

HISTOLOGICAL, HISTOCHEMICAL AND CHEMICAL STUDY ON KATSUWONUS PELAMIS FISH SKINS

STUDIU HISTOLOGIC, HISTOCHEMIC ȘI CHIMIC AL PIELII DE PEŞTE DIN SPECIA KATSUWONUS PELAMIS

Eylül KÜÇÜKAKIN¹, Arife Candaş ADIGÜZEL ZENGİN¹, Remziye DEVECI², Nilay ÖRK¹, Gökhan ZENGİN¹, Behzat Oral BITLISLI^{*}

¹Ege University, Faculty of Engineering, Leather Engineering Department, 35100, Bornova, Izmir, Turkey, b.o.bitlisli@gmail.com

²Ege University, Faculty of Science, Biology Department, Molecular Biology Division, 35100, Bornova, Izmir, Turkey

HISTOLOGICAL, HISTOCHEMICAL AND CHEMICAL STUDY ON KATSUWONUS PELAMIS FISH SKINS

ABSTRACT. In this study, possibility of using Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*) fish skins as a new and alternative raw material source for leather industry was investigated. The structural and chemical properties of fish skins have a high impact on the preparation of special production recipes and the manufacturing of high performance valuable fish leathers. For this purpose, characteristic properties of Skipjack Tuna fish skins were evaluated by histological, histochemical and chemical methods. The chemical characteristics of fish skins were determined by analyzing fat content (%), total Kjeldahl nitrogen (%), hide substance (%), volatile matter (%), total ash (%) and fatty acid methyl esters and total amino acid content through instrumental analysis. Histological and histochemical analyses were carried out by Hematoxylin-Eosin and Van Gieson staining techniques. As a result of histological and histochemical investigations, fish skins were found thin and tough due to their surface characteristics, had less collagen content compared to other raw materials commonly used in leather industry and the fibers were orientated in parallel but opposite to striated muscles differently from the other skins. Besides, the fat content, Kjeldahl nitrogen, hide substance, volatile matter and total ash of *Katsuwonus pelamis* fish skins were found $24.47 \pm 1.76\%$, $10.20 \pm 0.28\%$, $57.32 \pm 1.55\%$, $37.33 \pm 4.01\%$ and $1.23 \pm 0.0002\%$ respectively. The results of the study revealed that *Katsuwonus pelamis* fish skins could be an alternative raw material to be used in the production of high value added luxury leathers.

KEY WORDS: *Katsuwonus pelamis*, histological, histochemical, chemical, fish skins

STUDIU HISTOLOGIC, HISTOCHEMIC ȘI CHIMIC AL PIELII DE PEŞTE DIN SPECIA KATSUWONUS PELAMIS

REZUMAT. În acest studiu s-a investigat posibilitatea de a utiliza pielea de ton dungat (*Katsuwonus pelamis*) ca o sursă nouă și alternativă de materie primă pentru industria de pielărie. Proprietățile structurale și chimice ale pieilor de pește au un impact mare asupra pregătirii rețetelor speciale de producție și fabricării de înaltă performanță a pieilor de pește valoroase. În acest scop, proprietățile specifice ale pieilor de ton dungat au fost evaluate prin metode histologice, histochimice și chimice. Caracteristicile chimice ale pieilor de pește au fost determinate prin analize instrumentale privind conținutul de grăsimi (%), azotul total Kjeldahl (%), substanța dermică (%), materiile volatile (%), cenușa totală (%), esterii metilici ai acizilor grași și conținutul total de aminoacizi. Analizele histologice și histochimice au fost realizate prin tehnici de colorare hematoxilină-eozină și Van Gieson. Ca rezultat al investigațiilor histologice și histochimice, pieile de pește s-au dovedit a fi subțiri și rezistente datorită caracteristicilor de suprafață, au avut un conținut mai mic de colagen, comparativ cu alte materii prime utilizate în mod obișnuit în industria de pielărie, iar fibrele au fost orientate paralel, dar opus mușchilor striați, spre deosebire de alte tipuri de piei. În plus, conținutul de grăsimi, azot Kjeldahl, substanță dermică, materii volatile și cenușă totală al pieilor de pește *Katsuwonus pelamis* au fost $24,47 \pm 1,76\%$, $10,20 \pm 0,28\%$, $57,32 \pm 1,55\%$, $37,33 \pm 4,01\%$, respectiv $1,23 \pm 0,0002\%$. Rezultatele studiului au arătat că piele de pește *Katsuwonus pelamis* pot reprezenta o materie primă alternativă utilizată în producția de piei de lux cu valoare adăugată mare.

CUVINTE CHEIE: *Katsuwonus pelamis*, histologic, histochemical, chimic, piei de pește

L'ÉTUDE HISTOLOGIQUE, HISTOCHEMIQUE ET CHIMIQUE SUR LES PEAUX DE POISSONS KATSUWONUS PELAMIS

RÉSUMÉ. Dans cette étude, on a étudié la possibilité d'utiliser la peau de la bonite à ventre rayé (*Katsuwonus pelamis*) comme une nouvelle source de matières premières pour l'industrie du cuir. Les propriétés structurales et chimiques des peaux de poisson ont un grand impact sur la préparation des recettes spéciales pour la production et la fabrication de haute performance des peaux de poissons précieux. À cette fin, les propriétés spécifiques des cuirs de bonites à ventre rayé ont été évaluées par des analyses histologiques, histoquímicas et chimiques. Les caractéristiques chimiques des peaux de poisson ont été déterminées par l'analyse de la teneur en matières grasses (%), de l'azote total Kjeldahl (%), de la substance dermique (%), de la matière volatile (%), des cendres totales (%) et des esters méthyliques d'acides gras et le total acide aminé par l'analyse instrumentale. Les analyses histoquímicas et histologiques ont été réalisées par des techniques de coloration hématoxyline-éosine et Van Gieson. À la suite des études histologiques et histoquímicas les cuirs de poisson se sont révélés minces et élastiques en raison des caractéristiques de la surface, ils ont eu une plus faible teneur en collagène, par rapport à d'autres matériaux couramment utilisés dans l'industrie du cuir et les fibres ont été orientées parallèles mais opposées aux muscles striés, contrairement à d'autres peaux. En outre, la teneur en matières grasses, l'azote Kjeldahl, la substance dermique, la matière volatile et les cendres totales des peaux de poisson *Katsuwonus pelamis* ont été $24,47 \pm 1,76\%$, $10,20 \pm 0,28\%$, $57,32 \pm 1,55\%$, $37,33 \pm 4,01\%$ et $1,23 \pm 0,0002\%$. Les résultats des études ont montré que les peaux de poisson *Katsuwonus pelamis* pourraient représenter une matière première alternative pour l'utilisation dans la production de cuir de luxe à forte valeur ajoutée.

MOTS-CLÉS: *Katsuwonus pelamis*, analyses histologiques, histoquímicas, chimiques, peaux de poissons

* Correspondence to: Behzat Oral BITLISLI, Ege University, Faculty of Engineering, Leather Engineering Department, 35100, Bornova, Izmir, Turkey, b.o.bitlisli@gmail.com

INTRODUCTION

In international seafood market, members of the *Scombridae* (*Thunnidae*) family have an important and significant value. These family members are responsible for 4-5% of the world fisheries production acquired by hunting and aquaculture and the estimate amount of this production is claimed to be 4 million tones. Tuna members that have high economic value are represented by almost five species in the production: *Katsuwonus pelamis* – 2 million tons; *Thunnus albacares* – 1.3 million tons; *Thunnus obesus* – 400 thousand tons; *Thunnus alalunga* – 252 thousand tons and *Thunnus thynnus* – 80 thousand tons [1-3].

