

Gelatina a partir de piel de Doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*) y su uso como material encapsulante

Gelatin from Doncella skin (*Pseudoplatystoma fasciatum*) and its use as an encapsulating material

Abby Bravo¹, Juan Dario², Rafael Vela³, Thony Arce³, Alenguer Alva¹,
Fernando Tello^{1*}

¹ Laboratorio de Investigación en Control de Calidad – CIRNA – Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Pasaje los Paujiles s/n, Iquitos – Perú

² Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição – ESALQ, Universidad de São Paulo, Av. Pádua Dias, 11-Piracicaba – Brasil.

³ Instituto de investigación y Desarrollo, Universidad Nacional de San Martín, Jr. Maynas 177, Tarapoto – Perú

Recibido (Received): 20/10/2018 Aceptado (Accepted): 06/05/2019

RESUMEN

La gelatina de pescado ha ganado una creciente atención como alternativa a la gelatina de mamíferos. Sin embargo, la búsqueda de nuevas fuentes con características similares a las comerciales aún es necesario. Debido a esto, el objetivo de este estudio fue obtener y caracterizar gelatina de piel de Doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*) y evaluar su uso como material encapsulante al producir micropartículas por coacervación compleja. La gelatina y la goma arábiga se utilizaron como materiales de pared y aceite de *Mauritia flexuosa*, como material de relleno. La gelatina de piel Doncella fue obtenida por extracción ácida y evaluada en cuanto a los aspectos: rendimiento, punto de fusión; distribución de masa molar; composición proximal; tamaño, morfología, diámetro medio de partículas y eficiencia de encapsulación. El rendimiento de la gelatina en polvo fue de ~20.03% por 100 g de piel húmeda, además, presentó un punto de fusión de 29.1 °C. Los diámetros medios reportados fueron 117.40 µm ± 38.05 y 105.39 µm ± 37.93, cuando fueron utilizados gelatina de piel de Doncella (MCGD) y gelatina porcina (MCGP), respectivamente, con diferencias estadísticas significativas (p < 0.05). Las eficiencias de encapsulación obtenidas por los sistemas MCGD y MCGP fueron 88.45 ± 1.77 y 83.78 ± 4.44 respectivamente. En conclusión, demostramos la viabilidad de la gelatina de Doncella como material encapsulante. Más aún faltan investigaciones para garantizar la calidad de la gelatina. De esta forma, ponemos de manifiesto el potencial de la gelatina de piel de Doncella para usos en diversas áreas.

Palabras Clave: Gelatina, *Pseudoplatystoma fasciatum*, Encapsulante, coacervación compleja

ABSTRACT

Fish gelatin has gained increasing attention as an alternative to mammalian gelatin. However, the search for new sources with characteristics similar to commercial ones is still necessary. Due to this, the objective of this study was to obtain and characterize Doncella skin gelatin (*Pseudoplatystoma fasciatum*) and evaluate its use as an encapsulating material when producing microparticles by complex coacervation. Gelatin and gum arabic were used as wall materials and *Mauritia flexuosa* oil, as filler material. The Doncella skin gelatin was obtained by acid extraction and evaluated in terms of the aspects: yield, melting point; molar mass distribution; proximal composition; size, morphology, average particle diameter and encapsulation efficiency. The yield of the gelatin powder was ~ 20.03% per 100 g of wet skin, in addition, had a melting point of 29.1 °C. The mean diameters reported were 117.40 µm ± 38.05 and 105.39 µm ± 37.93, when Doncella skin gelatin (MCGD) and porcine gelatin (MCGP) were used, respectively, with significant statistical differences (p < 0.05). The encapsulation efficiencies obtained by the MCGD and MCGP systems were 88.45 ± 1.77 and 83.78 ± 4.44 respectively. In conclusion, we demonstrate the viability of the Doncella gelatin as an encapsulating material. But there is still a lack of research to guarantee the quality of gelatine. In this way, we highlight the potential of Doncella skin gelatin for uses in various areas.

Keywords: Gelatin, *Pseudoplatystoma fasciatum*, Encapsulant, complex coacervation

* Corresponding author.:

E-mail: fernando.tello@unapiquitos.edu.pe

1. INTRODUCCION

El aprovechamiento de subproductos de la industria pesquera, así como de la comercialización directa de peces en los mercados, permite minimizar el impacto que estos generan en el medioambiente. Así mismo, el aprovechamiento de proteínas como el colágeno procedente de distintas partes del pescado son una buena alternativa para la obtención de gelatina [1]. La gelatina es una proteína desnaturalizada derivada del colágeno por termo-hidrólisis que tiene la propiedad reológica de termo-reversibilidad [2]. Las fuentes de gelatina alternativas, especialmente las pieles de pescado están siendo utilizadas como una buena opción frente a las obtenidas de mamíferos, debido a la preocupación por la transmisión de patógenos, enfermedades como la encefalopatía espongiiforme bovina [3], así como también, debido a las restricciones culturales o relacionadas con la bioseguridad [4]. Ya fueron reportados algunos estudios del aprovechamiento de gelatina a partir de pieles de pescados como Bacalao [5], Tilapia [6], Trucha [7], Tollo [8], entre otros. Mas la búsqueda nuevas fuentes que proporcionen gelatina que se comporten como la comercial aún continúa.

