

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS**

Camila Giacomelli da Silva

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COLÁGENO E GELATINA
DA PELE DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*): UMA VALORIZAÇÃO AO
SUBPRODUTO DO PESCADO**

Santa Maria, RS.
2021

Camila Giacomelli da Silva

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COLÁGENO E GELATINA
DA PELE DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*): UMA VALORIZAÇÃO AO
SUBPRODUTO DO PESCADO**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientador: Prof. Dr. Ernesto Hashime Kubota

Santa Maria, RS.
2021

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Giacomelli da Silva, Camila

Extração e caracterização de colágeno e gelatina da pele de jundiá (*Rhamdia quelen*): Uma valorização ao subproduto do pescado / Camila Giacomelli da Silva.- 2021.

135 p.; 30 cm

Orientador: Ernesto Hashime Kubota

Coorientadora: Rosa Cristina Prestes Dornelles

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2021

1. Descarte de peixe; 2. Composição química; 3. FTIR; 4. SDS-PAGE; 5. Propriedades funcionais. I. Hashime Kubota, Ernesto II. Prestes Dornelles, Rosa Cristina III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, CAMILA GIACOMELLI DA SILVA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Camila Giacomelli da Silva

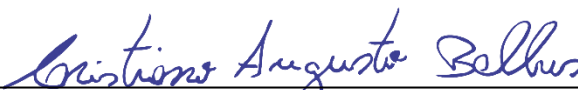
**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COLÁGENO E GELATINA
DA PELE DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*): UMA VALORIZAÇÃO AO
SUBPRODUTO DO PESCADO**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Aprovado em 03 de setembro de 2021:



Ernesto Hashime Kubota, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Cristiano Augusto Ballus, Dr. (UFSM)



Mari Silvia Rodrigues de Oliveira, Dr^a. (UFSM)



Fernando Dal Pont Morisso, Dr. (FEEVALE)



Vanessa Bordin Viera, Dr^a. (UFCG)

Santa Maria, RS
2021

AGRADECIMENTOS

O final de um ciclo é sem dúvida muito emocionante, as lembranças de toda a trajetória começam vir à mente. Foram muitos momentos marcantes, de aprendizados, alegrias, de evolução, desentendimentos, perdas e formação de amizades para a vida toda. Diante de tudo isso, meu maior sentimento é expresso na palavra “Gratidão” e desse modo presto meus eternos agradecimentos a todos que colaboraram com a pesquisa e a minha formação pessoal e profissional.

Primeiramente agradeço a Deus por ter me permitido concluir mais uma etapa e me dado à oportunidade de tanto aprendizado e mais, ter me amparado em momentos difíceis e decisivos para a evolução da pesquisa e do meu crescimento.

Ao meu amado pai Evandir (*In memoriam*) que fisicamente não se encontra mais ao meu lado, mas que com certeza no seu plano espiritual me acompanhou e enviou muita energia positiva, luz, amor e vibração com cada batalha vencida. Agradeço por tudo que vivemos neste plano e pela nossa conexão que rompe as barreiras físicas. Eu amo você!

A minha mãe Vanusa que é a maior incentivadora e torcedora da minha trajetória pessoal e profissional. Faltam-me palavras para agradecer todo o incentivo, carinho, amor, entendimento, entusiasmo e amizade que tu tens por mim e pela a nossa relação de mãe e filha. Já disse e repito: Tu és a minha inspiração. Eu te amo!

Ao meu marido Jonathas que sempre esteve ao meu lado me incentivando e amparando em todos os sentidos para a conclusão desse período de estudos. Obrigada por tudo: amor, carinho, compreensão e cumplicidade. Te amo!

A toda minha família que sempre me incentivou, torceu, amparou e se orgulhou de cada conquista: Vó Tercila, Tio Daniel, Tio Miguel e família, sogros Adair e Maribel, Volmar, aos meus irmãos, Nathália, Gabriel, Ana Cristina, Yasmin e Maria Alice, e a minha sobrinha Maria Eduarda. Obrigada Deus pela minha família!

Ao meu orientador Prof. Dr. Ernesto Hashime Kubota agradeço por ter dividido os seus conhecimentos, pelas orientações e principalmente pela confiança depositada para cursar o doutorado. Muito obrigada!

A minha coorientadora Prof^a. Dr^a. Rosa Cristina Prestes Dornelles pelas orientações e oportunidades oferecidas. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Paulo Cezar Bastianello Campagnol pela ajuda na publicação do artigo e conclusão do doutorado, paciência, dedicação, incentivos e ensinamentos. Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Renius Mello pela contribuição na análise estatística e de forma geral na construção do trabalho.

Ao Prof. Dr. Fernando Dal Pont Morisso pela ajuda nas análises, paciência, disponibilidade, compreensão e por ter se tornado parceiro em outras pesquisas. Agradeço por você ter cruzado o meu caminho e ter enriquecido tanto o meu (nosso) trabalho.

A todos os professores da Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pelos diversos momentos de ensinamentos, inspirações, instruções, conselhos e pelas oportunidades de entretenimento.

Aos técnicos de laboratórios que nos auxiliam e são sempre muito prestativos, que não medem esforços para que consigamos concluir a pesquisa, que com certeza, muitas foram possíveis de serem realizadas pela dedicação, comprometimento e por estarem sempre prontos a facilitar o trabalho diário, agradecimento em especial para a Marialene Manfio e Magé Amaral.

Aos meus colegas do laboratório 4211 por toda ajuda, discussões de dados e realização de técnicas laboratoriais. Em especial, a minha colega e amiga Angela, que juntas estamos desde o mestrado enfrentando muitos obstáculos, mas sempre fazendo o que sempre gostamos: pesquisa. Desejo-te muito sucesso e realizações na vida pessoal e profissional. Obrigada por estar ao meu lado!

A todos os meus colegas e amigos que me acompanham desde o mestrado no grupo “TP et al., 2014”: Angela, Augusto, Karine, Francieli, Jamila, Marcelo, Maritiéli, Naiéli e Thaianne. Muito obrigada pelos momentos de descontração, risadas, festas, viagens e amparos em todo o período da pós-graduação. Sucesso a todos!

Aos meus amigos que me acompanham desde sempre, aos que foram chegando ao longo dessa jornada, agradecida por todo incentivo, ajuda, preocupação, colaboração e principalmente pela amizade. Quem tem amigos tem tudo!

A todas as pessoas que cruzaram o meu caminho, que com certeza contribuíram de alguma forma e me ajudaram a me conhecer e decidir que pessoa e profissional eu quero ser (e sou). Muito aprendizado está sendo levado para todos os momentos da vida. Gratidão!

A CAPES-FAPERGS pela bolsa de doutorado.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA) e a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pela oportunidade de estudar e fazer parte deste local que foi (e é) um sonho.

*O homem não possui como
seu senão aquilo que pode
levar deste mundo.*

(Pascal, 1860).

RESUMO

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COLÁGENO E GELATINA DA PELE DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*): UMA VALORIZAÇÃO AO SUBPRODUTO DO PESCADO

AUTORA: Camila Giacomelli da Silva
ORIENTADOR: Prof. Dr. Ernesto Hashime Kubota
COORIENTADOR (A): Prof. Dr^a. Rosa Cristina Prestes Dornelles

O colágeno e o colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) são produtos obtidos do tecido conjuntivo de animais e são utilizados de muitas formas em vários setores industriais. Os subprodutos do setor do pescado têm chamado à atenção para a produção desses materiais pelo fato de uma parte da população não consumir produtos originados de mamíferos, por problemas sanitários envolvendo os mesmos e para a valorização do subproduto descartado. Desse modo, a pesquisa teve como objetivo extrair e caracterizar o colágeno solúvel em ácido (ASC), colágeno solúvel em pepsina (PSC) e a gelatina (GPJ) da pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) (PJ) para os quais até o presente momento ainda não foram encontrados dados na literatura. O colágeno foi extraído da PJ pelo método químico e enzimático. Primeiramente, na PJ foi realizado o pré-tratamento para a remoção de constituintes indesejáveis, utilizando hidróxido de sódio 0,1 M, álcool butílico 10% e peróxido de hidrogênio 3%, para a remoção de proteínas não colagenosas, gordura e pigmentos, respectivamente. Após, foi submetida ao processo de extração com ácido acético 0,7 M por 24 horas. No líquido foi precipitado o ASC com cloreto de sódio 0,8 M, posteriormente centrifugado, dialisado em ácido acético 0,1 M e água destilada e por fim, congelado e liofilizado. Para a obtenção do PSC, foi utilizado o resíduo da extração não solubilizado no líquido, submetido ao mesmo processo citado, porém com adição de 1,5% de pepsina sobre o peso inicial de pele. A obtenção da GPJ consistiu primeiramente na realização do pré-tratamento com hidróxido de sódio 0,2 M e ácido acético 0,1 M para o inchamento das peles. Posteriormente, a GPJ foi extraída em água destilada a 45 °C por 9 horas. As análises realizadas para a caracterização foram composição química, conteúdo de hidroxiprolina, rendimento, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), eletroforese em gel (SDS-PAGE), calorimetria exploratória diferencial (DSC), determinação do pH e cor, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e algumas propriedades tecnológicas tais como, emulsificantes e espumantes, digestibilidade *in vitro*, solubilidade e viscosidade. Para o ASC, PSC e a GPJ foram obtidas principalmente elevada composição de proteína e de hidroxiprolina e ainda, rendimento com proporção de 15,1, 71,3 e 63,9% (em base seca), respectivamente. O FTIR mostrou picos na região da amida comumente encontrado em colágeno e gelatina, a SDS-PAGE marcou bandas com alto peso molecular e o DSC apresentou elevada caracterização térmica em relação a outras fontes. A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) mostrou camadas densas e não porosas na GPJ. Quanto às propriedades tecnológicas o ASC e PSC apresentaram capacidade para serem utilizadas principalmente como propriedade emulsificante em temperatura de refrigeração e a GPJ apresentou condições de conferir viscosidade elevada nos produtos as quais for adicionada. Ambas as amostras ainda apresentaram melhor solubilidade em ambiente ácido. Diante disso, a PJ comprovou ser possível fonte para a obtenção de colágeno e gelatina como alternativa às tradicionais de bovinos e suínos, pelo fato de apresentarem características químicas e funcionais com efeito positivo para os mais diversos setores industriais.

Palavras-chave: Descarte de peixe; Composição química; FTIR; SDS-PAGE; Propriedades funcionais.

