

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**VAGNER ALVES DO NASCIMENTO**

**EXTRAÇÃO DE CONCENTRADO PROTEICO DA PELE DE TILÁPIA DO NILO  
POR MEIO BÁSICO E ÁCIDO**

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

**VAGNER ALVES DO NASCIMENTO**

**EXTRAÇÃO DE CONCENTRADO PROTEICO DA PELE DE TILÁPIA DO NILO  
POR MEIO BÁSICO E ÁCIDO**

**Extraction of protein concentrate from Nile tilapia skin by basic and acid**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Tecnólogo em Alimentos da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador(a): Dr<sup>a</sup>. Adriana Aparecida Droval.

Coorientador(a): Dr<sup>a</sup>. Flávia Aparecida Reitz Cardoso.

**CAMPO MOURÃO**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**VAGNER ALVES DO NASCIMENTO**

**EXTRAÇÃO DE CONCENTRADO PROTEICO DA PELE DE TILÁPIA DO NILO  
POR MEIO BÁSICO E ÁCIDO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Tecnólogo em Alimentos da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 08 de junho de 2022

---

Profª Drº Paulo Henrique Março  
Doutorado em Química  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Profª Drº Augusto Agostinho Neto  
Doutorado em Química  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Profª Drª Adriana Aparecida Droval  
Doutorado em Ciência de Alimentos  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Quero agradecer primeiramente a minha mãe, Marli Alves do Nascimento, quem me apoiou desde sempre com conselhos, incentivos, e por ser essa pessoa incrível e minha inspiração desde sempre, e ao meu pai, Valdeci Ribeiro do Nascimento, que sempre dispôs do seu tempo para me levar e buscar na universidade, foram muitos dias, muitos domingos e feriados, e sem essa ajuda e esse apoio dos dois tudo teria sido muito mais complicado. Agradeço ao meu namorado Iorhã Borges de Oliveira que acompanhou essa trajetória desde o início e sempre me incentivou e me motivou a continuar seguindo firme e forte mesmo nos momentos mais difíceis.

Agradeço também a minha orientadora, professora Dr<sup>a</sup> Adriana Aparecida Droval e a minha coorientadora Dr<sup>a</sup> Flávia Reitz pelo auxílio dado ao longo desse projeto, e agradeço ao professor Dr<sup>o</sup> Paulo Henrique Março e Dr<sup>o</sup> Augusto Tanamati por terem aceitado participar da banca que será de extrema importância para a conclusão deste projeto. E por último agradeço aos meus amigos e a pessoas incríveis que tive a oportunidade de conhecer ao longo da graduação, em especial a Bárbara Brito e Caroline Maia que estiveram comigo desde o início do curso nos motivando a sempre persistir mesmo diante das dificuldades encontradas ao longo de nossa graduação, e a Maria Cristiane, minha amiga e parceira de laboratório que levo para sempre comigo, passamos muitos perrengues juntos, porém sempre ajudando um ao outro para conseguirmos concluir com sucesso nossos projetos.

## RESUMO

A tilápia do Nilo é uma espécie muito apreciada e produzida no Brasil, porém após a sua filetagem (30%) são geradas grandes quantidades de resíduos sólidos (60 a 65%), e isso gera prejuízos e maiores impactos ao meio ambiente, sendo necessário o aproveitamento e uma melhor destinação final desses coprodutos. Este trabalho teve como objetivo a extração de concentrado proteico da pele de tilápia do Nilo, a partir de uma metodologia de protocolo ácido/básico, variando o tempo e a temperatura no processo de extração. Foi elaborado um planejamento fatorial  $3^2$  possuindo dois pontos principais, levando em consideração a variação da temperatura (5; 12,5 e 20°C) e do tempo (12, 24 e 36 horas) em três níveis, gerando 11 experimentos. Como respostas foram determinados o teor de proteína bruta e a solubilidade de cada experimento. Para a análise de proteína foi possível verificar que os ensaios E5 (12,5°C/24h) e E8 (20°C/24h) foram os que apresentaram a maior (14,54 g/100g) e a menor (11,84 g/100g) quantidade de proteína, respectivamente. Verificou-se que o tempo e a temperatura não influenciaram no aumento do teor de proteína nos experimentos estudados. Em relação a solubilidade notou-se que em valores de pH de 9 e 12 houve aumento na solubilidade (E2 = 3,41 g/100g) porém, foram consideradas baixas na maioria dos 11 experimentos estudados, mas acredita-se que isso se deve, pois, a proteína extraída caso realmente seja colágeno, é uma proteína pouco ou insolúvel em água.

Palavras-chave: pescado; pele de tilápia do Nilo; colágeno; proteína.

## ABSTRACT

Nile tilapia is a very appreciated species and is produced in Brazil, but after its filleting (30%) large amounts of solid waste are generated (60 to 65%), and this generates losses and greater impacts on the environment, requiring the use and a better final destination of these co-products. This work aimed to extract collagen from the skin of Nile tilapia, using an acid/base protocol methodology, varying the time and temperature in the extraction process. A 32 factorial design was elaborated having two main points, taking into account the temperature variation (5; 12.5; 20°C) and time (12, 24 and 36 hours) in three levels, generating 11 experiments. As answers, the crude protein content and the solubility of each experiment were determined. For the protein analysis, it was possible to verify that the E5 (12.5°C/24h) and E8 (20°C/24h) assays were the ones that presented the highest (14.54 g/100g) and the lowest (11.84 g/100g) amount of protein, respectively. It was found that time and temperature did not influence the increase in protein content in the experiments studied. Regarding solubility, it was noted that at pH values of 9 and 12 in some experiments there was an increase in solubility (E2 = 3.41 g/100g), however, they were also considered low in most of the 11 experiments studied, but it is believed that this is due to the fact that the extracted and concentrated protein is collagen, which is a little or insoluble protein in water.