La gelatina es un producto utilizado en diversas industrias, especialmente en la alimentaria donde destaca por su amplia gama de aplicaciones como estabilizante, espesante y texturizante, aumentando la consistencia, elasticidad y estabilidad en yogures, helados, quesos y otros, también se aplica como clarificante de bebidas [9]. Las nuevas tecnologías como la microencapsulación emplea la gelatina como agente encapsulante de compuestos bioactivos (vitaminas, lípidos, aminoácidos, minerales, aromas, colorantes y otros como microorganismos probióticos y aditivos naturales [10], teniendo como par polimérico la goma arábiga. La finalidad de la proteína es proteger estos compuestos de factores como el calor, humedad, oxidación y volatilidad, permitiendo mantener su estabilidad y viabilidad. De esta manera las micropartículas ayudan a que los materiales alimenticios empleados resistan las condiciones de procesamiento y empaquetado, mejorando el sabor, aroma, estabilidad, valor nutricional y apariencia de los productos finales [11].

Por su parte, la Doncella es un pez muy apreciado en la amazonia debido a la calidad de su carne por lo que es aprovechada en la culinaria. Como una forma de redireccionar el comercio de este pez e impulsar el desarrollo de tecnologías como la microencapsulación, que permitan el aprovechamiento de residuos generados durante el procesamiento y comercialización de peces; el objetivo de este estudio fue obtener y caracterizar gelatina de piel de Doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*) y evaluar la eficiencia de encapsulación al aplicarla como encapsulante de un compuesto bioactivo (aceite de *Mauritia flexuosa*) en la

producción de micropartículas por coacervación compleja.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material

Este estudio fue conducido usando pieles de Doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*) provenientes de comerciantes locales del mercado de Belén, provincia de Maynas, Loreto-Perú. Las pieles fueron obtenidas por fileteado manual, cortadas en trozos de aprox. 3 x 3 cm y almacenadas a -18 °C hasta el momento de los análisis.

2.2. Reactivos

Fueron utilizados goma arábiga de acacia de lote: SLBL 3988V, así como Pancreatina de cerdo (P7545-25G, 8 x USP), lote SLBP9482V adquiridos de Sigma Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA); gelatina porcina (Gelita South merica 240P/6 de tipo A); aceite de aguaje proporcionado por Negocios Agroindustriales Loreto S.A.C. (Loreto, Perú). Fueron adquiridos de Merck Peruana S.A. (Lima, Perú): ácido sulfúrico (lote: K4746131545), cloroformo (lote: K47769245), hidróxido de sodio (lote: K47498778). Asimismo, agua destilada y demás reactivos de grado analítico.

2.3. Obtención y caracterización de gelatina

La Figura 1 muestra el proceso de obtención de gelatina de piel de Doncella siguiendo la metodología descrita por Montero y Gómez-Guillen [12] con algunas modificaciones. Previamente a la obtención de gelatina, las pieles almacenadas en congelación fueron descongeladas a 8 °C por 20 h, lavadas ocho veces con agua potable. El exceso de agua fue removido y las pieles escurridas fueron pesadas. El análisis proximal fue conducido siguiendo los métodos de AOAC [13]. Para los porcentajes de humedad (método n° 952.08), ceniza (método n° 938.08), lípidos (método n° 991.26) fue empleado análisis gravimétrico en la determinación de los resultados. El contenido de proteína (método n° 955.04), utilizó el valor 5.55 como factor de conversión de nitrógeno para proteína. Los resultados se expresaron en porcentaje de materia seca.

El punto de fusión se determinó según la metodología descrita por Choi y Regenstein [14]. De acuerdo con la metodología descrita por Laemml [15], se evaluó la distribución de masa molar, a través del análisis de electroforesis en gel de poli(acrilamida) (SDS-PAGE). El rendimiento de gelatina extraída se determinó por los gramos de gelatina granulada obtenida por cada 100 g de piel húmeda [16].