ABSTRACT

EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF COLLAGEN AND GELATIN FROM THE SKIN OF JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*): AN VALUE TO THE FISH BY-PRODUCT

AUTHOR: Camila Giacomelli da Silva
SUPERVISOR: Prof. Dr. Ernesto Hashime Kubota
CO-SUPERVISOR: Prof. Dr^a. Rosa Cristina Prestes Dornelles

Collagen and partially hydrolyzed collagen (gelatin) are products obtained from the connective tissue of animals and are used in many ways in various industrial sectors. The by-products of the fish sector have drawn attention to the production of these materials due to the fact that a part of the population does not consume products originating from mammals, due to sanitary problems involving them and the valorization of the discarded by-product. Thus, the research aimed to extract and characterize acid-soluble collagen (ASC), pepsin-soluble collagen (PSC) and gelatin (GPJ) from silver catfish skin (*Rhamdia quelen*) (PJ) for which to date data have not yet been found in the literature. Collagen was extracted from PJ by chemical and enzymatic method. First, in PJ, pre-treatment was performed to remove undesirable constituents, using 0.1 M sodium hydroxide, 10% butyl alcohol and 3% hydrogen peroxide, for the removal of non-collagenous proteins, fat and pigments, respectively. Afterwards, it was submitted to the extraction process with 0.7 M acetic acid for 24 hours. The ASC was precipitated in the liquid with 0.8 M sodium chloride, subsequently centrifuged, dialyzed in 0.1 M acetic acid and distilled water, and finally frozen and lyophilized. To obtain the PSC, the extraction residue not solubilized in the liquid was used, submitted to the same process mentioned, but with the addition of 1.5% of pepsin on the initial skin weight. Obtaining GPJ consisted primarily of pre-treatment with 0.2 M sodium hydroxide and 0.1 M acetic acid for skin swelling. Subsequently, GPJ was extracted in distilled water at 45 °C for 9 hours. The analyzes performed for the characterization were chemical composition, hydroxyproline content, yield, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), gel electrophoresis (SDS-PAGE), differential scanning calorimetry (DSC), determination of pH and color, microscopy scanning electronics (SEM) and some technological properties such as emulsifiers and foamers, in vitro digestibility, solubility and viscosity. For ASC, PSC and GPJ, high protein and hydroxyproline composition were obtained, as well as yields with a proportion of 15.1, 71.3 and 63.9% (on dry basis), respectively. FTIR showed peaks in the amide region commonly found in collagen and gelatin, SDS-PAGE marked bands with high molecular weight and DSC showed high thermal characterization compared to other sources. Scanning Electron Microscopy (SEM) showed dense and non-porous layers in GPJ. As for the technological properties, ASC and PSC showed the ability to be used mainly as an emulsifying property at refrigeration temperature and GPJ showed conditions to provide high viscosity in the products to which it is added. Both samples still showed better solubility in an acidic environment. Therefore, the PJ proved to be a possible source for obtaining collagen and gelatin as an alternative to the traditional ones for cattle and pigs, due to the fact that they present chemical and functional characteristics with a positive effect for the most diverse industrial sectors

Keywords: Fish discard; Chemical composition; FTIR; SDS-PAGE; Functional properties;

LISTA DE FIGURAS

Revisão Bibliográfica

Figura 1	Peixe Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	29
Figura 2	Estrutura do colágeno (tropocolágeno): (a) forma de triplete presente nas matrizes colagênicas; (b) tropocolágeno; (c) hélice tripla.....	31
Figura 3	Processo de obtenção de gelatina.....	36

Manuscrito 1

Figure 1	(a) Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>) skin in fresh state; (b) lyophilized acid-soluble collagen (ASC); and (c) lyophilized pepsin-soluble collagen (PSC).	70
Figure 2	FTIR spectra of acid-soluble collagen (a) and pepsin-soluble collagen (b) extracted from jundiá skin.	71
Figure 3	Analysis of differential scanning calorimetry (DSC) of acid-soluble collagen (a) and pepsin-soluble collagen (b) extracted from jundiá skin.	72
Figure 4	Results of electrophoresis analysis (SDS-PAGE) of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) extracted from jundiá skin using a Precision Plus Protein Dual Xtra Standards molar mass standard (Bio-Rad Laboratories Inc., Richmond, VA, USA) (STD) and rat tail (R).	73
Figure 5	Solubility of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) extracted from jundiá skin as a function of pH.	74

Manuscrito 2

Figura 1	Espectro de FTIR da gelatina da pele de jundiá (GPJ).	110
Figura 2	Distribuição do peso molecular da gelatina da pele de jundiá (GPJ) utilizando para comparação padrão de massa molar Precision Plus Protein Dual Xtras Standards, (Bio-Rad Laboratories Inc., Richmond, VA, USA).....	111
Figura 3	Curva da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) da gelatina da pele de jundiá (GPJ).	112
Figura 4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da gelatina da pele de jundiá (GPJ).	113
Figura 5	Gráfico da solubilidade da gelatina da pele de jundiá (GPJ).	114

LISTA DE TABELAS

Revisão bibliográfica

Tabela 1 Métodos de obtenção de colágeno e fontes alternativas.....	33
---	----

Manuscrito 1

Table 1 Chemical composition, hydroxyproline, collagen and yield of jundiá skin (JS) with pre-treatment (PTJ), acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC).	75
Table 2 General peak assignment of the FTIR spectra of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC).	76
Table 3 Emulsifying activity (EAI) and emulsion stability (ESI) of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) extracted from jundiá skin.	77
Table 4 Foaming capacity (FC) and foam stability (FS) at different concentrations (C) of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) extracted from jundiá skin.	78

Manuscrito 2

Tabela 1 Rendimento e constituintes da pele de jundiá (PJ) e da gelatina da pele de jundiá (GPJ).	115
Tabela 2 Resultados do índice de atividade emulsificante (EAI) e índice da estabilidade emulsificante (ESI) da gelatina da pele de jundiá (GPJ) em diferentes condições de temperatura e tempo.....	116
Tabela 3 Capacidade de formação de espuma (CFE) e estabilidade de espuma (EE) em diferentes concentrações (C) de gelatina da pele de jundiá (GPJ).....	117

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	7
RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	25
2.1 <i>Objetivo geral</i>	25
2.1.1 <i>Objetivos específicos</i>	25
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1 <i>Produção de pescado e o impacto dos subprodutos gerados na industrialização</i>	27
3.1.1 <i>Jundiá (Rhamdia quelen)</i>	28
3.2 <i>Colágeno: estrutura, composição e métodos de extração</i>	30
3.2.1 <i>Derivados do colágeno</i>	35
3.2.1.1 <i>Colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina)</i>	35
3.2.1.2 <i>Fibra de colágeno e colágeno hidrolisado</i>	37
3.2.2 <i>Aplicações tecnológicas do colágeno e derivados</i>	38
4 DESENVOLVIMENTO	43
4.1 <i>Manuscrito 1</i>	43
1 <i>Introduction</i>	45
2 <i>Materials and Methods</i>	46
2.1 <i>Materials</i>	46
2.2 <i>Isolation of collagen</i>	47
2.2.1 <i>Pre-treatment</i>	47
2.2.2 <i>Extraction of acid-soluble collagen (ASC)</i>	47
2.2.3 <i>Extraction of pepsin-soluble collagen (PSC)</i>	48
2.3 <i>Characterization</i>	48
2.3.1 <i>Chemical composition</i>	48
2.3.2 <i>Hydroxyproline and collagen content</i>	48
2.3.3 <i>Yield</i>	49
2.3.4 <i>Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)</i>	49
2.3.5 <i>Differential scanning calorimetry (DSC)</i>	49
2.3.6 <i>Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)</i>	49

2.4 Evaluation of the technological properties of the collagen.....	50
2.4.1 In vitro digestibility.....	50
2.4.2 Solubility.....	50
2.4.3 Emulsifying properties.....	51
2.4.4 Foam properties.....	52
2.5 Statistical analysis	52
3 Results and Discussion.....	53
3.1 Characterization.....	53
3.2 Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR).....	56
3.3 Differential scanning calorimetry (DSC)	57
3.4 Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)	58
3.5 Evaluation of the technological properties of the collagen.....	58
4 Conclusions	61
References	61
4.2 Manuscrito 2.....	79
1 Introdução	82
2 Materiais e métodos	83
2.1 Material	83
2.2 Obtenção da gelatina.....	84
2.2.1 Pré-tratamento.....	84
2.2.2 Extração.....	84
2.3 Rendimento	84
2.4 Propriedades físico-químicas e teor de hidroxiprolina.....	85
2.5 Determinação do pH e da cor	85
2.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	86
2.7 Distribuição do peso molecular por SDS-PAGE.....	86
2.8 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	86
2.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	87
2.10 Propriedades tecnológicas	87
2.10.1 Emulsificantes.....	87
2.10.2 Formação e estabilidade da espuma	88
2.10.3 Solubilidade	88
2.10.4 Viscosidade	89

2.11 Análise estatística.....	89
3 Resultados e discussão.....	90
3.1 Rendimento.....	90
3.2 Propriedades físico-químicas e teor de hidroxiprolina	91
3.3 Determinação do pH e da cor	93
3.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	94
3.5 Distribuição do peso molecular por SDS-PAGE	95
3.6 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	96
3.7 Morfologia.....	97
3.8 Propriedades tecnológicas.....	97
3.8.1 Emulsificantes	97
3.8.2 Formação e estabilidade da espuma.....	98
3.8.3 Solubilidade.....	99
3.8.4 Viscosidade.....	100
4 Conclusão	100
Referências.....	101
5 DISCUSSÃO GERAL	119
6 CONCLUSÃO.....	123
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	125
ANEXO.....	135

1 INTRODUÇÃO

O colágeno é a proteína mais abundante nos animais, sendo a principal do tecido conjuntivo e encontrada em várias partes da estrutura biológica animal (peles, ossos, tendões, cartilagens, escamas e entre outros) (DAMODARAN et al. 2010). Para extrair o colágeno é necessária a remoção de numerosas ligações intra e intermoleculares e ligações covalentes cruzadas, que tornam o processo bastante complexo (RAN; WANG, 2014), através de métodos com a utilização de hidrólise ácida ou enzimática (ZAVAREZE et al. 2009). Deste material é possível também à obtenção de colágeno parcialmente hidrolisado, conhecido como gelatina, que é obtido do colágeno nativo por meio da hidrólise ácida (Tipo A) ou alcalina (Tipo B) seguida de aquecimento ($> 45\text{ }^{\circ}\text{C}$) (GÓMEZ-GUILLÉN et al. 2002).

O processo de extração de colágeno e seus derivados tem se destacado devido à sua utilização em aplicações alimentares, farmacêuticas, biomédicas, cosméticas e fotográficas (KITTIPHATTANABAWON et al. 2015) considerando suas propriedades funcionais e tecnológicas. Na indústria de alimentos, são utilizadas como: melhoradores de textura, estabilizantes de espuma, substituintes de agentes sintéticos, de proteínas vegetais e gorduras saturadas nos mais diversos processos industriais (JOHNSTON-BANKS, 1990; SCHRIEBER; GAREIS, 2007), tudo isso pelo fato de apresentar na sua estrutura moléculas com parte hidrofílica (afinidade com água) e hidrofóbica (afinidade com a gordura) (MICHELINI et al. 2007; KARIM; BATH, 2008). Além disso, são considerados produtos de baixas calorias, que normalmente são recomendados para o uso em produtos alimentares para aumentar os níveis de proteína, e reduzir os níveis de carboidratos em alimentos formulados para diabéticos (KARIM; BHAT, 2009).

Muitos fatores estão exigindo a descoberta de uma nova fonte para a produção de colágeno e gelatina. Primeiramente, uma fonte que seja permitida ou legal para as leis islâmicas, judaicas e hindus, já que os muçulmanos e os judeus não têm permissão para consumir os produtos elaborados com carne suína, e os hindus com carne bovina. Outro fator importante é a segurança sanitária, a gelatina de origem bovina pode ter o risco de estar contaminada com príons que podem transmitir a Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE) e febre aftosa (KARIM; BHAT, 2002; GÓMEZ-GUILLÉN et al. 2009; LI et al. 2013). Outro fator está relacionado à preservação ambiental, já que a indústria pesqueira tem muitos subprodutos indesejáveis aos consumidores, como pele, ossos, nadadeiras, cabeças e escamas, o que reduz a eficiência e a receita do comércio de pescados. Além disso, esses subprodutos

podem acabar sendo descartados de forma inadequada e causar poluição ambiental (SCHRIEBER; GAREIS, 2007).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe de couro encontrado quase que em todo território da América do Norte e Sul (SILFVERGRIP, 1996) em lagos e poços fundos dos rios (PAMPLONA, 2009). Possuem tamanhos de até 66 cm, pode pesar em torno de 3 kg, a coloração varia do cinza-esverdeado escuro no dorso até a coloração esbranquiçada no ventre e apresenta como característica visual três pares de barbilhões sensitivos do lado externo. São animais que resistem a variações de condições de temperatura (BORGES, 2005) e costumam se alimentar de peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos (GUEDES, 1980; MEURER; ZANIBONI FILHO, 1997).

