piramutaba encurtou o período da fermentação do iogurte em 0,5h, aumentou a viscosidade aparente e capacidade de retenção de água, além de reduzir a sinerese. Os resultados mais elevados de viscosidade aparente e textura instrumental foram obtidos na concentração de 4g de gelatina/kg de iogurte, sendo a melhor condição para seu uso como estabilizante. A gelatina de piramutaba se apresenta como um excelente espessante/estabilizante para melhorar a textura de iogurtes comerciais. Novas pesquisas devem verificar o desempenho da gelatina de peixe em produtos que demandem estabilizantes, como sorvetes, e buscar aprimorar os atributos sensoriais, sem prejudicar as propriedades tecno-funcionais de gelatina.

Palavras-chave: colágeno, aditivo, estabilizante, capacidade de retenção de água (CRA), microscopia eletrônica de varredura (MEV), perfil de textura.

³ Artigo em preparação para envio ao periódico LWT - Food Science and Technology
1. INTRODUÇÃO

Na industrialização de leites fermentados, o iogurte possui problemas tecnológicos como a baixa consistência e tendência à separação de fases, fenômeno conhecido como sinérese (DÖNMEZ; MOGOL; GÖKMEN, 2017), em função da sedimentação das proteínas do leite (principalmente a caseína) em pH abaixo de 5,0 (DALGLEISH; CORREDIG, 2012). Os aditivos alimentares com função espessante/estabilizante tornam possível a formação e manutenção de dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis (BRASIL, 1997). Dentre as substâncias mais utilizadas para correção da sinerese, tem-se as gomas, pectinas, amidos e gelatina, que interagem com as proteínas de leites fermentados.

A gelatina, hidrocolóide obtido da desnaturação do colágeno, é basicamente composto de glicina, prolina, alanina e hidroxiprolina, em tripla hélice, o que promove maior rigidez e resistência (SOW et al., 2019). Possui capacidade de formar géis termo reversíveis, uma de suas características únicas que conferem à gelatina ampla utilidade na indústria de alimentos. A formação de géis melhora as propriedades de capacidade de retenção de água, gelificação, formação de espuma, viscosidade e emulsificação (HUANG et al., 2019).

O surgimento de fatores desfavoráveis às fontes tradicionais de gelatina (SOW et al., 2018), o aumento da demanda e a busca por um desenvolvimento sustentável da produção pesqueira no mundo (FENG; FU; YANG, 2017) tem impulsionado as pesquisas a respeito de novas fontes de obtenção de gelatina, como as de peixe. Relatórios recentes (HUANG et al., 2017; OBEID et al., 2019) já demostraram que a gelatina proveniente de fontes marinhas podem ser utilizadas para produção de complexos proteicos. Os complexos formados possuem propriedades diferentes das moléculas individuais e assumem comportamentos específicos, dependendo das condições do meio (MARKOVIC et al., 2019).

As proteínas do leite são os principais grupos moleculares responsáveis pela formação de estruturas em produtos lácteos. As caseínas (α , $\beta \in \kappa$), são responsáveis por até 80% do teor total de proteínas no leite, sendo o restante composto por proteínas solúveis do soro do leite (REHAN; AHEMAD; GUPTA, 2019). As caseínas se organizam em estruturas automontadas conhecidas como micelas. No entanto, a organização sequencial destas estruturas ainda não está devidamente elucidada. A presença de grupos químicos como fosfato de cálcio dentro das micelas é importante

para a estrutura das partículas de proteína, bem como sua funcionalidade tecnológica (CORREDIG et al., 2019). A adição de biomacromoléculas como proteínas e polissacarídeos em condições específicas pode levar a formação de complexos polieletrólitos e proteicos. Ao diminuir as forças repulsivas, que fornecem estabilidade coloidal às micelas, é possível induzir a agregação, o que leva a formação de uma rede de complexo proteico, estabilizados por interações fracas com moléculas de água. Estes tipos de interações são responsáveis por mudanças profundas nas propriedades físico-químicas e funcionais do produto (REHAN; AHEMAD; GUPTA, 2019).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos complexos proteicos, entre gelatina de piramutaba e proteínas do leite, nas características químicas, propriedades tecno-funcionais e no perfil de textura de iogurte natural.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A gelatina de piramutaba, obtida no estudo anterior (capítulo I), foi utilizada neste trabalho (Bloom 250g, pH 11,0, potencial zeta -19,1mV). Para elaboração do iogurte foram utilizados leite integral esterilizado (3% de gordura, 3% de proteína), leite em pó (27% de gordura, 25% de proteínas) e açúcar refinado, adquiridos em mercado local. Foi utilizada *cultura starter* láctica liofilizada, composta por cepas das espécies *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* (Rica Nata, Brasil).

2.2 Elaboração de iogurte

O iogurte foi elaborado conforme o método descrito por Rocha *et al.* (2008). Foi elaborada uma amostra sem adição de gelatina (controle) e cinco amostras com adição de gelatina, em diferentes concentrações (2g, 4g, 6g, 8g e 10g de gelatina/kg de iogurte), baseado em dados da literatura (PANG et al., 2015, 2017; SHI; HAN; ZHAO, 2016), na resolução RDC nº 45, de 03 de novembro de 2010 (BRASIL, 2010) e na Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007), que estabelecem as normas legais para elaboração de iogurtes.

Inicialmente, todos os utensílios utilizados foram sanitizados. Foi adicionado leite líquido, leite em pó, gelatina e a *cultura starter*, em recipiente de aço inoxidável. Estes foram homogeneizados em incubadora Shaker (modelo Luca-223, Lucadema, Brasil) por 10 min. a 150 rpm, e a fermentação foi realizada em estufa por 3,5h a 43,0 ±0,1°C. O leite foi fermentado até obter a concentração mínima de 0,6g ácido láctico/100g de iogurte, conforme determina o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007). Posteriormente, a amostra foi resfriada e armazenada a 5°C, até o momento das análises.

2.3 Avaliação do efeito da gelatina na acidez do iogurte durante a fermentação

Para avaliar o efeito da gelatina no tempo de fermentação, a acidez do iogurte foi verificada a cada 0,5h, e expressa em g de ácido láctico/100g de iogurte, conforme Lutz (2008). As determinações foram realizadas em triplicata.

2.4 Caracterização química do iogurte

Foram realizadas as análises de umidade (método 952.08), proteína bruta (fator de cálculo de 6,38) e cinzas (método 938.08), segundo metodologia descrita pela AOAC (2000). O valor de lipídeos totais foi obtido através de mistura de solventes (BLIGH; DYER, 1956). O valor energético foi calculado com base na RDC nº360/2003 (BRASIL, 2003). As determinações foram realizadas em triplicata.

2.5 Propriedades tecno-funcionais do iogurte

2.5.1 Viscosidade aparente

As amostras de iogurte foram homogeneizadas em incubadora shaker (modelo Luca-223, Lucadema, Brasil) por 15 min. (150 rpm, 10°C) e, aproximadamente 20mL foram recolhidos para a análise. A viscosidade aparente foi determinada em viscosímetro Haake (VT550, Karlsruhe, Alemanha), acoplado ao sistema de configuração de cilindros coxiais copo SV e cilindros SV1, em taxa de cisalhamento constante (100 s⁻¹) a 10°C. Os resultados foram expressos em Pa·s⁻¹ (SILVA; ABREU; ASSUMPÇÃO, 2012).

2.5.2 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água foi determinada pelo método proposto por Jauregui; Regenstein e Baker (1981), com modificações propostas por Beuschel et al. (1992). Onde 1 g de amostra foi pesada em papel filtro Whatman nº 2, centrifugado (2500 rpm, 10 min., 6ºC). O resultado foi calculado através da eq. 1. e a análise foi realizada em triplicata.

Capacidade de Retenção de Água =
$$\frac{peso \ da \ amostra \ final-peso \ papel \ filtro}{peso \ da \ amostra \ inicial} \times 100$$
 eq. 1

2.5.3 Sinerese

Para a determinação da sinerese foi feita a homogeneização das amostras e coletados 30g de iogurte, distribuídos uniformemente em papel filtro Whatman nº 2. O conjunto foi colocado em funil, conectado a um becker de 50mL. Após o escoamento (5 h, 4°C), o índice de sinérese foi calculado pela eq. 2 (RIENER et al., 2010). As amostras foram analisadas em triplicata.

Indice de Sinerese =
$$\frac{peso \ do \ soro \ após \ filtração}{peso \ do \ iogurte \ inicial} \times 100$$
 eq. 2

2.6 Perfil de Textura (TPA)

O perfil de textura foi determinado em Texturômetro Brookfield QTS, utilizando probe cilíndrico (diâmetro = 35mm), equipado com célula de carga de 5kg. As condições de teste foram: velocidade de pré teste: 1,0 mm/s; velocidade de teste: 1,0 mm/s; velocidade de pós-teste: 8 mm/s; Força programada: 0,08 N; distância: 15 mm. Os testes foram realizados com as amostras à 5°C, em triplicata e expressos em firmeza (N), coesividade (razão), elasticidade (N·s), adesividade (N) e gomosidade (firmeza x coesividade) (PANG et al., 2017).

2.7 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o software Statistica Kernel Release 7.1 (StatSoft Inc. 2006, Tulsa, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito da gelatina na produção de ácido láctico e na caracterização química do iogurte

O efeito da adição de gelatina pode ser observado na produção de ácido láctico (Fig. 1) e na caracterização química (Tabela 1) do iogurte.



Fig. 1. Efeito da adição de gelatina na quantidade de ácido láctico produzido durante a fermentação do iogurte

	uu uuiyuo uu	gelatilla ae k	ganto					
Parâmetro	Adição de gelatina (g de gelatina/kg de iogurte)							
	0	2	4	6	8	10		
Umidade (g/100g)	83,49±0,05 ^ª	81,92±0,12 ^{bc}	81,85±0,05 ^{bc}	82,26±0,32 ^b	81,20±0,45 ^{bc}	81,15±0,26 ^c		
Proteínas totais (g/100g)	3,13±0,03 ^c	3,25±0,22 ^c	3,76±0,11 ^b	3,86±0,08 ^b	4,05±0,08 ^a	4,09±0,13 ^a		
Lipídeos totais (g/100g)	3,38±0,01ª	3,11±0,04ª	3,43±0,01ª	3,51±0,05ª	3,98±0,01ª	3,30±0,04ª		
Resíduo Mineral Fixo (g/100g)	2,27±0,02 ^a	2,61±0,02ª	2,23±0,05ª	2,15±0,23ª	2,18±0,16 ^a	2,24±0,08 ^a		
Açúcares totais (g/100g)	8,25±0,02 ^a	8,35±0,04ª	8,23±0,07ª	8,15±0,10 ^a	8,23±0,02 ^a	8,09±0,01 ^a		
Açúcares redutores (ɑ/100ɑ)	3,56±0,14ª	3,89±0,08ª	3,65±0,11ª	3,75±0,13ª	3,36±0,07ª	3,65±0,05ª		
Valor energético (Kcal/100g)	75,94±0,09 ^c	74,39±0,13°	78,83±0,14 ^b	79,63±0,25 ^b	84,94±0,68ª	78,42±0,15 ^b		
рН	4,19±0,01 ^a	4,12±0,02 ^a	4,17±0,01 ^a	4,17±0,01 ^a	4,18±0,01 ^a	4,14±0,03 ^a		

	Tabela 1.	Efeito d	la adição	de g	gelatina	ao iogurte
--	-----------	----------	-----------	------	----------	------------

Letras em comum na mesma linha não diferem entre si ($p \le 0.05$).