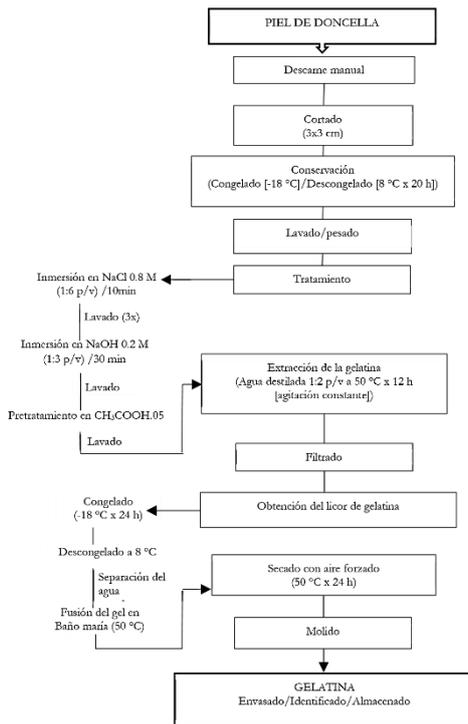


Figura 1. Flujograma para la extracción de gelatina de pieles de Doncella (*Pseudoplattystoma fasciatum*)

2.4. Producción y caracterización de micropartículas por coacervación compleja

La Figura 2 muestra el flujo para la producción de micropartículas coacervadas de acuerdo con el método descrito por Thies [17] y modificado por Lamprecht, Schäfer, y Lehr [18]. El porcentaje de eficiencia de encapsulación (%EE) fue calculado como la cantidad de aceite encapsulado por gramo de micropartícula, con relación al aceite utilizado inicialmente en el sistema. El contenido de aceite dentro de las micropartículas húmedas fue cuantificado siguiendo la metodología descrita por Bligh & Dyer [19], para eso, fue liberado el aceite por acción de pancreatina (0.5 mg/mL) con posterior adición de citrato de sodio (3%). La determinación del tamaño y morfología de las micropartículas húmedas fue realizada por microscopía óptica, donde fue utilizado microscopio óptico (Microscopio Zeiss 140 Primo Star) con captación de imágenes utilizando el programa ZEN 2.3, fueron medidas 300 micropartículas por muestra analizada.

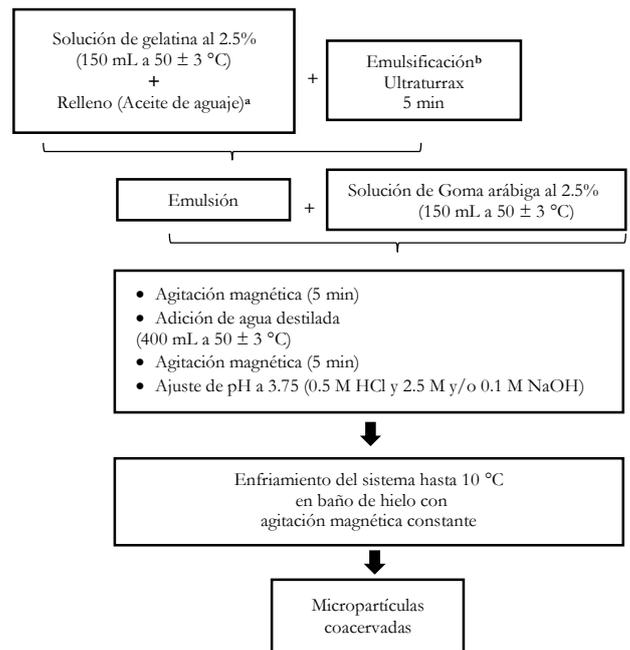


Figura 2. Flujograma para la producción de micropartículas por coacervación compleja. Los números sobrescritos indican los puntos estudiados en el diseño experimental: ^a Aceite de aguaje en las concentraciones de 50, 75 y 100% en relación con la masa total de los polímeros de pared del sistema en base seca. ^b Velocidades de agitación de 10000, 14000 y 18000 rpm.

Las condiciones de producción de las micropartículas fueron definidas a través del planeamiento experimental factorial 2^2 con 5 puntos centrales. La eficiencia de encapsulación se consideró como variable dependiente del planeamiento experimental, mediante la evaluación de las variables independientes y los niveles mostrados en la Tabla 1.

TABLA 1 Variables y niveles estudiados en el diseño experimental

Variables	-1	0	+1
Velocidad de homogenización ^a (rpm)	10000	14000	18000
Material activo ^b (%)	50	75	100

^a Velocidad de homogenización de las soluciones de gelatina-material activo (en Ultra Turrax/5 minutos). ^b Porcentaje de material activo (aceite de aguaje) en relación con la masa total de los polímeros en base seca. Para todos los niveles se utilizó concentraciones de polímeros al 2.5% en la proporción 1:1 (Gelatina Doncella: Goma arábica) para la formación de pared de las micropartículas.