Diante de todo o exposto, a pele de Jundiá (*Rhamdia quelen*), excedente do processamento de abate (dados de produção não encontrados), ainda não foi estudada até o presente momento para a obtenção de colágeno pelo método químico e enzimático, e colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina). Sendo assim, esta pesquisa tem como objetivo principal caracterizar esses materiais e obter produtos que possam contribuir em processos industriais de vários setores.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Obter e caracterizar colágeno solúvel em ácido (ASC), colágeno solúvel em pepsina (PSC) e gelatina da pele de jundiá (*Rhamdia quelen*).

2.1.1 Objetivos específicos

- Caracterizar a pele de jundiá (*Rhamdia quelen*);
- Extrair o colágeno solúvel em ácido (ASC) e colágeno solúvel em pepsina (PSC) da pele de jundiá (*Rhamdia quelen*);
- Avaliar a composição físico-química, estrutural e tecnológica dos compostos colagênicos;
- Obter a gelatina da pele de jundiá (*Rhamdia quelen*);
- Caracterizar a gelatina através da composição química, estrutural e tecnológica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produção de pescado e o impacto dos subprodutos gerados na industrialização

Os principais desafios a serem enfrentados pelos países para as próximas décadas são o crescimento da população mundial, a preocupação com a segurança alimentar e o interesse cada vez mais intenso em relação à sustentabilidade ambiental (SAATH; FASCINELLO, 2018). De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) (2016), para o ano de 2050, projeta-se que a população mundial chegue a 9,7 bilhões de pessoas, em torno de 25% a mais que o ano de 2020.

Neste sentido, o Brasil, um dos principais agentes no mercado internacional de alimentos, principalmente de carnes (bovina, suína, frango e pescado), juntamente com a China, Estados Unidos e União Europeia, deve atuar na redução dos impactos da falta de alimentos, traçando estratégias para alimentar esta população (SAATH; FASCINELLO, 2018). A partir do crescimento populacional poderá haver a maior industrialização do pescado para suprir as necessidades de alimentos disponíveis e como consequência aumento da quantidade de resíduos e/ou subprodutos resultantes do abate do pescado podem ser descartados inadequadamente ou processados de forma desvalorizada. De certa forma, a natureza é capaz de degradar os resíduos orgânicos e também, alguns dos impactos provocados por eles mesmos. Entretanto, o gerenciamento inadequado pode resultar na poluição do ar, da água e do solo, contribuindo para diversos problemas ambientais irreversíveis (SCHULTER; FILHO, 2017).

O setor do pescado é uma atividade econômica considerada importante em todo o mundo, como fonte geradora de alimentos, emprego e renda para vários segmentos econômicos (BENTO; BEMVENUTI, 2008). A pesca é uma atividade baseada no extrativismo e no uso dos recursos naturais sem o devido planejamento, enquanto a aquicultura é a atividade controlada pelo homem com o objetivo de exploração produtiva econômica e financeira. A produção de pescado, que por muitos anos teve sua origem da pesca, que passa por uma estagnação, sobretudo pela exploração dos estoques pesqueiros, encontrou na aquicultura a saída para a continuidade do crescimento sustentável (SCHULTER; FILHO, 2017). De acordo com a Associação Brasileira de Piscicultura (PEIXEBR) (2021) nos últimos seis anos, a produção de peixes somente de cultivo saltou 38,7% no país passando de 578.800 t (2014) para 802.930 t (2020).

Com o aumento de produção, a quantidade de resíduos orgânicos gerada nas plantas de processamento de pescado também aumentou e pode alcançar em torno de 70% em massa de subprodutos, dependendo do tipo de peixe, do produto desejado e da técnica empregada (AMIRKOLAIE, 2011). A pele de peixe originada da filetagem, por exemplo, é considerado um subproduto e causa problemas para o abatedouro pela quantidade descartada, em média 7,5% do peso dos peixes. Muitas vezes, são moídas juntamente com vísceras e restos de carcaça do próprio animal e fornecida como fonte alimentar para outros animais, principalmente espécies de peixes e/ou utilizadas na fabricação de fertilizantes ou adubos para aplicação no solo para prover nutrientes essenciais para o crescimento das plantas (CONTRERAS; GUZMÁN, 1994).

Entretanto, os subprodutos (peles, ossos, cabeças, vísceras e aparas) desses animais possuem na sua composição proteínas de valor agregado, com destaque para o colágeno e os seus derivados. Essas biomoléculas são comumente usadas em segmentos na indústria alimentícia, farmacêutica e na medicina (KITTIHATTANABAWON et al. 2015). Assim, destaca-se a importância e necessidade de pesquisas para diminuir os impactos no meio ambiente gerado pelo crescimento da produção de pescado e ainda, o fornecimento de produtos de qualidade tecnológica e nutricional como os compostos colagenosos e seus derivados (NALINANON et al. 2011; SILVA et al. 2011).

3.1.1 Jundiá (*Rhamdia quelen*)

O jundiá (*Rhamdia quelen*) (Figura 1) pertence à seguinte divisão taxonômica: classe: *Osteichthyes*, Série: *Teleostei*, Ordem: *Siluriformes*, Família: *Pimelodidae*, Gênero: *Rhamdia*, Espécie: *quelen*. Além disso, *Rhamdia quelen* apresenta 49 sinonímias e ainda 10 nomes populares como: jundiá, jundiá-tinga, jandiá, jandiá-tinga, mandi, bagre, entre outros (GOMES et al. 2000).

O jundiá é um bagre de couro de ampla distribuição geográfica, tendo sua ocorrência desde a região central da Argentina até o sul do México (SILFVERGRIP, 1996). Geralmente, seu habitat é em lagos e poços fundos dos rios, preferindo os ambientes de águas mais calmas, com o fundo de areia e lama, junto às margens e vegetação. Escondem-se entre pedras e troncos apodrecidos, de onde saem à noite à procura de alimento (PAMPLONA, 2009).

Estes animais possuem a estrutura bucal de tamanho grande, sem dentes e com três pares de barbilhões sensitivos do lado externo. A coloração da pele pode ser variada podendo

ser desde o cinza-esverdeado escuro no dorso até a coloração esbranquiçada no ventre (BORGES, 2005).



Figura 1 – Peixe Jundiá (*Rhamdia quelen*). Fonte: Revista Panorama da Aquicultura (2002).

Sobre as condições de sobrevivência quanto à temperatura, é considerada uma espécie euritérmica, resistindo a grandes oscilações de temperatura, embora o ideal térmico situe-se entre 22–28 °C (BORGES, 2005) e os alevinos são aclimatados a 31 °C suportam temperaturas de 15 a 34 °C (GOMES et al. 2000).

Quanto ao sistema de alimentação, os peixes adultos de *Rhamdia quelen* são onívoros, possuem capacidade para metabolização de diferentes classes alimentícias, costumam se alimentar de peixes, crustáceos, insetos, restos vegetais e detritos orgânicos (GUEDES, 1980; MEURER; ZANIBONI FILHO, 1997). Existem diversas pesquisas sendo realizadas sobre a alimentação de alevinos, em busca de melhores características para a qualidade da carne dos peixes.

A taxa de crescimento dos machos é maior do que a das fêmeas até o terceiro ou quarto ano de vida, quando a situação se inverte. O comprimento calculado para as fêmeas é de aproximadamente 66,5 cm e para os machos de 52 cm, e em média podem chegar a 3 kg. Conseqüentemente, as fêmeas apresentam maior comprimento e idade que os machos, sendo que o tempo de vida teórico das fêmeas é de 21 anos e dos machos 11 anos (GOMES et al. 2000).

Assim, o jundiá é uma espécie promissora ao setor do pescado brasileiro, pois apresenta boa adaptação a vários climas, tem aceitação a diferentes alimentos, rápido crescimento e mais, excelente carne saborosa sem espinhos intramusculares (COLDEBELLA; RADÜNZ NETO, 2002).

3.2 Colágeno: estrutura, composição e métodos de extração

O colágeno é uma proteína obtida do tecido conjuntivo de animais, presente na pele, tendões, cartilagens, veias, dentes e ossos, e apresenta cerca de 30% de toda matéria proteica do corpo dos animais (RAW, 1989), e tem como principal função atuar no organismo contribuindo com a integridade estrutural dos tecidos e músculos de vertebrados e invertebrados (DEMAN et al. 1999; DAMODARAN et al. 2010).

O termo colágeno deriva das palavras gregas *Kolla* (cola) e *Genno* (produção) (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2001). Atualmente o colágeno é utilizado para denominar uma família de pelo menos 29 formas distintas de proteínas encontradas no tecido ao longo do corpo. Dentre os diversos tipos de colágenos identificados, pode se observar a presença dos tipos I, II, III, IV, V, VI, XII e XIV na musculatura conectiva dos animais que se diferenciam na composição de aminoácidos, nos arranjos, no diâmetro e na localização dos tecidos (OLIVO; DEMAN, 1999; SHIMOKOMAKI, 2001; PRESTES, 2013).

O colágeno mais abundante é o Tipo I e comumente encontrado na pele, tendões, ligamentos e ossos. É formado por três cadeias polipeptídicas, sendo duas subunidades, α_1 e α_2 , que constituem a estrutura helicoidal na parte central e na extremidade permanecem a forma globular com a parte amínica e carboxílica (TORLEY et al. 2000). Nas porções globulares estão presentes as pontes cruzadas intermoleculares, que estabilizam a estrutura das fibrilas colagenosas, que resulta na alteração da textura, ocorrendo enrijecimento na carne à medida que o animal envelhece (PRABHU; DOERSCHER, 2004).

O colágeno Tipo II ocorre quase exclusivamente no tecido da cartilagem e acredita-se que a subunidade α_1 do Tipo II seja semelhante à subunidade α_1 Tipo I. O colágeno Tipo III é fortemente dependente da idade, no animal muito jovem a pele pode conter até 50%, mas com a passagem de tempo essa porcentagem pode ser reduzida para 5 a 10%. Os demais tipos de colágeno estão presentes apenas em pequenas quantidades, principalmente em órgãos específicos, como em membranas basais, córnea, músculo cardíaco, pulmões e mucosa intestinal (SCHRIEBER; GAREIS, 2007; KARIM; BHAT, 2009). A existência dos tipos de colágeno I e V foram relatados em tecidos de peixes, embora o colágeno do Tipo V seja encontrado substancialmente em quantidades menores (MIZUTA et al. 2004).

A molécula de colágeno tem 280 nm de comprimento, com massa molecular de 300.000 Da, estabilizada por pontes de hidrogênio e por ligações intermoleculares (LEHNINGER, 1995; WOLF, 2007). A unidade básica do colágeno é o tropocolágeno que é formado por três cadeias de polipeptídeos que se entrelaçam em formato helicoidal. Essas

cadeias são organizadas de forma paralela a um eixo, formando as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura presente (Figura 2) (NEKLYUDOV, 2003).