O iogurte, para ser qualificado, deve apresentar pelo menos 0,6g de ácido láctico/100g (BRASIL, 2007), A utilização de gelatina reduziu, em pelo menos, 0,5h o tempo para alcançar essa exigência (Fig. 1), em relação ao controle (0g/kg). O aumento proteico acelerou o metabolismo das *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, reduzindo o tempo de fase lag para 1,5h. Isso é particularmente importante para a indústria de alimentos, onde um menor tempo de fermentação demanda menor gasto energético.

A adição de gelatina não proporcionou diferença (p<0,05) na umidade, lipídeos totais, cinzas, valor energético e pH do iogurte (Tabela 1). No entanto, representou aumento no teor proteico do iogurte e no teor de sólidos totais, semelhante ao observado em iogurte adicionado de pectina, alginato de sódio e konjac glucomannan (XU et al., 2019).

3.2 Propriedades tecno-funcionais do iogurte

A Fig. 2 apresenta a Viscosidade Aparente, Capacidade de Retenção de Água e Sinerese para as amostras de iogurte adicionadas de diferentes concentrações de gelatina de piramutaba.



Fig. 2. Efeito da adição de gelatina de piramutaba na viscosidade aparente (2A), capacidade de retenção de água (2C) e sinerese (3C) em iogurte. Letras iguais não apresentam diferença significativa ($p \le 0.05$).

O aumento da concentração de gelatina provocou alterações significativas (p < 0,05) na viscosidade do iogurte (Fig. 2A). Observa-se que a maior viscosidade aparente foi obtida em 4g/kg, apesar de terem sido utilizadas concentrações de até 10g/kg. Neste estudo, a viscosidade aparente está relacionada à capacidade de interação entre proteínas do leite (caseína e soro) e gelatina, através da formação de ligações covalentes, gerando complexos proteicos. Com o aumento das interações, a rede formada pelos complexos se estende por todo o sistema, adsorvendo moléculas de água à estrutura, através de ligações fracas, como pontes de hidrogênio. As moléculas de água servem como pontes de interação entre os vários complexos formados, estabilizando a rede e aumentando sua energia de ligação, resultando em uma solução mais viscosa (DUARTE TELES; HICKMANN FLÔRES, 2007; PANG et al., 2017). Estudos recentes (CROWLEY et al., 2019; KHARLAMOVA; NICOLAI; CHASSENIEUX, 2019; OBEID et al., 2019; POWER et al., 2019) corroboram este tipo de interação molecular entre proteínas, e sua relação com a viscosidade, capacidade de retenção de água e sinérese em leites fermentados.

Recentemente, a formação de complexos proteicos tem sido bastante estudada (CHENG; BARBANO; DRAKE, 2019; FRANCIS et al., 2019; MARKOVIC et al., 2019; SINGH et al., 2019; SOFRONOVA; SEMENYUK; MURONETZ, 2019; ZHU; BHANDARI; PRAKASH, 2019), fornecendo informações importantes sobre os mecanismos responsáveis pelas interações que ocorreram no iogurte após adição de proteínas. Sabe-se que podem ser formados dois tipos de complexos proteicos: entre gelatina e micelas de caseína e entre gelatina e proteínas do soro.

Mesmo que esses processos sejam complexos e ainda não totalmente elucidados, algumas etapas de interações podem ser preditas. Sabe-se que ocorre forte interação eletrostática entre as cargas positivas de caseína (grupos NH₃⁺) e as negativas (grupos COO⁻) da gelatina, em função da diferença de distribuição de cargas (potencial zeta) entre gelatina (pH 11,0, -19,1mV) e caseína (pH 4,17, 18,0mV), além da formação de ligações covalentes entre alguns grupos funcionais (DING et al., 2019). Durante a fermentação, o meio ácido promove a protonação dos grupos amino da gelatina (NH₃⁺), estabelecendo interação com a água, como pontes de hidrogênio, interações de Van der Waals e demais forças intermoleculares.

A interação eletrostática e a formação de ligações covalentes entre hidrocolóides é dependente da concentração, como é o caso da gelatina-caseína (DING et al., 2019). Baixas concentrações de gelatina (até 2g/kg) não envolvem completamente a superfície das micelas de caseína, provocando colisão entre moléculas e precipitação (maior sinerese). Já em altas concentrações de gelatina (6, 8 e 10g/kg), há maior ocupação dos íons H⁺ por parte da gelatina, limitando a capacidade de ligação entre caseína e água e, consequentemente, a viscosidade aparente. Ares et al. (2007) relatam que concentração inferior a 1% de gelatina bovina não promoveu gelificação em iogurte, corroborando com os resultados do presente estudo.

Os mecanismos descritos nesta seção também explicam os efeitos da gelatina na capacidade de retenção de água (Fig. 2B) e sinerese (Fig. 2C). A adição de gelatina promoveu aumento (p<0,05) da capacidade de retenção de água e redução da sinerese, em relação ao controle. Esses resultados estão de acordo com o descrito para gelatina de carpa (TKACZEWSKA et al., 2018), que apresenta elevada capacidade de retenção de água em função do elevado teor de iminoácidos (prolina e hidroxiprolina) e alanina, semelhantes à gelatina de piramutaba. A sinerese, que é a expulsão da água de cadeias de géis, fica desfavorecida com o aumento da

capacidade de retenção de água, como se observa nas Fig. 2B e Fig. 2C. Com as informações da literatura e resultados já relatados, um esquema ilustrativo da formação de complexo proteico foi proposto (Fig.3).



Fig. 3. Esquema ilustrativo da formação de complexo proteico de gelatina-caseína e gelatina-proteínas soro no iogurte.

3.3 Perfil de textura

Na Fig. 4, pode-se observar o efeito da adição de gelatina na Firmeza, Coesividade, Elasticidade e Adesividade do iogurte.



Fig. 4. Efeito da adição de gelatina na Firmeza (4A), Coesividade (4B), Elasticidade (4C) e Adesividade (4D) e Gomosidade (4E) em iogurte. Letras iguais não apresentam diferença significativa ($p \le 0.05$).

A adição da gelatina de piramutaba provocou mudanças (p<0,05) nos parâmetros de firmeza, coesividade, elasticidade, adesividade e gomosidade (Fig. 4). A adição de gelatina de piramutaba proporcionou melhoria nesses parâmetros, reforçando o já observado na viscosidade aparente (Fig. 2A). Esse impacto positivo e crescente é semelhante ao observado no uso de amido modificado em iogurte (PANG et al., 2019). A firmeza do iogurte depende da concentração de sólidos totais no leite, da capacidade de retenção de água, força do gel e pH (DAS; CHOUDHARY;

THOMPSON-WITRICK, 2019). Como já foi demonstrado, a adição de gelatina melhora estes parâmetros, e não apresenta os inconvenientes da utilização de polissacarídeos pela presença de ácidos urônicos, como alginato de sódio (XU et al., 2019) e carragenina (PANG et al., 2015), que reduzem a força do gel e a firmeza do iogurte. Coesividade, elasticidade, adesividade e gomosidade possuem relação semelhante com os parâmetros citados e, por isso, um mesmo comportamento foi observado, como por exemplo, na utilização de bagaço de maçã na melhoria da textura de iogurte (WANG; KRISTO; LAPOINTE, 2019).

4. CONCLUSÃO

A adição de gelatina de piramutaba reduziu o tempo necessário de fermentação do iogurte e aumentou a viscosidade aparente, capacidade de retenção de água e reduziu a sinerese.

A gelatina de piramutaba se apresentou como um excelente espessante/estabilizante para melhorar a textura de iogurtes comerciais. Os resultados de viscosidade aparente e textura instrumental mais elevados foram obtidos na concentração de 4g de gelatina/kg de iogurte, indicando a melhor condição para seu uso como estabilizante.

Novas pesquisas devem verificar o desempenho da gelatina de peixe em produtos que demandem estabilizantes, como sorvetes, e buscar aprimorar os atributos sensoriais, sem prejudicar as propriedades tecno-funcionais de gelatina.

REFERENCIAS

AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. **HORWITZ, W, 17^a ed. Arlington: AOAC Inc.**, 2000.

ARES, G. et al. Influence of gelatin and starch on the instrumental and sensory texture of stirred yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, n. 4, p. 263–269, nov. 2007.

BEUSCHEL, B. C. et al. Gelation and Emulsification Properties of Partially Insolubilized Whey Protein Concentrates. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 3, p. 605-609, maio 1992.

BLIGH, E. G.; DYER, W. G. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can.J.Biochem.Physiol**, v. 37, p. 911–917, 1956.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997**, p. 7, 1997.

BRASIL. Resolução RDC nº 360 de 23 de Dezembro de 2003. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 46, de 23 de Outubro de 2007. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, p. 16, 2007.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 45, de 03 de Novembro de 2010.
Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

CHENG, N.; BARBANO, D. M.; DRAKE, M. A. Effect of pasteurization and fat, protein, casein to serum protein ratio, and milk temperature on milk beverage color and viscosity. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 3, p. 2022–2043, mar. 2019.

CORREDIG, M. et al. Invited review: Understanding the behavior of caseins in milk concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 6, p. 4772–4782, jun. 2019.

CROWLEY, S. V. et al. Colloidal properties of protein complexes formed in β-casein concentrate solutions as influenced by heating and cooling in the presence of different solutes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 174, n. October 2018, p. 343–351, 2019.

DALGLEISH, D. G.; CORREDIG, M. The Structure of the Casein Micelle of Milk and Its Changes During Processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 449–467, 2012.

DAS, K.; CHOUDHARY, R.; THOMPSON-WITRICK, K. A. Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. **LWT**, v. 108, n. October 2018, p. 69–80, jul. 2019. DING, L. et al. Impact of pH, ionic strength and chitosan charge density on chitosan/casein complexation and phase behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 208, n. September 2018, p. 133–141, 2019.

DÖNMEZ, Ö.; MOGOL, B. A.; GÖKMEN, V. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 901–907, 2017.

DUARTE TELES, C.; HICKMANN FLÔRES, S. The influence of additives on the rheological and sensory properties of nonfat yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, n. 4, 2007.

FENG, X.; FU, C.; YANG, H. Gelatin addition improves the nutrient retention, texture and mass transfer of fish balls without altering their nanostructure during boiling. LWT
Food Science and Technology, v. 77, p. 142–151, 2017.

FRANCIS, M. J. et al. Acoustic characterisation of pH dependant reversible micellar casein aggregation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 568, n. February, p. 259–265, maio 2019.

HUANG, T. et al. Pectin and enzyme complex modified fish scales gelatin: Rheological behavior, gel properties and nanostructure. **Carbohydrate Polymers**, v. 156, p. 294–302, 2017.

HUANG, T. et al. Fish gelatin modifications: A comprehensive review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, n. November 2017, p. 260–269, 2019.

JAUREGUI, C. A.; REGENSTEIN, J. M.; BAKER, R. C. A Simple Centrifugal Method for Measuring Expressible Moisture, A Water-Binding Property of Muscle Foods. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 4, p. 1271–1271, jul. 1981.

KHARLAMOVA, A.; NICOLAI, T.; CHASSENIEUX, C. Heat-induced gelation of mixtures of casein micelles with whey protein aggregates. **Food Hydrocolloids**, v. 92, p. 198–207, 1 jul. 2019.

LUTZ, I. A. Métodos físicos-quimicos para análise de Alimentos. **Métodos físicosquimicos para análise de Alimentos**, p. 589–625, 2008. MARKOVIC, M. D. et al. Casein-poly(methacrylic acid) hybrid soft networks with easy tunable properties. **European Polymer Journal**, v. 113, n. December 2018, p. 276–288, abr. 2019.

OBEID, S. et al. The phase and charge of milk polar lipid membrane bilayers govern their selective interactions with proteins as demonstrated with casein micelles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 534, p. 279–290, 2019.

PANG, Z. et al. Effect of addition of gelatin on the rheological and microstructural properties of acid milk protein gels. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 340–351, 2015.

