



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E
BIOPROCESSOS
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS

ADMIR SENDY SANTOS ALVES

EXTRAÇÃO DE COLÁGENO COMO FORMA DE APROVEITAMENTO DE
RESÍDUOS GERADOS PELO BENEFICIAMENTO DA TILÁPIA

SUMÉ-PB
Junho 2016

ADMIR SENDY SANTOS ALVES

**EXTRAÇÃO DE COLÁGENO COMO FORMA DE APROVEITAMENTO DE
RESÍDUOS GERADOS PELO BENEFICIAMENTO DA TILÁPIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro de Biotecnologia e Bioprocessos

Orientadora: Prof^a Dr^a Glauciane Danusa Coelho-UFCG/CDSA

SUMÉ-PB
Junho 2016

A474e Alves, Admir Sendy Santos.

Extração de colágeno como forma de aproveitamento de resíduos gerados pelo beneficiamento da tilápia. / Admir Sendy Santos Alves. - Sumé - PB: [s.n], 2016.

46 f.

Orientador^a: Prof^a. Dr^a. Glauciane Danusa Coelho.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Biotecnologia. 2. Poluição do ambiente - tratamento. 3. Resíduos de pescado - Tilápia. I. Título.

CDU: 628 (043.3)

ADMIR SENDY SANTOS ALVES

EXTRAÇÃO DE COLÁGENO COMO FORMA DE APROVEITAMENTO DE
RESÍDUOS GERADOS PELO BENEFICIAMENTO DA TILÁPIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Engenharia de Biotecnologia e
Bioprocessos, do Centro de Desenvolvimento
Sustentável do Semiárido da Universidade
Federal de Campina Grande, como requisito
parcial à obtenção do título de Engenheiro de
Biotecnologia e Bioprocessos.

BANCA EXAMINADORA:

Glauciane Danusa Coelho

Prof.^a. Dr.^a Glauciane Danusa Coelho

Orientadora – UFCG/CDSA

Norma Maria de Oliveira Lima

Dr.^a. Norma Maria de Oliveira Lima

Examinadora – UFCG/CDSA

Ana Mary da Silva

Prof. Dr.^a Ana Mary da Silva

Examinadora – UFCG/CDSA

Aprovado em: 02 de junho de 2016

SUMÉ- PB

OFERECIMENTO/DEDICO

Dedico esse trabalho em especial a minha família, e todos que me proporcionaram um meio pra atingir esse objetivo.

“ A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original ”

ALBERT EINSTEIN

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente Deus pela vitória e força de nunca ter me deixado desistir e sempre estar presente em todos os momentos da minha vida.

Agradeço aos meus pais, Carlos Alberto Rodrigues de Pina Alves e Maria Quita Vieira Santos por todo amor e dedicação, e pela confiança e incentivo.

Aos meus avos paternos Ana Gabriela Rodrigues Pina e Manuel Santos Alves pelo carinho, bondade e amor que sempre me ofereceram e aos meus avos maternos Simão Vieira dos Santos e Edith Vieira Santos pelo carinho e amor

Aos meus irmãos, Nicholas Rodrigues Santos Alves e Elder Lucindo Vieira dos Santos e minha irmã Rilda Mosso Santos de Pina pela força, carinho e amor, e aos meus tios, sobrinhos e primos pela amizade e confiança

A minha orientadora Prof^a. Dr^a Glauciane Danusa Coelho pela confiança carinho e amizade que me demonstrou ao longo desses anos.

Ao professor Prof. Dr. Jean Queiroz , Franklin Nóbrega e Aldre Barros pela paciência, confiança e amizade

A Prof^a. Dr^a Ana Mary da Silva pela confiança, apoio, amizade e carinho por esses anos todos.

A técnica de laboratório Dr^a Norma Maria de Oliveira Lima pela ajuda e carinho, e aos demais técnicos do laboratório do Campus de Sumé

A minha namorada Milena Cardozo pela força nos momentos difícil e pela compreensão e carinho

Aos meus amigos João Rodrigues, Daniel Farias, Jose William, Luis Alves , Mario Cardozo, Célia Gonçalves, Alison Silva, Vany Barbosa, Eder Lopes, Luana Braz, Anatolio Fonseca, Laedson Cavalcante, Paula Santos; Anderson Steyner; Debora Tavares; Thalita Neves Italo Braz Joanny Bandeira, Izabela Campos, Estela Beatriz, Julya Karolyne, Rosilândia Almeida e Caio Azevedo e ao demais amigos e colegas de Turma Biotec.2011.1 pelo carinho e amizade

Aos funcionários do campus CDSA e todos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento e desenvolvimento como pessoa física e como um profissional.

RESUMO

No beneficiamento do pescado da tilápia, o filé é o item de maior valor econômico, porém essa atividade é geradora de resíduos que são dispostos inadequadamente no ambiente, sem qualquer tipo de tratamento causando problemas de poluição ambiental. Dessa forma, o aproveitamento de resíduos de pescado pode ser um modo de geração de trabalho e renda, além de reduzir os problemas ambientais. A obtenção de colágeno a partir de tais resíduos tem chamado a atenção devido as propriedades emulsificantes, presença de agentes espumantes, estabilizantes coloidais, capacidade de formar películas biodegradáveis, agentes microencapsulantes, com a possibilidade de substituir o material sintético pelo natural. Esse trabalho teve como objetivo a utilização de pele e nadadeiras de tilápia para a extração de colágeno, para tanto, foram efetuados dois planejamentos fatoriais 2^2 avaliando dois tipos de métodos de extração. No primeiro, método de cocção, avaliou-se o efeito da temperatura e do tempo de exposição a esse fator. No segundo, método ácido-base, verificou-se o efeito e das concentrações de NaOH (0,2 e 0,05 M) em função do tempo de tratamento (30 e 50 min). No método de cocção o maior rendimento foi de 15,5 % em condições de 60 °C/ 6 h. No método ácido-base, a concentração de NaOH foi o único que influenciou significativamente o rendimento ($p \leq 0,05$), sendo que o maior rendimento de 12,51 %, (0,1 de NaOH no tempo de imersão de 40 min. Os valores de cinzas das amostras obtidas variaram de 5,20% a 2,21%. O conteúdo de proteínas variou entre 92,56% e 74,32%. A avaliação das amostras de colágeno obtidas apresentaram-se dentro dos padrões da ANVISA.

Palavras Chaves: Planejamento Fatorial. Tratamento. Poluição Ambiente. Resíduos de Pescado.

ABSTRACT

In the processing of fish tilapia, the filet is the largest item of economic value, however this activity is generating wastes that are improperly disposed in the environment without any treatment causing environmental pollution problems. This way the fish waste recovery can be a way of generating work and income, besides reduce environmental problems. Obtaining collagen from such waste has drawn attention because of the emulsifying properties, the presence of foaming agents, colloidal stabilizers, ability to form biodegradable films, microencapsulating agents, with the possibility of replacing the synthetic material by natural. This study aimed to use skin and fins of tilapia for collagen extraction, therefore, two factorial designs were made 2^2 evaluating two types of extraction methods. In the first the boiling method, we evaluated the effect of temperature and time of exposure to this factor. Then, the acid-base method, there is the effect and NaOH concentrations (0.2 to 0.05 M) in function of the treatment time (30 to 50 min). In the method the boiling the highest yield was 15.5% in conditions of 60 OC / 6 h. In the acid-base method, the NaOH concentration it was the only one influenced that significantly the yield ($p \leq 0.05$), and the highest yield of 12.51% (0.1 NaOH in the immersion time of 40 min). The ashes values of the samples ranging from 5.20% to 2.21%. The protein content is between 92.56% and 74.32%. The analysis of the obtained collagen samples was presented in conformity with ANVISA standards.

Keywords: Factorial Planning. Treatment. Environment Pollution. Fishing Waste.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Representação de duas Espécies de Tilápia (a) <i>Oreochromis niloticus</i> e (b) <i>Oreochromis mossambicus</i>	17
Figura 2-Representação da estrutura e aminoácidos do colágeno.....	21
Figura 3-Ilustração de Pele e nadadeiras de Tilápia no processo lavagem (a) e descarte(b)...	26
Figura 4-Método de Pré-Tratamento e Extração	28
Figura 5-Curva padrão de proteínas de reagente Biureto tendo soro albumina bovina diluída em salina (0,9 %) como padrão.	30
Figura 6-Colágeno obtido em diferentes concentrações.....	33
Figura 7-Diagrama de Pareto dos parâmetros avaliados na extração ácido-base do colágeno.	33
Figura 8-Superfície de resposta do rendimento em função da concentração de NaOH e Tempo	34
Figura 10-Ilustração das amostras de Colágeno Antes (imagem à esquerda) e Depois (imagem à direita) da queima na mufla	36
Figura 9-Pareto Percentual do Teor de Cinza (a) e Quantidade de Proteínas (b).....	36
Figura 11-Ilustração da determinação de proteínas pelo método de Biureto.	37
Figura 12-Ilustração de placas com contaminação e sem contaminação de bactérias (a) sem contaminação (b) Bactérias <i>Klebsiella pneumoniae</i> e (c) Bactérias <i>Escherichia coli</i>	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Variáveis do planejamento fatorial 2^2	26
Tabela 2-Matriz do planejamento experimental fatorial 2^2 com três repetições no ponto central	27
Tabela 3-Variáveis do planejamento fatorial 2^2	27
Tabela 4-Matriz do planejamento experimental fatorial 2^2 com três repetições no ponto central	28
Tabela 5-Preparação do meio de cultura, para análise de coliformes fecais.	30
Tabela 6-Matriz de planejamento experimental dos resultados obtidos para o rendimento (método de cocção).....	31
Tabela 7-Matriz do planejamento experimental, com os dados obtidos para o rendimento (%) do colágeno (Método Ácido-Base).....	32
Tabela 8-Tabela da ANOVA, com os erros do somatório das médias (SQ), Grau de Liberdade (df), Media Quadrática (MQ), Razão entre os somatório (f), Índice de significância (p) onde *(Foram significativo $p>0,05$) e **(Não foram significativos $p>0,05$)	35
Tabela 9-Teor de Cinza e Quantidade de proteínas em percentual e as respectivas condições	35
Tabela 10-Avaliações microbiológicas do colágeno extraído da pele de tilápia.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
by	Interação
C	Celsius
CDSA	Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNOCS	Departamento Nacional de Obras Contra a Seca
Cinzas	Quantidade de cinzas em percentual
df	Grau de Liberdade
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
Gly	Glicina
g	Gramas
h	Hora
Hyp	Hidroxiprolina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
JSP	Piscicultura São Jerônimo
MPA	Ministério da Pesca e Aquicultura
M_{cinzas}	Massa de cinza pesada