Fishing industry generates considerably huge amount of fish skins, described as by-products of the industry. Considering this important amount of production, fish skins become an important source of raw materials for leather industry. Fish skins have different structural characteristics and vary from species to species. The production of valuable materials [3, 4] and value added products like gelatin [5] from these skins is seemed to be possible, considering bones and skins of the fishes are approximately the 30% of the total fish waste [6].

Fish skins consist of three layers: epidermis (upper skin) outer, dermis (lower skin) middle and hypodermis inner [7]. Epithelial, goblet, clavate, club, granular, thread, poison, sensory, sacciform, rodlet and merkel cells are present in the fish epidermis [8]. The upper layer of fish skin is covered by mucus secreted by the cells located at the outer skin (epidermis) that makes the outer layer slippery, helps to move easily in the water and prevents the skin from the microorganisms [9]. The mucin, the major component of mucus, composed of glycoproteins can absorb a large amount of water [10]. This carbohydrate component can be changed under stress and environmental conditions [11] and glycoproteins have a wide range of functions such as mechanical, antiviral, antimicrobial, osmotic and ionic transport [12-14].

The Skipjack Tuna, *Katsuwonus pelamis*, is a medium-sized perciform fish in the tuna family, *Scombridae*. It grows up to 1m (3ft) in length. It is a cosmopolitan pelagic fish found in tropical and warm-temperate waters absent from the Black Sea [15, 16]. This pelagic and oceanodromous

INTRODUCERE

Membrii familiei *Scombridae* (*Thunnidae*) au o valoare importantă și semnificativă pe piața internațională a fructelor de mare. Aceștia reprezintă 4-5% din producția mondială de pește rezultată prin vânătoare și acvacultură, iar valoarea estimată a acestei producții este de 4 milioane de tone. Speciile de ton cu o valoare economică ridicată în producție sunt în număr de cinci: *Katsuwonus pelamis* – 2 milioane de tone; *Thunnus albacares* – 1,3 milioane de tone; *Thunnus obesus* – 400 mii de tone; *Thunnus alalunga* – 252 mii de tone și *Thunnus thynnus* – 80 mii de tone [1-3].

Industria pescuitului generează cantități considerabile de piei de pește, considerate produse secundare ale industriei. Având în vedere această cantitate semnificativă, pieile de pește devin o sursă importantă de materii prime pentru industria de pielărie. Pielele de pește au diferite caracteristici structurale și variază de la o specie la alta. Din aceste piei se pot produce materiale valoroase [3, 4] și produse cu valoare adăugată, cum ar fi gelatina [5], având în vedere faptul că oasele și pieile de pește reprezintă aproximativ 30% din totalul deșeurilor de pește [6].

Pielele de pește constau din trei straturi: epiderma (stratul exterior), derma (stratul interior) și hipoderma [7]. În epiderma peștilor sunt prezente celulele epiteliale, caliciforme, claviforme, granulare, în formă de fir, secretoare de otravă, senzoriale, în formă de sac, în formă de bastonaș și celulele Merkel [8]. Stratul superior al pielii de pește este acoperit de mucus secretat de celulele situate în stratul exterior (epidermă), care face stratul exterior alunecos, ajutând la deplasarea cu ușurință în apă și protejând pielea de microorganisme [9]. Mucina, componenta majoră a mucoasei, compusă din glicoproteine, poate absorbi o cantitate mare de apă [10]. Această componentă din categoria carbohidraților se poate modifica în condiții de stres și de mediu [11], iar glicoproteinele au o gamă largă de funcții mecanice, antivirale, antimicrobiene, osmotice și de transport ionic [12-14].

Tonul dungat, *Katsuwonus pelamis*, este un pește perciform mijlociu din familia tonului, *Scombridae*. Acesta crește până la 1 m în lungime. Este un pește pelagic cosmopolit ce se găsește în apele tropicale și cald-temperate absente din Marea Neagră [15, 16]. Această specie pelagică și oceanodromă crește foarte repede, trăiește puțin și este foarte fecundă.

species is very fast-growing, short-lived, and very fecund. Maximum size recorded is 111 cm fork length (FL) [17] and 34.5 kg. Longevity is estimated to be between 6–8 years, and age of first maturity is estimated to be 1.5 years. Skipjack Tuna make up 60% of the worldwide commercial tuna catch and is mostly used for canning [16].

Fish skins have gained an increased interest in leather industry for producing leathers with attractive and unique grain structure, due to their high potential as an additional raw material source of leather industry. The authors of this paper previously conducted some preliminary structural analyses on Skipjack Tuna [18] and to the best of our knowledge; this is the first study about *Katsuwonus pelamis* fish skin assessment in terms of histological, histochemical and chemical methods.

In this study, histological, histochemical and chemical characterization of *Katsuwonus pelamis* (Skipjack Tuna) fish skin was investigated to reveal the skin structure of Skipjack Tuna for its applicability in leather industry. Consequently, the skin structure of *Katsuwonus pelamis* especially in terms of elastin and collagen structure was examined and the utilization possibilities of the fish skin in leather industry were evaluated.

MATERIAL AND METHOD

Material

In this study, fifteen frozen *Katsuwonus pelamis* fish skins were used for the histological, histochemical and chemical characterization. Skipjack Tuna skins were supplied from Kerevitaş Food Company in Bursa, Turkey. After defrosting the fish skins, wet-salting conservation method was performed and stored at -20°C till the analysis of the raw skins. The average length of the skins excluding the head and tail parts was 30±2 cm. All chemicals used in the analysis were in analytical grade (Merck, Darmstadt, Germany).

Method

Histological and Histochemical Analysis

Two kind of sectioning methods such as paraffin embedding and frozen microtome were used. Tissue samples were taken from different body locations (dorsum, pelvic cavity, lateral line and near caudal) of each fish skin. The skin

Dimensiunea maximă înregistrată este de 111 cm, măsurată de la vârful botului până la bifurcarea înnotătoarei caudale [17], iar greutatea, de 34,5 kg. Longevitatea este estimată a fi între 6-8 ani, iar vîrstă primei maturități este estimată la 1,5 ani. Tonul dungat reprezintă 60% din captura comercială de ton la nivel mondial și este folosit în principal în industria conservelor [16].

Pielele de pește au suscitat un interes sporit în industria de pielărie în vederea producerii pieilor cu o structură a feței atractivă și unică, datorită potențialului lor ridicat ca sursă suplimentară de materie primă pentru pielărie. Autorii acestei lucrări au efectuat anterior câteva analize structurale preliminare pe pielea de ton dungat [18] și din căte știm, acesta este primul studiu privind evaluarea pielii de pește *Katsuwonus pelamis* prin metode histologice, histo chimice și chimice.