PANG, Z. et al. Evaluation of tilapia skin gelatin as a mammalian gelatin replacer in acid milk gels and low-fat stirred yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3436–3447, 2017.

PANG, Z. et al. Physiochemical properties of modified starch under yogurt manufacturing conditions and its relation to the properties of yogurt. **Journal of Food Engineering**, v. 245, n. April 2018, p. 11–17, 2019.

POWER, O. M. et al. Dephosphorylation of caseins in milk protein concentrate alters their interactions with sodium hexametaphosphate. **Food Chemistry**, v. 271, n. January 2018, p. 136–141, 2019.

REHAN, F.; AHEMAD, N.; GUPTA, M. Casein nanomicelle as an emerging biomaterial—A comprehensive review. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 179, n. February, p. 280–292, jul. 2019.

RIENER, J. et al. A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1108–1113, 2010.

ROCHA, C. et al. Elaboration and evaluation of yogurt with cerrado fruits taste. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 255–266, 2008.

SHI, J.; HAN, Y.; ZHAO, X. Quality attributes of set-style skimmed yoghurt affected by the addition of a cross-linked bovine gelatin. **CyTA - Journal of Food**, v. 00, n. 00, p.

1–6, 2016.

SILVA, D. C. G. DA; ABREU, L. R. DE; ASSUMPÇÃO, G. M. P. Addition of watersoluble soy extract and probiotic culture, viscosity, water retention capacity and syneresis characteristics of goat milk yogurt. **Ciência Rural**, v. 42, n. 3, p. 545–550, mar. 2012.

SINGH, J. et al. Ultra high temperature (UHT) stability of casein-whey protein mixtures at high protein content: Heat induced protein interactions. **Food Research International**, v. 116, n. October 2018, p. 103–113, 2019.

SOFRONOVA, A.; SEMENYUK, P.; MURONETZ, V. The influence of β-casein glycation on its interaction with natural and synthetic polyelectrolytes. **Food Hydrocolloids**, v. 89, n. November 2018, p. 425–433, 2019.

SOW, L. C. et al. Effects of κ -carrageenan on the structure and rheological properties of fish gelatin. **Journal of Food Engineering**, v. 239, n. May, p. 92–103, dez. 2018.

SOW, L. C. et al. Combination of sodium alginate with tilapia fish gelatin for improved texture properties and nanostructure modification. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. March, p. 459–467, 2019.

TKACZEWSKA, J. et al. Characterization of carp (Cyprinus carpio) skin gelatin extracted using different pretreatments method. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 169–179, ago. 2018.

WANG, X.; KRISTO, E.; LAPOINTE, G. The effect of apple pomace on the texture, rheology and microstructure of set type yogurt. **Food Hydrocolloids**, v. 91, n. December 2018, p. 83–91, 2019.

XU, K. et al. Okra polysaccharide: Effect on the texture and microstructure of set yoghurt as a new natural stabilizer. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 133, p. 117–126, 2019.

ZHU, Y.; BHANDARI, B.; PRAKASH, S. Tribo-rheology characteristics and microstructure of a protein solution with varying casein to whey protein ratios and addition of hydrocolloids. **Food Hydrocolloids**, v. 89, n. November 2018, p. 874–884, 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos neste trabalho pode-se estabelecer as seguintes considerações:

 O perfil de aminoácidos, de elementos, FTIR, eletroforese, DRX e potencial zeta esclarecem os mecanismos que resultam na microestrutura, reologia, perfil de textura e propriedades tecnológicas da gelatina de piramutaba;

- Por apresentar elevado rendimento e características adequadas, a gelatina de piramutaba se apresenta como excelente alternativa às gelatinas bovina e suína.

 - A descoberta de elementos de grande importância nutricional, como o selênio, define uma nova perspectiva a respeito de gelatinas de peixes amazônicos, ampliando o potencial para o desenvolvimento de novos produtos e aplicações.

 Apesar de colaborar com o rendimento da extração, a presença do sódio limita diversas propriedades tecnológicas da gelatina.

A interação entre gelatina e goma arábica gerou um complexo polieletrólito (GP-GA), cujas condições ótimas para formação foram concentração de goma arábica de 33,4%
 e atomização na temperatura de entrada de 130°C, resultando em 6,62 g/h de rendimento, 0,27 de a_w e 247g de força do gel.

 A formação do GP-GA gerou maior rendimento de atomização, adequada força do gel, baixa higroscopicidade e alta solubilidade.

 O GP-GA pode ser usado para aplicações industriais como aditivo em alimentos, como na função estabilizante em produtos lácteos, aumentar a capacidade de retenção de água em produtos cárneos, emulsificante em sorvetes, entre outros. Em relação a iogurte, o uso de gelatina de piramutaba reduziu o tempo necessário de fermentação, aumentou a viscosidade aparente, capacidade de retenção de água e reduziu a sinerese.

- A gelatina de piramutaba se apresentou como um excelente espessante/estabilizante para melhorar a textura de iogurtes comerciais, onde os resultados de viscosidade aparente e textura instrumental mais elevados foram obtidos na concentração de 4g de gelatina/kg de iogurte, indicando a melhor condição para seu uso.

ANEXOS

Anexo 1 – Artigo original publicado no periódico Carbohydrate Polymers (capítulo II)



Contents lists available at ScienceDirect

Carbohydrate Polymers



journal homepage: www.elsevier.com/locate/carbpol

Improvement of the characteristics of fish gelatin – gum arabic through the formation of the polyelectrolyte complex



Luã Caldas de Oliveira^{a,b,*}, Jhonatas Rodrigues Barbosa^c, Suezilde da Conceição Amaral Ribeiro^d, Marcus Arthur Marçal de Vasconcelos^e, Bruna Araújo de Aguiar^a,

Gleice Vasconcelos da Silva Pereira^a, Gilciane Américo Albuquerque^a,

Fabricio Nilo Lima da Silva^b, Rosane Lopes Crizel^f, Pedro Henrique Campelo^g,

Lúcia de Fátima Henriques Lourenço^a

^a Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal do Pará, 66075-110 Belém, PA, Brazil

^b Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – IFPA Campus Breves, 68800-000, Breves, PA, Brazil

^c Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Extração, Universidade Federal do Pará, 66075-110 Belém,

PA, Brazil

^d Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – IFPA Campus Castanhal, 68740-970, Breves, PA, Brazil

^e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Acre, 69900-970, Rio Branco, AC, Brazil

^f Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 96050-500, Capão do Leão, RS, Brazil

⁸ Faculdade de Ciências Agrárias, Univesidade Federal do Amazonas, 69067-005, Manaus, AM, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords: Collagen Drying Electrostatic interaction Scanning electron microscopy (SEM) FTIR spectroscopy Electrophoresis Amino acid profile

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate and characterize the interaction between fish gelatin (FG) and Gum Arabic (GA) and its effects in obtaining optimal atomization conditions. The optimal conditions (D = 0.866) founded in this paper were: Gum Arabic concentration of 33.4% and inlet air temperature of 130 °C. These conditions afforded 6.62 g/h yield, 0.27 a_w and 247 g of Gel Strength, that are considered as suitable characteristics for food grade gelatin. The complex formed (FG-GA) was successfully obtained, as demonstrated by the results of amino acid profile, SDS-PAGE, FTIR spectroscopy, zeta potential and morphology. It was also verified that the formation of FG-GA promotes positive changes, such as higher atomization yield, adequate Gel Strength, low hygroscopicity and high solubility. The technological properties of FG-GA shown high potential to be applied in the food industry as well in other industrial fields like chemical and pharmaceutical areas.

1. Introduction

Gelatin as biopolymer has important characteristics such as its amphoteric nature, its specific triple-stranded helical structure (not observed in synthetic polymers) and its interaction with water, which is different from that found in synthetic hydrophilic polymers (Ahmad & Benjakul, 2011; Kasankala, Xue, Weilong, Hong, & He, 2007; Kozlov & Burdygina, 1983).

That substance contains relatively high amino acids amounts, such as glycine, proline, hydroxyproline and alanine (Wang, Agyare, & Damodaran, 2009). Tropocolagen is the basic unit of collagen and it is composed of three chains of polypeptides with an identical or different amino acid sequence (Damodaran, Parkin, & Fennema, 2007). The amino acid profile is directly related to the viscoelastic properties of gelatin. Al-Hassan and Norziah (2012); Cheow, Norizah, Kyaw, & Howell, 2007; Liu et al. (2012) have reported that it is necessary to determine amino acid profile for a complete understanding of functional properties and nutritional characterization of gelatin.

Gelatin can be defined as a soluble protein obtained from the partial hydrolysis of collagen, present in bones, cartilage and skins of slaughter animals (Gómez-Guillén, Giménez, López-Caballero, & Montero, 2011). However, there are some inconveniences as the possibility of bovine diseases' transmission (Kanwate, Ballari, & Kudre, 2019) and the non-acceptance of products from pork origin due to religious precepts (Bueno et al., 2011) thus, there was need to obtain the gelatin from other sources, such as fish.

In the food industry, the gelatin provides spread ability in margarines, stability in dairy products, gelling in baked goods and water retention in meat products, among others (Huang et al., 2019). Those functionalities are related to the tropocollagen structure, obtained

https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115068 Received 13 April 2019; Received in revised form 4 July 2019; Accepted 6 July 2019 Available online 08 July 2019 0144-8617/ © 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

^{*} Corresponding author.

according to the type of raw material, extraction methods and drying (Gómez-Guillén et al., 2011). Drying conducts heat and mass transference, causing the rupture of intra and intermolecular connections in the tropocollagen structure (Hamzeh, Benjakul, Sae-leaw, & Sinthusamran, 2018). It should therefore be studied to increase yield and obtain suitable properties, such as Gel Strength, foaming ability and emulsifying ability.

Studies indicate that atomization can generate suitable gelatin for the food industry, like the goat skin (Mad-Ali, Benjakul, Prodpran, & Maqsood, 2016), or fish (Hamzeh et al., 2018; Kanwate et al., 2019), as well as in the reduction of the characteristic odor of fish gelatin (Sae-Leaw, Benjakul, & O'Brien, 2016). Gum Arabic has been widely used as a wall material in atomization due to its low cost, high availability, high solubility in water and low viscosity. This polysaccharide can form complex polyelectrolytes which modify the properties of gelatin and improve the yield of process (Esfahani, Jafari, Jafarpour, & Dehnad, 2019; Mahdavee Khazaei, Jafari, Ghorbani, & Hemmati Kakhki, 2014).

The polyelectrolytes are defined as any macromolecule with repetitive units that dissociate into an ionizing solution containing a highly charged macromolecule forming a complex polymer. The complexes formed have different properties of the individual macromolecules and they present specific behaviors depending on the conditions that they are exposed to (Kumar et al., 2015). The polyelectrolytes are classified on the basis of their nature as polycationic, they ionize in solution and are able to form positive charges (gelatin), or polyanions that ionize in solution forming negative sites (Gum Arabic) (Das & Tsianou, 2017). Due to those characteristics of the system for the formation of polyelectrolytes complexes in ionic solutions, those complexes have been prominent in several chemical, pharmaceutical and biotechnological applications, because different degrees of stability, size, viscosity and morphology of polyelectrolytes complexes can be achieved (Bonferoni et al., 2014; Meka et al., 2017).

There are several studies related to the skin gelatin extraction from fish of different species in many countries (Cheow et al., 2007; Cho et al., 2004; Montero & Gomez-Guillen, 2000; Niu et al., 2013) and in Brazil (Alfaro, da, Fonseca, Balbinot, & Prentice, 2013), where gelatin was extracted from *Colossoma macropomum* (Oliveira, 2014), from *Brachyplathystoma filamentosum* (Silva, Pena & Lourenço, 2016) and from *Brachyplathystoma rousseauxii* (Silva et al., 2017). The Piramutaba (*Brachyplathystoma vaillantii*), has a great potential for extraction of gelatin, due to the great production and the underutilization of skins. That generates enormous amount of leavings by the fish industries of the State of Pará, in Brazil. However, there are still little studies about the skin characteristics, the extracted gelatin, the formation of the polyelectrolyte complex with Gum Arabic and its effects on spray drying.