Keywords: fish; Nile tilapia skin; collagen, protein.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1 Objetivo</b> .....	<b>10</b>
1.1.1 Objetivo Geral .....	10
1.1.2 Objetivos Específicos .....	10
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1 Tilápia do Nilo</b> .....	<b>11</b>
<b>2.2 Colágeno</b> .....	<b>12</b>
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1 Preparo das amostras de peles</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2 Extração</b> .....	<b>15</b>
<b>3.3 Análises</b> .....	<b>16</b>
3.3.1 Determinação de proteína bruta.....	16
3.3.2 Solubilidade .....	17
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>22</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>23</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A partir da década de 70, a tilápia do Nilo chegou ao Brasil, sendo introduzida primeiramente no Nordeste, pelo Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS), e expandiu para todo território nacional, passando então a ser cultivada desde a bacia do rio Amazonas até o Rio Grande de Sul (BOSCOLO *et al.* 2001).

Segundo PICKLER *et al.* 2017, o Brasil é um dos maiores produtores de tilápia do mundo, contando com 51,7% da piscicultura dedicada a produção deste peixe, sendo na região sul, um dos peixes mais produzidos, e o estado do Paraná se destacando por ser o seu maior produtor, com 94% da produção total destinada a esta espécie (MEDEIROS, 2018). As carpas (carpa capim – *Ctenopharyngodon idellus*; carpa prateada – *Hypothalmichthys molitrix*) e a tilápia Nilótica (*Oreochromis niloticus*) estão entre as principais espécies produzidos em tanques redes no Brasil (EMBRAPA, 2020). Resistência a doenças, qualidade da carne e, principalmente, o crescimento rápido são características que fazem tilápia uma das espécies de peixes mais cultivados no mundo (ALLAMAN *et al.* 2013).

O rendimento médio em filé nas espécies de tilápia do Nilo cultivada é de 30% aproximadamente, e os 70% restantes incluem: cabeça, carcaça, vísceras, pele e escamas (VIDOTTI; GONÇALVES, 2006). O processo de filetagem gera 60 a 70% do peso bruto do peixe em resíduos orgânicos de alta qualidade nutricional para a obtenção de diferentes subprodutos, alternativas que geram lucros extras para os produtores e reduzem o efeito prejudicial ao meio ambiente (VIDOTTI & GONÇALVES, 2006).

O termo resíduo refere-se às sobras e aos subprodutos dos processamentos dos alimentos que são de valor comercial relativamente baixo (ARRUDA, 2004). Devido ao alto consumo desse tipo de produto, os pescadores artesanais e a indústria pesqueira têm gerado muitos desses resíduos durante as etapas de processamento/beneficiamento, os quais quase sempre são descartados inadequadamente no ambiente de coleta ou lixeiras, tornando-o bastante danoso ao meio ambiente (OLIVEIRA *et al.* 2017), como por exemplo, a eutrofização de corpos d'água. Por isso, uma das formas de minimizar os impactos ao meio ambiente é a utilização e agregação de valores a estes resíduos, como por exemplo a obtenção ou extração de outros produtos (MACEDO; SIPAÚBA-TAVARES, 2010).



O termo colágeno deriva das palavras Kolla (cola) e Genno (produção) (OLIVO, 2001). Colágeno é a proteína fibrosa de origem animal e mais abundante em mamíferos, representando 30% das proteínas totais e 6% em massa do corpo humano (TONHI & PLEPIS, 2002). O colágeno pode ser obtido de diversas espécies animais (bovinos, suínos, peixes etc.). 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, PENNA, 2012). O colágeno encontrado em maior abundância nos peixes é o tipo 1, é uma proteína macromolecular, constituída por três cadeias polipeptídicas de tamanhos iguais que, em sua porção central, estão sob a forma helicoidal e, nas extremidades amínicas e carboxílicas, permanecem na forma globular (SWAN; TORLEY, 1991). A extração de colágeno através de resíduos de pescados é mais segura em comparação à extração realizada a partir de resíduos de bovinos e suínos pois apresentam ausência de transmissão de patógenos, não ocorre citotoxicidade e apresenta abundância de matéria prima (pele, escamas, barbatana, bexiga natatória, ossos, espinhas e músculos (ZHRANI, 2011).

A qualidade e aplicação específica do colágeno extraído estão diretamente relacionadas com suas propriedades funcionais e pureza (RUSTAD *et al.* 2003). Houve um aumento no interesse pela aplicação industrial de colágeno em suplementos alimentares e em produtos alimentícios, como iogurtes, embutidos (salsicha e presunto), chás, sucos e em sobremesas de fácil preparo, tais como gelatina, pudins e maria-mole. Esses alimentos adicionados de colágeno podem ser utilizados em tratamentos para melhorar a elasticidade e firmeza da pele e prevenção de doenças, como a osteoartrite, osteoporose, hipertensão e úlcera gástrica (SILVA; PENNA; 2012).

Os métodos de extração comumente empregados baseiam-se na solubilidade do colágeno em soluções salinas neutras, ácidas e ácidas adicionadas de enzimas. Estudos tem realizado extrações consecutivas do colágeno, com sal, ácido e enzimas, a fim de determinar o melhor método de extração, para obtenção de maiores rendimentos e colágenos de melhor qualidade (WANG *et al.* 2014; LI *et al.* 2013; NAGAI *et al.* 2014).

A obtenção de maiores rendimentos no processo de extração do colágeno da pele de tilápia é fundamental para viabilizar sua utilização como potencial fonte de produção (BASSO; URNAL; BRANDALIZE; SIMÕES, 2013).

## 1.1 Objetivo

### 1.1.1 Objetivo Geral

Obter e avaliar o processo de extração de concentrado proteico de pele de tilápia do Nilo em meio básico e ácido (*Oreochromis niloticus*) e determinar o teor de proteína bruta e a solubilidade.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Extrair o colágeno pelo método ácido/básico por meio de um planejamento fatorial  $2^3$ , com três pontos centrais variando em função do tempo (12, 24 e 36 horas) e temperatura (5, 12,5 e 20°C) de extração.
- Avaliar o teor de proteína bruta de cada experimento realizado.
- Determinar a solubilidade de cada experimento.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Tilápia do Nilo

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) pertence à ordem dos Perciformes e família Cichlidae, é originária da bacia do rio Nilo, no Leste da África, encontrando-se amplamente disseminada nas regiões tropicais e subtropicais, como em Israel, no Sudeste Asiático (Indonésia, Filipinas e Formosa) e no Continente Americano (USA, México, Panamá e toda a América do Sul) (FIGUEIREDO, 2015).