În acest studiu s-a realizat caracterizarea histologică, histo chimică și chimică a pielii de *Katsuwonus pelamis* (ton dungat) pentru a pune în evidență structura pielii tonului dungat și aplicabilitatea acesteia în industria de pielărie. În consecință, s-a examinat pielea de *Katsuwonus pelamis* în special în ceea ce privește structura elastinei și a colagenului și s-au evaluat posibilitățile de utilizare a pielii de pește în industria de pielărie.

MATERIAL ȘI METODĂ

Material

În acest studiu, s-au utilizat cincisprezece piei de pește *Katsuwonus pelamis* congelate pentru caracterizarea histologică, histo chimică și chimică. Pieile de ton dungat au fost furnizate de Kerevitaş Food Company din Bursa, Turcia. După decongelarea pieilor de pește, s-a aplicat metoda de conservare cu sare și pieile s-au depozitat la -20°C până la efectuarea analizei. Lungimea medie a pieilor, cu excepția capului și a cozii, a fost de 30±2 cm. Toate substanțele chimice utilizate în studiu au fost de calitate analitică (Merck, Darmstadt, Germania).

Metodă

Analize histologice și histo chimice

S-au utilizat două tipuri de metode de secționare, și anume: încorporarea în parafină și microtomul cu congelare. S-au prelevat

samples fixed in Bouin solution for 48 hours were embedded in paraffin and five μm thick vertical sections were stained by Hematoxylin-Eosin and Van Gieson staining techniques [19]. The same techniques were also applied to the second group skin tissues that were cut by frozen microtome at environment -80°C. All tissues were examined under the Leica DM 4000B model microscope and displayed by Olympus DP71 digital camera.

Chemical Composition of Fish Skins

The fat content [20, 21], total Kjeldahl nitrogen [22], hide substance [23], total sulphated ash [24] and Azeotropic distillation [25] analyzes of raw fish skins were performed for chemical characterization as well as fatty acid methyl esters [26, 27] and total amino acid content as instrumental analysis.

For the total amino acid content, 0.2 g fish skin samples were treated with 5ml 6N HCL and kept in condenser for 24h. The sample weighing was performed between 0.6 and 2g depending on the amino acid content of the samples in 100 ml volumetric flask including the 5 ml Norvalin standard. After the filtration the amino acid content of the fish skins were determined with High Performance Liquid Chromatography (HPLC). In the study, triplicate analyses were performed for each analysis and mean values were given with standard deviations.

RESULTS AND DISCUSSION

Histological and Histochemical Characteristics

The images of epidermis (Figure 1-4), dermis (Figure 5-8) and hypodermis (Figure 9-12) layers of *Katsuwonus pelamis* fish skin are displayed as below.

The epidermis of Skipjack Tuna skin consists of 3 layers as Outer layer, Inner layer and *Stratum germinativum*. Outer layer has mucosa and 1-5 layer Stratified squamous epithelium cells. Inner layer has melanocyte, club, cubic epithelial and mucus cells. *Stratum germinativum* has also cubic long epithelial cells, mucus glands, pigment cells and lymphocytes [28-30]. The keratin layer on the top is formed by dead cells and right after the Stratified squamous layer epithelium cells are found that both create the epidermis layer of the fish skin (Figure 1-4).

Dermis of the fish skin has three layers as *Stratum spongiosum*, *Stratum laxum* and *Stratum*

probe de țesut din diferite regiuni ale corpului (spate, cavitatea pelviană, linia laterală și în zona înotătoarei caudale) din fiecare piele de pește. Probele de piele fixate în soluție Bouin timp de 48 de ore au fost înglobate în parafină și s-au colorat secțiuni verticale groase de cinci μm prin tehnici de colorare hematoxilină-eozină și Van Gieson [19]. Aceleași tehnici au fost aplicate la cel de al doilea grup de țesuturi ale pielii secționate cu microtomul cu congelare la temperatura de -80°C. Toate țesuturile au fost examinate la microscopul Leica DM 4000B, iar imaginile au fost preluate cu ajutorul camerei digitale Olympus DP71.

Compoziția chimică a pieilor de pește

S-au efectuat analize privind conținutul de grăsimi [20, 21], azotul Kjeldahl total [22], substanța dermică [23], cenușa sulfatată totală [24] și distilarea azeotropă [25] ale pieilor de pește brute pentru caracterizarea chimică și determinarea conținutului de esteri metilici ai acizilor grași [26, 27] și a conținutului total de aminoacizi prin analiză instrumentală.

Pentru conținutul total de aminoacizi, s-au tratat 0,2 g mostre de piele de pește cu 5 ml HCl 6N și s-au menținut în condensator timp de 24 h. Proba s-a cântărit, obținând valori între 0,6 și 2 g, în funcție de conținutul de aminoacizi din probe, într-un balon cotat de 100 ml incluzând 5 ml norvalină standard. După filtrare s-a determinat conținutul de aminoacizi din pieile de pește prin cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC). În cadrul studiului, fiecare analiză s-a efectuat în triplicat, iar valorile medii sunt prezentate cu abateri standard.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Caracteristici histologice și histochimice

Imaginiile epidermei (Figurile 1-4), dermei (Figurile 5-8) și hipodermei (Figurile 9-12) pieilor de pește *Katsuwonus pelamis* sunt redate mai jos.

Epiderma pielii tonului dungat este formată din 3 straturi, și anume: stratul exterior, stratul interior și stratul germinativ. Stratul exterior cuprinde mucoasa și 1-5 straturi de celule epiteliale stratificate scuamoase. Stratul interior cuprinde celule melanocite, claviforme, epiteliale cubice și secretoare de mucus. Stratul germinativ are, de asemenea, celule epiteliale cubice lungi, glande producătoare de mucus,

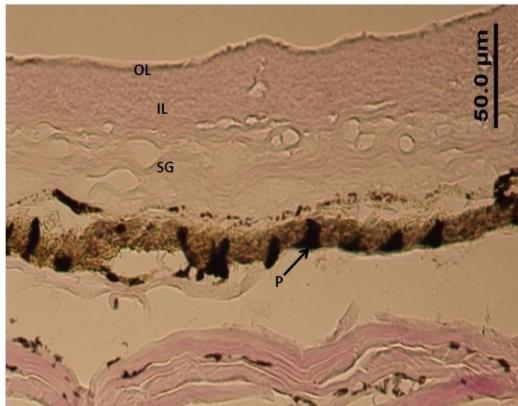


Figure 1. OL: Outer layer, IL: Inner layer, SG: Stratum germinativum, P: Pigment cells

Figura 1. OL: strat exterior, IL: strat interior, SG: stratul germinativ, P: celule pigmentare

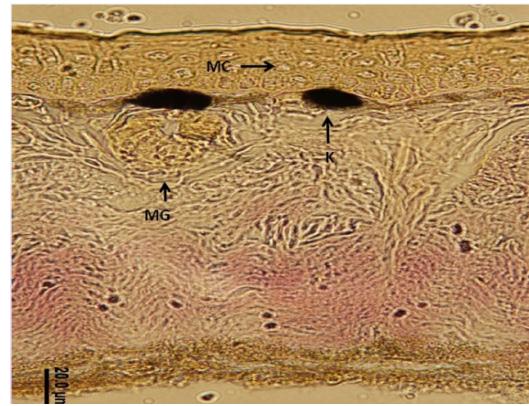


Figure 2. MG: Mucus glands, MC: Mucus cells, K: chromatophore

Figura 2. MG: glande producătoare de mucus, MC: celule secretoare de mucus, K: celule cromatofore