The interest in the formation of complexes and atomization is focused on reducing costs, expanding and optimizing the production of fish gelatin for industrial scale, and the use of the skins reduces the environmental impact of the activity. In this context, the aim of this study was to evaluated and characterize the interaction between gelatin and Gum Arabic and its effects in obtaining optimum atomization conditions. The optimal conditions were defined through Central Composite Rotatable Design (CCRD), Analysis of Variance (ANOVA) and Response Surface Methodology (RSM). The interaction was evaluated through chemical characterization, technological properties, morphology, total amino acid profile, FTIR, zeta potential and electrophoresis.

2. Material and methods

2.1. Chemical reagents

Sodium Dodecylsulfate (SDS) 95% and β -mercaptoethanol (\geq 99%) (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) were purchased from Loba Chemie, Mumbai, India. Protein standard marker and Coomassie Blue R-250 were purchased from Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA.

Gum arabic (P.A. 99%) was purchased from Êxodo Científica, Brazil. The other chemical reagents used in this study were analytical grade.

2.2. Collection and preparation of piramutaba skin

The piramutaba skins were collected in fishing industry located in the municipality of Belém, State of Pará, Brazil, latitude 1° 27′06.0″S, longitude 48° 30′11.3″ W. The skins were packed in polyethylene packages, transported in isothermal boxes with ice for 60 min towards the laboratory. The skins were immediately washed with distilled water and cut into 4 cm x 4 cm. Then, they were packed again, vacuum sealed and frozen at -26 °C until the extraction process.

2.3. Pre-treatments, extraction of gelatin and mixture with gum arabic

This methodology was proposed by Montero and Gomez-Guillen (2000) and adapted by Oliveira (2014), with some modifications. Before gelatin extraction, 60 g of skin was added in 250 mL glass Erlenmeyer flask, shaken in 0.6 M NaCl (10 min, 85 rpm, 25 °C) in 0.3 M NaOH (15 min, 85 rpm, 25 °C) and 0.02 M CH3COOH (60 min, 85 rpm, 25 °C) in the ratio 1/3 (w/v) to increase the solubility of collagen. Shaking was performed in a Shaker incubator (model Luca-223, Lucadema, Brazil). The skins were washed in distilled water immediately after each of those steps.

To extract the gelatin, distilled water was added 1/5 (w/v) in skins and it was kept at 60 °C for 12 h in a thermostated bath (model TE-057, Tecnal, Brazil). The aqueous solution of gelatin was filtered on failet fabric (70 mesh) to remove non-collagenous residues. Subsequently, gum arabic was added in different proportions to the gelatin solution (96% protein on dry basis), according to the experimental planning. Finally, the solution was homogenized in Shaker incubator (150 rpm, 15 min, 25 °C) and atomised.

2.4. Definition of optimal atomization conditions

In the preliminary tests (Supplementary Data – Appendix A) with aid of literature review, we defined the parameters and levels of the Central Composite Rotatable Design (CCRD) (Table 1). The percentage of addition of gum arabic (X₁,%) and inlet air temperature (X₂, °C) were defined as independent variables, whereas the evaluated responses were: atomization yield (Y₁), water activity (a_w) (Y₂) and Gel Strength (Y₃).

The characteristics desired for gelatin in this study were: maximum yield, minimum water activity and gel strength between 250 g and 260 g. We used CCRD of 2^2 , with four factorial points (levels \pm 1), three replicates at the central point (level 0), four axial points (two variables at level \pm 1.41 and two variables at level 0), totaling 11 trials(Box, Hunter, & Hunter, 1978). The trials were randomized to minimize the effect of external factors.

Eq. 1 was used to evaluate the linear, quadratic and interaction effects of the independent variables on the selected response. Where Y is the dependent variable, β_0 is the constant, $\beta_{i,i}$ β_{ii} and β_{iii} are regression coefficients and X_i and X_j are the levels of the independent variables.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta i X_i + \sum_{i=1}^k \beta i i X_i^2 + \sum_{i=1}^k \sum_{j=i+1}^k \beta i i X_i X_j + \varepsilon$$
(1)

The models were evaluated by the F-test for regression and lack of fit, as well as Analysis of Variance (ANOVA), correlation coefficient (\mathbb{R}^2) and adjusted (Adj- \mathbb{R}^2). After the evaluation of the models, only significant variables (p < 0.05) were maintained. From the adjusted models the Response Surface (MSR) was generated for behavior analysis. The optimal level of each response was defined in conjunction with the Desirability function, since it is a useful tool for designing experimental models and allowing the evaluation of multiple variables

Trials	Independent variables (orig	Independent variables (original and encoded)		encoded) Responses			
	GA (X1,%)	TE (X ₂ , ^o C)	Y ₁	Y ₂	Y ₃		
1	15.00 (-1)	110.00 (-1)	3.51 ± 0.02	0.33 ± 0.01	230.00 ± 2.00		
2	15.00 (-1)	150.00 (+1)	8.21 ± 0.09	0.25 ± 0.01	218.00 ± 3.00		
3	35.00 (+1)	110.00 (-1)	7.76 ± 0.12	0.23 ± 0.01	215.00 ± 5.00		
4	35.00 (+1)	150.00 (+1)	7.38 ± 0.25	0.28 ± 0.01	265.00 ± 6.00		
5	11.00 (-1,41)	130.00 (0)	5.11 ± 0.17	0.30 ± 0.01	235.00 ± 2.00		
6	39.00 (+1,41)	130.00 (0)	7.84 ± 0.12	0.29 ± 0.01	250.00 ± 3.00		
7	25.00 (0)	102 (-1.41)	5.97 ± 0.01	0.24 ± 0.01	205.00 ± 5.00		
8	25.00 (0)	158 (+1.41)	8.12 ± 0.36	0.22 ± 0.01	232.00 ± 6.00		
9	25.00 (0)	130.00 (0)	5.52 ± 0.39	0.28 ± 0.01	238.00 ± 2.00		
10	25.00 (0)	130.00 (0)	5.44 ± 0.47	0.26 ± 0.01	240.00 ± 4.00		
11	25.00 (0)	130.00 (0)	5.58 ± 0.14	0.28 ± 0.01	243.00 ± 3.00		

GA Concentration of Gum Arabic, TE Inlet air temperature, Y₁Yield (g/h), Y₂ a_w, Y₃Gel Strength (g).

at the same time (Bukzem, Signini, dos Santos, Lião, & Ascheri, 2016). These analyzes were performed using Statistica Kernel Release 7.1 software (StatSoft Inc. 2006, Tulsa, OK, USA).

The yield of the atomization (Y_1) was calculated by Eq. 2. The water activity (aw) was determined using an electronic hygrometer (Aqualab, 3TE - Decagon Devices Inc., USA). To determine the strength of the gel (Y_3) , the Bloom method (Choi & Regenstein, 2000).

$$Yield(g/h) = \frac{\text{Atomized powder weight (g)}}{\text{Atomization time (h)}}$$
(2)

2.5. Atomization of gelatin aqueous solution and gum arabic

The atomizer (model AS0340, Niro Atomizer, Denmark) used has a rotating disk of 0.03 m in diameter, fed with compressed air at a pressure of 0.39 MPa. The drying chamber has a maximum evaporation capacity of 85 kg of water/h, coupled to a cyclone separator and exhaust fan. The aqueous solution of gelatin and Gum Arabic was injected in a flow parallel to the liquid inside the drying chamber through peristaltic pump at 0.6 L/h atomization. The atomized powder was collected at the base of the cyclone in polyethylene packages, sealed under vacuum and stored at 25 °C until analysis.

2.6. Total amino acid profile of skin and atomized sample

Total amino acid profile was determined using Waters-PICO Tag[™] high performance liquid chromatograph, Waters Model 712 WISP (Waters, Watford, Herts, UK) (White, Hart, & Fry, 1986).

2.7. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of gelatin, gum arabic and atomized sample

Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy was performed according to the method described by Benjakul et al. (2010). The FTIR spectra were obtained at 22 °C using a ATR Trough plate crystal cell, 45° ZnSe, 80 mm long, 10 mm wide, 4 mm thick; PIKE Technology Inc., Madison, WI, USA). An Equinox 55 FTIR spectrometer (Bruker Co., Ettlingen, GER) was used. For spectral analysis, samples were placed in the crystal cell, attached to the spectrometer assembly. The spectra in the wave number ranged 4000-500 cm⁻¹ and were collected in 40 scans at 4 cm⁻¹ resolution and compared to the background spectra of the empty cell cleaned at 25°.

2.8. Molecular weight distribution of gelatin and atomized sample

The molecular weight distribution was determined by sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) according to Chen, Ma, Zhou, Liu, and Zhang (2014)).

2.9. Zeta potential of gelatin, gum arabic and atomised

The surface charge density (Zeta Potential) was measured in Zetasizer (Malvern Instruments, UK), according to the method described by Campelo et al. (2017). The samples were dissolved in Milli-Q water (Millipore, Bedford, USA) until 2.0% (v / v) according to the optimum detection range of the equipment. The measurements were performed in duplicate (10 evaluations per run) at 25 °C.

2.10. Atomized sample morphology

The morphology was obtained by Scanning Electron Microscopy (SEM). The samples were adhered to stubs by carbon double-face tape and metallized with a gold layer of approximately 20 nm thickness for 150 s in a current of $90 \,\mu$ A. The electromicrographs were obtained by scanning electron microscope (Leo-1430, Leo, USA), at an electronic acceleration (EHT) of 10 KV, working distance (WD) varying between 14 mm and using a secondary electron detector (SE1). The micrometric scales were designed in the same optical conditions.

2.11. Chemical characterization of the gelatin, gum Arabic and complex

Chemical physical characterization of the atomization sample was determined by the analysis of moisture content (method 952.08), crude protein (calculation factor of 5.55) and ash (method 938.08), all according to the methodology described by AOAC (2000). The total lipids value was made using solvent mixture (Bligh & Dyer, 1956). The total sugars content was performed according to the Lane-Eynon method (Lutz, 2008) and the pH according to Schrieber and Gareis (2007).

2.12. Technological Properties of the atomized sample

Foaming capacity (FC) was determined in gelatin solutions at different concentrations (1%, 2% and 3%), homogenized at 1750 rpm for 60 s at 24 °C. The FC was calculated by the ratio between the volumes before and after the homogenization, expressed as a percentage (Tabarestani, Maghsoudlou, Motamedzadegan, & Mahoonak, 2010). Emulsifying capacity (EC) was obtained by mixing 20 mL of 3.3% gelatin solution with 20 mL of soybean oil. It was then homogenized at 1750 rpm (30 s, 26 °C) and centrifuged at 3958 rpm (300 s, 26 °C). EC was calculated by the ratio of the volume of the emulsified portion and the initial volume, being expressed as a percentage (Tabarestani et al., 2010).

Bulk viscosity was determined in a 6.67% (w/v) solution placed in a thermostated bath (Tecnal, TE-057, Brazil) at 45 °C and transferred to the Ostwald-Fensk viscometer (No. 100) (BSI, 1975). The viscometer was placed in a bath at 60 °C for 10 min to stabilize the temperature, being expressed in Pascal per second ($Pa \cdot s^{-1}$). To determine the bulk density (BD), the sample was transferred to a graduated beaker up to

10 mL volume and weighed (Tonon et al., 2009). Hygroscopicity was determined by the method described by Cai and Corke (2000), where 1 g of sample was weighed in glass becker and placed in desiccator containing saturated NaCl solution (RH of 74.95%) at 25 °C. After 7 days, the samples were weighed again to calculate the hygroscopicity, expressed in g of water per g of dry solids (dry basis).