A espécie é originalmente nativa da África, mas encontrou no Brasil condições ambientais ideais para se propagar, e apesar de ser exótica, atualmente a tilápia pode ser capturada em ambientes naturais, em praticamente todas as regiões brasileiras (BORGHETTI; OSTRENSKY, 1999). A tilápia é a espécie de peixe que mais apresenta adaptabilidade quando criada em cativeiro devido a sua alta capacidade de resistir a patógenos, proporcionando tolerância e variados cultivos em ambientes hostis e estressantes. Tornando-se a espécie preferida na piscicultura brasileira, obtendo participação de 38% na produção total de peixes oriundos desse processo (JÚNIOR, 2008). Tolerava grandes variações de temperatura desde 21°C até acima de 35°C, não é uma espécie muito exigente quanto ao oxigênio e vive bem em águas salobras, suportando até 18‰ de sal, apesar de seus hábitos alimentares a classificam como onívora (ORR 1986).

Segundo Franco *et al.* 2012, dentro da atividade de processamento, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) foi umas das espécies que melhor se adaptou a inovação dentro da piscicultura. Além de seus atributos organolépticos e ausência de espinhos em forma de Y na sua musculatura, que acaba agregando maior valor e aceitabilidade ao seu filé (SOUZA, 2016; VICENTE *et al.*, 2014).

O Brasil é um dos maiores produtores de Tilápia do Nilo, essa produção representa 55% da produção total de peixes de cultivo, mantendo o Brasil na quarta posição entre os maiores produtores do mundo, sendo superado pela China, Indonésia e Egito (PEIXE BR, 2019). De acordo com a Peixe Br. (2020), o Brasil já ocupa a quarta posição mundial na produção da tilápia, a terceira posição é ocupada pelo Egito, país com muito menos recursos naturais que o Brasil. Os números da tilápia no país comprovam sua viabilidade em termos produtivos e como negócio, já que a espécie esta presente nos maiores e mais recentes empreendimentos, principalmente nas regiões sul e sudeste (PEIXE BR, 2018).

De acordo com o relatório da FAO (2016), o Estado Mundial da Pesca e Aquicultura estima que o Brasil deve registrar um crescimento de 104% na produção de pesca e aquicultura em 2025.

As técnicas de abate de peixes são diversas, e as espécies apresentam variação nas respostas aos diferentes métodos (ASHLEY, 2007) sendo a escolha de abate mais apropriada, então um critério para a qualidade final do pescado. Ainda segundo ASHLEY, 2007, o abate com imersão em água gelada, com temperatura em torno de 1°C é um dos métodos de abate mais utilizados. O beneficiamento dos peixes, bem como da tilápia, envolve basicamente a sua obtenção, conservação, processamento, embalagem, transporte e conservação (FELTES, *et al.* 2010).

Com o aumento na produção de pescado, cresceram as exigências do mercado consumidor, que englobaram no conceito de qualidade, segurança alimentar e sabor, além de alguns aspectos que envolvem a produção, tais como, sustentabilidade, impacto ambiental e o bem-estar animal (VAN DE VIS, *et al.* 2003). 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, 2011; PRESTES, 2013; SILVA, 2012).

A piscicultura tem capacidade para se tornar um importante aliado da sustentabilidade, transformando os resíduos orgânicos em matérias-primas, atuando de forma direta na preservação do meio ambiente e recursos naturais e diminuindo de maneira significativa os resíduos gerados e o consumo de água (MAIA, 2015).

## **2.2 Colágeno**

O colágeno do tipo I é encontrado de forma abundante principalmente em peixes de água doce e marinhos e sua extração pode se dar através da pele, escamas e outras partes do corpo do animal (OLIVEIRA *et al.* 2017). Esta proteína estrutural constitui cerca de 30% das proteínas dos vertebrados. O colágeno é caracterizado pelos altos teores de glicina, prolina e hidroxiprolina, sendo desnaturado na presença

de padrões ácidos diluídos e convertidos em proteína solúvel como a gelatina, quando solubilizado em soluções aquecidas (ALFARO *et al.* 2008).

A molécula de colágeno é formada por três cadeias polipeptídicas alfa com mais de mil aminoácidos que, por sua vez, são organizados em forma de tripla-hélice, o que lhe garante a possibilidade de diversos tipos de ligações, conferindo uma infinidade de aplicações práticas, principalmente em indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (CAMPOS, 2008; BORDIGNON, 2010). Várias pesquisas vêm sendo realizadas na extração do colágeno de peixe, pois além de possuir diversos subprodutos não aproveitados na indústria, tem ausência de toxidade, não tem risco de transmitir doenças, não possui barreira religiosa e se obtém um alto rendimento no processo de extração (FONTOURA, 2019).

Segundo GÓMEZ-GUILLÉN *et al.* (2002) a extração de colágeno e seus derivados de pescados, é considerado a melhor forma de processar os resíduos da indústria de pescado, garantindo um maior aproveitamento e conseqüentemente, maior lucro. O colágeno é a principal proteína estrutural do reino animal, e estima-se que após a filetagem do pescado, pode-se extrair grande quantidade desta proteína (SCHUROFF, 2017).

Dentre estas aplicações, destaca-se a utilização em indústrias alimentícias para melhorar a estabilidade, elasticidade e consistência dos alimentos. Na indústria alimentícia é utilizado para enriquecimento proteico de algumas formulações, mas sua maior importância está na sua utilização como tripa reconstituída para embutidos e como agente estabilizante em emulsões cárneas.

Existem algumas metodologias para extração do colágeno da tilápia que são geralmente empregadas, a extração ácida alcalina (NaOH) é mais ativa, pois requer melhor controle de temperatura, devido ao uso de elevadas temperaturas chegando a 75°C, enquanto a extração ácida e enzimática requer reagentes químicos como, ácido acético, pepsina e NaCl (HUANG *et al.* 2016). O pré-tratamento químico realiza a remoção de cálcio, gordura e demais impurezas sem que ocorra a desnaturação dessas proteínas.