M_{Amostra}	Massa da amostra inicial
M	Concentração molar
MQ	Média Quadrada
min	Minuto
mg	Miligrama
mL	Mililitro
NBR	Norma Brasileira
nm	Nanômetro
PDA	Plano de Desenvolvimento da Aquicultura
Pro	Prolina
P	Proteínas
p	Índice de significância
SQ	Soma dos Quadrados
s	Segundo
T	Temperatura
t	Valor para a distribuição t
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UAEB	Unidade Acadêmica de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
μm	Micrometro
Y	Numero de Absorbância
X	Quantidade de proteína

LISTAS DE SIMBOLOS

α	Alfa
β	Beta
R ²	Coeficiente de determinação
°	Graus
*	Significativo considerando $p < 0,05$
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivos Gerais	15
2.1.1 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Pescados no Brasil	16
3.2 Espécies de Tilápia	16
3.3 Resíduos Pesqueiros	18
3.4 Colágeno	20
3.5 Importâncias Biológicas do Colágeno	23
3.6 Processos de Obtenção do Colágeno	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Local do Experimento	26
4.2 Os Resíduos da Tilápia (Pele e Nadadeiras)	26
4.3 Processos de Extração	26
4.3.1 Métodos de Extração do Colágeno por Cocção.....	26
4.3.2 Pré-tratamento e Extração do colágeno pelo método de Ácido-Base:	27
4.4 Avaliações do Rendimento	28
4.5 Caracterizações do Colágeno Obtido	29
4.5.1 Determinação de Cinza.....	29
4.5.2 Determinação de Proteínas	29
4.6 Determinações de Coliformes Fecais.	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Rendimentos do colágeno	31
5.1.1 Extração de colágeno pelo método de cocção	31
5.1.2 Extração de colágeno pelo Método de Ácido-Base.....	32
5.2. Caracterização do colágeno obtido	35
5.2.1 Determinação do Teor de Cinzas e de Proteínas	35
5.2.2 Análise Microbiana do Colágeno	37
6 CONCLUSÃO	39

1 INTRODUÇÃO

A produção mundial de pescado em 2012 foi de 158 milhões de toneladas, sendo que 136,2 milhões de toneladas foram destinado ao consumo humano (FAO, 2014). Dos 136 milhões de toneladas, 69,6 milhões de toneladas (51,1%) teve origem da pesca, enquanto 66,6 milhões (48,9%) de toneladas foi originado na aquicultura (PDA,2014). A aquicultura sustentável preza a produção lucrativa, levando em conta a conservação do meio ambiente e dos recursos naturais, promovendo o desenvolvimento social (OLIVEIRA, 2009).

O Brasil detém a maior quantidade de água doce com potencial para aquicultura continental no mundo, além de possuir uma extensão territorial mais de 8.500 km de faixa costeira, abrangendo uma área superior a 3.5 milhões de km² de Zona Econômica Exclusiva (OLIVEIRA, 2012).

De acordo com MPA/IBGE (2013), a região Nordeste foi a maior produtora de pescado em 2013, com 140.748 toneladas, seguida pela região Sul, com 107.448 toneladas.

A aquicultura nas regiões brasileiras é praticada em vários tipos de sistemas de cultivo em que o camarão e as tilápias são os mais cultivados (MPA, 2011). O cultivo de tilápia tem ganhado importância devido à alta produção obtida em gaiolas flutuantes instaladas em reservatórios (SAMPAIO *et al.*, 2010).

Várias cidades do Cariri Paraibano tais como Camalaú, Congo e Sumé, tem alcançado o incremento na renda de famílias de pescadores, por meio do beneficiamento de peixes como a tilápia. Sabe-se que o processo de filetagem pode gerar até 70% de resíduo, que por não ter valor monetário é disposto no ambiente de forma inadequada causando o mau cheiro e atração de insetos, o que confere riscos à saúde pública dos ribeirinhos. (Souza *et al.*,2014) Nesse sentido, o desenvolvimento de tecnologia para a extração de colágeno a partir de resíduos de tilápia pode ser uma atividade que pode gerar trabalho e renda, considerando que os resíduos de peixe são encontrados com facilidade nas cidades supracitadas e as técnicas empregadas para a extração do colágeno são relativamente simples, podendo deste modo agregar valor aos subprodutos do pescado e conseqüentemente o desenvolvimento dessas regiões.

Neste trabalho avaliou-se a eficiência de diferentes métodos de extração do colágeno utilizando o método de superfície de resposta para avaliar se havia a presença de algum parâmetro significativo no processo de extração.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Avaliar o potencial do uso de resíduos da filetagem da tilápia (pele e nadadeiras) para extração do colágeno.

2.1.1Objetivos Específicos

- Determinar a efeito da temperatura (método de cocção) e do tempo de exposição à temperatura na extração do colágeno;
- Analisar a influência das concentrações de NaOH, e do tempo de imersão nesse agente, bem como da interação entre estes fatores na extração do colágeno;
- Determinar o rendimento da produção de colágeno diante dos diferentes métodos avaliados;
- Caracterizar o colágeno obtido quanto ao teor de cinzas, concentração de proteínas e qualidade microbiológica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Pescados no Brasil

Conforme o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) entende-se que o pescado é todos os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana (BRASIL, 1984). Segundo o IBAMA (2007), a produção aquícola e pesqueira do Brasil alcançou, no ano de 2006, um volume de 1.049.539 toneladas e apresentou um crescimento de 4,01% em relação ao ano de 2005. A aquicultura participou com 25,9% da produção (271.694,5 ton.) na produção total do Brasil, gerando receita da ordem de US\$ 965.627,80.

O aumento da produção direciona a atividade pesqueira para investir, cada vez mais, na construção de estabelecimentos capazes de beneficiar a matéria-prima e ofertar maior quantidade de produtos e com alto valor agregado, a fim de atender às exigências de um novo mercado consumidor mais seletivo quanto à qualidade e praticidade do produto final (LIMA, 2013). Este cenário de crescimento pode ser atrelado ao desenvolvimento do setor aquícola em consequência da ampliação de políticas públicas que facilitaram o acesso aos programas governamentais existentes, tais como o Plano Mais Pesca e Aquicultura desenvolvido pelo Ministério da Pesca e Aquicultura, havendo uma tendência crescente de intensificação e fortalecimento de integração entre os setores pesqueiros, especialmente, em decorrência da demanda crescente por produtos com elevado valor nutritivo como aqueles preparados a base de pescado.

Segundo Timpone (2009), sob o ponto de vista social, a piscicultura pode se tornar um instrumento importante na geração de postos de trabalho e trata-se de interessante alternativa para as comunidades ribeirinhas, pescadores e assentamentos rurais na composição da renda e na subsistência, sendo fundamental na segurança alimentar e na geração de emprego e renda. Ainda, segundo este autor para responder aos fatores e processos limitantes ao crescimento racional da piscicultura, deve-se considerar a importância do Poder Público e de suas ações de desenvolvimento e como contribuem para a construção de sistemas locais de inovação, vistos sob a perspectiva de ações realizadas em outros países que apresentam maior destaque neste setor.

3.2 Espécies de Tilápia

Segundo Oliveira e colaboradores, (2007) há diversas espécies de tilápias descritas e distribuídas basicamente em três gêneros: *Tilapia*, *Sarotherodon* e *Oreochromis*. Entre as

espécies descritas, quatro têm-se destacado na aquicultura mundial, graças as suas características, tilápia nilótica ou do Nilo (*Oreochromis niloticus*), tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*), (Figura 1) tilápia azul ou tilápia áurea (*Oreochromis aureus*) e a tilápia de Zanzibar (*Oreochromis urolepis hornorum*).

Figura 1-Representação de duas Espécies de Tilápia (a) *Oreochromis niloticus* e (b) *Oreochromis mossambicus*



Fonte: (a) JSP, 2016 e (b) PETERS, 1852

A tilápia é um dos peixes mais produzidos comercialmente, pois aceita alimentação variada, possui rápido crescimento (4 a 7 meses, dependendo da temperatura), apresenta facilidade na reprodução, oferece uma excelente adequação aos sistemas de produção, além de possuir uma carne de sabor extremamente agradável (BORDIGNON, 2010).

No Brasil, a tilápia foi introduzida pela primeira vez em 1953, quando a “Light”, em São Paulo, importou *Tilápia rendalli* do Congo. Posteriormente, em 1971, o Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) introduziu exemplares da espécie tilápia do niló (*Oreochromis niloticus*) visando ao peixamento dos reservatórios públicos da Região Nordeste (Figura 1). A tilápia nilótica, que é a mais cultivada, apresenta hábito alimentar fitoplanctófago, mas aceita muito bem rações comerciais e artesanais elaboradas à base de subprodutos da agropecuária, a introdução das linhagens melhoradas e o uso da técnica de incubação artificial, com controle do sexo, deram novo impulso à atividade e iniciou-se a fase industrial da tilápia cultura brasileira (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

A engorda de tilápias é caracterizada pela facilidade na manutenção da qualidade da água no ambiente de cultivo, o que, associado ao ambiente favorável – seja pela qualidade da água ou pela condição climática – prevalente nas águas dos estados nordestinos, possibilita

um rápido desenvolvimento da espécie. Dentre os peixes que podem ser cultivados em cativeiro, a tilápia destaca-se pela resistência à doenças, tolerância ao cultivo em altas densidades e em ambientes hostis e estressantes, o que a tornou rapidamente a espécie preferida pela aquicultura brasileira, com participação de 38% no total da produção de peixes oriundos de cultivo (JÚNIOR, 2008).

No Brasil, a espécie mais cultivada é a tilápia nilótica, linhagem Chitralada da Tailândia, conhecida pelos brasileiros como tilápia tailandesa (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

3.3 Resíduos Pesqueiros

No beneficiamento do pescado, o filé é o item de maior valor econômico, e o rendimento varia de acordo com o tamanho dos peixes e com o domínio tecnológico de quem processa. Assim o rendimento pode atingir entre 30 e 40% do peso do animal sendo o restante considerado resíduo e sem valor comercial (restos de carne, cabeça, pele, ossos, escamas e vísceras). Desta forma, os resíduos da industrialização da tilápia, que representam de 60 a 70% da matéria prima, são atualmente subutilizados ou descartados pelas indústrias de filetagem ocasionando danos ao meio ambiente (MARTONE, 2005).