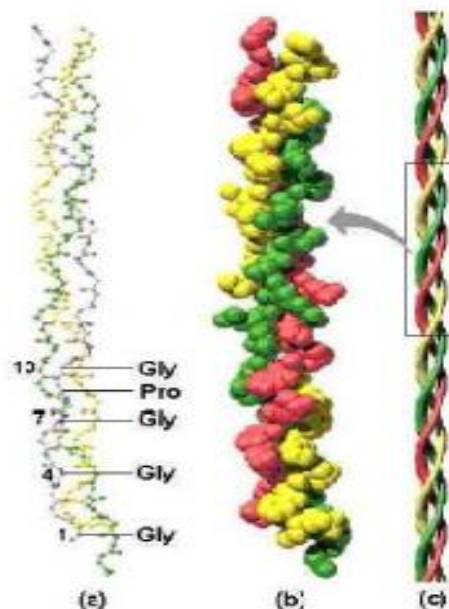


Figura 2 – Estrutura do colágeno (tropocolágeno): (a) forma de triplete presente nas matrizes colagênicas; (b) tropocolágeno; (c) hélice tripla. Fonte: Sionkowska (2006).

A estrutura tripla helicoidal apresenta composição de aminoácidos variada, a sequência mostra que a maior parte da cadeia polipeptídica está formada por 44% (Gly-X-X), 20% (Gly-X-I), 27% (Gly-I-X) e (Gly-I-I). Gly é o aminoácido glicina, X quase sempre é prolina e o Y, hidroxiprolina ou hidroxilisina. Geralmente, o colágeno contém cerca de 30% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina, 10% de hidroxiprolina, 1% de hidroxilisina e pequenas quantidades de aminoácidos polares e carregados (WONG, 1995). A quantidade de hidroxiprolina é utilizada como referência para determinar a quantidade de colágeno na carne e produtos cárneos (SCHILLING et al. 2003) e ainda, a prolina e hidroxiprolina são responsáveis pela estrutura secundária do colágeno e pela estabilidade da tripla hélice. Portanto, a menor quantidade ou a falta de hidroxiprolina interfere na formação da tripla hélice quando submetido à elevação da temperatura (GOMÉZ-GUILLÉN et al. 2002) e podem causar danos as propriedades de gelificação do colágeno (PRESTES, 2013).

O colágeno é obtido através de dois métodos de extração, a hidrólise com o uso de produtos químicos que é utilizada de forma ampla no setor industrial e a hidrólise enzimática que pode produzir o produto com a melhor funcionalidade e valor nutritivo (GOMÉZ-GUILLÉN et al. 2002; ZEUGOLIS; RAGHUNATH, 2011; MASILAMANI et al. 2016). Para

a obtenção de colágeno, é necessário que o subproduto seja submetido ao pré-tratamento para a remoção de substâncias não colagenosas e de constituintes indesejáveis, como o conteúdo mineral, de lipídeos e pigmentos. Após este procedimento o material é submetido ao método de extração escolhido (ácido e/ou enzimático) e por fim, o colágeno é precipitado em diferentes concentrações de cloreto de sódio (NaCl), centrifugado, dialisado em ácido e água destilada, congelado em recipientes e posteriormente, realizado o processo de secagem em liofilizador (GOMÉZ-GUILLÉN et al. 2002; MUYONGA et al. 2004; MURALIDHARAN et al. 2013).

Na Tabela 1 estão expostos de forma resumida alguns métodos de produção de colágeno. Os parâmetros de processamento (enzima, temperatura, tempo e pH), o pré-tratamento, método de conservação e as condições do subproduto inicial podem influenciar as características do produto final. Dessa forma, são obtidos colágenos com diferentes comprimentos da cadeia polipeptídica, viscosidade, solubilidade, capacidade de retenção de água e gordura, emulsificação e composição nutricional (KARIM; BHAT, 2009; HUANG et al. 2016).

A produção de colágeno e os seus derivados é tradicionalmente realizada com as peles e ossos de mamíferos como matéria-prima, principalmente de bovino e suíno. Entretanto, algumas questões estão sendo discutidas sobre a produção de colágeno desses animais, pois os bovinos apresentam problemas relacionados à saúde como a Encefalopatia Espongiforme Bovina, febre aftosa e reações alérgicas (CHO et al. 2004), e há também restrições ao colágeno de mamíferos em países com islamismo, religiões do judaísmo (KARIM; BHAT, 2009) e vegetarianismos (KOLI et al. 2012). Desse modo, as fontes alternativas aos compostos colagênicos de mamíferos estão sendo estudadas e caracterizadas, e estão apresentando resultados com efeito positivo e potencial de aplicação industrial.

Tabela 1 – Métodos de obtenção de colágeno e fontes alternativas.

Matéria-prima	Pré-tratamento	Extração	Caracterização	Referência
Peles de parca do Nilo (<i>Lates niloticus</i>)	NaCl 0,8 M por três períodos de 10 min., seguido de enxágue em água corrente;	Ácido acético 0,5 M por 16 h, com agitação intermitente;	Rendimento, composição nutricional, temperatura de desnaturação, aminoácidos, SDS-PAGE e FTIR;	Muyonga et al. 2004.
Pele do peixe-gato-canal (<i>Ictalurus punctatus</i>)	Éter e hexano para a remoção da gordura por 2 dias;	Ácido acético 0,5 M durante 24 h (ASC) e adição de pepsina 0,1% por 72 h (PSC);	Rendimento, composição nutricional, temperatura de desnaturação, aminoácidos, SDS-PAGE, FTIR e espectro UV/Vis;	Liu et al. 2007.
Pele de bagre listrado (<i>Pangasianodon hypophthalmus</i>)	NaOH 0,1 M para remover proteínas não colagenosas por 6 h e álcool butílico 10% por 48 h;	Ácido acético 0,5 M por 24 h (ASC) e adição de pepsina suína (20 unidades/g de resíduo) (PSC);	Rendimento, composição nutricional, aminoácidos, SDS-PAGE, solubilidade e Potencial Zeta;	Singh et al. 2011.
Pele de bagre da Malásia (<i>Híbrido Clarias sp.</i>)	NaOH 0,1 M durante 6 h para a remoção de proteínas não colagenosas e álcool butílico 10% por 24 h para o desengorduramento;	Ácido acético 0,7 M por 24 h (ASC) e adição de 1,5% pepsina (PSC) por 24 h;	Rendimento, aminoácidos, temperatura de desnaturação e solubilidade em pH e NaCl;	Kiew: Mashitah, 2013.
Peles, ossos e músculos da jaqueta de couro (<i>Odonus niger</i>)	NaCl 0,8 M por 10 min para remover as impurezas; NaOH 0,1 M por 3 dias para remover as proteínas não colágenas;	Ácido acético 0,5 M por 3 dias (ASC) e adição de pepsina (PSC) 0,1%;	Rendimento, composição nutricional, SDS-PAGE, aminoácidos, viscosidade e DSC;	Nagarajan et al. 2013.
Pele de frango	NaCl 5% para reduzir as proteínas não colagenosas e Na ₂ CO ₃ 6 %;	50 °C por 3 h com três enzimas papaína, tripsina e flavourzyme;	Peso molecular, aminoácidos, Absorção de água e óleo, solubilidade, propriedades emulsificantes e espumantes;	Zeng et al. 2013.
Pele do peixe palhaço (<i>Chitala ornata</i>)	NaOH 0,1 M para remover proteínas não colágenas por 6 h;	Ácido acético 0,5 M por 48 h com agitação	Rendimento, aminoácidos, Determinação de proteína,	Kittiphattanabawon et al.

		contínua (ASC) e adição de pepsina suína (20 unidades/g de resíduo) (PSC);	FTIR, DSC e Potencial Zeta;	2015.
Pele de bagre africano (<i>Clarias gariepinus</i>), salmão (<i>Salmo salar</i>) e bacalhau do Báltico (<i>Gadus morhua</i>)	Lipídios removidos por enxágue com água destilada a 4 °C; NaOH 0,1 M remover proteínas não colágenas; Solução de H ₂ O ₂ por 24 h a 4 °C para a remoção de pigmentos;	Ácido acético 0,5 M durante 72 h;	Rendimento, hidroxiprolina, DSC, SDS-PAGE e FTIR;	Tylingo et al. 2016.
Medusa (<i>Rhopilema esculentum</i> Kishinouye)	Água destilada fria a 4 °C por 3 dias para a dessalinização;	Ácido acético 0,6 M por 72 h e Ácido acético 0,5 M por 72 h contendo 1% de pepsina;	Rendimento, Composição nutricional, SDS-PAGE, aminoácidos, FTIR e MEV;	Cheng et al. 2017.
Pés de codornas congeladas (<i>Coturnix japonica</i>)	Proteínas não colagenosas removidas com NaOH 0,1 M, a gordura com etanol 20% e o cálcio com EDTA 0,5 M;	Extraídos em ácido acético 0,5 M por 3 dias e re-extraídos nas mesmas condições por 48 hs;	Composição nutricional, aminoácidos, DSC, FTIR, Potencial Zeta, Espectro UV-Vis, Viscosidade, SDS-PAGE e MEV;	Yousefi et al. 2017.
Vesícula de peixe-gato listrado (<i>Hipofthalmo Pangasius</i>)	NaOH 0,2 M para a remoção de proteínas não colagenas;	Ácido acético 0,5 M por 72 h;	Rendimento, composição nutricional, aminoácidos, Espectro UV/Vis, SDS-PAGE, FTIR, Ressonância magnética e viscosidade;	Vijayan et. 2018.
Resíduo de sardinha (<i>Sardinella fimbriata</i>)	NaOH 0,1 M para a remoção de proteínas não colagenas e EDTA 0,5 M por 24 h para o cálcio;	Ácido acético 0,5 M por 24 h (ASC) e adição de 1,5% de pepsina por 30 h (PSC).	Rendimento, Proteína, FTIR, Solubilidade e Morfologia;	Hamdan; Sarbon, 2019.

Fonte: Própria (2019).

3.2.1. Derivados do colágeno

A partir do colágeno nativo (tropocolágeno) podem ser obtidos o colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina), a fibra de colágeno e o colágeno hidrolisado. Cada um destes derivados apresenta características próprias que são dependentes da matéria-prima, do processo de extração (químico ou enzimático) e do tempo e temperatura de obtenção (KARIM; BATH, 2008; PRESTES, 2013).

3.2.1.1 Colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina)

A gelatina é uma proteína que pode ser obtida por subprodutos de animais e/ou pelo próprio colágeno em temperatura controlada. Na produção de gelatina, o objetivo é controlar a hidrólise parcial do colágeno que causa a quebra incompleta da reticulação da molécula e converte o produto resultante em um material solúvel (NEKLYUDOV, 2003; KARIM; BHAT, 2008; KARIM; BHAT, 2009) com propriedades físicas e químicas desejáveis, dentre elas: viscosidade elevada, propriedade emulsificante e espumante, alta capacidade térmica, inodora e incolor (NEKLYUDOV, 2003).

O processo de conversão de colágeno em gelatina (Figura 3) envolve principalmente as seguintes etapas: a primeira etapa é o pré-tratamento, com utilização de soluções ácidas, básicas e/ou utilização de enzimas, que consistem na clivagem parcial das ligações cruzadas (SCHRIEBER; GAREIS, 2007; KARIM; BHAT, 2008; MUHAMMAD et al. 2016). A segunda etapa que compreende a extração real de gelatina que envolve o aquecimento (> 45 °C) em água com variações no tempo de extração, e a última etapa para a obtenção de gelatina, inclui a filtração, secagem e moagem em pó (KARIM; BHAT, 2007; GOMÉZ-GULLEN et al. 2009). Os dois tipos de gelatinas obtidas são denominados Tipo A (pelo método com ácido) e Tipo B (pelo método básico) (WONG, 1995). De modo geral, o tratamento ácido é preferível para o colágeno da pele de peixes e suínos, que tem menos ligações covalentes reticuladas, e quanto ao tratamento alcalino é preferível para o colágeno das peles bovinas que tem mais ligações covalentes e são mais complexas (KARIM; BHAT, 2008).