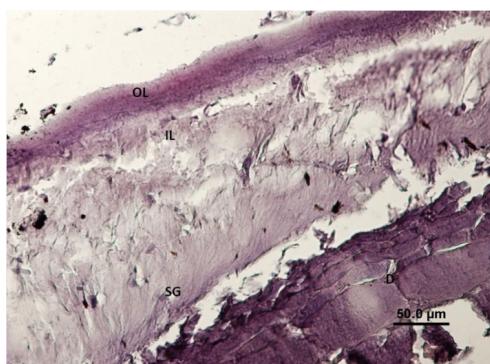


Figure 3. Van Gieson's stained tissue of SJT, Layers of epidermis, OL: Outer layer, IL: Inner layer, SG: Stratum germinativum, D: Dermis

Figura 3. Ţesut cu coloraţie Van Gieson, straturi de epidermă, OL: strat exterior, IL: strat interior, SG: stratul germinativ, D: Dermă

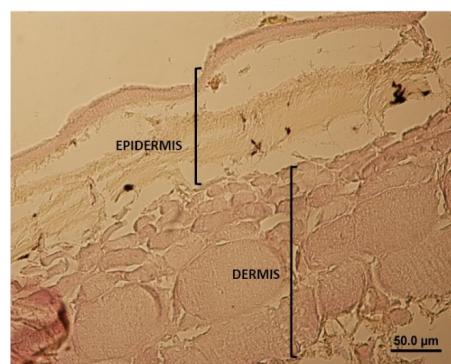


Figure 4. Hematoxylene-Eosin Stained SJT tissue, differences of epidermis and dermis

Figura 4. Ţesut cu coloraţie hematoxilină-eozină, diferenţe între epidermă şi dermă

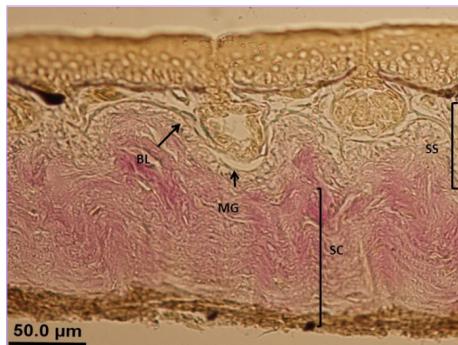


Figure 5. The layers of dermis, SS: Stratum spongiosum, SC: Stratum compactum, MG: MG: Mucus glands, BL: Basal layer

Figura 5. Straturile dermei, SS: stratul spongios, SC: stratul compact, MG: MG: glande producătoare de mucus, BL: strat de bază

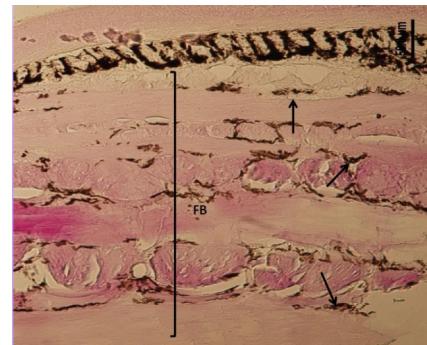


Figure 6. Chromatophore (arrow) cells unequally distributed inside the collagen fiber bundles

Figura 6. Celule cromatofore (săgeată) distribuite inegal în fasciculele de fibre de colagen

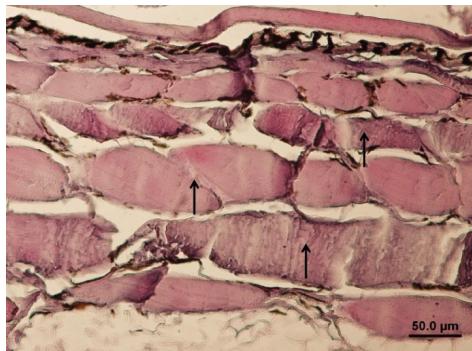


Figure 7. SC layer of dermis include high amounts of collagenous fibers or fiber bundles (arrow)

Figura 7. Stratul SC al dermei cuprinde cantități mari de fibre sau fascicule de fibre colagenice (săgeată)

compactum. The *Stratum spongiosum*, *Stratum laxum* layers depend on what dermis outer layer includes like scales, nerves, melanocytes etc. But *Stratum compactum* layer includes high amount of collagen fiber bundles, capillary vessels etc. [28-30].

In the Figures 5-8, it can be clearly seen that the top layer of dermis (*Stratum spongiosum*) includes chromatophores and mucous glands while the bottom layer of the dermis (*Stratum compactum*) consists of collagen fibers.

The collagen fibers stained pink-red by Van Gieson's are located parallel and showed regular structure in contrast to other raw skins used in leather industry [31]. Besides, the collagen fibers are usually orientated like quartet fibers for all the body locations (dorsum, pelvic cavity, lateral line and near caudal) of the fish skins. The thickness of collagen fiber bundles are determined approximately 130 µm to 180 µm values. However, different thickness values are observed for the collagen bundles such as thicker *Stratum compactum* layer compared to *Stratum spongiosum*. The ratio of elastin fibers to collagen is found as 0.4232 µm.

Like other mammals, fish skin hypodermis has mostly fat cells and loose connective tissue between the fat cells [28-30]. Besides, fibers like elastin are determined between the muscle tissues as a result of this study (Figure 11). The location of adipose and striated muscle tissues are found under the dermis layer and different thickness values for adipose tissues are determined. Striated muscle tissues are placed



Figure 8. The root of scales (*) located on dermis layer,

so that, this part of dermis called Stratum laxum

Figura 8. Rădăcina solzilor (*) localizată pe stratul

dermic, aşadar această parte se numește strat lax

celule pigmentare și limfocite [28-30]. Stratul de cheratină de la suprafață este format din celule moarte și, imediat după epitelul stratificat scuamos, se regăsesc celulele epiteliale care formează epiderma pielii de pește (Figurile 1-4).

Derma pielii de pește are trei straturi, și anume stratul spongios, stratul lax și stratul compact. Stratul spongios și stratul lax depind de ceea ce cuprinde stratul exterior al dermei, și anume solzi, nervi, melanoci etc. Stratul compact include o cantitate mare de fascicule de fibre de colagen, vase capilare etc. [28-30].

În Figurile 5-8, se poate vedea clar că stratul superior al dermei (stratul spongios) include celule cromatofore și glande producătoare de mucus, în timp ce stratul inferior al dermei (stratul compact) este constituit din fibre de colagen.

Fibrele de colagen colorate roșu-roz în urma tehnicii Van Gieson sunt situate paralel și prezintă o structură regulată, spre deosebire de alte piei brute utilizate în industria de pielărie [31]. În plus, fibrele de colagen sunt de obicei dispuse câte patru în toate regiunile corpului (spate, cavitatea pelviană, linia laterală și în apropierea înotătoarei caudale) în cazul pieilor de pește. Valorile grosimii fasciculelor de fibre colagenice sunt determinate în intervalul de aproximativ 130-180 µm. Cu toate acestea, se observă diferite grosimi pentru fasciculele de colagen, de ex. stratul compact este mai gros comparativ cu stratul spongios. Raportul dintre fibrele de elastină și cele de colagen este de 0,4232 µm.