The Water Absorption Index (WAI) and the Water Solubility Index (WSI) were determined according to Anderson, Conway, and Peplinski (1970)) and adapted by Pires and Pena (2017). 1 g of sample was added to a glass beaker containing 12 mL of distilled water, then homogenized (model BK-HG160, Biobase, China) at 1700 rpm (1800s, 26 °C) and centrifuged at 2348 rpm (600 s, 26 °C). The supernatant was transferred to the glass Petri dish and dried to constant weight (60 °C, 0.08 MPa). IAA was expressed as the mass of the centrifuged residue (g) by the solids mass of the centrifuged residue (g), while the ISA was expressed as the mass of the evaporation residue per 100 g of sample (dry basis).

3. Results and discussion

3.1. Analysis and model adjustments

The obtained values in the Central Composite Rotatable Design (CCRD) for yield, a_w and gel strength, as a function of gum arabic concentration (GA) and inlet air temperature (TE), are shown in Table 1. The linear, quadratic and interaction effects for each response, together with R^2 and Adj- R^2 are in Table 2.

According to effects assessment (Table 2) for Yield, all the effects were shown to be significant. For the a_w model, the X_{22} effect was maintained as a function of being close to the evaluation limit (p < 0.05). For the gel strenght, only the X_{11} effect has been removed. Table 3 shows the Analysis of Variance (ANOVA), F test for regression and lack of fit, correlation coefficient (R2) and adjusted models for the answers.

All adjusted models were significant ($F_{cal} > F_{tab}$), while the lack of fit was not significant. In addition, the yield and the gel strength showed $R^2 > 0.90$, indicating a high correlation between the experimental data and those predicted for the polynomial equation of the second degree. The adjustement model of a_w can be classified as non-predictive ($R^2 < 0.90$), due to the low variability of the response, however, it can be used to observe a trend behavior.

3.2. Response surfaces and definition of the optimal conditions

After the analysis and models adjustments, the behavior of the adjusted models for yield, a_w and Gel Strength were evaluated through the response surface graphs (Fig. 1).

The atomization yield was positively influenced by the increase in the value of the variables (Fig. 1A), individually and by the interaction. The yields obtained (Table 1) represent a considerable increase when compared to lyophilization, a traditional technique in drying fish skin gelatin. Silva, Lourenço and Pena (2016) found that it takes 48 h to produce 11.40 g of gelatin, from 60 g of kumakuma fish skin by

Carbohydrate Polymers 223 (2019) 115068

Table 3

Analysis of variance (ANOVA) for Yield, aw and Gel Strength as a function of the independent variables, test F and $R^{2.}$

Source of variation	SS	DF	QM	F _{Cal}	F _{Tab}	\mathbb{R}^2
Yield (Y ₁ , g/h)						
Regression	24.2830	5	4.8566	984.4479	19.30	0.99
Residue	0.2410	5	0.0482			
Lack of fit	0.23113	3	0.077043	15.617	19.16	
Pure error	0.00987	2	0.004933			
Total	24.52404	10				
Adjustment model	$Y_1 = 11.7639$	8 + 0.0	$68084X_1 + 0.0$	00472X ₁₁ -0.2	$9094X_{2}$	
$+0.00191 X_{22}$	-0.00635X ₁₂					
a _w (Y ₂)						
Regression	0.0075	2	0.0037	28.06	19.00	0.70
Residue	0.0032	8	0.00040			
Lack of fit	0.4288	6	0.00049	3.68	19.33	
Pure error	0.000267	2	0.00013			
Total	0.0107	10				
Adjustment model	$Y_2 = 0.30632$	-0.000	000086X ₂₂ -0.	000006806 X ₁	12	
Gel Strenght						
(Y ₃ , g)						
Regression	2782.7645	4	695.6911	109.85	19.25	0.98
Residue	45.4173	6	7.56955			
Lack of fit	32.7506	4	8.18765	1.29	19.25	
Pure error	12.6667	2	6.33333			
Total	2828.1818	10				
Adjustment model: $Y_3 = -55,8000 -9,4058X_1 + 5,7792X_2 -0,0278X_{22} + 0,0775X_{12}$						

SS: sum of squares; DF: Degrees of freedom; QM: Quadratic mean;

 X_1 Linear effect of GA, X_2 Linear effect of TE, X_{11} Quadratic effect of GA, X_{22} Quadratic effect of TE, X_{12} Interaction effect GA (TE).

lyophilization.

Within the studied range (3 g–8 g), the highest results are due to the positive interaction between the inlet air temperature (TE) and gum arabic concentration (GA). Although the response surface indicated an increase in yield in TE > 158 °C (Fig. 1A), changes in the structural and physicochemical characteristics of the powder were observed during the tests. The material adhered to the atomizer body and the burned material (appearance of black spots). This, in practice, reduces the yield, since the application of high temperatures results in significant changes in the physical and chemical properties in the gelatin atomization (Kanwate et al., 2019). In relation to GA, the formation of a strongly bound, pH-dependent polyelectrolyte complex (Anvari and Joyner (Melito) (2018)) increased yield. This complex is formed mainly by the neutralization of the positive charge (-NH₃⁺) of the gelatin and the negative charge (-COO-) of Gum Arabic (Braga, 2013).

The obtained values for a_w were 0.22 to 0.33 (Table 2) indicating microbiological stability in all the experimental trials ($a_w < 0.6$) (Damodaran et al., 2007). The low variability of a_w , resulting in a trend curve, also occurred in the microencapsulation of saffron's anthocyanins with Gum Arabic (Mahdavee Khazaei et al., 2014). The decreased of a_w as function of the increase of GA and TE, also occurred in the atomization of the lyophilized culture of *Lactobacillus acidophilus* (Arepally & Goswami, 2019). The parameters inlet air temperature,

Table 2

Linear, quadratic and ii	nteraction effects of second of	order polyı	nomials (Eq. 1) associated with sig	nificance for each re	esponse studied (pure error).
--------------------------	---------------------------------	-------------	----------------	-----------------------	-----------------------	-------------------	--------------

	Yield (Y ₁ ,g/h)		a _w (Y ₂)		Gel Strenght (Y ₃ , g	;)
Factors	Effects	p-value	Effects	p-value	Effects	p-value
Constant	5.51427	0.000054	0.273197	0.000595	240.3107	0.000037
X_1	1.82879	0.000744	-0.021212	0.122712	13.3838	0.017392
X11	0.94441	0.004001	0.027460	0.108198	3.1013	0.285433
X ₂	1.85101	0.000726	-0.014646	0.216216	19.1414	0.008617
X22	1.52604	0.001538	-0.038866	0.058644	-21.3885	0.009926
X ₁₂	-2.54000	0.000764	0.065000	0.030139	31.0000	0.006526

X₁ Linear effect of GA, X₂ Linear effect of TE, X₁₁ Quadratic effect of GA, X₂₂ Quadratic effect of TE, X₁₂ Interaction effect GA (TE). Values in bold indicate permanence in the final adjusted model.



Fig. 1. Response surface for yield (1A), aw (1B), and Gel Strength (1C), as a function of inlet air temperature (TE) and Gum Arabic concentration (GA).

pumping velocity and air pressure, at the levels used, had a greater influence on obtaining the a_w range found in this study (Huang et al., 2019; Kanwate et al., 2019; Tonon, Brabet, & Hubinger, 2010).

The gel strength presented different behaviors depending on each of the effects and the interaction. The use of high temperatures, without the increase of GA, resulted in a lower gel strength, due to the breakdown of covalent and non-covalent bonds of the protein structure. This behavior was also reported in the gelatin atomization of the swim bladder of carp (Kanwate et al., 2019). At constant temperature, when GA is reached (Fig. 1C), an increase in gel strength is observed, demonstrating that the interaction between the two effects has a greater impact on this response. In this study, the proper formation of the polyelectrolyte complex between gum arabic and gelatin depends on GA between 25% and 35%, to give desired characteristics (250 g–260 g). All experimental values are related to "high bloom" gelatin (200–300 g) (Eysturskarð, Haug, Elharfaoui, Djabourov, & Draget, 2009)and the higher the Bloom, the less gelatin is needed to achieve the desired effects(GME, 2012).

The optimal condition (D = 0.866, Supplementary Data – Appendix B) for the formation of the polyelectrolyte complex was 33.4% (g gum arabic / 100 g gelatin) and atomization with inlet air temperature of 130 °C. These conditions afforded 6.62 g/hr yield, 0.27 aw and 247 g gel strength, suitable characteristics for food-grade gelatin (Huang et al., 2019; Ishwarya, Anandharamakrishnan, & Stapley, 2015; Karim & Bhat, 2009).Trials were performed to obtain the complex between gelatin and gum arabic under optimum conditions and responses were compared to predicted values. The difference between the experimental and predicted values showed a low relative deviation (1% for yield and Gel Strength and 0.01% for a_w), which demonstrates that the established method can be used to predict these characteristics in the formed complex.

3.3. Formation of polyelectrolyte complex between fish gelatin and gum arabic (FG-GA)

3.3.1. Amino acid profile

The amino acid profile of the skin and polyelectrolyte complex between fish gelatin and gum arabic (FG-GA) is arranged in Table 4.

In general, the amino acid profile found in the skin and FG-GA (Table 4) are similar to those reported for kumakuma (Silva, da Pena, da, Lourenco, & de, 2016), whale shark (Jeevithan, Bao, Zhang, Hong, & Wu, 2015), tilapia and carp (Tang et al., 2015). The amino acids that make up the tropocolagen, glycine, proline and hydroxyproline (Daboor, Budge, Ghaly, Brooks, & Dave, 2010), presented little difference, which corresponds to the adequate extraction of gelatin. In the proline and hydroxyproline amino acids, the propyl side chain is covalently attached to both the α -carbon atom and the α -amine group, forming a pyrrolidine ring structure (Haug, Draget, & Smidsrød, 2004; Muyonga, Cole, & Duodu, 2004), which confers string rigidity, increasing Gel Strength, bulk viscosity and melting point (Damodaran et al., 2007). It is known that the higher the amino acid content, the greater the stability of the helix through inter-chain hydrogen bonds and, therefore, the greater is the Gel Strength. This phenomenon occurs in two ways: first, with the direct connection between hydrogen and a binding water molecule; and secondly, through hydrogen bonding to the carbonyl group (Ahmad & Benjakul, 2011).

The amino acid profile found in FG-GA (Table 4) directly influences Gel Strength properties (Bloom). This parameter is considered one of the most important properties of gelatin and can also be influenced by the raw material, extraction method and complexing auxiliaries of polyelectrolytes such as polysaccharides and polymeric organic acids (Butstraen & Salaün, 2014). In addition, the results of the optimization (Fig. 1C) show that Gel Strengthis also influenced by atomization parameters, such as inlet air temperature and Gum Arabic concentration.

Table 4

Total amino acids profile present in the piramutaba skin and in the polyelectrolyte complex of fish gelatin and Gum Arabic (FG-GA).