Como descrito anteriormente, o colágeno é composto por uma hélice tripla entrelaçada e estabilizada por pontes de hidrogênio e ligações intermoleculares. A conformação helicoidal é perdida quando ocorre a destruição parcial dessas ligações e ocorre o colapso da molécula (WARDS; COURTS, 1977). Com isso, há o desenrolar das cadeias moleculares e conseqüentemente a redução do peso molecular (RAHMAN et al. 2008). É necessário que

este processo ocorra para modificar a estrutura da proteína e, portanto, produza um inchaço adequado e ruptura intra e intermolecular das ligações, causando a solubilização de colágeno e levando a formação de gelatina (MOHTAR et al. 2010).

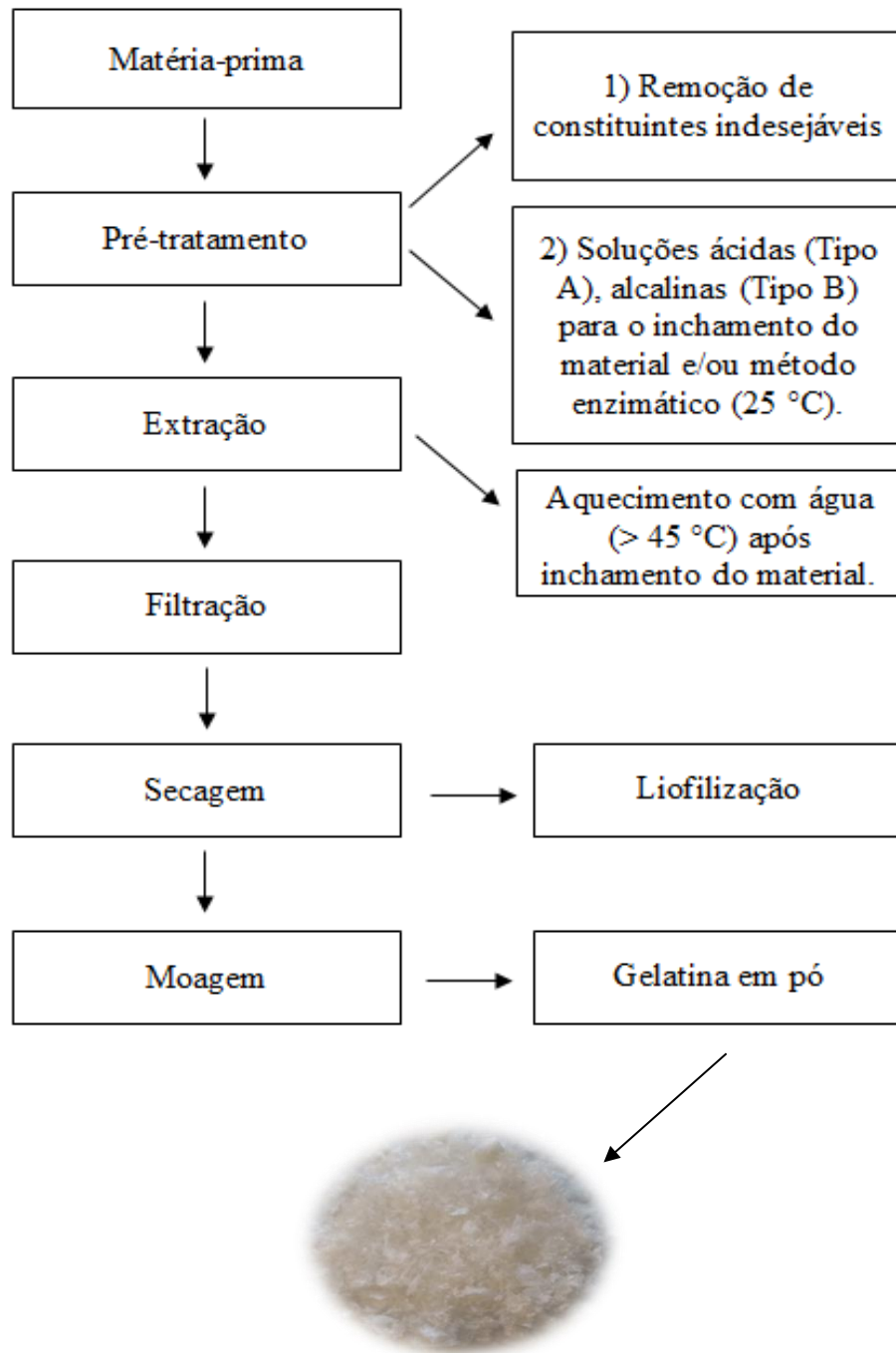


Figura 3 – Processo de obtenção de gelatina. Fonte: Própria (2021).

As gelatinas de mamíferos também apresentam problemas sanitários e socioculturais com a sua produção, conforme relatado na produção de colágeno. Sendo assim, a gelatina de subprodutos do abate de fontes marinhas (peles, espinhos, barbatanas, escamas e cabeças) é

uma alternativa possível à gelatina de mamíferos (BALTI et al. 2011; KIPLAGAT et al. 2017; ALI et al. 2018; PRADARAMESWARI et al. 2018). A pele do peixe que é um dos principais subprodutos da indústria de processamento do pescado, causando desperdícios e poluição, pode fornecer uma valiosa fonte de gelatina (BADII; HOWELL, 2006). A produção de gelatina de peixe não é um processamento novo, começou a ser estudado e produzido desde 1960 e utilizado para aplicações industriais (NORLAND, 1990). Uma patente dos Estados Unidos descrita por Grossman e Bergman (1992) detalharam os procedimentos de extração e caracterização das propriedades e desde então, vários grupos de pesquisa têm investigado os vários aspectos da gelatina de peixe.

A gelatina de fontes de peixes apresenta características que despertaram a atenção de muitos setores industriais. Geralmente, apresenta o rendimento médio de extração de até 19% (gramas de gelatina seca por 100 g de pele limpa em uma base úmida) (ALFARO et al. 2013). Os valores de pH são variáveis e dependentes do método de extração utilizado, sendo assim diferentes faixas podem ser observadas (ALFARO et al. 2015). Os constituintes químicos como a umidade (6 a 13%), resíduo mineral fixo (ideal até 2,6%) lipídeos (ideal abaixo de 5%) e proteínas (até 30%), em base úmida são variáveis de acordo com as características da matéria-prima. Quanto ao conteúdo de aminoácidos, os responsáveis pelas características funcionais da gelatina, é predominantemente 33% de glicina, 20% de prolina e hidroxiprolina e 11% de alanina (SARABIA et al. 2000). As propriedades físicas da gelatina não dependem somente dos aminoácidos, mas também da distribuição molecular, como a formação de cadeias α , β e γ , e da inexistência de bandas marcadas com baixo peso molecular (MUYONGA et al. 2004). Além disso, de acordo com Johnston-Banks (1990), a força do gel é proporcional à soma das cadeias α , seus dímeros (componentes β e γ), e a viscosidade e o ponto de fusão aumentam com o aumento de compostos de alto peso molecular.

3.2.1.2 Fibra de colágeno e colágeno hidrolisado

A fibra de colágeno é um ingrediente novo obtido do colágeno nativo extraída de camadas internas do couro bovino (MÁXIMO; CUNHA, 2010; SANTANA et al. 2012). A fibra é submetida ao processo químico alcalino com hidróxido de cálcio, posteriormente, a etapa de desengorduramento e secagem a baixas temperaturas. Devido a sua forma física, a fibra apresenta características funcionais como a capacidade de retenção água, agente de textura e coesão (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2001).

O colágeno hidrolisado trata-se de uma proteína natural derivada do colágeno nativo, extraído particularmente de bovinos, suínos, aves e peixes. Sua extração ocorre em água de 50 a 60 °C com a utilização de enzimas. A diferença em relação ao colágeno nativo é que estas proteínas são solúveis em água e/ou em salmoura e apresentam elevado conteúdo proteico (84 a 90%). Sua utilização deve-se pela capacidade de retenção de água e alto teor proteico (FRANCISCHETTI et al. 2007; DENIS et al. 2008).

3.2.2 Aplicações tecnológicas do colágeno e derivados

Os estudos do colágeno e seus derivados iniciaram na década de 30, mas vêm se intensificando nos últimos trinta anos, especialmente no desenvolvimento de aplicações na indústria farmacêutica, cosmética e fotográfica (MICHELINI, et al. 2007; LAFARGA; HAYES, 2014; KITTIPHATTANABAWON et al. 2015). Além dessas, a utilização desses compostos são importantes na aplicação industrial na área de alimentos, devido às suas propriedades emulsificantes, agentes espumantes, estabilizantes coloidais, formadores de películas biodegradáveis, agentes microencapsulantes, com a tendência de substituir o material sintético pelo natural e mais, os estudos também se concentram sobre o efeito da ingestão oral em animais e humanos, como agentes bioativos, antimicrobianos, antioxidantes e anti-hipertensivos (GÓMEZ-GUILLÉN et al. 2011).

O colágeno foi adicionado em presuntos (1%) e reduziu as perdas no cozimento em percentuais de 2 a 3% e ainda, reduziu a sinérese após quatro semanas de armazenamento. Não apresentou diferença na textura, porém houve leve alteração de cor e diferença sensorial quando o colágeno foi adicionado em quantidade acima de 2% (PRABHU; DOERSCHER, 2004).

A pesquisa de Waszkowiak e Dolata (2007) avaliou o colágeno hidrolisado e fibra de colágeno de suíno (separadamente) na imobilização de extrato de rosas como antioxidante, aplicados em salsichas numa concentração máxima de 2%. O produto final apresentou menores valores de umidade e maiores de proteína para fibra de colágeno. De maneira geral, a fibra de colágeno apresentou melhor comportamento que o hidrolisado quando avaliada para imobilizar o antioxidante do extrato de rosas para aplicação em salsichas.

Walrand et al. (2008) estudaram a suplementação de colágeno hidrolisado em leite fermentado e em água, sendo verificada para prevenção de doenças reumáticas, como a osteoartrite. A melhor absorção dos aminoácidos do colágeno hidrolisado ocorreu no suplemento com leite fermentado. Porém, o valor funcional desse produto pode não estar

somente relacionado aos aminoácidos do colágeno hidrolisado, mas combinado com outras proteínas e peptídeos presentes no leite fermentado.

O estudo de Bueno (2008) utilizou colágeno em concentrações de 0,1 a 0,3% em cortes bovinos. O colágeno atuou favoravelmente no aumento da capacidade de retenção de água, que sofreu decréscimo quando o nível de injeção foi alto (> 20%). Teores maiores de 0,14% de colágeno na formulação injetada promoveram um aumento acentuado nos valores de força de cisalhamento observados no músculo Tríceps braquial. A adição de até 0,2% de colágeno possibilitou um alto rendimento para o processamento de carne cozida congelada elaborado com o músculo Tríceps braquial sem a utilização de tripolifosfato de sódio, composto comumente utilizado na indústria de alimentos.