Se utilizó el software STATISTICA 10 para el análisis estadístico. Por otro lado, el análisis de la varianza (ANOVA) evaluó las respuestas de la caracterización de las micropartículas. Los promedios fueron comparados utilizando el test de Tukey, las diferencias entre los promedios fueron considerados significativos a 5%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Gelatina de piel de Doncella

La Tabla 2 muestra la composición centesimal de la piel y gelatina de Doncella. Los resultados encontrados están de acuerdo a valores descritos anteriormente en la literatura [20]. Asimismo, los valores de humedad, ceniza, lípidos y proteína hacen de la gelatina un material prominente para aplicaciones alimentarias.

TABLA 2 Composición centesimal de la piel y gelatina de Doncella

Composición (%)	Piel de Doncella	Gelatina de piel de Doncella
Humedad	59.73 ± 0.61	8.78 ± 0.05
Proteína	80.14 ± 2.31	99.36 ± 1.57
Ceniza	1.22 ± 0.08	0.20 ± 0.02
Lípidos	18.66 ± 4.32	0.45 ± 0.25
Promedio ± desvío padrón (n=3)		

De la misma manera, el rendimiento de la gelatina extraída de piel de Doncella fue de ~20.03% por cada 100 g de piel húmeda. Por el contrario, estudios en gelatina a partir de piel de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) reportaron 18.3% de rendimiento para gelatina a partir de piel de tilapia del Nilo [6]. En contraste con lo encontrado en gelatina a partir de piel de “kerapu” superó el 68% [21]. Cabe mencionar que, el rendimiento de la gelatina puede variar con el método de extracción utilizado, la edad, la especie del pescado utilizado y el medio del cual es obtenido [22]. La gelatina obtenida presenta color amarillo, siendo ésta menos intensa que la de la gelatina porcina utilizada como referencia.

La gelatina de Doncella presentó un punto de fusión de 29.1 °C, un valor próximo al de la gelatina porcina comercial (29 °C) y mayor a lo presentado por otras gelatinas extraídas de peces tropicales [6,23].

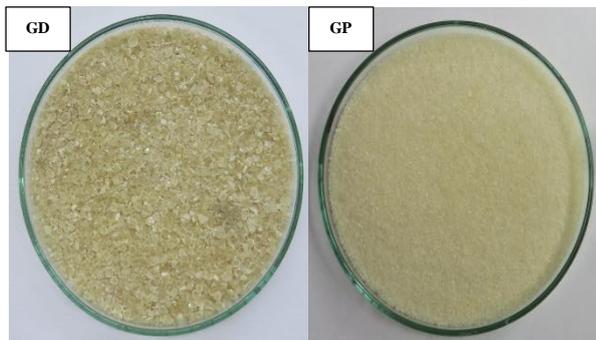


Figura 3 Apariencia visual de muestras de gelatina. GD: gelatina de piel de Doncella GP: gelatina porcina.

Estudios anteriores señalan que gelatinas obtenidas de peces de aguas tropicales y subtropicales presentan puntos de fusión de ~24-29 °C, temperaturas cercanas a lo presentado por gelatinas comerciales de origen mamífero (>30 °C). Esto se traduce en propiedades termogénicas y termoestables similares entre ambas

gelatinas en contraste con gelatinas obtenidas de peces de aguas frías (con puntos de fusión <17°C) [24]. Asimismo, elevados puntos de fusión se traducen en una mayor estabilidad de los geles de la gelatina, siendo directamente proporcional al contenido de Prolina (Pro) e Hidroxiprolina (Hyp) presente en la gelatina, debido que son estos aminoácidos los que permiten la formación de hélices intermoleculares [25].

El perfil electroforético de la gelatina de Doncella (GD) y porcina (GP) presentó bandas correspondientes a las cadenas de colágeno α , β y γ (Figura 4). La GD mostró bandas mucho más definidas que la GP, siendo mayor la presencia de componentes β con MM > 200 KDa, mientras que los componentes α presentaron MM >110 KDa. Distribuciones de bandas de alta masa molar también fue observado en perfiles electroforéticos de gelatinas extraídas de tilapia del Nilo [6], cachama, carpa plateada, carpa común, bacalao [26], pargo rojo y mero [23].

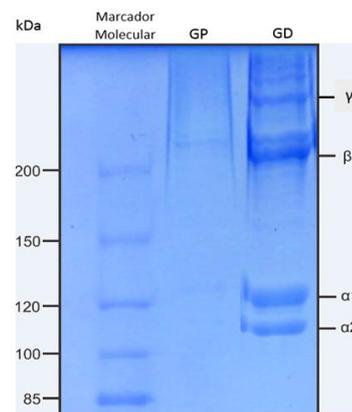


Figura 4. Perfil electroforético (SDS-PAGE) de gelatina porcina (GP) y gelatina de Doncella (GD) con relación al marcador molecular

Las MM de las gelatinas varían entre ~10 y 300 KDa, el cual depende de la especie y proceso de extracción [6]. Los autores observaron que gelatinas de fracciones bajas MM se debe a una extracción a elevada temperatura que generan daños o pérdidas parciales de cadenas α , cuya constitución (constituida por un padrón repetitivo de Glicina-Pro-Hyp) determina el poder gelificante y termoestabilidad de la gelatina [27]. En consecuencia, una gelatina degradada a fracciones de menores MM, presentará propiedades funcionales reducidas (bajo punto de fusión, viscosidad y gelificación) [28].