Ca și la alte mamifere, hipoderma pielii de pește cuprinde în mare parte celule de grăsimi și țesut conjunctiv lax între acestea [28-30]. În plus, studiul arată că între țesuturile musculare se regăsesc fibre precum elastina (Figura 11). Țesuturile adipioase și musculare striate se găsesc sub stratul dermei, observându-se grosimi

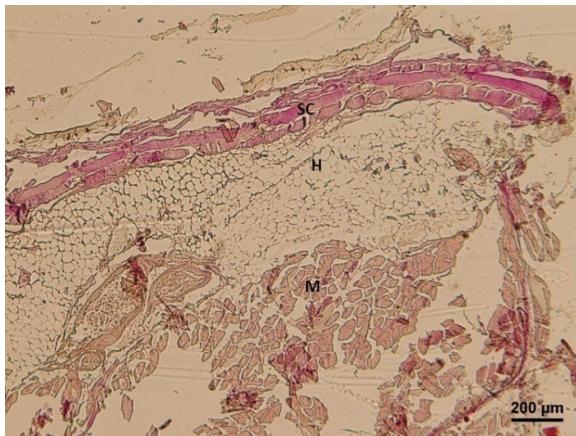


Figure 9. The hypodermis (H), lying between the stratum compactum (SC) and body musculature (M)

Figura 9. Hipoderma (H), ce se regăsește între stratul compact (SC) și musculatura corpului (M)

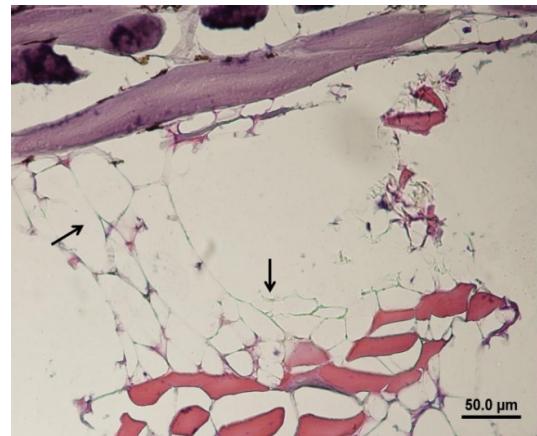


Figure 10. Hypodermis is recognizable by varying numbers of fat cells (arrow) interspersed with loose connective tissue

Figura 10. Hipoderma se poate recunoaște cu ajutorul numărului variabil de celule de grăsim (săgeată) cu țesut conjunctiv lax intercalat

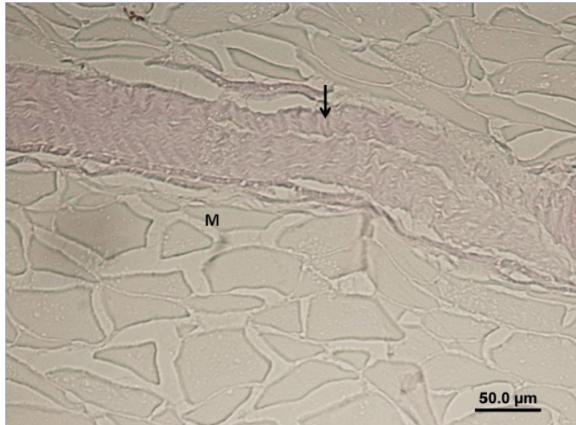


Figure 11. Elastin fiber like tissue (arrow) has been determined inside the muscle bundles

Figura 11. S-a observat țesut asemănător fibrelor de elastină (săgeată) în fasciculele musculare

vertical to collagen fibers and transversely to the fish length.

As a result of histological and histochemical studies, fish skins were found thin and tough, had less collagen content and their fibers were oriented in parallel but opposite to striated muscles differently from the other skins. In the light of these collected results, leather engineers will be able to design suitable process for the skins of sea animals.

Chemical Composition of Fish Skins

The chemical characterization results of raw Skipjack Tuna fish skin are presented in Table 1. The fat content and volatile matter of Skipjack Tuna were determined as $24.47 \pm 1.76\%$

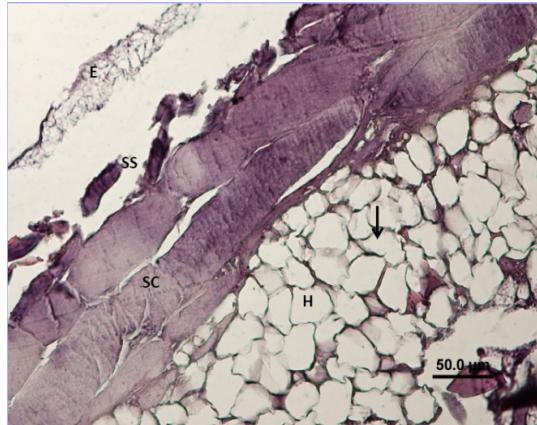


Figure 12. Fat cells and loose connective tissue of hypodermis

Figura 12. Celule de grăsim și țesut conjunctiv lax în hipodermă

diferite pentru țesuturile adipioase. Țesuturile musculare striațe sunt situate vertical față de fibrele de colagen și transversal pe lungimea peștelui.

În urma studiilor histologice și histo chimice, s-a constatat că piele de pește sunt subțiri și dure, au un conținut mai mic de colagen, iar fibrele sunt orientate paralel, dar opus mușchilor striați, spre deosebire de alte tipuri de piei. Pe baza acestor rezultate, inginerii pielari vor fi capabili să proiecteze un proces adecvat pentru prelucrarea pieilor de animale marine.

Compoziția chimică a pieilor de pește

Rezultatele caracterizării chimice a pielii de ton dungat sunt prezentate în Tabelul 1. În

and $37.33 \pm 4.01\%$ respectively for this study. In the previously published studies, the fat content of Sturgeon, Carp and Conger fish skins were determined between $39.71\%-44.07\%$ [31, 32]. Besides, the fat content of Sturgeon raw skin was found as 35.45% that shows similar results with the studies indicated above [33]. In addition to these types of fish skins, the fat content of *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops* fish skins were reported as $26.0 \pm 0.6\%$ ($24.0 \pm 0.8\%$) and $2.4 \pm 0.3\%$ ($2.4 \pm 0.3\%$), respectively [34]. The fat and volatile matter contents of *Katsuwonus pelamis* (Skipjack Tuna) were found 18.3 ± 0.11 and $56.5 \pm 0.09\%$ by Shyni et al. [35] respectively. In addition, the fat content of Skipjack Tuna ($18.3 \pm 0.11\%$), Dog Shark ($0.16 \pm 0.02\%$) and Rohu ($2.93 \pm 0.05\%$) fish skins was compared and the highest fat content was determined from Skipjack Tuna fish skin due to its subcutaneous fat that could be attributed to the different lipid storage organs like liver for shark and skin and viscera for tuna. Lastly, the authors indicated that the fat and moisture content was in reverse order for these three different kinds of fish skins [35]. The fat and volatile matter results of the study are compatible with the other findings mentioned above and the differences were attributed to the different types as well as the different fish skins.

The total sulphated ash content of Skipjack Tuna fish skin was determined as $1.23 \pm 0.0002\%$ and this result was found higher than the Red tilapia (0.51%), Walking catfish (0.52%) and Striped catfish (0.46%) [36] and lower than the Skipjack Tuna (4.39%) [35].