Furlan e Srebernich (2009) avaliaram sensorialmente o uso de goma acácia e colágeno hidrolisado em barras de cereais *diet*. Tanto a adição de colágeno hidrolisado como de goma acácia tiveram boa aceitação. Quanto à intenção de compra, 78,4% dos provadores se manifestaram propensos a comprar a barra contendo colágeno, enquanto que, para a barra contendo goma acácia, esse valor foi de 53,3%, evidenciando a influência favorável do uso de colágeno hidrolisado em barras de cereais *diet*.

A adição de 0,5 e 1,0% de colágeno foi avaliada em queijo prato como substituto de gordura. A adição do substituto promoveu aumento do teor de umidade e, conseqüentemente, do rendimento dos queijos. O comportamento da glicólise e da proteólise durante a maturação do queijo prato *light* modificado foi próximo ao observado para o queijo prato integral. Entretanto, não houve uma relação entre a adição do substituto de gordura e aumento da capacidade de derretimento e melhoria da textura do queijo prato. O pesquisador recomenda que outros estudos sejam realizados para compreender melhor o efeito do colágeno na qualidade dos produtos, a fim de avaliar seu potencial para a produção do queijo prato com reduzido teor de gordura e com características semelhantes aos queijos integrais (DIAMANTINO, 2011).

Pesquisadores adicionaram colágeno em mortadela de filé de tilápia propondo-se produzir um alimento saudável, saboroso e nutritivo, que pode ser consumido diretamente ou utilizado em lanches, petiscos e nas mais variadas receitas visando o aumento de consumo de peixe no país, além de favorecer o consumo de colágeno de forma indireta. O produto foi avaliado sensorialmente (cor, aroma, textura, sabor e aceitação global) e recebeu alta aceitação sensorial (NUNES et al. 2011).

Czajka et al. (2018) realizaram uma pesquisa com 120 participantes que consumiram suplemento líquido com colágeno de peixe hidrolisado associados com vitaminas e outros compostos bioativos, e mostraram que houve efeito favorável do alimento sobre a pele, com aumento da elasticidade e redução do envelhecimento, e ainda, melhora na mobilidade e redução da dor nas articulações.

O colágeno é utilizado na indústria processadora em produtos alimentícios em substituição à gordura, pois ele tende a melhorar a textura excessivamente dura dos produtos com teor reduzido de gordura. A aceitação sensorial dos produtos adicionados percentuais elevados de colágeno diminui enquanto que a suculência do produto aumenta, sugerindo que o colágeno interage na matriz proteica ao invés de prejudicar. Em produtos emulsionados, o colágeno pode aumentar o rendimento e rigidez, porém os teores elevados podem reduzir a estabilidade da massa causando liberação de gordura e gelatina, e ainda, ocorre redução da cor vermelha devido à diluição da mioglobina (PRESTES, 2013).

Na indústria biomédica e farmacêutica, o colágeno associado a outros compostos podem constituir como matéria-prima para a produção de suturas, agentes hemostáticos, substituição e/ou regeneração tecidual (vasos, ossos, cartilagens, pele, sangue, traqueia, esôfago), cirurgia plástica (lábios, pele), oxigenador de membrana, contraceptivos, matrizes biodegradáveis, implantes, bandagem da córnea e lentes de contato (FERREIRA et al. 2012). Os biopolímeros produzidos a partir do colágeno têm sido utilizados na produção de materiais com aplicações biomédicas por serem capazes de reconhecer domínios específicos presentes na estrutura celular (PIRES et al. 2015).

O colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) é amplamente utilizado pelos mais diversos setores da indústria alimentícia. No segmento de doces e confeitaria são usadas devido às suas propriedades de formação de gel, formação e estabilização de espuma, textura, agente emulsificante e agente ligante de água. A substituição de carboidratos por gelatina permite a produção de gomas sem uso de açúcares, ideais para o consumo de diabéticos. No setor de bebidas, a principal aplicação da gelatina está na clarificação de vinhos, sucos e leites e derivados que se beneficia devido a sua estrutura molecular, que se associa perfeitamente à caseína, promovendo a estabilização do sistema lácteo (KARIM; BHAT, 2008).

Na produção de produtos cárneos, a gelatina aperfeiçoa alguns parâmetros de qualidade, como redução de resíduos de gelificação e de gorduras em enlatados, melhora na espalhabilidade e maciez em patês, melhora na homogeneidade da emulsão em produtos do tipo *corned beef*; rápida redução dos valores de atividade de água (aw) e melhora a

estabilização de emulsões, dispersões e suspensões. O tipo de gelatina a ser empregado depende da textura final desejada, recomendando-se gelatinas de alto poder de gelificação (KARIM; BHAT, 2008).

Na indústria farmacêutica, a gelatina é utilizada na fabricação de vários produtos, tais como cápsulas, pomadas, cosméticos, pastilhas e emulsões (GÓMEZ-GUILLÉN et al. 2009). Além disso, a gelatina de peixe pode ser usada para produzir vários alimentos microencapsulados e produtos secos, tais como vitaminas e outros aditivos farmacêuticos (ZHOU et al. 2007). É usada na combinação única de agente gelificante e atividade superficial para suspender partículas de cloreto de prata ou corantes sensíveis à luz na indústria fotográfica (BENJAKUL et al. 2012) e mais, a gelatina tem sido aplicada devido a sua excelente capacidade de produção de filmes (HOQUE et al. 2010). De acordo com Benjakul et al. (2012), as gelatinas de peixe que não formam gel à temperatura ambiente podem ser usadas em outras aplicações que não requerem alta força do gel, como para prevenir a sinérese e para mudar a textura alimentar, principalmente em produtos congelados ou refrigerados (GONÇALVES et al. 2011).

O mercado global de colágeno e os seus derivados tem a tendência de alcançar a faixa dos 7,5 bilhões de dólares até 2027, devido ao aumento na demanda por essas moléculas em procedimentos médicos e/ou cosméticos. Destaca-se ainda a vantagem do colágeno de origem aquática sobre outras fontes, como a bovina e suína, por conta de sua alta taxa de absorção pelo organismo e biodisponibilidade (GRAND VIEWSEARCH, 2020).

Diante de todos os dados apresentados, é evidente que existem várias pesquisas e aplicações sobre a adição de colágenos e derivados em variadas atividades industriais e em muitos produtos alimentícios, e assim, observa-se a importância da utilização de subprodutos da indústria de carnes e pescado para evitar a poluição do ambiente e desenvolver ingredientes com valor funcional e tecnológico para serem aplicados em muitas áreas.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Manuscrito 1

Jundiá fish skin (*Rhamdia quelen*): an unexplored by-product with great potential to be used as a novel source of collagen.

ANEXO - Artigo publicado no *Journal of Aquatic Food Product Technology*

(Formatado conforme as normas da revista).

1 **Jundiá fish skin (*Rhamdia quelen*): an unexplored by-product with great**
2 **potential to be used as a novel source of collagen**

3
4 **ABSTRACT**

5 For the first time, the skin of jundiá fish (*Rhamdia quelen*) (JS) was used to isolate acid-
6 soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC). The ASC and PSC showed levels
7 of 89.7 and 90.1% of protein, respectively. Fourier - transform infrared spectroscopy (FTIR)
8 indicated that the samples had groups in the amide region (A, B, I, II and III) and that the
9 helical conformation was not affected by the extraction methods. Furthermore, SDS-PAGE
10 showed that the extracted collagens were Type I and that they presented high denaturation
11 temperatures (57.7 and 59.9 °C for ASC and PSC, respectively). Both the ASC and PSC
12 exhibited positive results in terms of technological properties. Thus, JS represents a novel
13 source of collagen that can be used on an industrial scale.

14 **Keywords:** fish collagen; acid-soluble collagen; pepsin-soluble collagen; FTIR.

15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

26 **1 Introduction**

27 The most abundant protein in animal tissues and bones is collagen, which comprises
28 approximately 30% of the protein fraction (Baderi and Sarbon 2019; Liu et al. 2007).
29 Collagen is formed by the amino acids glycine, proline, hydroxyproline and alanine (Baderi
30 and Sarbon 2019; Muyonga et al. 2004) and Type I collagen is the most commonly present in
31 animals (Damodaran, Parkin and Fennema 2010). This material has traditionally been isolated
32 from animal waste, mainly from cattle and pigs (Vijayan et al. 2018). However, the collagen
33 and its derivatives that is extracted from mammalian sources is associated with the risk of
34 communicable diseases, such as spongiform encephalopathy, swine flu and foot-and-mouth
35 disease, as well as potential allergic reactions, and food restrictions for Hindus, Jews and
36 Muslims for religious reasons (Li Z et al. 2013; Veeruraj A et al. 2013).

37 Obviously, these issues have caused limitations on the use of collagenous protein from
38 these sources, and thus, the need arose to investigate safe alternatives. Increases in the search
39 for processed fishery products, and the rapid development of fish processing industries, have
40 resulted in large quantities of by-products which are discarded, potentially causing pollution,
41 or which are used in the manufacture of foods with low commercial value or as fertilizers
42 (Hukmi and Sarbon 2018; Veeruraj et al. 2015).

43 Using these by-products as alternative sources of collagen could increase the economic
44 return of the fish industry and also avoid negative environmental consequences (Zhang et al.
45 2007). In order to resolve or alleviate the problems previously mentioned, several studies of
46 collagen derived from fish have been published in recent years (Dave et al. 2019; Hukmi and
47 Sarbon 2018; Nagai et al. 2015; Tylingo et al. 2017; Veeruraj et al. 2013; Xu et al. 2017). The
48 latter have presented interesting results, demonstrating the use of raw materials to extract
49 various types of collagenous protein, with various applications in diverse areas such as the
50 food, cosmetics, biomedicine and pharmaceutical industries (Nagai et al. 2015).

51 The jundiá fish (*Rhamdia quelen*) is a catfish that is found widely in almost all of South
52 and Central America. It is prized because of its high growth potential. In addition, it has a
53 high capacity to adapt to different cultivation systems and adverse climatic conditions.
54 Another advantage is that this species feeds on both plant and animal sources and has a high
55 feed efficiency (Diemer et al. 2011; Rodrigues et al. 2012), as well as the fact that the flesh
56 does not contain intramuscular spines (Fracalossi et al. 2004).

57 In view of the aforementioned positive points, this species has the potential for
58 increased production and consumption, as well as increased financial income from fishing,
59 because the fish skin, which is a by-product, can provide high added value due to the fact that
60 it is an excellent source of collagen. Rather surprisingly, this by-product has never been used
61 to extract collagen before. Consequently, the aim of this study was to isolate and characterize
62 acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) from the skin of jundiá fish
63 (*Rhamdia quelen*) for reuse as a by-product, and to evaluate its potential for industrial
64 application.

65 **2 Materials and Methods**

66 **2.1 Materials**

67 Jundiá fish (*Rhamdia quelen*) were acquired from a local producer in the city of Santa
68 Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. The fish were transported in a plastic thermal box,
69 eviscerated and then frozen. They were subsequently stored and refrigerated (4 °C) for two
70 hours to soften the skin and facilitate its removal with the aid of a knife and pliers. The jundiá
71 skins (JS) (Figure 1a) were placed in polyethylene packaging and stored at –22 °C in a freezer
72 (Metalfrio, VF50F) until use.