No tratamento ácido, a matéria prima é imersa em solução ácida a temperatura controlada, ocorrendo a penetração da solução na matéria prima, promovendo uma expansão de duas a três vezes o seu volume inicial, dando o processo de clivagem das ligações não covalentes inter e intramoleculares (FERREIRA, 2013).

No processo de extração enzimática algumas das enzimas mais utilizadas são pepsina, collagenase e tripsina, dentre elas a pepsina se destaca como a mais utilizada, podendo atuar isoladamente após uma extração com ácido acético ou também em conjunto com o ácido, portanto gerando um colágeno solúvel com pepsina.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Preparo das amostras de peles

Foram adquiridas por doação amostras de pele de tilápia do Nilo de um pescueiro da região de Campo Mourão/PR. As amostras de peles frescas eram rapidamente limpas em água corrente, e em seguida separadas em porções de 100g, acondicionadas em embalagens plásticas e congeladas em freezer doméstico a temperatura de -18°C até o início do processo de extração.

#### 3.2 Extração

A extração utilizada foi por meio básico e ácido. A metodologia aplicada para a extração do concentrado proteico (supostamente colágeno), é a mesma proposta por YAN *et al.* (2015), com algumas modificações. A temperatura ambiente, aproximadamente 25°C as peles foram recortadas em pequenos pedaços de aproximadamente 1,0 cm<sup>2</sup> com auxílio de uma tesoura, após tal procedimento, as amostras foram lavadas com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 mol/L em uma proporção de 1:20 w/v (1g de pele para 20mL de hidróxido de sódio) por um período de 24 horas, sob agitação suave. Esta etapa visou a remoção das proteínas não colagenosas e dos pigmentos. Seguida pela etapa de descalcificação das peles a partir de uma solução de EDTA 0,5 mol/L (pH 7,5), numa proporção de 1:10 w/v por cinco dias corridos sendo essa solução de EDTA renovada diariamente, ou seja, a cada 24 horas por 5 dias. Após a realização da descalcificação, as peles foram lavadas com água destilada gelada a temperatura aproximadamente de 5°C. Posteriormente, as amostras foram embebidas em solução de butanol 10%, em proporção de 1:20 w/v por 24 horas visando a retirada de gordura, com a solução sendo renovada a cada 8 horas, ou seja, totalizando 3 renovações. Após desengorduradas, as peles foram lavadas novamente com água destilada a 5°C e em seguida imersas em uma solução contendo ácido sulfúrico 0,05 mol/L a uma proporção de 1:20 w/v, e em temperatura ambiente (25°C), por 3 horas.

Após todas essas etapas, as amostras foram enxaguadas com água destilada até atingir um pH neutro e em seguida ficaram em agitação contínua em água numa proporção de 1:30 w/v durante período noturno, e variando a temperatura, e o tempo conforme descrito na tabela 1. O concentrado obtido (pele mais água) foi então

centrifugado a 6.000 rpm por um período de 30 minutos, à uma temperatura de 25°C. O sobrenadante obtido então foi recolhido e liofilizado. Por tanto, foi elaborado um planejamento factorial (Tabela 1) 3<sup>2</sup> possuindo dois pontos principais, levando em consideração a variação de temperatura e de tempo em três níveis.

**Tabela 1 - Variação do tempo e temperatura para cada ensaio.**

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (horas)
1	5	12
2	5	24
3	5	36
4	12,5	12
5	12,5	24
6	12,5	36
7	20	12
8	20	24
9	20	36
10	12,5	24
11	12,5	24

Fonte: Autoria própria (2022)

Para o estudo dos processos de extração do colágeno do coproduto da tilápia e avaliação dos fatores que influenciam no rendimento, empregado o planejamento factorial 3<sup>2</sup> com dois pontos centrais, para os ensaios representados na Tabelas 1, respectivamente a Tabela 2 apresenta as variáveis independentes, com os valores reais e codificados, para a extração de colágeno.

**Tabela 2 – Valores reais das variáveis do planejamento experimental e seus respectivos níveis codificados**

Variáveis	-1	0	1
		Extração em água	
Tempo (horas)	12	24	36
Temperatura (°C)	5	12,5	20

Fonte: Autoria própria (2022)

Os dados experimentais foram analisados com auxílio do *software* Statistica 12 e os efeitos principais dos fatores e suas interações sobre o teor de proteína e a solubilidade obtidas por meio da análise de variância e teste de Tukey ao nível de significância de 5% (valor  $p < 0,05$ ).

### 3.3 Análises

#### 3.3.1 Determinação de proteína bruta



A análise de proteínas foi realizada a partir do método de Kjeldahl conforme relatado nos Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (2008), formado pelas etapas de digestão da amostra onde o nitrogênio orgânico é transformado em amônia e os componentes orgânicos são convertidos em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. A segunda etapa, é a destilação, consiste na captura do gás amônia liberado em solução receptora (ácido bórico) e, a última etapa, a titulação onde é realizada a determinação quantitativa da amônia contida na solução receptora. O cálculo da quantidade de proteínas na amostra foi realizado com o auxílio da Equação 1.

$$Proteína = \frac{V \times \text{fator de correção HCl} (0.997) \times 0.0014 \times 6.25}{P} \times 100 \quad (1)$$

onde:

V = volume utilizado na titulação – volume utilizado na titulação do branco

P = massa (g) da amostra

### 3.3.2 Solubilidade

A análise da solubilidade proteica foi determinada mediante o realizado por CHALAMIAH *et al.* (2010) sob algumas adaptações. Pesou-se aproximadamente 300 mg de amostra que foram diluídas em 30 mL de água destilada e teve o pH da solução ajustado para 3, 5, 7, 9 e 12 hidróxido de sódio 0,5 mol/L (NaOH), ou ácido clorídrico 0,5 mol/L (HCl). A solução passou por agitação à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) durante 30 min, em seguida centrifugada a 6000 rpm por 30 min a 4 °C. O conteúdo obtido de proteína no sobrenadante foi determinado utilizando o método de Biureto. A solubilidade proteica foi calculada mediante a seguinte formula:

$$Solubilidade (\%) = \frac{Proteína \text{ no sobrenadante}}{Proteína \text{ total na amostra}} * 100 \quad (2)$$

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de proteína bruta e solubilidade obtidos pelo processo de extração do concentrado proteico em pele de tilápia estão apresentados na Tabela 3. Estes foram baseados em um planejamento fatorial  $3^2$  com duas repetições no ponto central, que considerou a variação de temperatura e de tempo em três níveis. Os valores da solubilidade foram determinados ainda segundo a variação do pH em 3, 5, 7, 9 e 12.