A cadeia produtiva da piscicultura gera uma infinidade de resíduos orgânicos (subprodutos) sendo que os tipos e quantidades de resíduos dependem do tipo de processamento empregado, seja do peixe inteiro eviscerado, e descabeçado ou produção de filé. A utilização destes resíduos é ecologicamente recomendável em função da alta carga orgânica depositada no ambiente, se os mesmos não forem aproveitados. (VIDOTTI; GONÇALVES, 2006).

O termo resíduo refere-se às sobras e aos subprodutos do processamento dos alimentos que são de valor relativamente baixo. Não há uma definição para os constituintes dos subprodutos da indústria pesqueira, usualmente, fala-se em vísceras, cabeça, aparas, ossos e pele. Deve-se observar que os subprodutos pesqueiros possuem valiosas proteínas e frações lipídicas, bem como vitaminas e sais minerais (RUSTAD, 2003).

De acordo com a NBR 10.004 (ABNT, 2004), Norma Brasileira os resíduos pesqueiros podem ser classificados:

- Classe I: Perigosos – Aqueles que apresentam periculosidade com propriedades físicas, químico ou infectocontagiosas, que oferecem risco à saúde pública e ao meio ambiente, quando o resíduo for gerenciado de forma inadequada; Exemplo, determinados locais, como praias e lagoas próximos aos locais de processamento de

peixes aumentando consideravelmente o nível de contaminação desses ambientes devido a capacidade desse material orgânico oferecer nutrientes e um meio ideal para o crescimento e proliferação de diversos tipos de bactérias patogênicas.

- Classe II: Não Inertes – Aqueles que não se enquadram nas classificações de resíduos classe I tendo como propriedades a combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade em água.

Arruda (2004) ressalta que a necessidade de se montar sistemas de aproveitamento dos resíduos de alimentos industrializados é de ordem econômica e de conservação de energia, não somente ambiental. “Pode-se pensar desde o maior uso da matéria-prima até o produto final, ou, ainda, o desenvolvimento de novos produtos que utilizem resíduos líquidos e sólidos no preparo”.

Os maiores impactos provocados por resíduos sólidos orgânicos são decorrentes da fermentação do material, a qual pode ocasionar a formação de “chorume”(líquido de elevada demanda bioquímica de oxigênio (DBO) que é formado com a degradação do material orgânico e a lixiviação de substâncias tóxicas), além da proliferação de vetores e do mau cheiro (MATOS, 2005)

Os resíduos de pescado, juntos aos postos de beneficiamento e comercialização, causam graves problemas de poluição ambiental, pois nem sempre é economicamente viável o transporte deste para fabricas de processamento de subprodutos (PITTIGLIANI, 2014) .

Mundialmente, mais de 130 milhões de toneladas de peixes (de água doce e salgada), crustáceos e moluscos são capturados a cada ano (FAO, 2005). Anualmente uma média de 7,3 milhões de toneladas de pescado é descartada, o equivalente a ¼ da produção total (KELLEHER, 2005; FALCH *et al.*, 2006).

De acordo com Nunes *et al.*, (2013) a grande quantidade significativa de resíduos orgânicos, produzidos durante as diversas etapas da cadeia produtiva da Pesca, é constituída de matéria-prima de alta qualidade, que pode ser utilizada para produzir diversos subprodutos. Além disso, seu emprego desses resíduos é ecologicamente recomendável, por conta da alta carga de matéria orgânica que é rejeitada no ambiente.

Pode-se afirmar que o aproveitamento de subprodutos não é novidade (RUSTAD, 2003). Há anos países do Norte da Europa fazem uso dos vários subprodutos para vários propósitos, dentre eles, a confecção de roupas, sapatos e bolsas, entre outros. Também nesse sentido, o recente declínio nos estoques de espécies tradicionais de pescado, associado ao

aumento da demanda mundial de proteínas de origem animal, tem contribuído para o desenvolvimento de técnicas visando o melhor aproveitamento dos recursos (ALFARO, 2008).

Assim a contínua pesquisa e o desenvolvimento de novas tecnologias de utilização desses subprodutos são necessários para agregar valor a esses materiais, hoje desperdiçados ou subutilizados (ALFARO, 2008). A produção de gelatina de peixe é considerada a melhor forma de processar resíduos da indústria de pescado, garantindo um maior aproveitamento e consequentemente maior lucro (MOLINARI, 2014).

As vísceras, escamas e o esqueleto, por exemplo, são matérias-primas para fabricação das farinhas, silagens e óleos de peixe, comumente empregados na alimentação animal. A carcaça contendo carne residual da filetagem, por sua vez, é submetida a processos para obtenção da polpa de peixe, principal ingrediente na fabricação de empanados e embutidos, muito apreciados na alimentação humana e com excelente valor agregado. A elaboração de couro, a partir das peles residuais do filetagem de pescados, representa hoje uma fonte alternativa de renda que pode servir de matéria-prima para a fabricação de carteiras, bolsas, confecções de vestuários, entre outros artefatos (SOUZA, *et al.*, 2003).

3.4 Colágeno

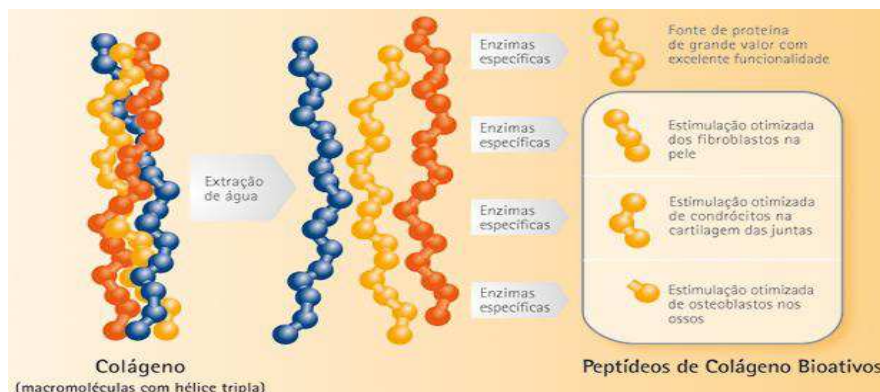
Em busca de alternativas viáveis para aproveitar rejeitos de pescados tem sido verificado na literatura a produção de hidrolisados proteicos e extração de colágeno e gelatina, devido a tendência de utilização destas proteínas na substituição aos agentes sintéticos nos mais diversos processos industriais, permitindo maior valorização dos subprodutos aumentando o faturamento destes e contribuindo para uma produção mais limpa e sustentável (BUENO *et al.*, 2011; PRESTES *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2012)

O nome colágeno deriva de dois termos gregos: KOLLA que significa cola, e GENNO que significa produção (SHIMOKOMAKI, 1992). Colágeno é a proteína fibrosa de origem animal mais abundante e representa 30% das proteínas totais e 6% em massa do corpo humano (TONHI e PLEPIS, 2002). O termo colágeno é atualmente utilizado para denominar uma família de pelo menos 27 isoformas de proteínas sendo o principal elemento estrutural dos tecidos conjuntivos ao longo do corpo, como ossos, tendões, cartilagem, veias, pele, dentes, vasos sanguíneos, córneas bem como nos músculos e demais órgãos dos vertebrados. Em geral, o colágeno contém cerca de 30% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina, 10% de hidroxiprolina, 1% de hidroxilisina e pequenas quantidades de aminoácidos polares e

carregados. A glicina, prolina e a alanina são aminoácidos alifáticos e a lisina é um aminoácido com características básicas (PRESTES *et al.*, 2013).

O colágeno é composto por três cadeias de polipeptídeos, chamadas de cadeias α , que são entrelaçadas formando assim macromoléculas de hélice tripla. A característica das sequências de colágeno é garantida pela presença da glicina (Gly) como um resíduo terciário. É isso que permite o fechamento das três cadeias em uma estrutura de hélice tripla. Assim, a característica comum para todos os colágenos é a sequência que pode ser expressa como (Gly-X-Y) $_n$, sendo X e Y são frequentemente representados pela prolina (Pro) e hidroxiprolina (Hyp), respectivamente. Esta sequência é necessária para o colágeno compor fibrilas que se organizam para formar fibras, oferecendo integridade estrutural sem correspondência para a matriz extracelular de tecido conjuntivo (GELITA, 2016)

Figura 2-Representação da estrutura e aminoácidos do colágeno



Fonte: GELITA, 2016

Ao contrário da maioria das proteínas globulares, que são dobradas em uma estrutura, as cadeias do colágeno são organizadas de forma paralela a um eixo, formando as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade compacta. O colágeno possui uma estrutura alongada, baseada em uma cadeia de polipeptídeos que compreende aproximadamente 1050 aminoácidos (VARGAS *et al.*, 1997; PARDI *et al.*, 1996; LINDEN e LORIENT, 1994). As proteínas colagenosas formam agregados supramoleculares (fibrilas, filamentos ou redes), apresentam propriedades mecânicas singulares e são quimicamente inertes, sendo que em virtude da grande concentração de aminoácidos hidrofóbicos é insolúvel em água (SILVA *et al.*, 2012).

Há pelo menos 19 tipos de colágeno que são denominados de tipos I a XIX e, pelo menos onze deles já foram identificados e caracterizados. De acordo com a estrutura macromolecular, o colágeno pode ser dividido em três grupos:

- Grupo “a”: colágeno fibroso estriado (incluindo os tipos I, II e III);
- Grupo “b”: colágeno não fibroso (tipo IV ou da membrana basal);
- Grupo “c”: colágeno que compreende a proteína miofibrilar que inclui os tipos VI e VII (matriz miofibrilar), V, IX e X (colágeno pericelular), e VIII e XI que ainda não foram classificados (DARMODARA *et al.*, 2010).