3.2. Micropartículas obtenidas a partir de gelatina de piel de Doncella, goma arábica y aceite de aguaje por coacervación compleja

A partir del planeamiento experimental fue obtenido los valores de eficiencia de encapsulación (%EE) (Tabla 2). A través del tratamiento 2 (1800 rpm y 50% de masa de relleno) se logró obtener el tratamiento. La evaluación de los resultados indicó efecto significativo ($P < 0.05$) del % material activo sobre la eficiencia de encapsulación de las micropartículas coacervadas, como muestra el diagrama de Pareto (Figura 5).

TABLA 3 Eficiencia de encapsulación para evaluación de producción de micropartículas por coacervación compleja utilizando gelatina de piel de Doncella.

Tratamientos	Valor codificado		Valor decodificado		%EE
	VH MA	MA	VH	MA	
1			-1	10000	79.95
2			-1	50	83.78
3			1	18000	50.70
4			-1	50	56.40
5			1	100	58.25
6			1	100	58.33
7			0	14000	63.88
8			0	75	59.47
9			0	75	57.86

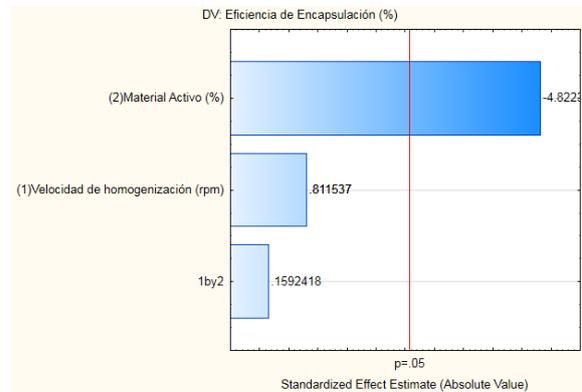
VH = Velocidad de homogenización (rpm/5 minutos), MA=Porcentaje de material activo en relación con la masa de polímeros formadores de pared, EE= Eficiencia de Encapsulación calculada con base a la cantidad de aceite cuantificado por gramo de micropartícula, en relación con el aceite inicialmente utilizado.

En cuanto a los resultados del %EE (Tabla 2), fue posible establecer una relación inversa entre el incremento del MA y el %EE. En todos los tratamientos estudiados, un aumento en el contenido de MA disminuyó el %EE. Este resultado es consistente con los reportados por [29], quienes informaron que un aumento del aceite esencial de tomillo disminuye en 25% la eficiencia de encapsulación cuando utilizaron micropartículas de alginato.

Por su parte, micropartículas utilizando gelatina extraída de tilapia como material de pared, mostraron que la concentración del material activo tiene influencia sobre la eficiencia de encapsulación [6]. De modo contrario, la concentración de polímeros y velocidad de

homogenización no presentan efecto significativo sobre la EE. Demostrando, de esta manera, coherencia con los resultados obtenidos en el presente estudio.

Figura 5. Gráfico de Pareto con valores estimados de los efectos principales e interacciones de segunda orden para las variables estudiadas.



Consecutivamente, fue construido un gráfico de superficie de respuesta para mostrar el comportamiento de las variables en relación con la EE (Figura 6).

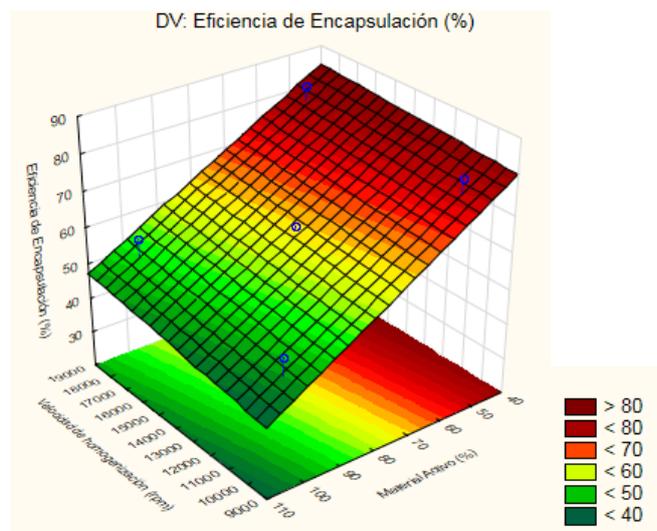


Figura 6. Gráfico de la superficie de respuesta para la eficiencia de encapsulación en función de la velocidad de homogenización (rpm) y material activo (%).