**Tabela 3 - Resultados físico-químicos para as amostras de colágeno extraído de pele de tilápia**

Ensaio	Proteína (g/100g)	Solubilidade	Solubilidade	Solubilidade	Solubilidade	Solubilidade
		em pH 3 (g/100g)	em pH 5 (g/100g)	em pH 7 (g/100g)	em pH 9 (g/100g)	em pH 12 (g/100g)
E1	13,65 <sup>ab</sup> ±0,29	1,90 <sup>bc</sup> ±0,09	1,77 <sup>cd</sup> ±0,07	2,67 <sup>a</sup> ±0,30	1,85 <sup>ab</sup> ±0,20	2,14 <sup>bc</sup> ±0,10
E2	13,36 <sup>ab</sup> ±0,30	2,26 <sup>bc</sup> ±0,22	2,19 <sup>abcd</sup> ±0,12	1,90 <sup>ab</sup> ±0,52	2,77 <sup>a</sup> ±0,08	3,41 <sup>a</sup> ±0,30
E3	12,94 <sup>ab</sup> ±0,14	2,75 <sup>ab</sup> ±0,17	2,75 <sup>abc</sup> ±0,16	2,53 <sup>ab</sup> ±0,13	2,37 <sup>ab</sup> ±0,34	2,77 <sup>ab</sup> ±0,18
E4	13,09 <sup>ab</sup> ±0,01	3,33 <sup>a</sup> ±0,20	3,07 <sup>a</sup> ±0,07	2,37 <sup>ab</sup> ±0,15	2,18 <sup>ab</sup> ±0,24	2,45 <sup>abc</sup> ±0,16
E5	14,54 <sup>a</sup> ±0,73	1,68 <sup>c</sup> ±0,10	1,59 <sup>d</sup> ±0,10	1,73 <sup>b</sup> ±0,13	1,56 <sup>b</sup> ±0,19	1,56 <sup>c</sup> ±0,31
E6	13,65 <sup>ab</sup> ±0,37	2,09 <sup>bc</sup> ±0,05	2,13 <sup>abcd</sup> ±0,08	2,16 <sup>ab</sup> ±0,11	2,18 <sup>ab</sup> ±0,06	2,15 <sup>bc</sup> ±0,06
E7	13,23 <sup>ab</sup> ±0,15	1,98 <sup>b</sup> ±0,23	2,27 <sup>abcd</sup> ±0,42	2,06 <sup>ab</sup> ±0,13	2,00 <sup>ab</sup> ±0,07	2,17 <sup>bc</sup> ±0,03
E8	11,84 <sup>b</sup> ±1,24	2,53 <sup>abc</sup> ±0,33	2,83 <sup>ab</sup> ±0,23	2,61 <sup>ab</sup> ±0,24	2,44 <sup>ab</sup> ±0,42	2,53 <sup>abc</sup> ±0,32
E9	12,63 <sup>ab</sup> ±0,25	2,08 <sup>bc</sup> ±0,30	1,87 <sup>bcd</sup> ±0,28	2,04 <sup>ab</sup> ±0,26	2,12 <sup>ab</sup> ±0,34	2,18 <sup>bc</sup> ±0,24
E10	13,08 <sup>ab</sup> ±0,01	2,24 <sup>bc</sup> ±0,08	2,05 <sup>bcd</sup> ±0,16	2,14 <sup>ab</sup> ±0,14	2,27 <sup>e</sup> ±0,06	2,32 <sup>bc</sup> ±0,10
E11	13,37 <sup>ab</sup> ±0,16	1,95 <sup>bc</sup> ±0,10	1,73 <sup>d</sup> ±0,13	1,94 <sup>ab</sup> ±0,22	1,96 <sup>ab</sup> ±0,19	1,92 <sup>bc</sup> ±0,19

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas sobrescritas distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

E1: temperatura de 5°C e tempo de 12h; E2: temperatura de 5°C e tempo de 24h; E3: temperatura de 5°C e tempo de 36h; E4: temperatura de 12,5°C e tempo de 12h; E5: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h; E6: temperatura de 12,5°C e tempo de 36h; E7: temperatura de 20°C e tempo de 12h; E8: temperatura de 20°C e tempo de 24h; E9: temperatura de 20°C e tempo de 36h; E10: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h; E11: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h.