De acordo Gonçalves e colaboradores, (2015) temos os seguintes tipos de colágenos:

Colágeno Tipo I: É o tipo mais comum, geralmente são encontrados em locais que resistem a grandes tensões como, por exemplo, nos tendões, derme da pele, nos ossos e até mesmo na córnea. Este tipo forma fibras e feixes de colágeno;

Colágeno Tipo II: Encontrado em estruturas que resistem à grandes pressões, cartilagem elástica e hialina, discos intervertebrais e nos olhos. A síntese ocorre nos condroblastos. Morfologicamente não é possível distinguir do colágeno Tipo I;

Colágeno Tipo III: Abundando no tecido conjuntivo frouxo, é encontrado na artéria aorta do coração, nos pulmões, nos músculos dos intestinos, fígado, no útero. Constitui as fibras reticulares;

Colágeno Tipo VI: Esse tipo não se associa em fibrilas. Tem a função de sustentação e filtração. Presente nos rins, na lâmina basal e na cápsula do cristalino;

Colágeno Tipo V: Apresenta-se associado ao colágeno Tipo I, presente em estruturas de grande resistência as tensões. Encontrado nos ossos, sangue, placenta, tendões e também na pele;

Colágeno Tipo VI: Presente na maioria do tecido conjuntivo. É encontrado no sangue, na placenta, discos intervertebrais, na pele e também se associa ao colágeno Tipo I;

Colágeno Tipo VII: Localizado na junção dermo-epitelial e nas células corioamnióticas;

Colágeno Tipo VIII: Presente em algumas células endoteliais;

Colágeno Tipo IX: Interage com o Tipo II, é encontrado nas cartilagens, na retina e na córnea. Tem função de manter as células unidas conferindo resistência à pressão;

Colágeno Tipo X: Encontrado nas cartilagens hipertróficas em mineralização;

Colágeno Tipo XI: Interage com os Tipos II e XI. É encontrado nas cartilagens e nos discos intervertebrais;

Colágeno Tipo XII: É encontrado em locais submetidos a altas tensões como nos tendões e nos ligamentos e se interage com os Tipos I e III;

Colágeno Tipo XIII: Associa aos colágenos de Tipos I e III e é encontrado abundantemente como proteínas associada à membrana celular e nas células endoteliais.

Colágeno Tipo XIV: Encontrado na pele e nos tendões;

Colágeno Tipo XV: Encontrado nas células do músculo liso e nas células chamadas fibroblastos;

Colágeno Tipo XVI: Encontrado nas invaginações da derme para epiderme e nos fibroblastos;

Colágeno Tipo XVII: Abundante na junção dermo-epidermal;

Colágeno Tipo XVIII: Encontrado facilmente em tecidos com alto índice de vascularização;

Colágeno Tipo XIX: Encontrado apenas em células tumorais;

3.5 Importâncias Biológicas do Colágeno

Considerado como um excelente nutriente para a maioria dos microrganismos, o colágeno necessita que sejam tomados durante sua manufatura para que se evite possíveis contaminações. Entre os microrganismos presentes no colágeno destacam-se os do gênero *Clostridium*, que podem causar sensíveis perdas econômicas. Porém, a contagem total de mesófilas em placas é geralmente aceita na maioria dos países como limitante de presença de *Coliformes*, *E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Staphylococcus* e *Pseudomonas* (ALFARO *et al.*, 2009).

Estudo realizado demonstrou que o colágeno possui propriedades naturais que incluem baixa resposta imunológica, baixa toxicidade, a habilidade de promover o crescimento celular e a reconstrução *in vitro* da estrutura microfibrilar encontrada em tecidos naturais (LEE *et al.*, 2001). Ainda, o colágeno forma fibras insolúveis com alta força elástica, com capacidade de hidratação e reabsorção e baixa antigenicidade. Estas fibras começam a aparecer durante o desenvolvimento embrionário no processo inicial de diferenciação dos tecidos (FRIESS, 1998).

O colágeno é amplamente utilizado na indústria de alimentos, cosméticos e fármacos, sendo produzido em grande escala e a preços relativamente baixos, justificando assim o grande interesse do uso devido às propriedades multifuncionais: habilidade de formar géis estáveis e reversíveis (ALMEIDA *et al.*, 2010; BANDEIRA *et al.*, 2011)

A indústria de alimentos tem demonstrado um interesse crescente pelo colágeno e pela gelatina devido às propriedades emulsificantes, presença de agentes espumantes, estabilizantes coloidais, formadores de películas biodegradáveis, agentes microencapsulantes, com a tendência de substituir o material sintético pelo natural. Além disso, diversas atividades do colágeno, como bioativos vem sendo estudadas, tais como, agentes antimicrobianos, antioxidantes e anti-hipertensivos, bem como os peptídeos bioativos obtidos a partir da hidrólise enzimática do colágeno e da gelatina (GÓMEZ *et al.*, 2011).

Estudos científicos têm mostrado que a ingestão de colágeno pode evitar doenças cardiovasculares, melhorar a firmeza da pele, proteger contra danos nas articulações, ajudar no tratamento contra osteoporose, prevenir o envelhecimento e ser anti-hipertensivo (CASTRO, 2015).

3.6 Processos de Obtenção do Colágeno

O colágeno pode ser obtido a partir de diversas espécies animais (bovinos, suínos, peixes). No Brasil, a maior parte do colágeno é proveniente dos subprodutos da indústria de carne, em função da elevada produção brasileira de carne para exportação (SILVA *et al.*, 2012).

As propriedades físico-químicas do colágeno são fortemente influenciadas pela severidade do processo de extração, sendo que o rendimento do processo de extração do colágeno é fundamental para viabilizar a utilização como potencial fonte de produção para indústrias de cosméticos, farmacêuticos e alimentícios (ALFARO, 2008).

Extrações em soluções ácidas ou alcalinas são usadas para a obtenção do produto desejado. Hidrólise enzimática pode também ser usada. Estes métodos eliminam as ligações cruzadas, aumentando a quantidade de colágeno solúvel. Deve ser lembrado que, se a hidrólise ou extração for muito vigorosa, o produto final poderá ser uma proteína degradada, estando mais próximo de gelatina do que do verdadeiro colágeno (OPCAOFENIX, 2012)

O processo alcalino consiste na aplicação da matéria-prima em um pré- tratamento com pH alcalino por período de várias semanas e vai transformando lentamente a estrutura do colágeno. Esse processo é utilizado em materiais mais espessos que necessitam de uma maior

agressividade na penetração dos agentes de tratamento, nesse processo apenas uma pequena porção de grupamentos amida resistem ao tratamento e o colágeno extraído desta maneira se torna solúvel em água quente (BORDIGNON, 2010). Em seguida, sofrem um aquecimento em temperaturas superiores a 45 °C. O pré-tratamento químico vai hidrolisar as ligações não covalentes, de modo a desorganizar a estrutura da proteína, produzindo um adequado inchaço e solubilização do colágeno com aumento na hidratação dos grupos da cadeia polipeptídica, de modo que as cadeias se quebrem, sobrando uma massa desorganizada de polipeptídeos altamente hidratada (SILVA *et al.*, 2012; FERREIRA, 2013).

No tratamento ácido a matéria-prima é imersa em solução ácida, até que ocorra a penetração em todo o material. À medida que a solução vai penetrando sobre a estrutura da pele com temperatura controlada, ela começa a inchar de duas a três vezes seu volume inicial, ocorrendo com esse fenômeno a clivagem de ligações não covalentes inter e intra moleculares (NICOLETI *et al.*, 2009; GÓMEZ *et al.*, 2011).

O material resultante é submetido à secagem em estufa a uma temperatura amena e moído. Durante a última etapa, duas frações são geradas de acordo com o tamanho da partícula: o mais fino é classificado como colágeno em pó, enquanto o mais grosso corresponde às fibras de colágeno (WOLF, 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

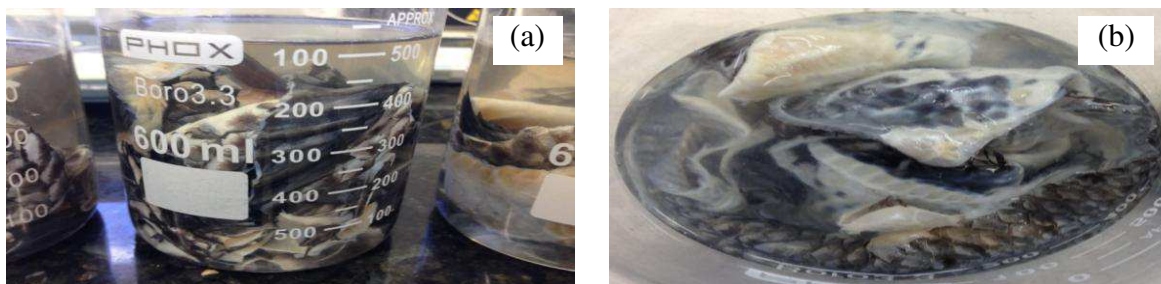
4.1 Local do Experimento

Os experimentos foram efetuados na Central 1 de Laboratórios Nos laboratórios de Microbiologia e de Química do CDSA – UFCG no Campus de Sumé

4.2 Os Resíduos da Tilápia (Pele e Nadadeiras)

Os resíduos da tilápia, (pele e nadadeiras) foram obtidos no mercado público de Sumé e passaram por um processo de descarte e lavagem em água corrente, em seguida, foram conservados em geladeira até o início do tratamento.

Figura 3-Ilustração de Pele e nadadeiras de Tilápia no processo lavagem (a) e descarte(b)



Fonte: Fotografia do autor, 2016

4.3 Processos de Extração

4.3.1 Métodos de Extração do Colágeno por Cocção

O efeito da temperatura e do tempo do tratamento foi avaliado utilizando-se um planejamento fatorial 2^2 , com três (3) repetições no ponto central. Nesse caso os resíduos de peixe (pele e nadadeiras) foram mantidos a diferentes temperaturas (80°C, 70°C e 60°C) durante (6h, 3h e 1h). Após a cocção os extratos obtidos foram filtrados em papel de filtro, congelados e liofilizados. As tabelas 1 e 2 apresentam os níveis, e a matriz do planejamento fatorial 2^2 .

Tabela 1-Variáveis do planejamento fatorial 2^2

Variáveis	-1	0	+1
Temperatura (°C)	60	70	80
Tempo (h)	1	3	6

Fonte: Dados do autor, 2016

Tabela 2-Matriz do planejamento experimental fatorial 2² com três repetições no ponto central

Ensaio	Temperatura [°C]	Tempo (h)
1	60	1
2	80	1
3	60	6
4	80	6
5	70	3
6	70	3
7	70	3

Fonte: Dados do autor, 2016

4.3.2 Pré-tratamento e Extração do colágeno pelo método de Ácido-Base:

No pré-tratamento foram utilizadas cem (100) g de resíduos de peixe para cada repetição das análises. A extração foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Monteiro e Gómez-Guillén (2000), com a modificação nas concentrações de NaOH. Os resíduos foram tratados utilizando três tipos de soluções, uma solução de NaCl (0,8M) para remoção do excesso de água na pele, diferentes concentrações de NaOH (0,05M; 0,1M; 0,2M) para remoção da gordura na pele, uma solução de ácido Acético(0,05M) para o processo de desacoplamento ou quebra da cadeia que compõe o colágeno, Figura 1. Após os tratamentos os extratos obtidos foram filtrados em papel de filtro, congelados e liofilizados. O efeito do tempo de imersão em diferentes soluções de NaOH foi avaliado por meio de um planejamento fatorial 2², com três (3) repetições no ponto central. Os ensaios 1 a 4 foram realizados em duplicata. As tabelas 3 e 4 apresentam os níveis, bem como a matriz do planejamento fatorial.