Residues/100residues		Characteristic of group R ¹	Skin	FG-GA
Aspartate	ASP	Negatively charged	6.05	4.42
Glutamic acid	GLU	Negatively charged	9.09	8.89
Serine	SER	Polar (not charged)	3.97	4.03
Histidine	HYS	Positively charged	1.08	1.06
Taurine	TAU	Polar	Not detected	Not detected
Arginine	ARG	Positively charged	7.90	8.21
Threonine	THR	Polar (not charged)	3.04	2.76
Alanine	ALA	Aliphatic and apolar	9.43	10.17
Tyrosine	TYR	Aromatic	1.12	0.96
Valine	VAL	Aliphatic and apolar	2.60	2.51
Methionine	MET	Aliphatic and apolar	1.70	1.49
Cysteine	CYS	Polar (not charged)	1.32	1.13
Isoleucine	ILE	Aliphatic and apolar	1.84	1.73
Leucine	LEU	Aliphatic and apolar	3.26	3.11
Phenylalanine	PHE	Aromatic	2.06	1.99
Lysine	LIS	Positively charged	3.88	3.42
Tryptophan	TRP	Aromatic	Not detected	Not detected
Glycine	GLY	Aliphatic and apolar	21.92	23.85
Proline	PRO	Aliphatic and apolar	11.15	12.14
Hydroxyproline	HPRO	Aliphatic and apolar	7.05	9.25
TOTAL			98.48	97.11
Imino acids	PRO + HPRO		18.20	17.39

¹ Source: Nelson and Cox (2011); Nur Hanani, Roos, and Kerry (2014)).

3.3.2. Molecular weight distribution

In Fig. 2, it is observed that the molecular weight distribution of FG-GA and gelatin indicate the presence of β chains (two chains with covalent attachment) (Papon, Leblond, & Meijer, 2006). After the formation of the complex, there was a reduction of the band and decrease of the intensity, which corresponds to the lower availability of these chains, in addition to the increase in molecular weight. This reduction corresponds to the formation of a polyelectrolyte complex between gelatin and Gum Arabic (Sinthusamran, Benjakul, & Kishimura, 2014; Sinthusamran, Benjakul, Swedlund, & Hemar, 2017).

Gum Arabic has carboxyl groups with negative charges, thus considered anionic polysaccharides. The carboxylic acid groups are attached to the major monomer consisting of (3,6-linked β -D-galactopyranose substituted in position 6 by side chains of 3-linked α -Larabinofuranose). Due to the low isoelectric point of Gum Arabic, this polysaccharide must interact precisely with amphoteric proteins, as in the case of gelatin (Espinosa-Andrews et al., 2013).

As the concentration of Gum Arabic increases, the loading of the gelatin molecules surrounding those of Gum Arabic is neutralized by increasingly strong molecular interactions, until the lattice formed is stable, reinforced by weak interactions between coulomb dipoles and hydrogen bonds (Wagoner, Vardhanabhuti, & Foegeding, 2016).

The amount of positively charged residues (Lys, His and Arg) is 12.69 / 100 residues (Table 4). The level of these charged basic amino acids is relatively small, and practically all of them participate in electrostatic interaction. The increase in the number of particles in the

system due to the molecular interactions between gelatin and Gum Arabic is also influenced by the temperature and centrifugal force of the atomizer (Ishwarya et al., 2015).

3.3.3. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy

The interaction between gelatin and Gum Arabic molecules is also confirmed by the band shift in the FTIR spectra (Fig. 3).

It is observed that the FTIR spectrum for piramutaba gelatin (Fig. 3) is similar to commercial fish gelatin (Sinthusamran et al., 2017) and trout (Altan Kamer et al., 2019). The gelatin spectrum distribution (Fig. 3) exhibits characteristic absorption bands in specific bands. The absorption bands near 3275 cm^{-1} correspond to amide A and, according to Jridi et al. (2014), refer to the vibrations of OH and NH groups. The absorption bands near 2922 cm⁻¹ correspond to amide B and, according to Hamzeh et al. (2018), correspond to the vibrations of the groups =C-H and $-NH_3^+$. Absorption bands at 1639 cm^{-1} are characteristic of amides I and according to Liu et al. (2012), they are related to the elongation vibrations of C=O and CN groups. Bands close to 1535cm⁻¹ refer to amide II. Staroszczyk, Sztuka, Wolska, Wojtasz-Pajak, and Kołodziejska (2014)), state that they correspond to the vibrations of NH and CN groups. Finally, the bands at 1242cm⁻¹ are of the amide group III and, according to Staroszczyk et al. (2014), they correspond to the elongation of the vibrations of NH and CN groups.

In the FTIR spectrum for FG-GA (Fig. 3), it is observed that several absorption bands are displaced. A of amide A is displaced to 3267 cm -1, and that of amide B is 2918 cm -1. These changes indicate the



Fig. 2. Electrophoretic analysis of polyelectrolyte complex between fish gelatin and gum arabic (FG-GA) and fish gelatin from piramutaba.



Fig. 3. FTIR spectra for samples of fish gelatin, polyelectrolyte complex between fish gelatin and gum arabic (FG-GA) and native gum arabic.

formation of intermolecular hydrogen bonds between gelatin and Gum Arabic(Lassoued et al., 2014; Staroszczyk, Pielichowska, Sztuka, Stangret, & Kołodziejska, 2012, 2014). Similar effects were observed by FTIR spectroscopy in studies involving gelatin and gelatin films added with polysaccharides, such as k-carrageenan (Pranoto, Lee, & Park, 2007; Voron'ko, Derkach, Kuchina, & Sokolan, 2016), quitosana (Qiao, Ma, Zhang, & Yao, 2017; Staroszczyk et al., 2014; Voron'ko et al., 2016) or combinations of Gum Arabic, chitosan and gelatin (Gonçalves, Grosso, Rabelo, Hubinger, & Prata, 2018).

The addition of Gum Arabic to the gelatin produces effects of decreasing the amplitude of the bands of amide I and amide III. The reduction of the amide bands I of 1639 cm^{-1} to 1628 cm^{-1} and the amide III of 1242 cm^{-1} to 1238 cm^{-1} corresponds to loss of the helical triple structure attributed to the reduction of the intermolecular interactions

between the chains of gelatin. The decrease of these steric protected conformations makes the structure more susceptible to electrostatic interaction as random coil (Fakhreddin Hosseini, Rezaei, Zandi, & Ghavi, 2013; Jridi et al., 2014).

The use of Gum Arabic also results in the shift of the amide II bands to 1523 cm^{-1} . The displacement confirms the presence of electrostatic interactions between polyelectrolytes of the carboxyl group of Gum Arabic, linked to the main monomer (3,6-linked β -D-galactopyranose substituted in position 6 by side chains of 3-linked α -L-arabinofuranose) and the amino groups of Lys, Hyl, His and Arg(Staroszczyk et al., 2014). The displacement of the amide II between 1535 cm⁻¹ to 1523 cm⁻¹, Staroszczyk et al. (2012), 2014), results from the formation of hydrogen bonds between -NH groups of the gelatin with other groups.

3.3.4. Zeta potential

The Fig. 4 shows the effect of pH on the zeta potential of gelatin (FG), gum arabic (GA) and complex formed (FG-GA).

The zeta potential of FG increased from 19.14 to -19.34 mV, in the pH range from 3.1 to 11.3. Up to the isoelectric point (pH < 6.30), the NH3 + groups are protonated in function of acid pH. As pH increases, the deprotonation of NH3 + and COO- occurs, causing a decrease in zeta potential (Meka et al., 2017). The isoelectric point (pH of 6.30) of FG is characteristic of type B gelatins (Karim & Bhat, 2009; Prata & Grosso, 2015). Similar behavior was observed in GA, with variation -1.68 to -24.88 mV, in function of the deprotonation of the COO- groups (Hu et al., 2019).

The interaction between FG and GA can be observed in the graph through an intermediate curve of FG-GA (Fig. 4). The zeta potential of FG-GA increased from 10.66 to -24.88 mV, ranging from pH of 3.1 to 11.3. FG-GA has amphoteric characteristics, similar to native gelatin, but with an isoelectric point at pH of 5.57. The amount of charge is influenced by pH, however, this was not a deterrent factor to the formation of the complex. Even though there is an unbalance of loads, the polyelectrolyte interaction is favored by the friction (Meka et al., 2017) generated during the atomization, mainly by the use of high pressure (0.39 MPa) and rotation in the atomizer disc.

3.3.5. Morphological analysis of the polyelectrolyte complex between gelatin and gum arabic (GP-GA)

The analysis of the data obtained in this study and in the literature, gives subsidies to propose a general scheme of the formation of the polyelectrolyte complex between fish gelatin and gum arabic (FG-GA) (Fig. 5).

The formation of a polyelectrolyte complex between polysaccharides and proteins increases as the charges are neutralized, as in the isoelectric point. Thus, for the polyelectrolyte pair of Gum Arabic and gelatin the appropriate ratio should be 1:1(Boral & Bohidar, 2010), for that the positive charges of the gelatin are neutralized by negative charges of Gum Arabic. It is likely that each Gum Arabic macromolecule



Fig. 4. Effect of pH on the zeta potential of solutions at 2% (v / v). Null loads at pH of 6.30 for gelatin (FG) and pH of 5.57 for the complex (FG-GA).



Fig. 5. Qualitative scheme illustrating the formation of polyelectrolyte complex between fish gelatin and gum arabic (FG-GA). Complex atomized in the extensions: 0x (i), 3880x (ii) and 4950x (iii).

is stabilized within the stoichiometrically balanced gelatin contained in a polyelectrolyte gelatin shell which blocks the action of other fillers, assuming a compact form (Fig. 5).(Kizilay, Dinsmore, Hoagland, Sun, & Dubin, 2013; Wagoner et al., 2016).

In this study, the atomizer disc produced wrinkled, porous and flattened particles (Fig. 5), similar to the results obtained in encapsulation of probiotics (Arepally & Goswami, 2019)and bioactives compounds(Rajabi, Ghorbani, Jafari, Sadeghi Mahoonak, & Rajabzadeh, 2015)where they used gelatin and gum arabic.

3.4. Characterization of the gelatin, gum arabic, polyelectrolyte complex

The characterization of the polyelectrolyte complex is shown in Table 5.

The complex presented moisture below 15%, within the limit established for gelatin for food and atomized products (Hamzeh et al., 2018). The sugars levels detected are derived from the addition of Gum Arabic. The pH > 5 provides conditions for proliferation of proteolytic bacteria (GME, 2012), however, it is expected that the low moisture and a_w associated with vacuum storage are sufficient for conservation. The pH found is characteristic, mainly, of the pretreatment (saline, alkaline and acid) of Type B ediblegelatin (GME, 2015; Jones, 1977).

Table 5

Characterization of the gelatin (FG), gum Arabic (GA) and polyelectrolyte complex (FG-GA) atomized under optimal conditions.

FG	GA	FG-GA
$\begin{array}{l} 7.68 \ \pm \ 0.13 \\ 88.77 \ \pm \ 0.87 \\ 0.87 \ \pm \ 0.12 \\ 2.35 \ \pm \ 0.03 \end{array}$	6.10 ± 0.13 4.25 ± 0.05 * 2.70 ± 0.07 88.02 ± 0.12	$\begin{array}{r} 9.42 \ \pm \ 0.43 \\ 66.04 \ \pm \ 0.22 \\ 0.71 \ \pm \ 0.19 \\ 2.41 \ \pm \ 0.25 \\ 21.89 \ \pm \ 0.65 \end{array}$
0.63 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.27 ± 0.01
11.0 ± 0.02	4.30 ± 0.05	9.34 ± 0.09
102.00 ± 0.32	110.00 ± 0.12	$102~\pm~0.37$
106.00 ± 0.45	111.00 ± 0.09	107 ± 0.37
117.00 ± 0.12	113.00 ± 0.05	113 ± 0.37
35.01 ± 1.04	$24.17~\pm~2.89$	5.01 ± 1.69
$3.90 \cdot 10^{-3} \pm 0.10$	$5.50 \cdot 10^{-3} \pm 0.10$	$6,90 \cdot 10^{-3} \pm 0.20$
0.41 ± 0.10	0.72 ± 0.01	0.66 ± 0.02
11.18 ± 0.47	30.76 ± 1.03	5.55 ± 0.66
86.22 ± 0.47	94.87 ± 0.24	88.10 ± 0.89
$9.32~\pm~0.01$	5.13 ± 0.14	$6.91~\pm~0.85$
	FG 7.68 \pm 0.13 88.77 \pm 0.87 0.87 \pm 0.12 2.35 \pm 0.03 0.63 \pm 0.01 11.0 \pm 0.02 102.00 \pm 0.32 106.00 \pm 0.45 117.00 \pm 0.12 35.01 \pm 1.04 3.90 \cdot 10 ⁻³ \pm 0.10 0.41 \pm 0.10 11.18 \pm 0.47 86.22 \pm 0.47 9.32 \pm 0.01	FG GA 7.68 \pm 0.13 88.77 \pm 0.87 0.87 \pm 0.12 2.35 \pm 0.03 \pm 0.12 2.35 \pm 0.03 \pm 0.01 11.0 \pm 0.02 \pm 0.36 \pm 0.01 11.0 \pm 0.02 \pm 0.36 \pm 0.01 11.0 \pm 0.02 \pm 0.36 \pm 0.01 11.00 \pm 0.12 106.00 \pm 0.32 110.00 \pm 0.12 106.00 \pm 0.45 111.00 \pm 0.09 117.00 \pm 0.12 35.01 \pm 1.04 24.17 \pm 2.89 3.90 \cdot 10 ⁻³ \pm 0.10 0.41 \pm 0.10 11.18 \pm 0.47 86.22 \pm 0.47 94.87 \pm 0.24 9.32 \pm 0.01

¹Wet basis; ²Dry basis.