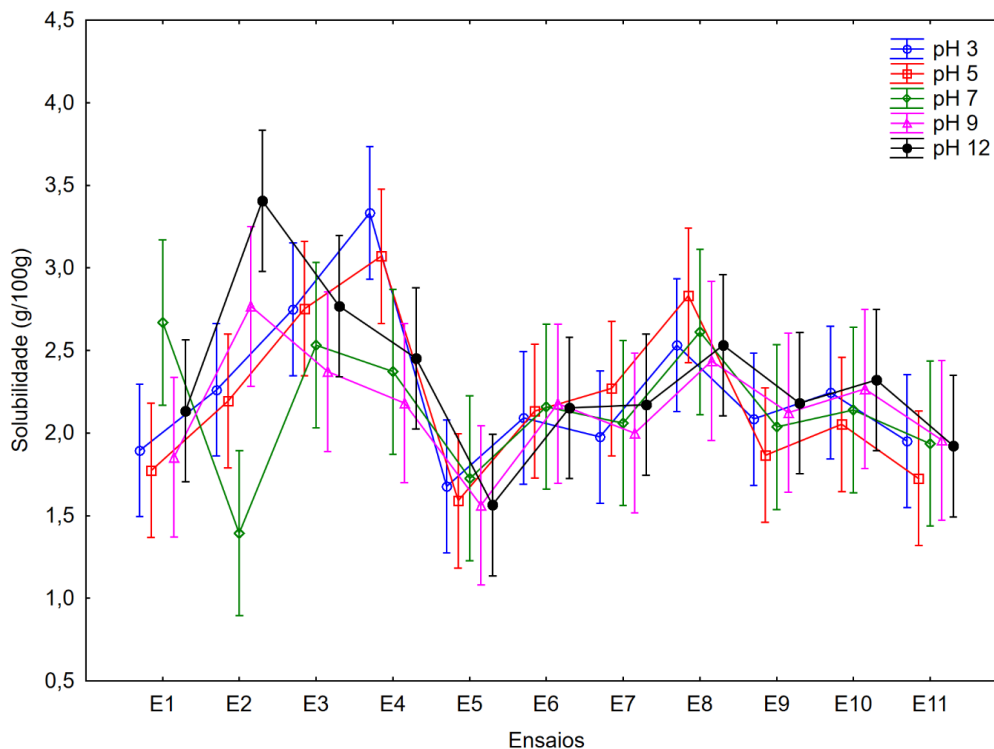
**Fonte: Aatoria própria (2022)**

Para a análise de proteína é possível verificar que os ensaios E5 e E8 foram os que apresentaram a maior (14,54 g/100g) a menor (11,84 g/100g) quantidade de proteína, respectivamente. Os demais ensaios não apresentaram diferenças significativas entre as médias, e ao nível de significância de 5% também ficaram na

mesma média dos ensaios E5 e E8. Pode-se verificar que a influência do tempo (12, 24 e 36h) e da temperatura (5, 12,5 e 20°C) que foi avaliado nos experimentos do presente estudo, não foi um fator importante e capaz de aumentar o teor de proteína no processo de extração, pois no experimento E9 que foi o maior tempo (36h) e a maior temperatura (20°C) o teor de proteína foi de 12,63 g/100g e no menor tempo que foi no experimento E1 (12 horas) e temperatura (5°C) o teor de proteína foi de 13,65 g/100g.

Com relação às análises de solubilidade, onde houve uma comparação em relação à variação do pH, quando este for equivalente a 3, o menor valor da solubilidade foi apresentado no ensaio E5 (1,68 g/100g) e o maior no E4 (3,33 g/100g). Quando o pH foi de 5, o menor valor da solubilidade ficou no ensaio E5 (1,59 g/100g) e o maior no ensaio E4 (3,07 g/100g). Nos pH 7, 9 e 12, o ensaio E5 manteve o comportamento, ou seja, foi o que obteve menor valor de solubilidade. A Figura 1 apresenta o desenvolvimento da solubilidade ao longo da variação do pH. Picos máximos de solubilidade pode ser observado no pH 12 para o ensaio E2 e no pH 3 para o ensaio E4 e picos mínimo para o ensaio E5 em todos os valores de pH.

**Figura 1 - Desenvolvimento da solubilidade em função da variação do pH**



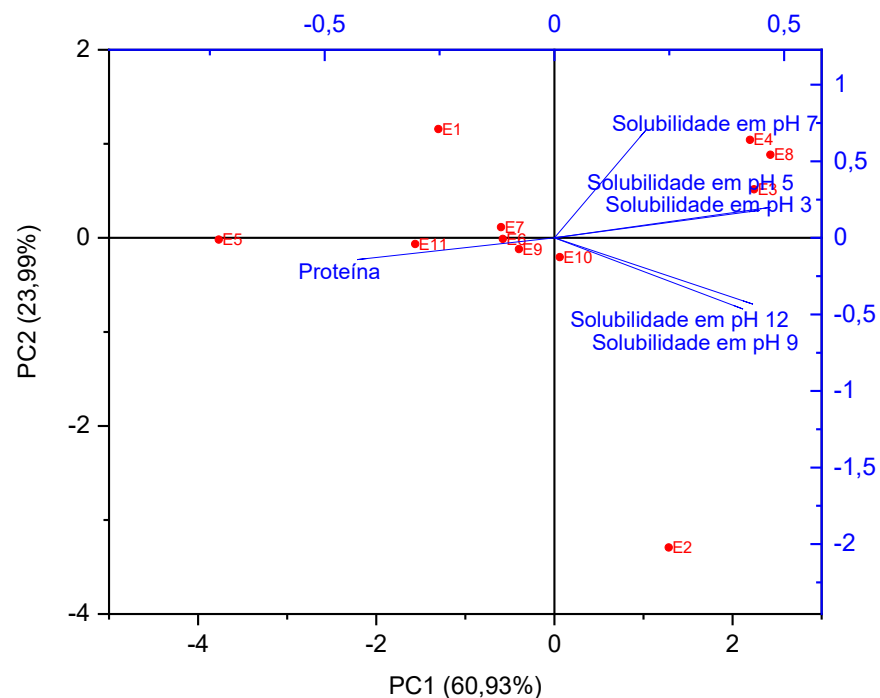
E1: temperatura de 5°C e tempo de 12h; E2: temperatura de 5°C e tempo de 24h; E3: temperatura de 5°C e tempo de 36h; E4: temperatura de 12,5°C e tempo de 12h; E5: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h; E6: temperatura de 12,5°C e tempo de 36h; E7: temperatura de 20°C e tempo de 12h; E8:

temperatura de 20°C e tempo de 24h; E9: temperatura de 20°C e tempo de 36h; E10: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h; E11: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h.