Tabela 3-Variáveis do planejamento fatorial 2²

Variáveis	-1	0	+1
[NaOH,M]	0,05	0,1	0,2
Tempo (min)	30	40	50

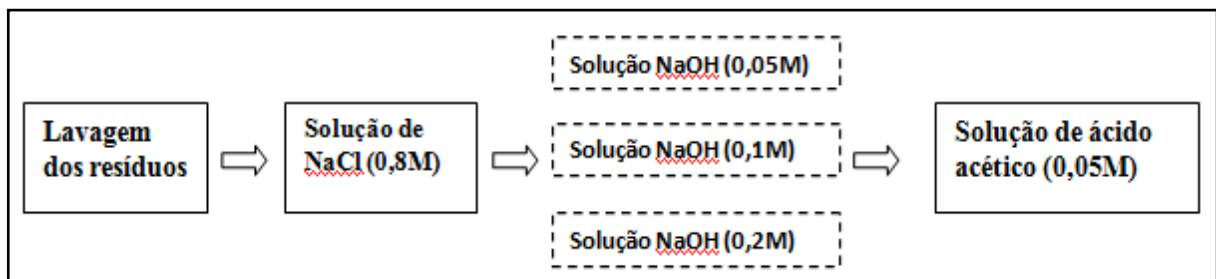
Fonte: Dados do autor, 2016

Tabela 4-Matriz do planejamento experimental fatorial 2^2 com três repetições no ponto central

Ensaio	Concentração [NaOH,M]	Tempo (min)
1	0,05	30
2	0,2	30
3	0,05	50
4	0,2	50
5	0,1	40
6	0,1	40
7	0,1	40

Fonte: Dados do autor, 2016

Figura 4-Método de Pré-Tratamento e Extração



Fonte: Fluxograma do Autor, 2016

Ao final de cada tratamento, os sólidos foram separados por filtração a vácuo com o auxílio de papel de filtro. Após os tratamentos as amostras foram liofilizadas para determinação da massa seca por granulométrica de colágeno obtida.

4.4 Avaliações do Rendimento

O cálculo do rendimento das extrações foi realizado a partir da relação entre a massa do colágeno seco e a massa da matéria-prima úmida de acordo com a Equação 1:

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Massa do colágeno}}{\text{Massa da matéria prima}} \times 100 \quad (1)$$

4.5 Caracterizações do Colágeno Obtido

4.5.1 Determinação de Cinza

Cápsulas de porcelana foram previamente incineradas, resfriadas e utilizadas para medir por gravimetria 1g de amostra em balança analítica (SHIMADZU AU220). As cápsulas contendo as amostras foram levadas a mufla a 50⁰C, sendo que a cada 15 minutos a temperatura aumentou mais 50⁰C até atingir 550⁰C. As amostras permaneceram a essa temperatura até não restar resíduo preto de matéria orgânica. Após a incineração, as amostras permaneceram em dessecador até atingir a temperatura ambiente e novamente foram aferidas por gravimetria. Todos os testes foram realizados em duplicata. A Equação 2 foi utilizado para calcular a quantidade de Cinza (FUJII, 2016).

$$\%Cinzas = \frac{m_{CINZAS}}{m_{AMOSTRA (g)}} \times 100 \quad (2)$$

Sendo:

% Cinzas- Quantidade de cinzas em percentagem

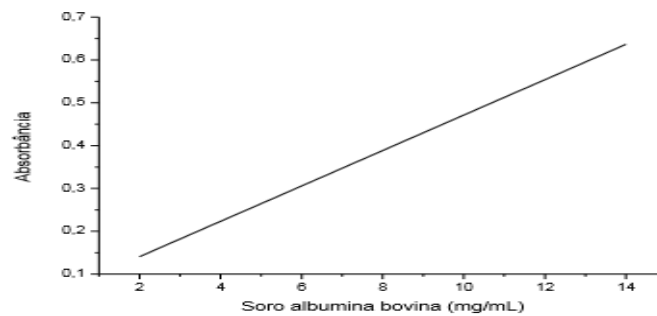
$m_{CINZAS-Massa}$ da cinza pesada

$m_{AMOSTRA(g)}$ -Massa da amostra inicial

4.5.2 Determinação de Proteínas

Para a quantificação das proteínas utilizou 4 mL da solução reagente Biureto (0,15 % sulfato de cobre; 0,6 % tartarato de sódio e potássio; 3 % hidróxido de sódio; 0,1 % iodeto de potássio) e 0,2 g da amostra de colágeno, previamente diluída em 4 ml de água destilado (1:20) de forma que a absorbância lida no espectrofotômetro estivesse dentro da curva de calibração. A mistura foi agitada em agitador tipo vórtex por 30 segundos, permanecendo em repouso por 10 min após a agitação. As leituras foram realizadas por espectrofotômetro em 540 nm e a curva padrão foi construída com soro albumina bovina diluída em solução salina (0,9 %). O espectrofotômetro foi previamente zerado com uma amostra em branco contendo: 4 mL da solução reagente Biureto e 1 mL de água destilada (GORNALL *et al.*, 1949). Todos os testes foram realizados em duplicata.

Figura 5-Curva padrão de proteínas de reagente Biureto tendo soro albumina bovina diluída em salina (0,9 %) como padrão.



Fonte: NETO, 2014

A Figura 5 representa a construção da reta padrão com intervalo de diluição do soro albumina bovina de 2 mg/mL com limites inferior e superior de 0 mg/mL e 20 mg/mL, respectivamente. O método utilizando a solução reagente Biureto mostrou-se mais confiável entre os limites de 2 mg/mL e 14 mg/mL com $R^2 = 0,99857$.

$$Y = (0,04134 * X) + 0,058 \quad (3)$$

Sendo:

Y =Absorbância

X = Quantidade de proteína

4.6 Determinações de Coliformes Fecais.

Para determinação de coliformes fecais foram medidos por gravimetria 0,2g de cada amostra e dissolvidos em 20 ml de água destiladas. O material foi agitado num agitador tipo vortex por 30s. O meio foi aquecido a 50°C durante 2 minutos, resfriado e distribuído em placas de capacidade para 2,0 ml, previamente esterilizadas. Com o auxílio de uma pinça previamente flambada e fria, e uma membrana filtrante de 0,4 µm foi adicionada ao sistema de filtração a amostra foi filtrada a vácuo. Após a filtração a membrana foi removida, e colocada na placa com meio de cultura. As placas foram incubadas a 45°C durante 24 horas.

Tabela 5-Preparação do meio de cultura, para análise de coliformes fecais.

Componentes do meio	Quantidades
MFC-Agar base	5,21g
Água destilado	100mL
Ácido Rosólico 1% em NaOH	1mL

Fonte: FUNASA, 2006

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimentos do colágeno

5.1.1 Extração de colágeno pelo método de cocção

Os valores de rendimento obtidos pelo método de cocção estão apresentados na Tabela 6. Os mais altos valores de rendimento foram observado nos ensaios 3 (60°C/6h) e 2 (80°C/1h) com rendimento de 15,5 % e 10,76 %, respectivamente. O menor valor de rendimento foi 5,19 % observado no ensaio 4 (80°C/6h) identificando uma queda de cerca de 2/3 quando comparado com o melhor rendimento observado. O baixo rendimento pode ser explicado pela possível desnaturação da proteína, devido ao longo período de exposição à temperatura de 80°C. Segundo Almeida (2004) a ação do calor desnatura a proteína e consequentemente promove a abertura das cadeias da moléculas com a exposição de grupos hidrofóbicos que se atraem mutuamente, formando ligações cruzadas. Dessa forma, provavelmente, o rendimento verificado para o ensaio 2 deve-se ao curto tempo de exposição à temperatura de 80° que não foi suficiente para que ocorresse a desnaturação da estrutura proteica. Nos ensaios referentes aos pontos centrais (70°C/3h) foi obtido rendimento médio de 8,74 %.

Em todos os ensaios verificou-se a formação de uma camada de gordura na superfície do caldo, de maneira que os valores apresentados na Tabela 6, não só se referem ao rendimento da extração de colágeno, mas também ao conteúdo de lipídios presente nos extratos, o que diminui a viabilidade do uso desse método para extração do colágeno.

Tabela 6-Matriz de planejamento experimental dos resultados obtidos para o rendimento (método de cocção)

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Rendimento da amostra (%)
1	-1 (60)	-1 (1h)	9,96
2	+1 (80)	-1 (1h)	10,76
3	-1 (60)	+1 (6h)	15,50
4	+1 (80)	+1 (6h)	5,19
5	0 (70)	0 (3h)	8,90
6	0 (70)	0 (3h)	9,10
7	0 (70)	0 (3h)	8,23

Fonte: Dados do Autor, 2016

De acordo com Prestes *et al.*, (2013) quando são utilizadas temperaturas elevadas no processo de extração do colágeno pode haver perda da estrutura de tripla hélice, isto é da estrutura secundária do colágeno, prejudicando assim as propriedades de gelificação, devido á quebra das cadeias α e β . Ainda Karim e Bhat (2008) afirmam que quando esses aminoácidos forem resfriados podem retroceder ao normal, no entanto, formando novas estruturas de tripla hélice com características deferentes da estrutura nativo do colágeno. Já o trabalho realizado por (Gómez-Guillén *et al.*, 2002) explica que a variação nos resultados pode ser justificadas por que as altas temperaturas promovem a solubilização de proteínas e maior fragmentação da estrutura do colágeno.

5.1.2 Extração de colágeno pelo Método de Ácido-Base

A Tabela 7 mostra os valores obtidos em cada ensaio do planejamento experimental. Os maiores valores de rendimento foram obtidos a partir dos pontos centrais (0,1 M e 40 min) seguidos pelos ensaios 3 (0,05 M e 50 min) e 1 (0,05 M e 30 min) com rendimento de 12,51 %, 12,26% e 12,18%, respectivamente. Os menores rendimentos foram de 10,12% , 10, 22% obtido a partir dos ensaios 2 (0,2 M e 30 min) e 4, (0,2 M e 50 min) respectivamente. Verificando-se que as maiores concentrações de NaOH produziram os menores rendimentos A Figura 6 apresenta o aspecto das amostras obtidas nos diferentes ensaios.. Segundo Bassos *et al.*, (2013) as concentrações mais elevadas da solução alcalina, podem resultar em um aumento da hidrólise do colágeno ou até mesmo em uma transformação parcial, embora pequena, do colágeno em aminoácidos, o que explicaria o melhor rendimento em concentrações mais baixas.