Las eficiencias de encapsulación obtenidas por los sistemas MCGD y MCGP fueron $88.45\% \pm 1.77$ y $83.78\% \pm 4.44$ respectivamente, no mostrando diferencias significativas ($P > 0.05$). Tales resultados, indican que el origen de la gelatina utilizada en la formación de material de pared no interfiere en la encapsulación del material activo [6].

Las características morfológicas de las micropartículas producidas fueron obtenidas por microscopía óptica, el cual nos permitió observar micropartículas de forma esférica con gotas de aceite

distribuidas en toda la matriz, aparentemente integras, independiente del tipo de gelatina utilizada.

Los diámetros medios de las micropartículas coacervadas húmedas conteniendo aceite de aguaje, fueron determinados por microscopia óptica y se muestran en la Figura 5. Los diámetros medios reportados fueron $117.40 \mu\text{m} \pm 38.05$ y $105.39 \mu\text{m} \pm 37.93$, cuando fueron utilizados gelatina de piel de Doncella y gelatina porcina, respectivamente, con diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$).

El tamaño de las micropartículas producidas por coacervación compleja es afectado por varios parámetros, que incluyen velocidad de agitación, viscosidad de la solución, estequiometría (relleno/biopolímeros), volumen de agua de equilibrio, etc. El tamaño de las micropartículas es del orden de varias decenas a varias centenas de micrones [29]. Esta variación refleja las condiciones de proceso, incluyendo condiciones de preparación de la emulsión y velocidad de enfriamiento, características fisicoquímicas de los materiales de pared, así como la tensión superficial y el grado de hidrofobicidad del material de relleno utilizado [6]. Los diámetros medios oscilan entre 39 y $680 \mu\text{m}$ se describieron en la literatura para las micropartículas obtenidas por coacervación compleja [30].

En estudio reciente [31], fueron producidas micropartículas por coacervación compleja utilizando gelatina y goma arábica, el diámetro medio encontrada para micropartículas húmedas fue $100.12 \mu\text{m}$, resultados próximos a los encontrados en el presente estudio.

Alvim y Grosso [32], reportaron diámetros medio de $96.4 \mu\text{m}$, cuando produjeron micropartículas conteniendo oleoresina de paprika por coacervación compleja utilizando gelatina y goma arábica. En otro estudio [33] produjeron micropartículas por coacervación compleja utilizando gelatina de pescado y goma arábica, variando la estequiometría gelatina:goma arábica (30:70, 50:50 y 80:20) a pH 3.50, donde los mejores rendimientos de los coacervados fueron cuando utilizaron ratio de 50:50 y diámetro medio de $89 \pm 30 \mu\text{m}$, este resultado probablemente es debido a la concentración de biopolímero utilizado (2% m/m).