**Fonte: Autoria própria (2022)**

Quando avaliado por uma ACP, observa-se que uma solução consensual bidimensional explicou 84,92% da variância (Figura 2). O fator 1 foi responsável por 60,93% da variância, discriminando os ensaios cujas extrações aconteceram com maiores valores de solubilidade em pH 3 e pH 5 e menores valores de proteína (à direita) dos ensaios cujas extrações aconteceram para menores valores de solubilidade e maiores valores de proteína (à esquerda). O fator 2 com 23,99% de variância foi responsável por discriminar os ensaios cuja solubilidade foi a maior em pH 7. Desta forma é possível concluir que o maior valor de proteína bruta extraído nos ensaios em pele de tilápia foi para o ensaio E5, assim como os menores valores de solubilidade aconteceram também para este ensaio no pH 3. Pode-se observar que aumentando o teor de proteína extraída a solubilidade diminui conforme pode ser observado na Figura 2 e na Tabela 3.

**Figura 2 - Gráfico de ACP para as variáveis proteína e solubilidade em relação aos ensaios**



E1: temperatura de 5°C e tempo de 12h; E2: temperatura de 5°C e tempo de 24h; E3: temperatura de 5°C e tempo de 36h; E4: temperatura de 12,5°C e tempo de 12h; E5: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h; E6: temperatura de 12,5°C e tempo de 36h; E7: temperatura de 20°C e tempo de 12h; E8:

temperatura de 20°C e tempo de 24h; E9: temperatura de 20°C e tempo de 36h; E10: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h; E11: temperatura de 12,5°C e tempo de 24h.

**Fonte: Autoria própria (2022)**

Os valores obtidos para as análises de proteína bruta foram inferiores ao obtido por BASSO *et al.* (2013) que obteve 91,24%, e em um estudo realizado por LOPES (2018) que utilizou metodologia similar a este trabalho também o valor foi inferior visto que Lopes obteve um percentual acima de 80%. Porém os valores apresentados encontram-se próximo aos obtidos por ALVES (2019) que variam entre 9,87% e 18,77% utilizando o método de extração ácido básico a partir do uso de ácido acético na extração, e teor de proteína determinada conforme Bradford, e também próximo aos valores obtidos por (ALFARO; SILVA, 2010) que foram em média 22,80% utilizando metodologias parecidas também com adaptações, neste caso realizando tratamento com dois tipos de ácidos (sulfúrico e cítrico).

Os resultados encontrados para solubilidade mostraram-se diferentes dos encontrados por SILVA (2016) onde obtiveram um melhor resultados dentro da faixa de pH 2 e 6, em nosso estudo aparentemente a solubilidade foi melhor em alguns dos experimentos nos valores de pH na faixa de 9 e 12.

## 5 CONCLUSÃO

Os valores de proteína encontrados nos experimentos foram considerados baixos, pois variaram de 11,84 a 14,54 g/100g, apesar de apresentarem similaridade de extração com alguns dos autores pesquisados. Verificou-se ainda que o tempo e a temperatura não influenciaram no aumento do teor de proteína entre os experimentos avaliados. Acredita-se que seja possível melhorar a metodologia utilizada neste estudo e aumentar o teor e a purificação do concentrado proteico que possa estar presente na pele da tilápia.

Em relação aos resultados de solubilidade foram de acordo com o esperado, pois como acredita-se que a proteína presente no concentrado proteico obtido seja colágeno, sendo esta uma proteína considerada pouco ou insolúvel em água.

## REFERÊNCIAS

- ALLAMAN, I. B.; REIS NETO, R. V.; FREITAS, R. T. F.; FREATO, T. A.; LAGO, A. A.; COSTA, A. C.; LIMA, R. R. Weight and morphometric growth of different strains of tilapia (*Oreochromis sp*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, Minas Gerais. v. 42, n. 5, p.305-311, 2013.
- ALFARO, A. T. **Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis urolepishornorum*)**. 2008. Tese de Doutorado (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Universidade Federal de Pelotas.
- ALVES, A. S. S. **Colágeno hidrolisado da pele de Tilápia (*Oreochromis Niloticus*): Avaliação do efeito da agitação e mistura no processo de extração, purificação e caracterização**. 2019. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química). Centro de Tecnologia. Universidade Federal de Alagoas.
- ARRUDA, L. F. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo para obtenção de silagem e óleo como subprodutos**. 2004. Dissertação de Mestrado (Escola Superior de Agricultura). Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade de São Paulo.
- ASHLEY, P. J. Fish welfare: current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, Lífverpool, UK. 2007.
- BASSO, T. R.; URNAU, R. M.; BRANDALIZE, C.; SIMOES, M. R. **Extração e caracterização de colágeno obtido de peles do processamento de tilápia**. In: III Encontro Paranaense de Engenharia e Ciência. Toledo, Paraná, 2013.
- BORDIGNON, A. C. **Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, 2010.
- BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. Pesca e aquicultura de água doce no Brasil. In: REBOUÇAS, A. C; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. São Paulo: Escrituras, 1999.
- BOSCOLO, W. R.; CARMINO, H.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; MEURER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1391-1396, 2001.
- BUENO MC, ALVIM DI, KOBERSTEIN TCR, PORTELLA CM, 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.

CAMPOS, D. M. **Produção e caracterização de colágeno tipo I e de compósitos hidroxiapatita-colágeno para regeneração óssea**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação de Engenharia). Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **EMBRAPA**. 2020. O protagonismo do Brasil na produção mundial de pescados. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53738345/artigo---o-protagonismo-do-brasil-na-producao-mundial-de-pescado#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20mundial%20e%20a,por%2035%25%20da%20produ%C3%A7%C3%A3o%20total>. Acesso em: 21 mar, 2021.

FELTES, M. M. C.; CORREIA, J. F. G.; BEIRÃO, L. H. *et al.* Alternativas para agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**. v.14, n.6, p.669-677, 2010.

FERREIRA, M. F. **Extração e caracterização de gelatina proveniente de subprodutos do frango: pés**. 2013. Trabalho de conclusão (engenharia de alimentos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão – Paraná, 2013.

FIGUEIREDO, G. I. **Elaboração de Compósitos de nanohidroxiapatita e colágeno proveniente de resíduos do beneficiamento de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Química). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza – CE, 2015.