73 **2.2 Isolation of collagen**

74 *2.2.1 Pre-treatment*

75 The fresh skin was cut into 1 cm pieces, washed in distilled water, and mixed with 0.1
76 M NaOH with a sample/alkaline solution ratio of 1:20 (w/v) for 6 hours to remove non-
77 collagenous proteins; the solution was changed every 2 hours. The skin was then washed with
78 distilled water until neutral pH (7) and subsequently degreased with 10% butyl alcohol with a
79 solid/solvent ratio of 1:20 (w/v) for 24 hours. The skin was then washed with distilled water
80 in a ratio of 1:40 (w/v) to remove odor from the solution. For de-pigmentation, the skin was
81 soaked in 3% hydrogen peroxide for 24 hours at a sample/solvent ratio of 1:5 (w/v). The pre-
82 treated skin was then placed in polyethylene packaging and stored at $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ in a freezer
83 (Metalfrio, VF50F) for the subsequent extraction of collagen.

84 *2.2.2 Extraction of acid-soluble collagen (ASC)*

85 After the pre-treatment, the skin (50 g) was strongly agitated in 0.7 M acetic acid for 24
86 hours in a 1:20 (w/v) proportion. After the extraction was completed, the resulting residue
87 was collected with gauze for further enzymatic extraction, and the collagen was precipitated
88 in the liquid by adding 0.8 M NaCl. The resulting sediment was collected by centrifugation at
89 20,000 rpm for 20 minutes in a refrigerated centrifuge (Eppendorf centrifuge 5804/5804 R) at
90 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ and then placed on a cellulose membrane (typical molecular weight cut-off 14,000 KDa,
91 Sigma, St. Louis, USA). For purification, the precipitated collagen was dialyzed with 0.1 M
92 acetic acid and distilled water for 24 hours each; the amount of liquid used ensured that the
93 membranes were fully immersed in the solutions, which were changed every 12 hours. The
94 contents were then placed in a freezer (Metalfrio, VF50F) at $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ in plastic pots. In order to
95 obtain dry samples (Figure 1b) a freeze-dryer was used (Terroni, LS 3000, São Carlos,
96 Brazil).

97 2.2.3 Extraction of pepsin-soluble collagen (PSC)

98 The PSC was obtained using the method described above (Figure 1c). The only
99 difference was that the residue from the skin from the ASC extraction was used. The latter
100 was continuously agitated in 0.7 M acetic acid at a sample/solvent ratio of 1:20 (w/v) for 24
101 hours and the addition of 1.5% pepsin (Sigma, St. Louis, USA) on the initial fresh skin
102 weight. All the pre-treatment and extraction procedures were performed under agitation in an
103 incubator shaker (SolabSL-223, Piracicaba, Brazil) at 150 rpm and a temperature of 4 °C
104 following the procedure described by Kiew and Mashitah (2013) but with a reduction of the
105 volume of the 0.7 M acetic acid solution.

106 2.3 Characterization

107 2.3.1 Chemical composition

108 The following chemical characteristics were analyzed according to methodologies
109 recommended by the AOAC (2016): moisture was assessed by drying in an oven at 105 °C
110 until constant weight; ash was evaluated by incinerating the sample in a muffle furnace at 550
111 °C; crude protein was determined by the Micro-Kjeldahl method; and lipids were assessed by
112 the Soxhlet method.

113 2.3.2 Hydroxyproline and collagen content

114 Kollar's methodology (1990) was followed for the quantification of hydroxyproline. The
115 samples were hydrolyzed in 3.5 M sulfuric acid in an air circulation oven for 16 hours at 103
116 °C. Mixture were then filtered, diluted and oxidized with chloramine-T. After the addition of
117 4-dimethyl-aminobenzaldehyde a red-purple color developed, which was measured
118 photometrically at 558 nm in a spectrophotometer (Servylab, UV - M51, B, São Leopoldo,
119 RS, Brazil). A factor of 8.0 was used to convert the hydroxyproline value to collagen (%).
120 The efficiency of collagen extraction was assessed according to the equation below:

$$\text{Efficiency of collagen extraction (\%)} = \frac{\text{percentage of collagen}}{\text{percentage of protein}} \times 100$$

121 2.3.3 Yield

122 The yield of ASC and PSC were calculated based on the dry weights of the starting
123 material (Vidal et al. 2020):

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{weight of lyophilized collagen (g)}}{\text{initial weight (dry) of JS(g)}} \times 100$$

124 2.3.4 Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

125 The structural properties were analyzed by FTIR using Shimadzu IRPrestige-21
126 equipment (Shimadzu Corporation, Japan); the attenuated total reflectance (ATR) was in the
127 range of 400 to 4,000 cm^{-1} , 16 scans were performed per spectrum and the resolution was 2
128 cm^{-1} (Schmidt et al. 2020).

129 2.3.5 Differential scanning calorimetry (DSC)

130 DSC-Q200 equipment (TA-Instruments, USA) was used to obtain the DSC curves. The
131 equipment was previously calibrated with 99.99% high purity indium, $\text{mp} = 156.6 \text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta\text{H} =$
132 28.56 J g^{-1} . The following parameters were used to record the temperatures and enthalpy of
133 the collagen denaturation process: air flow of $50 \text{ mL minute}^{-1}$; heating rate of $10 \text{ }^\circ\text{C minute}^{-1}$;
134 and heating range from -20 to $100 \text{ }^\circ\text{C}$. For the sample preparation, 3 mg of collagen was
135 weighed and then mixed with deionized water in a 6:1 ratio (water/collagen). This remained at
136 rest for 120 minutes under refrigeration ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) in order to balance the moisture content and
137 hydrate. The analysis was carried out in sealed aluminum crucibles (Schmidt et al. 2020).

138 2.3.6 Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

139 A modified version of Laemmli's method (1970) was used to perform the
140 polyacrylamide gel electrophoresis analysis. For the sample run, resolution gel (10%) and
141 stacking gel (4%) were used, together with $10 \text{ } \mu\text{L}$ of the molar mass standard (Precision Plus
142 Protein Dual Xtras Standards, Bio-Rad Laboratories Inc., Richmond, VA, USA) and $2 \text{ } \mu\text{L}$ of
143 sample. This was subjected to 200 volts for ± 1 hour in a vertical electrophoresis tank (Mini-
144 Protean Tetra Cell, Bio-Rad Laboratories Inc., Richmond, VA, USA). At the end of this

145 process the gel was stained with 0.1% Coomassie Brilliant Blue R-250 (Bio-Rad Laboratories
146 Inc., Richmond, VA, USA) for approximately 20 hours. In order to view the bands, the gel
147 was subsequently bleached with a solution containing 10% ethanol, 7% acetic acid, and
148 deionized water.

149 ***2.4 Evaluation of the technological properties of the collagen***

150 *2.4.1 In vitro digestibility*

151 To determine the *in vitro* digestibility, the methodology described by Sperotto (2014)
152 was followed. The samples (500 mg) were added to 15 mL of a solution prepared with 15 mg
153 of pepsin (powdered extract of porcine gastric mucosa, ≥ 400 units/mg protein, Sigma, St.
154 Louis, USA) per mL of 0.1 N HCl and 0.5 mL of colorless Merthiolate solution (Brainfarma
155 Indústria Química e Farmacêutica S/A, Anápolis, Brazil). This mixture was placed in a water
156 bath at 37 °C for 3 hours with periodic stirring. The samples were then cooled and the solution
157 was adjusted to pH 8.0 with 0.2 N NaOH using a digital potentiometer (mPA210, MS
158 Tecnopon). A quantity of 10 mL of pancreatin solution (Sigma, St. Louis, USA) (containing
159 500 mg/mL in phosphate buffer pH 8.0) was added to the hydrolyzed product, which was
160 returned to a water bath at 37 °C for 24 hours with periodic stirring. After hydrolysis, 5 mL of
161 a 5% trichloroacetic acid solution was added and the mixture was then centrifuged (Eppendorf
162 centrifuge, 5804/5804 R) for 15 minutes at 4,000 rpm to separate the insoluble material; the
163 supernatant was collected to determine the digested nitrogen using the Kjeldhal method. The
164 *in vitro* digestibility was expressed as a percentage of the digested protein in relation to the
165 total protein in the initial sample.

166 *2.4.2 Solubility*

167 Solubility was determined according to Montero et al. (1991). The samples were
168 dissolved in 0.5 M acetic acid to obtain a final concentration of 3 mg/mL and then stirred at 4
169 °C until completely solubilized in an incubator shaker (Solab SL-223, Piracicaba, Brazil) at 80

170 rpm. A quantity of 8 mL of the solution was transferred to a 50 mL centrifuge tube and the pH
 171 was adjusted from 1.0 to 10.0 with 6 M HCl or 6 M NaOH. The final volume was made up to
 172 10 mL with distilled water that had previously been adjusted to the same pH as the solution of
 173 the samples. The solutions were slowly stirred at 4 °C for 20 minutes in an incubator shaker
 174 (Solab SL-223, Piracicaba, Brazil) at 80 rpm and then centrifuged (Eppendorf centrifuge
 175 5804/5804 R) at 10,000 rpm at 4 °C for 30 minutes. The protein content in the supernatant
 176 was determined by the method of Lowry et al. (1951) using bovine serum albumin (Sigma, St.
 177 Louis, USA) as standard. The relative solubility of the samples was calculated by comparison
 178 with the relative solubility obtained at the pH with the greatest solubility, making this 100%.

179 *2.4.3 Emulsifying properties*

180 The indices of emulsifying activity (EAI) and emulsion stability (ESI) were determined
 181 according to Pearce and Kinsella (1978). A quantity of 2 mL of soy oil and 1% of the protein
 182 sample solution in 6 mL of water were used; this was homogenized in a Turrax ultra-
 183 homogenizer (Tecnal TE-102 Piracicaba, Brazil) at a speed of 20,000 rpm for 1 minute. Then,
 184 100 µL of the emulsion was pipetted at 0 and 10 minutes after preparation, and diluted 100
 185 times with 0.1% (w/v) SDS (sodium dodecyl sulfate). The mixture was homogenized for 10
 186 seconds using a vortex mixer. The samples were tested immediately after preparation at a
 187 temperature of 25 °C. They were then subjected to refrigeration (4 °C) for 24 hours for the
 188 absorbance measurements, which were determined at 500 nm with a spectrophotometer
 189 (Servylab, UV - M51, B, São Leopoldo, RS, Brazil).

$$EAI \left(m^2/g \right) = \frac{(2 \times 2.303 \times A_0)}{(0.25 \times \text{sample concentration})}$$

$$ESI (min) = \frac{A_0 \times 10 \text{ min}}{A_0 - A_{10}}$$

190 Where, A_0 is the absorbance determined immediately after the formation of the
191 emulsion (0 minute) and A_{10} is the absorbance determined 10 minutes after the formation of
192 the emulsion.

193 2.4.4 Foam properties

194 The method of Shahidi et al. (1995) was followed to determine the foaming capacity
195 (FC) and foam stability (FS). The sample solutions (20 mL), in concentrations of 0.25, 0.5
196 and 1.0%, were mixed in a Falcon tube (50 mL) using a Turrax ultra homogenizer (Tecnal
197 TE-102 Piracicaba, Brazil) at a speed of 10,000 rpm to incorporate air for 2 minutes at room
198 temperature (25 °C).

199 The FC was calculated using the % increase in volume based on the initial volume and
200 the volume after foaming, as shown in the equation below:

$$FC (\%) = \frac{(V - V_0)}{(V_0)} \times 100$$

201 Where, V_0 is the volume before agitation (mL) and V is the volume after agitation (mL).
202 The volume was measured by resting the samples at room temperature and reading after
203 intervals of 1, 5, 10, 30 and 60 minutes. The stability was calculated using the following
204 equation:

$$FS (\%) = \frac{(V_t)}{(V_0)} \times 100$$

205 Where, V_t is the final foam volume after each time interval (mL), and V_0 is the initial
206 volume of the formed foam (mL).