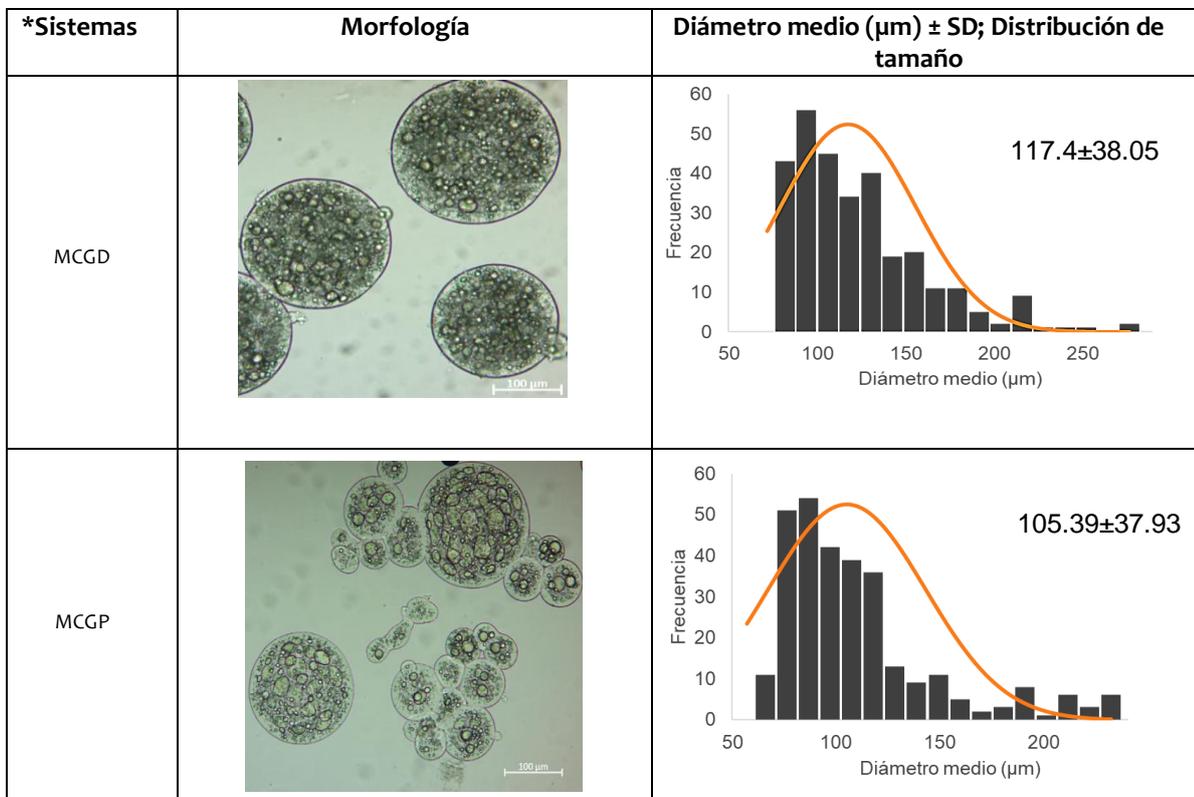


Figura 5. Morfología por microscopia óptica, diámetros medios y distribuciones de tamaños de micropartículas coacervadas húmedas conteniendo aceite de aguaje como material activo. MCGD = micropartículas coacervadas formadas por gelatina de Doncella y goma arábica. MCGP = micropartículas coacervadas formadas por gelatina porcina y goma arábica.

4. CONCLUSIONES

Pudimos obtener gelatina de piel de Doncella con un rendimiento de ~20.03% de gelatina en polvo por 100 g de piel húmeda, viabilizando el potencial aprovechamiento de un subproducto usualmente descartado. La concentración del bioactivo influyó en la eficiencia de encapsulación, los resultados mostraron que el tratamiento 2 (18000 rpm y 50% de material de relleno) tuvo el mejor resultado. Las eficiencias de encapsulación obtenidas por los sistemas MCGD y MCGP fueron 88.45 ± 1.77 y 83.78 ± 4.44 respectivamente, demostraron la viabilidad de la gelatina de Doncella como material encapsulante. No obstante, las micropartículas coacervadas con gelatina de Doncella presentaron diferencias significativas en cuanto al diámetro medio, siendo significativamente mayor a los obtenidos con gelatina porcina. Aún faltan más investigaciones acerca de dureza del gel (APT) y grados Bloom de esta nueva fuente de gelatina para garantizar la calidad del mismo.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP) por el financiamiento recibido, aprobado con Resolución Rectoral N° 0686-2015-UNAP.