* Not detected.

The Foaming Capacity (FC) showed expected behavior, where the increase complex concentration produced higher FC. Studies show that protein foams are more stable at pH near the isoelectric point, due to the proximity of the cations and anions, which gives greater stability of the interface (Phawaphuthanon, Yu, Ngamnikom, Shin, & Chung, 2019). The behavior of FC can be attributed to salting pre-treatment (*salting in*), denaturation (extraction with hot water) and the presence of Ca^{2+} and Mg²⁺ ions (supplementary material), which favor the formation of crosslinks (Damodaran et al., 2007). Similar results were found for FC on filhote fish gelatin (Silva, da Lourenço, de, Pena, & da, 2017).

In this study, low values of Emulsifying Capacity (EC) are associated with the complex formation between gelatin and Gum Arabic, which decreases the presence of free peptides to bind with the oil. In addition, the EC found is close to atomized gelatin from marine sources (Kanwate et al., 2019), indicating that it is directly affected by the drying process. In proteins, EC is related to the degree of exposure of apolar residues (Table 5), to the tyrosine content, extraction process, final pH, ionic strength, presence of surfactants, sugars, among others (Shyni et al., 2014).

Another parameter that demonstrates the complex formation studied here is the bulk viscosity $(6.9 \times 10^{-3} \text{ Pa·s})$, which reflects the degree of intermolecular interaction between gelatin and Gum Arabic. This interaction, in aqueous medium, behaves as a non-Newtonian pseudoplastic liquid (Pal, Giri, & Bandyopadhyay, 2016). The presence of branching in the structure of the polysaccharide increases the viscosity, due to the interaction of hydrogen bonds with water, increasing the surface of the three-dimensional network (Rafe & Razavi, 2017).

Bulk Density (BD) is related to particle size and integrity, friability and flow properties (Mahdavee Khazaei et al., 2014). When the electrophoresis (Fig. 3) and the microscopic structure (Fig. 5) are observed, the high molecular weight (225kda to 150kda) and flattening, common in atomized products, promotes better accommodation of the spaces between the particles, resulting in higher bulk density. Thus, increasing the concentration of gum arabic also promotes higher bulk density (Fernandes, Borges, & Botrel, 2013; Tonon et al., 2010).

The formation of the polyelectrolyte complex and atomization removed most of the water producing occupancy of the hydrophilic radicals (-O and - OH). Consequently, a lower concentration gradient for the relative humidity of the air was formed, resulting in low hygroscopicity. This hypothesis is reinforced by the low aw (0.27), and by the results of the molecular weight distribution (Fig. 3). Similar behavior was found in coffee (Frascareli, Silva, Tonon, & Hubinger, 2012) and essential rosemary oil (Fernandes et al., 2013), both using Gum Arabic as a wall material.

Water Solubility Index (WSI) and Water Absorption Index (WAI) are also related to the availability of hydrophilic radicals. Fig. 5B shows the formation of a porous surface resulting from the high speed of rotation of the atomizing disk, which gave rise to WSI and WAI. The solubility of the complex is close to the atomized gelatin of squid skin (Hamzeh et al., 2018)and swimming bladder of *Labeo rohita* (Kanwate et al., 2019). The absorption of water is directly linked to the availability of free hydrophilic radicals, depending on the extraction temperature and the atomization. The tropocollagen structure tends to open with increasing temperature, allowing higher interaction and higher Gel Strength (Fig. 1C). However, complex formation provides fewer hydrophilic radicals available, limiting WAI.

4. Conclusion

The interaction between fish gelatin and gum arabic generated a polyelectrolyte complex (FG-GA), as demonstrated by the results of amino acid profile, electrophoresis, FTIR, zeta potential and MEV. The FG-GA formation promoted positive changes, such as higher atomization yield, adequate Gel Strength, low hygroscopicity and high solubility.

According to the proposed models, the optimal conditions for FG-GA formation were 33.4% Gum Arabic concentration and atomization at the inlet temperature of 130 °C. The desirability found (D = 0.866) resulted in 6.62 g/h yield, 0.27 a_w and 247 g of Gel Strength. The technological properties of FG-GA are in accordance with the recommended for atomized products and gelatin for use in the food industry and other fields. The complex formed can be used for industrial applications as food additive, as in the stabilizing function in dairy products, increase the water retention capacity in meat products, emulsifier in ice cream, among others.

Acknowledgment

All authors acknowledge the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), case no. 469101 / 2014-8, the Commission for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), the Pro-Rectory for Research and Graduate Studies (PROPESP-UFPA), the Amazônia Support Foundation Studies and Research (FAPESPA), the Laboratory of Vibrational Spectroscopy and High Pressure (PPGF/UFPA) and the Federal Institute of Education, Science and Technology (IFPA) for all support in the present paper.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115068.

References

- Ahmad, M., & Benjakul, S. (2011). Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (Aluterus monoceros) as influenced by acid pretreatment and extraction time. *Food Hydrocolloids*, 25(3), 381–388.
- Al-Hassan, A., & Norziah, M. H. (2012). Starch–Gelatin edible films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizers. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 108–117.
- Alfaro, A., da, T., Fonseca, G. G., Balbinot, E., & Prentice, C. (2013). Characterization of wami tilapia (Oreochromis urolepis hornorum) skin gelatin: Microbiological, rheological and structural properties. *Food Science and Technology International*.
- Altan Kamer, D. D., Palabiyik, I., Işık, N. O., Akyuz, F., Demirci, A. S., & Gumus, T. (2019). Effect of confectionery solutes on the rheological properties of fish (Oncorhynchus)

mykiss) gelatin. LWT, 101(November 2018), 499-505.

- Anderson, R. A., Conway, H. F., & Peplinski, A. J. (1970). Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming. *Starch - Stärke*, *22*(4), 130–135.
 Anvari, M., & Joyner (Melito), H. S. (2018). Effect of fish gelatin and gum arabic inter-
- actions on concentrated emulsion large amplitude oscillatory shear behavior and tribological properties. *Food Hydrocolloids*, 79, 518–525.
- AOAC (2000). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. HORWITZ, W, 17^a ed. Arlington: AOAC Inc.
- Arepally, D., & Goswami, T. K. (2019). Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *Lwt*, 99(September), 583–593.
- Benjakul, S., Thiansilakul, Y., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Kishimura, H., Prodpran, T., & Meesane, J. (2010). Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagens from the skin of bigeye snapper (Priacanthus tayenus and Priacanthus macracanthus). Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(1), 132–138.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. G. (1956). A rapid method for total lipid extraction and purification. Can.J.Biochem.Physiol, 37, 911–917.
- Bonferoni, M. C., Bettini, R., Sandri, G., De Robertis, S., Caramella, C., & Elviri, L. (2014). Advances in oral controlled drug delivery: the role of drug–polymer and interpolymer non-covalent interactions. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 12(3), 441–453.
- Boral, S., & Bohidar, H. B. (2010). Effect of ionic strength on surface-selective patch binding-induced phase separation and coacervation in similarly charged gelatin – Agar molecular systems. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(37), 12027–12035
- Box, G. E. P., Hunter, W. G., & Hunter, J. S. (1978). Statistics for experiments: An introduction to design, data analysis and model building. New York: John Wiley & Son.
- Braga, A. H. F. (2013). Elaboração e caracterização de filmes coacervados à base de gelatina/ quitosana, gelatina/pectina e gelatina/goma arábica. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.
- BSI (197⁻). Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods). In Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods). London: British Standard Institution.
- Bueno, C. M., Alvim, D., I, R. D., Koberstein, T. C., 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(01), 65–73.
- Bukzem, A. L., Signini, R., dos Santos, D. M., Lião, L. M., & Ascheri, D. P. R. (2016). Optimization of carboxymethyl chitosan synthesis using response surface methodology and desirability function. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 615–624.
- Butstraen, C., & Salaün, F. (2014). Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. Carbohydrate Polymers, 99, 608–616.
- Cai, Y. Z., & Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. Journal of Food Science, 65(7), 1248–1252.
- Campelo, P. H., Junqueira, L. A., Resende, J., de, V., Zacarias, R. D., Fernandes, R. V., & Borges, S. V. (2017). Stability of lime essential oil emulsion prepared using biopolymers and ultrasound treatment. *International Journal of Food Properties*, 20(1), S564–S579.
- Chen, L., Ma, L., Zhou, M., Liu, Y., & Zhang, Y. (2014). Effects of pressure on gelatinization of collagen and properties of extracted gelatins. *Food Hydrocolloids*, 36, 316–322.
- Cheow, C. S., Norizah, M. S., Kyaw, Z. Y., & Howell, N. K. (2007). Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (Johnius dussumieri) and shortfin scad (Decapterus macrosoma). *Food Chemistry*, 101(1), 386–391.
- Cho, S., Kwak, K., Park, D., Gu, Y., Ji, C., Jang, D., ... Kim, S. (2004). Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (Isurus oxyrinchus) cartilage. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 573–579.
- Choi, S. S., & Regenstein, J. M. (2000). Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin. *Journal of Food Science*, 65(2), 194–199 Retrieved from http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15978.x.
- Daboor, S. M., Budge, S. M., Ghaly, A. E., Brooks, S. L., & Dave, D. (2010). Extraction and purification of collagenase enzymes: A critical review. *American Journal of Biochemistry & Biotechnology*, 6(4), 239–263.
- Damodaran, I. S., Parkin, K. L., & Fennema, O. R. (2007). Fennema's food chemistry. London: CRC Press. Wang923–973.
- Das, B. P., & Tsianou, M. (2017). From polyelectrolyte complexes to polyelectrolyte multilayers: Electrostatic assembly, nanostructure, dynamics, and functional properties. Advances in Colloid and Interface Science, 244, 71–89.
- Esfahani, R., Jafari, S. M., Jafarpour, A., & Dehnad, D. (2019). Loading of fish oil into nanocarriers prepared through gelatin-gum Arabic complexation. *Food Hydrocolloids*, 90(October 2018), 291–298.
- Espinosa-Andrews, H., Enríquez-Ramírez, K. E., García-Márquez, E., Ramírez-Santiago, C., Lobato-Calleros, C., & Vernon-Carter, J. (2013). Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 161–166.
- Eysturskarð, J., Haug, I. J., Elharfaoui, N., Djabourov, M., & Draget, K. I. (2009). Structural and mechanical properties of fish gelatin as a function of extraction conditions. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1702–1711.
- Fakhreddin Hosseini, S., Rezaei, M., Zandi, M., & Ghavi, F. F. (2013). Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chemistry*, 136(3–4), 1490–1495.
- Fernandes, R. V., de, B., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2013). Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. *CiÃ^ancia E Tecnologia de Alimentos*, 33(1), 171–178.
- Frascareli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and*

Bioproducts Processing, 90(3), 413-424.