The fatty acid methyl esters (FAME) and amino acid composition of *Katsuwonus pelamis* are presented in Table 2 and 3. The polyunsaturated fatty acid (PUFA) ratio in raw fat was determined as 43.06% . The arachidonic and oleic acid had the highest proportions in the fatty acid composition of *Katsuwonus pelamis* fish skin (Table 2).

The fatty acid composition of 5 different fish skins showed that arachidonic, oleic, eicosadienoic and behenic acid has the highest proportion in the composition of *Katsuwonus pelamis* fish skin although eicosadienoic acid could not be detected in the fatty acid composition of the other fish skins (Table 2). Arachidonic and behenic acid have the highest

acest studiu s-a determinat conținutul de grăsime și de materii volatile al pielii de ton dungat, obținându-se valorile $24,47 \pm 1,76\%$, respectiv $37,33 \pm 4,01\%$. În studiile publicate anterior, conținutul de grăsime al pieilor de sturion, crap și tipar de mare a fost determinat între $39,71\%$ și $44,07\%$ [31, 32]. În plus, conținutul de grăsime al pielii brute de sturion a fost determinat la $35,45\%$, similar rezultatelor studiilor indicate mai sus [33]. Pe lângă aceste tipuri de piei de pește, conținutul de grăsime al pieilor de *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* și *Cephalopholis taeniops* a fost determinat la $26,0 \pm 0,6\%$ ($24,0 \pm 0,8\%$), respectiv $2,4 \pm 0,3\%$ [34]. Conținutul de grăsime și de materii volatile al pieilor de *Katsuwonus pelamis* (ton dungat) au fost determinate la $18,3 \pm 0,11$, respectiv $56,5 \pm 0,09\%$ de Shyni și colab. [35]. În plus, s-a comparat conținutul de grăsime al pieilor de ton dungat ($18,3 \pm 0,11\%$), câine de mare ($0,16 \pm 0,02\%$) și crap indian ($2,93 \pm 0,05\%$) și cel mai mare conținut de grăsime a fost găsit la pielea de ton dungat datorită grăsimii subcutanate ce poate fi atribuită diferitelor organe de stocare a lipidelor cum ar fi ficatul la rechini și pielea și viscerele la ton. În cele din urmă, autori au indicat ordinea inversă a conținutului de grăsime și de umiditate la aceste trei tipuri diferențiate de piei de pește [35]. Valorile grăsimii și ale materiilor volatile obținute în acest studiu sunt compatibile cu celelalte constatări menționate mai sus, iar diferențele au fost atribuite diferitelor tipuri, precum și diferențelor piei de pește.

Conținutul total de cenușă sulfatată al pielii de ton dungat s-a determinat la $1,23 \pm 0,0002\%$, iar această valoare a fost mai mare decât cea obținută pentru tilapia roșu ($0,51\%$), somn migrator ($0,52\%$) și somn striat ($0,46\%$) [36] și mai mică decât cea pentru tonul dungat ($4,39\%$) [35].

Esterii metilici ai acizilor grași (FAME) și compoziția de aminoacizi ale *Katsuwonus pelamis* sunt prezentate în Tabelele 2 și 3. Raportul acizilor grași polinesaturați (PUFA) în grăsimea brută a fost determinat la $43,06\%$. Acidul arahidonic și cel oleic au avut cele mai mari procente din compoziția în acizi grași a pielii de *Katsuwonus pelamis* (Tabelul 2).

Compoziția de acizi grași din cinci piei diferențiate de pește a arătat că cea mai mare proporție a acizilor arahidonic, oleic, eicosenoic și behenic se regăsește în compoziția pielii de *Katsuwonus pelamis*, deși acidul eicosenoic nu a putut fi detectat în compoziția acizilor grași

Table 1: Chemical characteristics of Katsuwonus pelamis fish skin
 Tabelul 1: Caracteristicile chimice ale pielii de pește Katsuwonus pelamis

Analysis	Results (%)
<i>Analiză</i>	<i>Rezultate (%)</i>
Fat Content	24.47 ± 1.76
<i>Conținut grăsimi</i>	
Kjeldahl Nitrogen	10.20 ± 0.28
<i>Azot Kjeldahl</i>	
Hide Substance	57.32 ± 1.55
<i>Substanță dermică</i>	
Volatile matter	37.33 ± 4.01
<i>Materie volatilă</i>	
Total sulphated ash	1.23 ± 0.0002
<i>Cenușă sulfatată totală</i>	

Table 2: Fatty acid composition of Katsuwonus pelamis fish skin in comparison to other fish skins
 Tabelul 2: Compoziția de acizi grași ai pielii de pește Katsuwonus pelamis comparativ cu alte piei de pește

Fatty acid Acid gras	<i>Katsuwonus pelamis FAME (%)</i>	<i>Rastrelliger kanagurta [37]</i>	<i>S. maderensis</i> [34]	<i>S. aurita</i> [34]	<i>Cephalop- holis taeniops</i> [34]
Myristic acid <i>Acid miristic</i>	C14:0	0.05	2.58	8.1	7.8
Palmitic acid <i>Acid palmitic</i>	C16:0	2.20	9.42	0.5	20.5
Palmitoleic acid <i>Acid palmitoleic</i>	C16:1	0.05	0.26	-	-
Linolenic acid <i>Acid linolenic</i>	C18:2n6t	4.80	13.71	1.2	0.7
Alpha-Linolenic acid(ALA) <i>Acid alfa-linolenic</i>	C18:3n3	0.6	1.74	0.3	0.3
Oleic acid <i>Acid oleic</i>	C18:1n9c	18.90	4.32	8.2	15.5
Eicosadienoic acid <i>Acid eicosenoic</i>	C20:3n6	14.95	-	-	-
Arachidonic acid <i>Acid arahidonic</i>	C20:4n6	23.31	2.42	1.0	ND
Behenic acid <i>Acid behenic</i>	C22:0	14.80	-	2.3	2.5
Unidentified <i>Acid neidentificat</i>		21.34	-	1.7	3.2
					2.5

amount compared to other fish skins while comparable result is found for the oleic acid in the composition of *Sardinella aurita* fish skin [34, 37]. This different lipid and fatty acid composition of fish skins could be related to season and the effects of storage and processing [34].

The highest content of glycine in amino acid composition of Skipjack tuna fish skin is followed by lysine, glutamate and alanine amino acids, respectively (Table 3). The hydroxyproline content was found 2.56 g/100g in contrast to Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin (11.27 g/100g) [38].

The difference in the amino acid composition of *Katsuwonus pelamis* and *Ctenopharyngodon idella* fish skins is attributed to the different skin characteristics of the fish skins. The glycine (19.60 g/100g) and alanine

din celelalte piei de pește (Tabelul 2). Acidul arahidonic și cel behenic au cea mai mare cantitate în comparație cu alte piei de pește, în timp ce pentru acidul oleic se constată un rezultat comparabil în compoziția pielii de *Sardinella aurita* [34, 37]. Această compoziție diferită de lipide și acizi grași din pieile de pește ar putea fi legată de sezon și influențată de modul de depozitare și de prelucrare [34].