Tabela 7-Matriz do planejamento experimental, com os dados obtidos para o rendimento (%) do colágeno (Método Ácido-Base)

Ensaio	Concentração de NaOH (M)	Tempo (min)	Desvio padrão	Rendimento da amostra (%)
1	-1 (0,05)	-1(30)	0,16	12,18
2	+1 (0,2)	-1(30)	0,12	10,12
3	-1 (0,05)	+1(50)	0,22	12,26
4	+1 (0,2)	+1(50)	0,21	10,22
5	0 (0,1)	0(40)	0,13	12,51

Fonte: Dados do Autor

Os desvios padrão da Tabela 7 indicam que não houve muita dispersão dos valores das medias em relação aos valores reais aferidos. O maiores desvios foram observados nos ensaios 3 e 4 de 0,21 e 0,22 respectivamente, o menor desvios foi no ensaio 2 de 0,12.

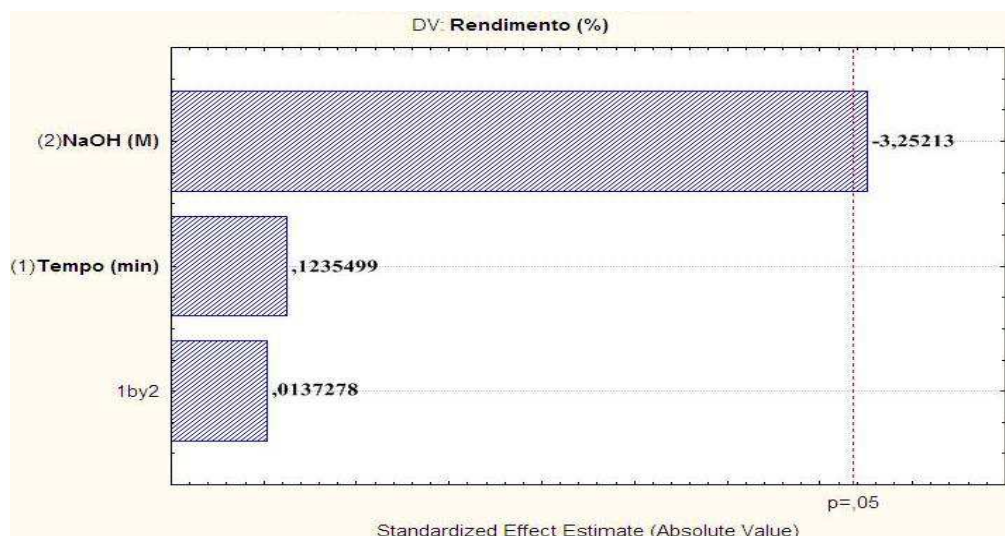
Figura 6-Colágeno obtido em diferentes concentrações



Fonte: Fotografia do autor

Nos ensaios 1 (0,05 M e 30 min) e 3 (0,05 M e 50 min) e os ensaios 2 (0,2 M e 30 min) e 4 (0,2 M e 50 min) verifica-se que o tempo de imersão em solução alcalina não apresentou influência no rendimento, corroborando com dados obtidos por Basso e colaboradores (2013). O efeito da concentração de NaOH na extração do colágeno é confirmada com análise da Figura 7, Diagrama de Pareto em que verifica-se que a concentração de NaOH é o único parâmetro que teve significância a um nível de confiança maior que 95%. A variável tempo, bem como a interação entre as duas variáveis independentes (Tempo x Concentração de NaOH) não foram significativas ($p > 0,05$).

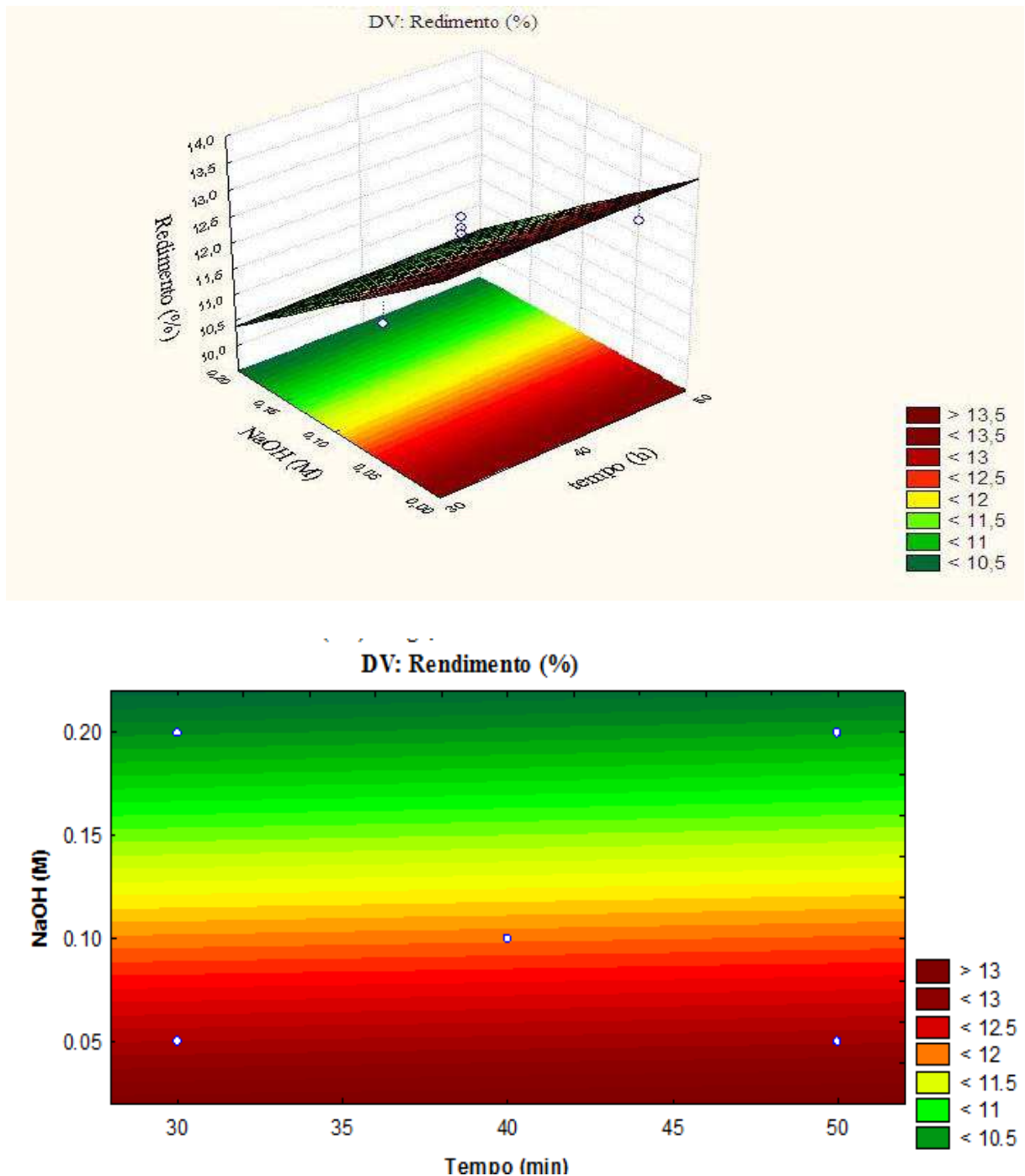
Figura 7-Diagrama de Pareto dos parâmetros avaliados na extração ácido-base do colágeno.



Fonte: Dados do autor, 2016

O gráfico de superfície de resposta (Figura 8) corrobora com a análise obtida no Diagrama de Pareto, reforçando que o tempo de exposição não afetou a extração de colágeno.

Figura 8-Superfície de resposta do rendimento em função da concentração de NaOH e Tempo



Fonte: Dados do autor, 2016

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos na análise estatística ANOVA para os testes de avaliação de extração do colágeno pelo método ácido-base.

Tabela 8-Tabela da ANOVA, com os erros do somatório das médias (SQ), Grau de Liberdade (df), Media Quadrática (MQ). Razão entre os somatório (f), Índice de significância (p) onde *(Foram significativo $p > 0,05$) e ** (Não foram significativos $p > 0,05$)

Fatores	SQ	DF	MQ	F	P
(1) Tempo (min)	0,008100	1	0,008100	0,01526	**0,909485
(2) Concentração de NaOH (M)	5,612222	1	5,612222	10,57632	*0,047413
Interação (1) e (2)	0,000100	1	0,000100	0,00019	**0,989909
Erro	1,591921	3	0,530640		
Total SQ	7,212343	6			

Fonte: Dados do autor, 2016

5.2. Caracterização do colágeno obtido

5.2.1 Determinação do Teor de Cinzas e de Proteínas

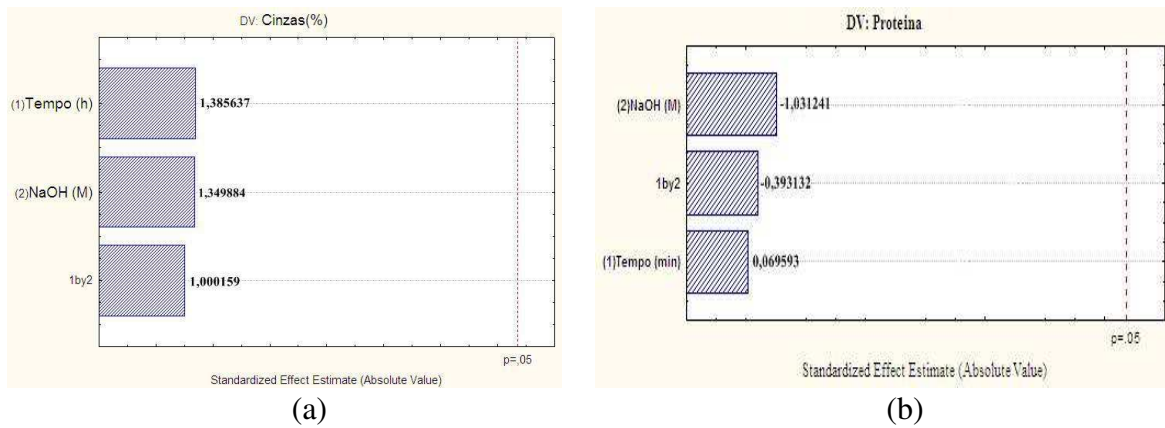
A Tabela 9 apresenta os valores referentes ao teor de cinzas e de proteínas. O maior valor de cinzas foi de 5,2% obtido no Ensaio 4 e o menor valor foi de 2,21% no Ensaio 5. Os mais altos valores de concentração de proteínas foram obtidos nos ensaios 2 e 5, 91,25% e 95,56%, respectivamente, o menor valor foi de 74,32% no Ensaio 1. Essas varrições de cinzas e proteínas podem ser explicadas devido ao fato da tilápia ser um nome popular de espécies diferentes o que confere heterogeneidade da matéria prima. Os Diagramas de Pareto, Figuras 9, demonstram que não houve a influência dos parâmetros avaliados no método de extração ácido-base nas concentrações de cinzas e de proteínas.