FONTOURA, A. M. **Colágeno de tilápia: uma alternativa para agregar valor aos subprodutos da indústria de pescado**. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria - RS, 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **FAO**. Novo relatório da FAO aponta que produção da pesca e aquicultura no Brasil deve crescer mais de 100% até 2025. Disponível em: <https://www.fao.org/documents/card/es/c/357c79a0-7fee-428f-a04e-9e86ba1a2ac5/>. Acesso em: 18 jun 2022.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; TURNAY, J.; FERNÁNDEZ-DIAZ, 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.

HUANG, C. Y.; KUO, J. M.; WU, S. J.; & TSAI, H. T. Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*oreochromissp*) by a novel extrusion-hydro-extraction process. **Food Chemistry**, v. 190, p997-1006, 2016.

JÚNIOR, C. A. F.; JÚNIOR, A. S. V. **Cultivo de tilápia no Brasil: Origens e cenário atual**. XLVI Congresso Sociedade brasileira de economia, administração e sociologia rural. Rio Branco. Acre. 2018.



LI, Z. R.; WANG, B.; CHI, C. F.; ZHANG, Q. H.; GONG, Y. D.; TANG, J. J.; LUO, H. Y.; DING, G. F. Isolation and characterization of acid soluble collagens and pepsin soluble collagens from the skin and bone of Spanish mackerel (*scomberomorous niphonius*). **Food Hydrocolloids**. Zhoushan, China. v. 13, n. 31, p. 103-113. 2013.

LOPES, N. V. **Avaliação das propriedades físico-químicas do colágeno extraído do coproduto de tilápia**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourã. 2018.

MACEDO, C. F.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, n. 2, p. 149 – 163, 2010. Disponível em: <https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/issue/archive>. Acesso em 11 jun 2022.

MEDEIROS, F. **Anuário peixe br da piscicultura - 2018**, São Paulo, 2018.

MORAES, M.; C. **Produção de Hidrolisados de Colágeno Visando Diferentes Aplicações Tecnológicas**. Dissertação de mestrado (Faculdade de engenharia de alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas - SP. 2012.

NAGAI, T.; TANOUE, Y.; KAI, N.; SUZUKI, N. Characterization of collagen from emu (*dromaius novaehollandiae*) skins. **Journal of Food Science and Technology**. p. 2344-2351. Índia. 2014.

OLIVEIRA, V.M., CUNHA M.N.C., NASCIMENTO, T.P., ASSIS, C.R.D., BEZERRA, R.S., PORTO, A.L.F. Colágeno: características gerais e produção de peptídeos bioativos - uma revisão com ênfase nos subprodutos do pescado. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 5(2). p. 56-68. Pernambuco. 2017.

OLIVEIRA, V.M.; CARNEIRO CUNHA, M.N.; ASSIS, C.R.D.; NASCIMENTO, T.P.; HERCULANO, P. N.; CAVALCANTI, M.T.H.; PORTO, A. L. Colagenases de pescado e suas aplicações industriais. **Pubvet**, Maringá, Paraná. v.11, n.3, p. 243-255, 2017.

OLIVO, R. S. M. Carnes: no caminho da pesquisa. **Cocal do sul: imprint**. 2001.

ORR, R.T. **Biologia de Vertebrados**. Peixes e Vertebrados Semelhantes a Peixes. Editora Roca, 1986.

PEIXE BR – Associação Brasileira da Piscicultura. (2019). **Anuário Brasileiro da Piscicultura**. São Paulo. P, 148. 2019. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2021>. Acesso em: 2 jun. 2022.

PEIXE BR – Associação Brasileira da Piscicultura. (2018). **Anuário da Piscicultura**. São Paulo. P, 30. 2018. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2021>. Acesso em: 2 jun. 2022.

PEIXE BR – Associação Brasileira da Piscicultura. (2020). **Anuário Brasileiro da Piscicultura**. São Paulo. P. 30, 2020. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2021>. Acesso em: 2 jun. 2022.

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

RUSTAD T. Utilization of marine by products. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, 2 (4), 2003.

SILVA, Mariana Coutinho. **Extração, caracterização e hidrólise enzimática do colagênio da pele do peixe-espada-preto**. 2016. P 89. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 2016.

VA, T. F; PENNA, A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v 7.n 3. 2012.

SCHUROFF, G. P. **Complementação da composição aminoácídica da gelatina extraída da pele de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) com proteína miofibrilar**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão – PR. 2017.

SILVA, T. F.; PENNA, A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. 2012.

SOUZA, M. C. C. **Elaboração de filme biodegradável a partir da gelatina extraída da pele de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2016.

TONHI, E.; PLEPIS, A. M. G. Obtenção e caracterização de blendas colágeno-quitosana. **Química nova**. São Paulo. v 25, n. 6, p. 946-948, 2002.

VAN DE VIS, H; KESTIN, S., ROBB, D., OEHLENSCHLAGER, J., LAMBOOIJ, B., MUNKNER, W., KUHLMANN, H., TEJADA, M., HUIDOBRO, A., OTTERA, H., ROTH, B. SORENSEN, N.K., AKSE, L., BYRNE, H. NESVADBA, P., Is humane slaughter of fish possible for industry? **Aquaculture Research**, v. 34, 2003.

VANNUCCINI, S. El enfoque del nuevo mercado de tilapia: en el mundo Occidental. **Panorama Acuicola**, v.4, n.3, p.22-25, 1999.

VICENTE, I.; ELIAS, F.; FONSECA-ALVES. Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil Prospects of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) production in Brazil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 392-398, 2014.

VIDOTTI, R.M e GONÇALVES, G.S. **Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilápia e sua utilização na alimentação animal**. 2006. Disponível em: <http://www.pesca.sp.gov.br>. acesso em 10 maio, 2013.

WANG, L.; LIANG, Q.; WANG, Z.; XU, J.; LIU, Y.; MA, H. Preparation and characterization of type 1 collagens from skin of Amur sturgeon (*Acipenser schresckii*). **Food Chemistry**, v. 148, p. 410-414, 2014.

ZHRANI, R. A. **Extraction and isolation of collagen type 1 from fish skin.**  
Postgraduate Science. University of otago. New Zeland. 2011.