Cel mai mare conținut de glicină în compoziția de aminoacizi a pielii de ton dungat este urmat de lizină, glutamat, respectiv alanină (Tabelul 3). Conținutul de hidroxiprolină a fost de 2,56 g/100 g, spre deosebire de pielea de cosaș (*Ctenopharyngodon idella*) (11,27 g/100 g) [38].

Diferența de compoziție de aminoacizi dintre pielea de *Katsuwonus pelamis* și cea de *Ctenopharyngodon idella* este atribuită

Table 3: Amino acid composition of *Katsuwonus pelamis* fish skin compared to *Ctenopharyngodon idella* fish skin

Tabelul 3: Compoziția de aminoacizi a pielii de *Katsuwonus pelamis* comparativ cu pielea de *Ctenopharyngodon idella*

Amino acid type Aminoacid	<i>Katsuwonus pelamis</i> (g/100g)	<i>Ctenopharyngodon idella</i> (g/100g) [38]
Cystine <i>Cistină</i>	0.11	-
Aspartate <i>Aspartat</i>	5.13	4.84
Glutamate <i>Glutamat</i>	8.17	9.11
Asparagine <i>Asparagină</i>	-	-
Serine <i>Serină</i>	2.65	2.79
Glutamine <i>Glutamină</i>	-	-
Histidine <i>Histidină</i>	-	0.45
Glycine <i>Glicină</i>	7.26	19.60
Threonine <i>Treonină</i>	-	2.29
Arginine <i>Arginină</i>	4.16	6.95
Alanine <i>Alanină</i>	6.79	8.25
Tyrosine <i>Tirozină</i>	1.45	0.42
Valine <i>Valină</i>	2.82	1.84

Methionine <i>Metionină</i>	2.31	1.51
Norvaline (ISTD) <i>Norvalină</i>	0.03	-
Tryptophan <i>Triptofan</i>	1.72	-
Phenylalanine <i>Fenilalanină</i>	3.94	1.96
Isoleucine <i>Izoleucină</i>	1.02	1.16
Leucine <i>Leucină</i>	1.40	2.07
Lysine <i>Lizină</i>	8.13	3.20
Hydroxyproline <i>Hidroxiprolină</i>	2.56	11.27
Sarcosine <i>Sarcozină</i>	0.46	-
Proline <i>Prolină</i>	3.35	8.20

(8.25 g/100g) amino acid amounts are found higher than the Skipjack Tuna fish skin while the lysine amount is lower. Only the glutamate amino acid amount is found comparable for these two kinds of fish skin when the highest four amino acid ratio of the Skipjack Tuna fish skin is considered [38].

CONCLUSION

The histological, histochemical and chemical characterization of *Katsuwonus pelamis* (Skipjack Tuna) fish skin was investigated in the study and following conclusions have been drawn:

- Katsuwonus pelamis* skins are thin and tough due to their special surface characteristics.
- It contains less collagen content in comparison to hides and skins mostly used in leather industry.
- The collagen fibers are orientated in parallel but opposite to striated muscles different than the other hides and skins.
- The fat and volatile matter contents of *Katsuwonus pelamis* skins were found compatible with the other studies, however variable ash content results were found from the different types of fish skin.
- The different amino acid and fatty acid composition could be mostly related to the fish skin types.

Fish skins, known as an economic and valuable by-product of fish industry, could be an

diferitelor caracteristici ale pieilor de pește. Cantitățile de glicină (19,60 g/100 g) și alanină (8,25 g/100 g) sunt mai mari decât la pielea de ton dungat, în timp ce cantitatea de lizină este mai mică. Numai cantitatea de glutamat este comparabilă pentru aceste două tipuri de piele de pește, atunci când se iau în considerare primii patru aminoacizi cu cele mai mari cantități din pielea de ton dungat [38].

CONCLUZII

În acest studiu s-a efectuat caracterizarea histologică, histochemical și chimică a pielii de *Katsuwonus pelamis* (ton dungat), cu următoarele concluzii:

- Pieile de *Katsuwonus pelamis* sunt subțiri și dure datorită caracteristicilor specifice de suprafață.
- Acestea conțin mai puțin colagen, în comparație cu pieile utilizate frecvent în industria de pielărie.
- Fibrele de colagen sunt orientate paralel, dar opus mușchilor striați, spre deosebire de alte tipuri de piei.
- Conținutul de grăsime și de materii volatile ale pieilor de *Katsuwonus pelamis* a fost compatibil cu celealte studii, însă conținutul de cenușă a fost variabil, comparativ cu alte tipuri de piele de pește.
- Compoziția diferită de aminoacizi și acizi grași se datorează în mare parte tipurilor diferite de piele de pește.

important and new source of raw materials for the leather industry. Fish industry may provide a huge capacity for the production of alternative leather products, considering the difficulty of leather industry in finding raw material due to scarcity of sources. Besides, converting an organic waste to a high added value product has a great importance from the economical point of view.

The information on histological, histochemical and chemical structure of fish skins provided by this study is essential to design special production recipes for utilization of this special by-product in different industrial areas like leather manufacturing. Thus, manufacturing of luxury products from different kinds of fish skins and increasing the market share of fish leathers in exotic leathers section will be possible.

Acknowledgement

The authors would like to thank Ege University Research Project Department Directorate for financial support (Project Number: 2013MUH010) and the State Planning Organization (DPT) for the instrumental support (Project number 2007-DPT- 001).

Pieile de pește, cunoscute ca produs secundar economic și valoros al industriei piscicole, pot reprezenta o nouă și importantă sursă de materii prime pentru industria de pielărie. Industria piscicolă poate oferi o mare capacitate pentru producția unor produse alternative din piele, având în vedere dificultatea industriei de pielărie de a găsi materii prime din cauza surselor insuficiente. În plus, transformarea unor deșeuri organice în produse cu mare valoare adăugată are o mare importanță din punct de vedere economic.

Informațiile cu privire la structura histologică, histochemical și chimică a pieilor de pește oferite în acest studiu sunt esențiale pentru conceperea unor rețete speciale de producție pentru utilizarea acestui produs secundar în diferite domenii industriale, cum ar fi fabricarea pielii. Astfel, vor fi posibile fabricarea unor produse de lux din diferite tipuri de piei de pește și creșterea cotei de piață a pieilor de pește în sectorul de piei exotice.

Mulțumiri

Autorii doresc să mulțumească Direcției Departamentului de Proiecte de Cercetare din cadrul Universității Ege pentru sprijin finanțări (Nr. proiect: 2013MUH010) și Organizației de Planificare de Stat (DPT) pentru sprijinul considerabil (Nr. proiect: 2007-DPT- 001).