Tabela 9-Teor de Cinza e Quantidade de proteínas em percentual e as respectivas condições

Ensaio	Condições das Amostras	Quantidade de Cinzas %	Quantidade de Proteínas %
1	(0,05 M de NaOH e 30min)	2,73	74,32
2	(0,2 M de NaOH e 30min)	2,91	91,25
3	(0,05 M de NaOH e 50min)	3,10	77,83
4	(0,2 M de NaOH e 50min)	5,20	86,23
5	(0,1 M de NaOH e 40min)	2,21	92,56

Fonte: Dados do autor, 2016

Figura 9-Pareto Percentual do Teor de Cinza (a) e Quantidade de Proteínas (b)



Fonte: Dados do autor, 2016

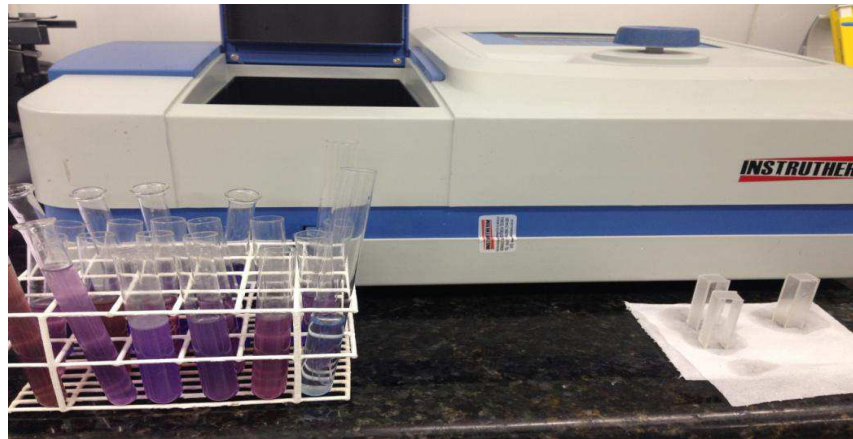
Figura 10-Ilustração das amostras de Colágeno Antes (imagem à esquerda) e Depois (imagem à direita) da queima na mufla



Fonte: Fotografia do autor, 2016

A Figura 11 apresenta o aspecto das amostras antes e depois da queima na mufla. Para Olivo e Shimokomaki (2001), 3,05 % é o valor ideal de cinzas para fibra de colágeno obtida em escala laboratorial em experimento com bovinos. De acordo com esse parâmetro verifica-se-se que os primeiros ensaios apresentaram valores ideais de quantidades de cinza para formação de fibra de colágeno. Ockerman e Hansen (1994) nas suas pesquisas com pés de frango para obtenção de colágeno recomenda um teor de cinzas menor que 2,0%.

Figura 11-Ilustração da determinação de proteínas pelo método de Biureto.



Fonte: Fotografia do autor, 2016

Os valores das proteínas obtidos pelo método de Biureto (Figura 12) de acordo com o verificado na literatura. Muyonga, Cole e Duodu, (2004) obtiveram teor de proteínas em media de 91,24%, presente em fibras de colágeno, Alves e Ferreira, (2002) e Santana *et al.*, (2012) obtiveram valores de 86,35% o que é bem acima do que foi obtido por Olivo & Shimokomaki (2001).de 76,27 a 81,41% para o teor de proteína.

5.2.2 Análise Microbiana do Colágeno

Os resultados da análise da qualidade microbiana obtido do colágeno estão representados na Tabela 10. A contaminação com coliformes fecais foi verificadas nas amostras obtidas nos ensaios 1,5,9 e 7,6,10 com coloração cinza e azul respectivamente da extração ácido-base. O colágeno apresentou dois tipos de colônias de bactérias, *Escherichia coli* (coloração azulada) e *Klebsiella pneumoniae* (coloração cinza), sendo que os o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) detectadas nesse trabalho estão dentro dos valores aceitos pela legislação brasileira, que especifica os limites máximos de coliformes fecais para colágeno e similares a saber: Coliformes 45°C (10,0NMP/g), *Staphylococcus coagulase positiva* ($5,0 \times 10^2$ UFC/g), e *Salmonella* sp (ausência em 25g); E afirma que a contagem total de mesófilas em placas é geralmente aceita na maioria dos países como determinante da qualidade microbiológica de colágenos (BRASIL, 2001).

Ambas são bactérias detectadas nesse trabalho pertencem ao grupo dos coliformes fecais e podem ser encontradas na água, no solo, nas frutas, nos cereais e nas fezes. Possivelmente essa contaminação seja decorrente da matéria prima, que é descartada em recipientes sem um higienização previa, ou do manuseio inadequado durante o processo de extração. Em trabalho realizado por Rodrigues (2016) foi detectada a ocorrência de

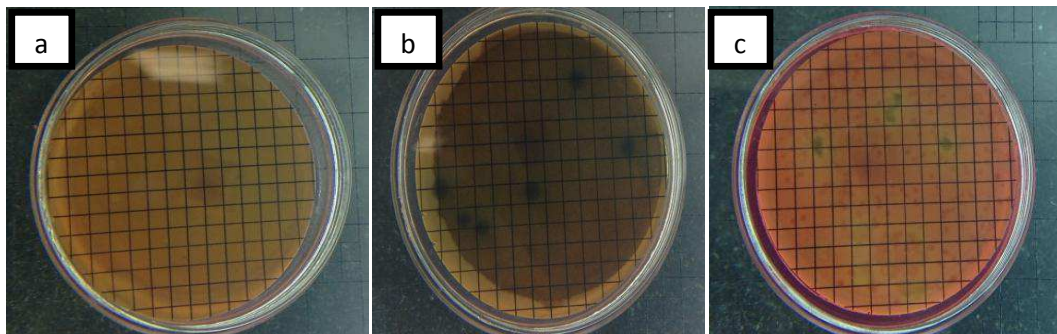
coliformes fecais em amostras de resíduos de pescado obtido no mercado municipal de Sumé/PB.

Tabela 10-Avaliações microbiológicas do colágeno extraído da pele de tilápia

Bactéria	Coloração dos coliformes fecais em placa	Unidades Formadoras de Colônias (UFC) obtidos
<i>Escherichia coli</i>	Azul	5×10^2 UFC/mL
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cinza	$4,5 \times 10^2$ UFC/mL

Fonte: Dados do Autor

Figura 12-Ilustração de placas com contaminação e sem contaminação de bactérias (a) sem contaminação (b) Bactérias *Klebsiella pneumoniae* e (c) Bactérias *Escherichia coli*



Fonte: Fotografia do autor, 2016

6 CONCLUSÃO

Diante do trabalho realizado é possível concluir:

- A extração de colágeno é uma forma viável de aproveitamento de resíduos gerados pelo beneficiamento do pescado;
- Ambos os métodos utilizados mostram-se promissor nos processos de extração do colágeno, porem o método de ácido-base mostrou-se mais eficaz do que o método de cocção, uma vez que elimina os lipídios da amostra aumentando a qualidade do colágeno;
- A temperatura é um parâmetro muito importante no processo de extração do colágeno e deve ser controlado para evitar a desnaturação do colágeno;
- Os valores médios utilizados no planejamento fatorial apresentaram os melhores rendimentos;
- Para a obtenção do colágeno é necessário que os resíduos de pescados sejam armazenados em recipientes higienizados evitando a contaminação por bactérias indesejáveis.

REFERÊNCIA

- ABNT - **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. NBR 10.004. Resíduos sólidos – Classificação. Segunda edição. Rio de Janeiro, 2004.
- ALFARO, A. T. **Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*)** 2008. 130 f. Tese (Doutor em Ciências e Tecnologia) Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2008.
- ALFARO, A. T. *et al.*, **Effect of extraction parameters on the properties of gelatin from King weakfish (*Macrodonancylodon*) bones**. Food Science and Technology International, v. 15, p. 553-562, 2009.
- Alves, S.G.T.; Prudêncio-Ferreira, S.H. Propriedades funcionais de material colagenoso de pés de frango. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.52, n.3, 2002.
- ALMEIDA **Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de patê cremoso de frango adicionado de material colagenoso, extraído da pele de frango**. 74 f. Dissertação (Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Parná, 2004.
- ARRUDA, L. F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos**. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.
- ALMEIDA, P. F. de; SANTANA, J.C.C. Avaliação da qualidade de uma gelatina obtida a partir de tarsos de frango. **XXX Encontro Nacional de Engenharia de Produção (ENEGEP)**. Maturidade e desafios da Engenharia de Produção: competitividade das empresas, condições de trabalho, meio ambiente. São Carlos, SP. 2010. Disponível em: <http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2010_TN_STP_114_750_15403>. pdf Acessado em: 22 de março de 2016.
- BASSOS T. R. URNAU R M., BRANDALIZE C., SIMÕES M. R. Extração e Caracterização de Colágeno Obtido de Peles do Processamento de Tilápia. **III Encontro Paranaense de Engenharia e Ciência** Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus Toledo-PR. Out 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1.
- BUENO M. C; ALVIM D. I; KOBERSTEIN.T. C. R.; Maria Célia PORTELLA, PORTELLA C. M; GROSSO C. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food Technology** Campinas, v. 14, n. 1, p. 65-73, jan./mar. 2011.
- BANDEIRA, S. F. *et al.*, **Extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum**. Cienc. Rural, v.4, n.5, 2011.

BORDIGNON, A. C. **Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 114 f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. RIISPOA: **Regulamento da Inspeção e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Decreto nº 120.691. Brasília: 1984^a.

BORDIGNON, A. C. **Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 114 f. Dissertação (Mestre em Zootecnia) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

CASTRO, E. M. **Saúde - Colágeno Peixe**. Engenheira de alimentos da Equipe Relva Verde, Nov 2015. Bases de dados. Disponível em: <<http://relvaverde.com.br/saude/colageno-de-peixe>>. Acessado 22 de março de 2016.

DUARTE, F. O. S. **Propriedades funcionais do colágeno e sua função no tecido muscular**. Programa de Pós - Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2011.

DARMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FALCH, E., RUSTAD, T.; AURSAND, M. Byproducts from gadiform species as raw material for production of marine lipids as ingredients in food or feed. **Process Biochem**, n. 41, p.666–674, 2006.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012. 230 p. OLIVEIRA, R. **O Panorama da Aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade**. Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, vol.2, nº1, Fev, 2009. Disponível em: <<http://www.intertox.com.br>>. Acesso em: 20 abr. 2016.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Review of the State of World Marine Fishery Resources. **Fisheries Technical**. Paper 457. Roma, p.253, 2005.

FRIESS, W. Collagen – **Biomaterial For Drug Delivery**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 45, no. 2, p.: 113-136, 1998.

FUNASA. Manual Prático de Análise de Água 1 ed. p30-35. Brasília 2009.

FUJII, I. A. **Determinação de umidade pelo método do aquecimento direto técnica gravimétrica com emprego do calor**. Universidade de Cuiabá-UNIC, Faculdade de nutrição. 5 f. 2016 Disponível em: <<http://docplayer.com.br/11600781-1-determinacao-de-umidade-pelo-metodo-do-aquecimento-direto-tecnica-gravimetrica-com-emprego-do-calor.html>>. Acesso em abr de 2016.

FERREIRA, M. F. **Extração e caracterização de gelatina proveniente de subprodutos do frango: pés**. 48 f. Monografia (Engenheiro) Universidade Tecnológica Federal Do Paraná Coordenação De Tecnologia E Engenharia De Alimentos Curso Superior De Engenharia De Alimentos, Campo Mourão – Paraná. 2013. cap 3.3, p 9-10.

GONÇALVES, G. R. OLIVEIRA, M. A. S. MOREIRA, R. F BRITO, D **Benefícios da Ingestão de Colágeno para o Organismo Humano.** REB Volume 8 (2): 190-207, 2015.

GÓMEZ-GUILLÉN MC, GIMÉNEZ B, LÓPEZ-CABALLERO ME, MONTERO MP. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: 41 f **A review. Food Hydrocoll.**;v 25. n 8. p 1813-27. 2011.

GOMÉZ-GUILLÉN, M.C.; FERNANDÉZ-DÍAZ, M.D.; ULMO, N.; LIZARBE, M.A.; MONTERO, P. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.16, p.25-34, 2002.

GELITA, **Peptídeos de colágeno de gelita.Obtidos na natureza:**banco de dados. Disponível em:<<http://one.gelita.com/pt/solu-es-e-produtos/pept-deos-de-col-geno-da-gelita-obtidos-na-natureza>>Acesso em 28 abr. 2016.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, [S.l.], v. 177, p. 751766. 1949. ISSN 0021-925.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa da Produção da Pecuária Municipal (PPM). Rio de Janeiro, 2013.

IBAMA. **Produção total da pesca (t), participação relativa (%) da pesca extrativa e da aquicultura marinha e continental:** 1996-2002. Acesso em 2016. IBAMA, www.ibama.gov.br, 2007.

JÚNIOR C. A. F; JÚNIOR A. S. V. **Cultivo de tilápia no Brasil: origens e cenário atual.** Rio Branco – Acre, 20 a 23 de jul de 2008. Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/178.pdf>>. Acessado em 27 de abril em 2016.

JPA. São Jerônimo Piscicultura **Tilapia do nilótica(*Oreochromis niloticus*)**, 2016. Disponível em: <http://www.pisciculturasaojeronimo.com.br/portfolio/tilapia-nilotica>. Acesso em:22 abr.2016.

KELLEHER, K. Discards in the world's Marine fisheries. FAO-fisheries technical, paper 470, 2005. KOZLOVA, T. A.; KOTIMCHENKO, S. V. Lipids and fatty acids of two pelagic cottoid fishes (*Comephorus* spp.) endemic to Lake Baikal. **Comp Biochem Physiol B.**, n. 126, p. 477–485, 2000.

KARIM, A.A.; BHAT, R. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. **Food Science e Technology**, v.19, p.644-656, 2008.

LIMA, L. K. F. **Reaproveitamento de Resíduos Sólidos na Cadeia Agroindustrial do Pescado.** Palmas: Embrapa, 2013. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/968518>>. Acesso em: 20 abr. 2016.

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

LEE, C.H.; SINGLA, A.; LEE, Y. **Biomedical applications of collagen**. International Journal of Pharmaceutics, v 22, p 1-22, 2001.

MATOS, A. T. Tratamento de resíduos agroindustriais. Curso sobre tratamento de resíduos agroindustriais - **Fundação Estadual do Meio Ambiente**, Maio de 2005.

MARTONE C, BORLA O, SANCHEZ J. Fisheryby-product as a nutrient source for bacteria and archaea growth media. **Bioresource Technology** v.96, n.3, p.383-387, 2005.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA). **Produção Pesqueira e Aquícola-Estatística 2008-2010**. 60 p. 2011.

MOLINARI, M. C. **Extração e caracterização de gelatina a partir de subprodutos de tilápia** 2014. 50 f. Monografia(Engenheiro.) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

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

MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, 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, 2000.

NUNES, R.; VIANA, A.; SON, C.; BRUM, L.; OLIVEIRA, L.; COSTA, H. Aproveitamento de Resíduos de Pescado na Região dos Lagos: Uma Questão Ambiental. Revista Saúde, Corpo, Ambiente & Cuidado, v 1. n 1 Jan./Mar. 2013.

NETO, J. M. S. **Otimização do enriquecimento protéico da algaroba (*Prosopis juliflora*) por meio da fermentação utilizando *Lentinus crinitus* CCIBt 2611 visando a produção de ração animal** (Trabalho de conclusão de curso) – Universidade Federal de Campina Grande. 63 f. Sumé, 2014.

NICOLETI JF, Telis VRN. Viscoelastic and thermal properties of collagen–xanthan gum and collagen–maltodextrin suspensions during heating and cooling. **Food Biophys**. 2009. v 4, N 3, p135-146. 2009.

OLIVEIRA, E, SANTOS F, PEREIRA A, LIMA C. **Produção de Tilápia: mercado, espécies, biologia e recria**. Teresina: MAPA/Embrapa Meio Norte Circula Técnica, 45 ISSN 0104-7633 2007.

OLIVEIRA, R. **O Panorama da Aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade**. Revinter - Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, vol.2, nº1, Fev, 2009. Disponível em: <<http://www.intertox.com.br>>. Acesso em: 20 abr. 2015.

OPCAOFENIX, Distribuidora de Insumos. **Colágena líquida**. 2 f. São Paulo. 2012. Bases de dados Disponível em:<<http://opcaofenix.com.br/site/wp-content/uploads/2012/10/Colageno-Liquido.pdf>>. Acessado em 27 de Abril de 2016.

OCKERMAN, H.W.; HANSEN, C.L. Industrialización de subproductos de origen animal. Zaragoza: Acribia, 133- 160p., 1994.

OLIVEIRA M. M. **Dietas para reprodutores de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**.96 f. Tese (Ciências Veterinárias). Universidade Federal de Lavras, LavrasMG, 2012.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. CARNES: No Caminho da Pesquisa. Cocal do Sul: Imprint, 2001, 155p.

PRESTES R. C; GOLUNSKIS. M; TONIAZZO G.; KEMPKA. A. P.; LUCCIO M. D. Caracterização da fibra de colágeno, gelatina e colágeno hidrolisado. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.4, p.375-382, 2013.

PITTIGLIANI, A. H. **Resíduos de Pescados: Produção de Biodiesel e extração de colágeno**. 74 f. Monografia (Medicina veterinária) Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2014.

PDA- **Plano de Desenvolvimento da Aquicultura**. Brasília/DF 2014. Disponível em: http://www.mpa.gov.br/files/docs/Outros/2015/Plano_de_Developolvimento_da_Aquicultura-2015-2020.pdf. Acessado em Abril de 2016.

PRESTES R. C Colágeno e Seus Derivados: Características e Aplicações em Produtos Cárneos.10 f. **UNOPAR Científica**.Ciências Biológicas e da Saúde 2013, 15(1):65-74.

PETERS M A review of the biology, ecology, distribution and control of Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* , . **Reviews in Fish Biology and Fisheries** v.22, n.3, p.533-554, 1852.

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

RUSTAD, T. **Utilization of marine by-products**.Eletronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 2003.

SHIMOKOMAKI, M. Aproveitamento de sub-produtos das indústrias cárneas para produção de colágenos e suas aplicações. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v.16, n.187. p.32-34, set. 1992.

SOUZA M, DOURADO D, MACHADO S, BUCCINI D, JARDIM M, MATIAS R *et al.*, Análises da pele de três espécies de peixes: histologia, morfometria e testes de resistência.2003 **Revista Brasileira de Zootecnia**, v 32, n 6;;p. 1551-1559. 2003.

SOUSA, J. W. L. ; ALVES, A. S. S. ; RAMOS, D. F. ; RODRIGUES, J. S. L. ; COELHA, G. D. Quantificação dos resíduos provenientes dos processos de filetagem e desfiamento de peixes, da associação de mulheres pescadoras do açude de cordeiro (MPAC). In: **I Simpósio de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Semiárido**, Sumé PB. Avanços da Biociência com Ênfase na Sustentabilidade e Desenvolvimento Regional. Sumé PB,2014.

Santana, R.C.; Sato, A.C.K.; Cunha, R.S. Emulsions stabilized by heat-treated collagen fibers. **Food Hydrocolloids**, v.26, n.1, p.73-81, 2012.

SAMPAIO, L. A. Brazilian Aquaculture Update. **World Aquaculture Magazine**, P. 35-41. 2010

SILVA T. F.; PENNA A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v 7.n 3.2012.

SILVA, S.V. **Mineralização biomimética in vivo e in vitro de matrizes de colágeno aniônico: modelo de biomineralização**. 115 f. Tese (Doutorado)-Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

TONHI, E.; PLEPIS, A.M.G. **Obtenção e caracterização de blendas colágeno-quitosana**. *Química Nova*, São Paulo 25, n.6, 943-948, 2002.

TIMPONE, I. T.; **Impacto dos programas da secretaria especial da aquicultura e pesca (seap) na competitividade da produção aquícola de teodoro sampaio e santa fé do sul**. Trabalho de Dissertação. Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticaba. São Paulo- Maio de 2009.

VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, G. S. **Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal**. Instituto de Pesca, São José do Rio Preto, 2006.

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

WOLF KL, SOBRAL PJA, TELIS VRN. Physicochemical characterization of collagen fibers and collagen powder for self-composite film production. **Food Hydrocoll**. 2009;23 (7):1886-94.