- GME (2012). Gelatin handbook. Gelatin Manufacturers Institute of America.
 GME (2015). Gelatin manufacturers of europe. Retrieved May 4, 2018, from 2015 website:http://www.gelatin.org/about-hydrolysed-collagen/history.html.
- Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. E., & Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. Food Hydrocolloids, 25(8), 1813–1827.
- Gonçalves, N. D., Grosso, C. R. F., Rabelo, R. S., Hubinger, M. D., & Prata, A. S. (2018). Comparison of microparticles produced with combinations of gelatin, chitosan and gum Arabic. *Carbohydrate Polymers*, 196(May), 427–432.
- Hamzeh, A., Benjakul, S., Sae-leaw, T., & Sinthusamran, S. (2018). Effect of drying methods on gelatin from splendid squid (Loligo formosana) skins. *Food Bioscience*, 26(March), 96–103.
- Haug, I. J., Draget, K. I., & Smidsrød, O. (2004). Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloids*, 18(2), 203–213.
- Hu, B., Han, L., Kong, H., Nishinari, K., Phillips, G. O., Yang, J., & Fang, Y. (2019). Preparation and emulsifying properties of trace elements fortified gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 88, 43–49.
- Huang, T., Tu, Z., Shangguan, X., Sha, X., Wang, H., Zhang, L., & Bansal, N. (2019). Fish gelatin modifications: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 86(November 2017), 260–269.
- Ishwarya, S. P., Anandharamakrishnan, C., & Stapley, A. G. F. (2015). Spray-freezedrying: A novel process for the drying of foods and bioproducts. *Trends in Food Science* & *Technology*, 41(2), 161–181.
- Jeevithan, E., Bao, B., Zhang, J., Hong, S., & Wu, W. (2015). Purification, characterization and antioxidant properties of low molecular weight collagenous polypeptide (37 kDa) prepared from whale shark cartilage (Rhincodon typus). *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6312–6322.
- Jones, N. R. (1977). In A. Ward, & A. Courts (Eds.). Uses of gelatin in edible products (pp. 365–394). London: Academic Press Inc. The Science and Technology of Gelatin PMid:15044.
- Jridi, M., Hajji, S., Ayed, H., Ben, L. I., Mbarek, A., Kammoun, M., ... Nasri, M. (2014). Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 373–379.
- Kanwate, B. W., Ballari, R. V., & Kudre, T. G. (2019). Influence of spray-drying, freezedrying and vacuum-drying on physicochemical and functional properties of gelatin from Labeo rohita swim bladder. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 135–141.
- Karim, A. A., & Bhat, R. (2009). Fish gelatin: Properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 563–576.
- Kasankala, L. M., Xue, Y., Weilong, Y., Hong, S. D., & He, Q. (2007). Optimization of gelatin extraction from grass carp (Catenopharyngodon idella) fish skin by response surface methodology. *Bioresource Technology*, 98(17), 3338–3343.
- Kizilay, E., Dinsmore, A. D., Hoagland, D. A., Sun, L., & Dubin, P. L. (2013). Evolution of hierarchical structures in polyelectrolyte-micelle coacervates. *Soft Matter*, 9(30), 7320–7332. https://doi.org/10.1039/c3sm50591j.

Kozlov, P. V., & Burdygina, G. I. (1983). Polymer reviews. POLYMER, 24, 651-666.

- Kumar, P., Bijukumar, D., Choonara, Y. E., Pillay, V., Du Toit, L. C., & Siyawamwaya, M. (2015). A review: Overview of novel polyelectrolyte complexes as prospective drug bioavailability enhancers. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 64(18), 955–968.
- Lassoued, I., Jridi, M., Nasri, R., Dammak, A., Hajji, M., Nasri, M., & Barkia, A. (2014). Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. *Food Hydrocolloids*, 41, 309–318.
- Liu, Z., Ge, X., Lu, Y., Dong, S., Zhao, Y., & Zeng, M. (2012). Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatin-based films. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 311–317.
- Lutz, I. A. (2008). Métodos físicos-quimicos para análise de Alimentos. Métodos Físicos-Quimicos Para Análise de Alimentos, 589–625.
- Mad-Ali, S., Benjakul, S., Prodpran, T., & Maqsood, S. (2016). Interfacial properties of gelatin from goat skin as influenced by drying methods. *LWT - Food Science and Technology*, 73, 102–107.
- Mahdavee Khazaei, K., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Hemmati Kakhki, A. (2014). Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. *Carbohydrate Polymers*, 105(1), 57–62.
- Meka, V. S., Sing, M. K. G., Pichika, M. R., Nali, S. R., Kolapalli, V. R. M., & Kesharwani, P. (2017). A comprehensive review on polyelectrolyte complexes. *Drug Discovery Today*, 22(11), 1697–1706.
- Montero, P., & Gomez-Guillen, M. C. (2000). Extracting conditions for megrim (Lepidorhombus boscii) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin. *Journal of Food Science*, 65(3), 434–438.
- Muyonga, J., Cole, C. G., & Duodu, K. (2004). Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (Lates niloticus) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids*, 18(4), 581–592.
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2011). Lehninger's principles of biochemistry (5th edition). W. H. Freeman and Company.
- Niu, L., Zhou, X., Yuan, C., Bai, Y., Lai, K., Yang, F., & Huang, Y. (2013). Characterization of tilapia (Oreochromis niloticus) skin gelatin extracted with alkaline and different acid pretreatments. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 336–341.
- Nur Hanani, Z. A., Roos, Y. H., & Kerry, J. P. (2014). Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products. *International Journal* of Biological Macromolecules, 71, 94–102.
- Oliveira, L. C. (2014). Otimização da extração de gelatina a partir de pele de tambaqui

Carbohydrate Polymers 223 (2019) 115068

(colossoma macropomum). (Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará). Retrieved fromhttp:// ppgcta.propesp.ufpa.br/index.php/br/teses-e-dissertacoes/dissertacoes/48-2014.

- Pal, A., Giri, A., & Bandyopadhyay, A. (2016). Influence of hydrodynamic size and zeta potential of a novel polyelectrolyte poly(acrylic acid) grafted guar gum for adsorption of Pb(II) from acidic waste water. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(2), 1731–1742.
- Papon, P., Leblond, J., & Meijer, P. H. E. (2006). Gelation and transitions in biopolymers. Retrieved from189–213. http://link.springer.com/chapter/10.1007/3-540-33390-8_ 6%5Cnhttp://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F3-540-33390-8_6.
- Phawaphuthanon, N., Yu, D., Ngamnikom, P., Shin, I. S., & Chung, D. (2019). Effect of fish gelatin-sodium alginate interactions on foam formation and stability. *Food Hydrocolloids*, 88(February 2018), 119–126.
- Pires, F. C. S., & Pena, R. S. (2017). Optimization of spray drying process parameters for tucupi powder using the response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3459–3472.
- Pranoto, Y., Lee, C. M., & Park, H. J. (2007). Characterizations of fish gelatin films added with gellan and k-carrageenan. LWT - Food Science and Technology, 40(5), 766–774.
- Prata, A. S., & Grosso, C. R. F. (2015). Production of microparticles with gelatin and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, *116*, 292–299.
- Qiao, C., Ma, X., Zhang, J., & Yao, J. (2017). Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. Food Chemistry, 235, 45–50.
- Rafe, A., & Razavi, S. M. A. (2017). Scaling law, fractal analysis and rheological characteristics of physical gels cross-linked with sodium trimetaphosphate. *Food Hydrocolloids*, 62, 58–65.
- Rajabi, H., Ghorbani, M., Jafari, S. M., Sadeghi Mahoonak, A., & Rajabzadeh, G. (2015). Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. *Food Hydrocolloids*, 51, 327–337.
- Sae-Leaw, T., Benjakul, S., & O'Brien, N. M. (2016). Effect of pretreatments and drying methods on the properties and fishy Odor/Flavor of gelatin from seabass (*Lates calcarifer*) skin. Drying Technology, 34(1), 53–65.
- Schrieber, R., & Gareis, H. (2007). Gelatin handbook: Theory and industrial practice (1st editio. Weinhem: Wiley-VCH GmbH & Co.
- Shyni, K., Hema, G. S., Ninan, G., Mathew, S., Joshy, C. G., & Lakshmanan, P. T. (2014). Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (Katsuwonus pelamis), dog shark (Scoliodon sorrakowah), and rohu (Labeo rohita). *Food Hydrocolloids*, 39, 68–76.
- Silva, E. V. C., da Lourenço, L., de, F. H., Pena, R., & da, S. (2017). Obtaining gelatin from the skin of Gilthead Bream (brachyplathystoma rousseauxii) using two pre-treatment. Advance Journal of Food Science and Technology, 13(5), 182–189.

- Silva, E. V. C., da Pena, R., da, S., Lourenco, L., & de, F. H. (2016). Gelatin extraction from Kumakuma (Brachyplathystoma filamentosum) skin using the liming method. *African Journal of Agricultural Research*, 11(30), 2678–2688.
- Sinthusamran, S., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2014). Characteristics and gel properties of gelatin from skin of seabass (Lates calcarifer) as influenced by extraction conditions. *Food Chemistry*, 152, 276–284.
- Sinthusamran, S., Benjakul, S., Swedlund, P. J., & Hemar, Y. (2017). Physical and rheological properties of fish gelatin gel as influenced by κ-carrageenan. *Food Bioscience*, 20(May), 88–95.
- Staroszczyk, H., Pielichowska, J., Sztuka, K., Stangret, J., & Kołodziejska, I. (2012). Molecular and structural characteristics of cod gelatin films modified with EDC and TGase. Food Chemistry, 130(2), 335–343.
- Staroszczyk, H., Sztuka, K., Wolska, J., Wojtasz-Pająk, A., & Kołodziejska, I. (2014). Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films: FT-IR study. Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 117, 707–712.
- Tabarestani, H. S., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, a, & Mahoonak, a. R. S. (2010). Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (Onchorhynchus mykiss). *Bioresource Technology*, 101(15), 6207–6214.
- Tang, L., Chen, S., Su, W., Weng, W., Osako, K., & Tanaka, M. (2015). Physicochemical properties and film-forming ability of fish skin collagen extracted from different freshwater species. *Process Biochemistry*, 50(1), 148–155.
- Tonon, R. V., Baroni, A. F., Brabet, C., Gibert, O., Pallet, D., & Hubinger, M. D. (2009). Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (Euterpe oleracea Mart.) juice. *Journal of Food Engineering*, 94(3–4), 215–221.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (Euterpe oleracea Mart.) juice produced with different carrier agents. Food Research International, 43(3), 907–914.
- Voron'ko, N. G., Derkach, S. R., Kuchina, Y. A., & Sokolan, N. I. (2016). The chitosan-gelatin (bio)polyelectrolyte complexes formation in an acidic medium. *Carbohydrate Polymers*, 138, 265–272.
- Wagoner, T., Vardhanabhuti, B., & Foegeding, E. A. (2016). Designing whey protein–Polysaccharide particles for colloidal stability. *Annual Review of Food Science* and Technology, 7(1), 93–116.
- Wang, S., Agyare, K., & Damodaran, S. (2009). Optimisation of hydrolysis conditions and fractionation of peptide cryoprotectants from gelatin hydrolysate. *Food Chemistry*, 115(2), 620–630.
- White, J., Hart, R. J., & Fry, J. C. (1986). An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *The Journal of Automatic Chemistry*, 8(4), 170–177.