REFERENCES

1. FAO, Fishery Statistics. Food and Agriculture Organization, **1999**, <http://apps.fao.org/fishery/fprod1-e.htm>.
2. Paquotte, P., Tuna in the International Market for Seafood, First International Symposium Domestication of The Bluefin Tuna, 3-8 February, **2002**, Cartagena - Spain.
3. Basaran, F., Ozden, O., Mavi Yüzgeçli Orkinos (*Thunnus thynnus* L., 1758) Balığı Yetiştiriciliğinin Kültür Koşullarında İncelenmesi, *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **2004**, 21 (3:4), 343–348.
4. Gaidau, C., Maereanu, M., Foiasi, T., Adiguzel Zengin, C., Karavana, H.A., Mutlu, M.M., Bitlisli, B.O., Basaran, B., Sturgeon Skins – A Valuable Resource for Luxury Leather Industry, *Revista de Pielarie Încălțăminte (Leather and Footwear Journal)*, **2013**, 13, 4, 311-320.
5. Choi, S., Regenstein, J.M., Physicochemical and sensory characteristics of fish gelatin, *J Food Sci*, **2000**, 65, 2, 194-199.
6. Gómez-Guillén, M.C., Turnay, J., Fernández-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 Hydrocoll*, **2002**, 16, 1, 25-34.
7. Zaccone, G., Histochemical studies of acid proteoglycans and glycoproteins and activities of hydrolytic and oxidoreductive enzymes in the skin epidermis of the fish *Blennius sanguinolentus* pallas, *Histochem Cell Bio*, **1983**, 78, 2, 163-175p.
8. Whitear, M., The skin of fishes including cyclostomes In: Bereiter-Hahn J, Matoltsy AG, Richards KS (Editors), *Biology of the Integument*, 2, Vertebrates, **1986**, 8-64, Berlin: Springer-Verlag.

9. Genten, F., Terwinghe, E., Danguy, A., Atlas of fish histology, **2009**, New Hampshire, USA: Enfield, 75.
10. Demir, N., *ihtiyoloji*, **2009**, 4, 424, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.
11. Zaccone, G., Kapoor, B.G., Fasulo, S., Ainis, L., Structural, histochemical and functional aspects of the epidermis of fishes, *Adv Mar Biol*, **2001**, 40, 253-348.
12. Allen, A., Structure and function of gastrointestinal mucus, in: Johnson LR (Editor), *Physiology of the gastrointestinal tract*, **1981**, New York: Raven Press, 617-639.
13. Shephard, K.L., Functions for fish mucus, *Rev Fish Biol Fish*, **1994**, 4, 401-429.
14. Kelek, S., Çimenoglu, N., Çinar, K., Kadife Balığı (Tinca Tinca L. 1758) Derisinde Mukus Hücrelerin Histokimyasal Yapısı, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, **2011**, 25, 3, 129-132.
15. Collette, B.B., Nauen, C.E., FAO species catalogue, Scombrids of the world, An annotated and illustrated catalogue of Tunas, Mackerels, Bonitos and other related species known to date, FAO Fisheries Synopsis, **1983**, 2, 41-137, Rome.
16. <http://www.iucnredlist.org/details/170310/0>; 25.05.2013.
17. Bayliff, W.H., Growth of skipjack Katsuwonus pelamis and yellowfin Thunnus albacares tunas in the eastern Pacific Ocean as estimated from tagging data, *Inter-American Tropical Tuna Commission Bulletin*, **1988**, 19, 4, 307-385.
18. Küçükakin, E., Bitlisli, B.O., Deveci, R., Adığüzel Zengin, A.C., Histological and Histochemical Study of a Fish Skin: Katsuwonus Pelamis, XXXII. Congress of IULTCS, **2013**, Istanbul - Turkey.
19. Drury, R.A.B., Wallington, E.A., Cameron, S.R., Carleton's Histological Technique, 4th Edition, Oxford University Press, Ely House, **1967**, London.
20. Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, Gh., A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *J Biol Chem*, **1957**, 226, 1, 497-509.
21. Bligh, E.G., Dyer, W.J., A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification, *Can J Biochem Phys*, **1959**, 37, 8, 911-917.
22. Bradstreet, R.B., Kjeldahl Method for Organic Nitrogen, *Anal Chem*, **1954**, 26, 1, 185–187.
23. TS 4134, Leather-Determination of Nitrogen Content and "Hide Substance" - Titrimetric Method, **1985**, Ankara, Turkey.
24. TS 4125 EN ISO 4047, Leather - Determination of sulphated total ash and sulphated water-Insoluble ash, **2000**, Ankara- Turkey.
25. TS 1129 ISO 1026, Fruit and vegetable products - Determination of dry matter content by drying under reduced pressure and water content by Azeotropic distillation, **1998**, Ankara, Turkey.
26. TS 4504 EN ISO 5509, Animal and vegetable fats and oils- Preparation of methyl esters of fatty acids, **2002**, Ankara- Turkey.
27. TS 4664 EN ISO 5508, Animal and Vegetable Fats and Oils-Analysis by Gas Chromatography of Methyl Esters of Fatty Acids, **1996**, Ankara- Turkey.
28. Arellano, J.M., Storch, V., Sarasquete, C., Ultrastructural and histochemical study on gills and skin of the Senegal sole, *Solea senegalensis*, *J Appl Ichthyol*, **2004**, 20, 452–460.
29. Park, J.Y., Structure of the skin of an air-breathing mudskipper, *Periophthalmus magnuspinatus*, *J Fish Biol*, **2002**, 60, 1543–1550.
30. Guerra, R.R., Santos, N.P., Cecarelli, P., Mangetti, A.J., Silvaand, J.R.M.C., Hernandez-Blazquez, F.J., Stratum adiposum, a special structure of the African Catfish skin (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822), *Anat Histol Embryol*, **2006**, 35, 144–146.
31. Başaran, B., Bitlisli, B.O., Mutlu, M.M., Karavana, H.A., Adığüzel Zengin, A.C., Karadeniz Kıylarında Çevre Koruması için Balık Derilerinden Katma Değeri Yüksek Ürünler Eldesi, 112M393 TUBITAK project, **2015**.
32. Adığüzel Zengin, A.C., Başaran, B., Karavana, H.A., Mutlu, M.M., Bitlisli, B., Gaidau, C., Niculescu, M., Maereanu, M., Fish Skins: Valuable Resources for Leather Industry, XXXIII IULTCS Congress, 24–27 November **2015**, Novo Hamburgo, Brazil, 116.
33. Qiang, T., Bu, Q., Ren, L., Tanning Technique of Sturgeon Skin, *J Soc Leath Tech Ch*, **2014**, 98, 5, 229-235.
34. Njinkoué, J., Barnathan, G., Miralles, J., Gaydou, E., Samb, A., Lipids and fatty acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops*, *Comp Biochem Physiol*, Part B, **2002**, 131, 395–402.

35. Shyni, K., Hema, G.S., Ninan, G., Mathew, S., Joshy, C.G., Lakshmanan, P.T., Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*), *Food Hydrocoll*, **2014**, 39, 68-76.
36. Jamilah, B., Tan, K.W., Umi Hartina, M.R., Azizah, A., Gelatins from three cultured freshwater fish skins obtained by liming process, *Food Hydrocoll*, **2011**, 25, 1256-1260.
37. Sahena, F., Zaidul, I.S.M., Jinap, S., Yazid, A.M., Khatib, A., Norulaini, N.A.N., Fatty acid compositions of fish oil extracted from different parts of Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) using various techniques of supercritical CO₂ extraction, *Food Chem*, **2010**, 120, 879–885.
38. Kasankala, L.M., Xue, Y., Weilong, Y., Hong, S.D., He, Q., Optimization of gelatine extraction from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fish skin by response surface methodology, *Bioresource Technol*, **2007**, 98, 3338–3343.

Article received/Data primirii articolului: 05.12.2016

Accepted/Acceptat la data: 20.12.2016