REFERENCIAS

- [1] Arnesen JA, Gildberg A 2006 Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. *Process Biochemistry* 41(3) pp 697–700
- [2] Cho SM, Gu YS, Kim SB 2005 Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*. 19(2) pp 221–9
- [3] Sila A, Martínez-Alvarez O, Krichen F, Gómez-Guillén MC, Bougatef A 2017 Gelatin prepared from European eel (*Anguilla anguilla*) skin: Physicochemical, textural, viscoelastic and surface properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 529 pp 643–50
- [4] Yang Y, Anvari M, Pan CH and Chung D 2012 Characterisation of interactions between fish gelatin and gum arabic in aqueous solutions. *Food Chemistry*. 135(2) pp 55–61.
- [5] Gudmundsson M, Hafsteinsson H 1997 Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. *Journal of Food Science*. 62(1) pp 37–99.
- [6] Marques Bueno C, Dutra Alvim I, Ribeiro Dias Koberstein TC, Portella MC y Grosso C 2011 Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. *Brazilian Journal of Food Technology*. 14(01) pp 65–73.
- [7] Martínez G, Uresti R, Ramirez J, Velazquez G 2011 Extracción y Caracterización de algunas propiedades fisicoquímicas de gelatina de piel de trucha. Univ Autónoma Tamaulipas: Queretaro
- [8] Miano A, Rojas C Barraza G 2014 Influencia de la temperatura y tiempo de extracción en la fuerza de gel y rendimiento de gelatina obtenida a partir de piel de tollo (*Mustelus mento*). *Scientia Agropecuaria*. 5 pp 140–7
- [9] Jamilah B, Harvinder KG 2002 Properties of gelatins from skins of fish - Black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry*. 77(1) pp 81–4
- [10] Kailasapathy K 2006 Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*. 39(10) pp 12–21
- [11] Montes EJ, Paula CD De and Ortega F 2007 Optimum conditions for passion fruit (*Passiflora edulis*) encapsulation juice through co-crystallization. *Temas Agrarios*. 12(1) pp 5–12
- [12] Montero P, Gomez-Guillen MC 2000 Extracting Conditions for Megrim (*Lepidorhombus boscii*) Skin Collagen Affect Functional Properties of the Resulting Gelatin. *Journal of Food Science*. 65(3) pp 43–48
- [13] AOAC. Association of Official Agricultural Chemists 2012 In: AOAC, editor. *Official methods of Analysis*. (17th edition) Washington p 1094
- [14] Choi SS, Regenstein JM. Physicochemical and Sensory Characteristics of Fish Gelatin 2000 *Journal of Food Science*. 65(2) pp 19–49
- [15] Laemmli UK 1970 Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227(5259) pp 680–5
- [16] Binsi PK, Shamasundar BA, Dileep AO, Badii F and Howell NK 2009 Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. *Food Hydrocolloids*. 23(1) pp 32–45
- [17] Thies C 1994 How to Make Microcapsules: Combined Lecture and Laboratory Manual. *Thies Technology*
- [18] Lamprecht A, Schäfer U and Lehr CM 2001 Influences of process parameters on preparation of microparticle used as a carrier system for Ω - 3 unsaturated fatty acid ethyl esters used in supplementary nutrition. *Journal Microencapsul*. 18(3) pp 47–57
- [19] Bligh EG, Dyer WJ 1959 Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. *Can J Biochem Physiol*. 37(8) pp 1–7
- [20] Songchotikunpan P, Tattiyakul J and Supaphol P 2008 Extraction and electrospinning of gelatin from fish skin. *Int J Biol Macromol*. 42(3) pp 47–55
- [21] Irwandi J, Faridayanti S, Mohamed ESM, Hamzah MS, Torla HH, Che Man YB 2009 Extraction and characterization of gelatin from different marine fish species in Malaysia. *Int Food Res J*. 16(3) pp 1–9
- [22] Rahman MS, Al-Mahrouqi AI 2009 Instrumental texture profile analysis of gelatin gel extracted from grouper skin and commercial (bovine and porcine) gelatin gels. *Int J Food Sci Nutr*. 60(SUPPL. 7) pp 229–42.
- [23] Shakila RJ, Jeevithan E, Varatharajakumar A, Jeyasekaran G and Sukumar D 2012 Functional characterization of gelatin extracted from bones of red snapper and grouper in comparison with mammalian gelatin. *LWT - Food Sci Technol*. 48(1) pp 3–6.
- [24] Gomez-Guillen MC, Gimenez B, Lopez-Caballero ME and Montero MP 2011 Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*. 25(8) pp 18–27
- [25] Haug IJ, Draget KI, Smidsrød O 2004 Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin. *Food Hydrocoll*. 18(2):3–13
- [26] Zhang J, Duan R, Tian Y, Konno K 2009 Characterisation of acid-soluble collagen from skin of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry*. 116(1):18–22
- [27] Boran G, Regenstein JM 2010 Fish Gelatin. 1st ed. Vol. 60, Food Biochemistry and Food Processing: Second Edition. Elsevier Inc. pp 388–405
- [28] Muyonga JH, Cole CGB and Duodu KG 2004 Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids*. 18(4) pp 58–92
- [29] Benavides S, Cortés P, Parada J and Franco W 2016 Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. *Food Chemistry*. 204 pp 77–83
- [30] Inoue S, Kawai H, Kanbe S, Saeki T and Shimoda T 2002 High-resolution microencapsulated electrophoretic display (EPD) driven by poly-Si TFTs with four-level grayscale. *IEEE Trans Electron Devices*. 49(9):1532–9.

- [31] Prata AS, Zanin MHA, Ré MI and Grosso CRF 2008 Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum Arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver essential oil. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*. 67(2) pp 17-18
- [32] Marques da Silva T, Jacob Lopes E, Codevilla CF, Cichoski AJ, Flores ÉM de M, Motta MH, et al. 2018 Development and characterization of microcapsules containing Bifidobacterium Bb-12 produced by complex coacervation followed by freeze drying. *FOOD Sci Technol*. 90(1) pp 12-7.
- [33] Alvim ID, Grosso CRF 2010 Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Ciência e Tecnol Aliment*. 30(4) pp 69-76.
- [34] Piacentini E, Giorno L, Dragosavac MM, Vladislavljević GT, Holdich RG 2013 Microencapsulation of oil droplets using cold water fish gelatine/gum arabic complex coacervation by membrane emulsification. *Food Res Int*. 53(1) pp 62-72



Los artículos publicados por TECNIA pueden ser compartidos a través de la licencia Creative Commons: CC BY-NC-ND 2.5 Perú. Permisos lejos de este alcance pueden ser consultados a través del correo revistas@uni.edu.pe