207 2.5 Statistical analysis

208 The whole experiment was repeated three times ($n = 3$) and the analyses were
209 performed in triplicate. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the
210 means were compared with each other using Tukey's test with a significance level of 95% (P
211 >0.05). The calculations of the effects were evaluated using Statistica[®] 8.0 software

212 (STATSOFT, INC). In addition, the first and second derivatives of the FTIR spectra were
213 tested using the EXPAND procedure in order to linearize them. The adjustment of the ASC
214 and PSC solubility data as a function of pH by sigmoidal empirical function (logistics) was
215 tested; however, the statistical model did not converge. Thus, the simple linear regression was
216 adjusted using the SAS[®] REG procedure; the r^2 values were expressed in relation to the source
217 treatments (regression + lack of adjustment). The statistical analyses were performed using
218 application 9.4 of SAS[®] System for Windows[™] software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)
219 at a 5% significance level.

220 **3 Results and Discussion**

221 *3.1 Characterization*

222 The composition of the raw material, and the processes used in pre-treatment and
223 extraction, are factors that are related to obtaining high quality collagen. Thus, it is necessary
224 to evaluate the constituents of the source that is researched because they can influence the
225 amount of solvents required, the processing time, the yield and, consequently, production
226 costs. The chemical composition, hydroxyproline, collagen and yield of jundiá skin (JS), JS
227 with pre-treatment (PTJ), acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) are
228 shown in Table 1. The JS presented a protein (26.8%) content that was higher than that found
229 in the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) (19.9%) (Li M et al. 2007), the swimming
230 bladder of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) (12.0%) (Kaewdang et al. 2014), whale shark
231 cartilage (8.0%) (Jeevithan et al. 2015), and the aerial bladder of striped catfish (*Pangasius*
232 *hypophthalmia*) (20.5%) (Vijayan et al. 2018). In addition, the ash (0.8%) content in the JS
233 was lower than that of puffer fish skin (*Diodon holocanthus*) (15.9%) (Kittiphattanabawon et
234 al. 2005), brown toad fish skin (*Lagocephalus gloveri*) (8.4%) (Senaratne et al. 2006), and
235 brown-striped bamboo shark skin (*Chiloscyllium punctatum*) (12.1%) (Kittiphattanabawon et
236 al. 2010). Thus, JS is a viable source for the extraction of collagenous protein because there

237 was no need for demineralization in the pre-treatment process due to the lower amount of
238 mineral waste. The lipid (1.5%) levels in the JS were lower than those found in silver catfish
239 skin (*Pangasius sp.*) (4.4%) (Hukmi and Sarbon 2018); and Atlantic salmon skin (44.8%)
240 (Dave et al. 2019). This fact is a positive factor in relation to JS because it reduces the volume
241 of chemical reagents used for the extraction of collagen.

242 A reduction in protein content was observed in the PTJ; this was attributed to the use of
243 0.1 M NaOH during the removal of the non-collagenous protein, and swelling due to moisture
244 absorption. In addition, the ash concentrations were reduced by almost 70% (0.8 to 0.3%) and
245 the degreasing rate by approximately 57% (1.5 to 0.9%). Thus, the processes performed in the
246 pre-treatment were considered to be efficient in reducing these compounds, which
247 corroborated with the purification of the collagenous protein.

248 The constituents of ASC and PSC showed no statistical difference ($P > 0.05$) (Table 1).
249 The collagens in the present study showed a higher proportion of protein (89.7 and 90.1%, for
250 ASC and PSC, respectively), than the ASC extracted from the skin of channel catfish
251 (*Ictalurus punctatus*) (82.1%) (Li M et al. 2007), and from sin croaker waste (*Johniecop sina*)
252 extracted for five days (32.3%) (Normah and Maidzatul Afifah 2018). In addition, the ASC
253 and PSC had low ash (0.1%) and fat (0.5%) contents for the two collagenous samples (Table
254 1). The ASC and PSC of the skin of silver catfish (*Pangasius sp.*) showed 59.1 and 29.7% of
255 ash, respectively (Hukmi and Sarbon, 2018). These results are in line with what was found in
256 ASC derived from the skin of African catfish (*Clarias gariepinus*) (1.0%); salmon (*Salmo*
257 *salar*) (0.9%) and Baltic cod (*Gadus morhua*) (1.0%) of lipids (Tylingo et al. 2016).

258 The hydroxyproline content of the JS (1.5%) was similar to that found in channel catfish
259 skin (*Ictalurus punctatus*) (1.8%) (Li M et al. 2007), African catfish skin (*Clarias gariepinus*)
260 (1.6%), and Baltic cod skin (*Gadus morhua*) (1.4%) (Tylingo et al. 2016). The
261 hydroxyproline in the collagen samples (9.4 and 9.5% for ASC and PSC, respectively)

262 indicated superior results compared to the ASC of channel catfish skin (*Ictalurus punctatus*)
263 (7.3%) (Li M et al. 2007), African catfish skin (*Clarias gariepinus*) (8.2%), Baltic cod skin
264 (*Gadus morhua*) (6.5% (Tylingo et al. 2016), and the aerial bladder of striped catfish
265 (*Pangasius hypophthalmia*) (8.0%) (Vijayan et al. 2018). Hydroxyproline is responsible for
266 the secondary structure of collagen and the stability of the triple helix. Therefore, lower
267 levels, or a lack of, hydroxyproline can cause collagen to lose its helical structure impairing
268 its properties, especially gelling (Prestes et al. 2013). The JS had a content of 12.3% of
269 collagen, while the samples ASC and PSC presented levels of collagen of 75.2 and 76.3%,
270 respectively (Table 1). The procedures adopted in the pre-treatment for the purification of the
271 samples contributed significantly in the efficiency of extraction because the collagen/protein
272 ratios were 46%, 84% and 85%, respectively.

273 The yield of ASC and PSC are shown in Table 1. The results suggested that the collagen
274 in the skin was not completely extracted with 0.7 M acetic acid, as shown by the lower ASC
275 yield (15.1%), and by the fact that the PSC yield (71.3%) was almost five times greater with
276 the aid of the enzyme. This confirms that the collagen was not completely solubilized in acid.
277 Furthermore, other studies found respective, dry weight basis yield values for ASC and PSC
278 that were lower than the present study; as in black carp skin (*Mylopharyngodon piceus*) (15.5
279 and 26.5%) (Jia et al. 2012); yellowfin tuna swimming bladder (*Thunnus albacares*) (1.0 and
280 12.1%) (Kaewdang et al. 2014); skipjack tuna spines and skulls (*Katsuwonus pelamis*) (2.5
281 and 3.6% (ASC) and 5.6 and 6.7% (PSC) (Yu et al. 2014); and sea bass scales (*Lates
282 calcarifer*) (0.4 and 1.0%) (Chuaychan et al. 2015). The different yield results for ASC and
283 PSC in the aforementioned studies were associated with cross-links between chains in the
284 telopeptide region, because collagen molecules have two terminal ends that are non-helical
285 parts, which play an important role in the cross-linked structure. So, when the molecules are
286 highly cross-linked, the collagen is less soluble under acidic conditions (Zhang et al. 2007).

287 With the help of the digestion of pepsin, the cross-linked molecules in this region are cleaved,
288 resulting in increased extraction yield (Nagai et al. 2015). In addition to these factors, Zeng et
289 al. (2009) attributed this difference in yield to the fact that different species of fish were
290 studied, with variable compositions and modifications in the extraction methods used.

291 **3.2 Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)**

292 The FTIR spectra for the ASC and PSC (Figure 2 and Table 2) were similar to studies
293 by Singh et al. (2011) and Kiew and Mashita (2013), who found structures mainly in the
294 amide region in collagen extracted from catfish. The amide A of the ASC and PSC was found
295 at the wave number of $3,410\text{ cm}^{-1}$. This result was associated with the elongation of the free
296 NH vibration, which occurs in the range of $3,400 - 3,440\text{ cm}^{-1}$. When the NH group of a
297 peptide is involved in a hydrogen bond the position is shifted to a lower frequency (Doyle et
298 al. 1975). Therefore, the shift towards lower wave numbers of amide A indicates the
299 formation of hydrogen bonds between water and the carbonyl group of the peptide chain
300 (Yakimets et al. 2007). Amide B was observed at $3,080$ and $3,070\text{ cm}^{-1}$ for the ASC and PSC
301 respectively, which was related to asymmetric CH_2 elongation; its displacement to a higher
302 wave number is associated with an increase in the free NH_3 group from lysine residues in the
303 N-terminal (Doyle et al. 1975). In addition, the wave numbers were found in the range of
304 amide I, II and III, which are directly linked with the configuration of collagen (Heu et al.
305 2010). Amide I has strong absorbance, characteristically in the range of $1,600 - 1,700\text{ cm}^{-1}$,
306 and is mainly related to $\text{C} = \text{O}$ stretching vibration along the polypeptide skeleton (Muyonga
307 et al. 2004). Furthermore, it is mainly used in the analysis of secondary protein structure
308 (Jeevithan et al. 2014). In the present study, the ASC and PSC were located at $1,636$ and
309 $1,635\text{ cm}^{-1}$, respectively. Amide II was located at $1,542\text{ cm}^{-1}$ for ASC, and $1,540\text{ cm}^{-1}$ for
310 PSC. Amide III was found at $1,237$ and $1,236\text{ cm}^{-1}$, respectively. The amide bands II and III
311 represent NH flexion vibrations coupled with CN stretch vibration (Jackson et al. 1995) and

312 amide III confirms the triple helical structure of collagen (Liu et al. 2007). Furthermore, the
313 intensity ratio between amide III and the band at $1,454\text{ cm}^{-1}$ determines that the proportion
314 close to 1.0 reveals the triple-helical structure of collagen (Plepis et al. 1996).

315 **3.3 Differential scanning calorimetry (DSC)**

316 DSC analysis allows samples to be evaluated with increased heating, leading to
317 irreversible transformations, such as the breakdown of hydrogen bonds between the
318 polypeptide chains, and, subsequently, the transformation of the triple helix structure into a
319 spiral formation, causing denaturation of the samples and, consequently, qualitative changes
320 in properties (Voet and Voet 2013). The DSC thermograms for the ASC and PSC are shown
321 in Figure 3. The energy consumed by this degradation was 78.3 J/g for ASC and 74.6 J/g for
322 PSC and the samples showed similar temperature of the denaturation of the collagen ($57.7\text{ }^{\circ}\text{C}$
323 and $59.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ for ASC and PSC, respectively). This result demonstrated that the different
324 extraction methods did not interfere with the thermal characteristics of the extracted material.
325 Previous studies of the thermal stability of ASC and PSC provided the following results: eel
326 skin (*Evenchelys macrura*) was $39.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $35.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectively (Veeruraj et al. 2013); type
327 II pepsin-soluble collagen from shark cartilage was $34.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Jeevithan et al. 2015); acid-
328 soluble collagen from African catfish skin (*Clarias gariepinus*) was $29.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, salmon (*Salmo*
329 *salar*) was $20.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ and Baltic cod (*Gadus morhua*) $15.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tylingo et al. 2016); and acid-
330 soluble collagen from the air bladder of striped catfish (*Pangasius hypophthalmus*) was 33.3
331 $^{\circ}\text{C}$ (Vijayan et al. 2018). Thus, the ASC and PSC extracted from the JS in the present study
332 showed higher denaturation temperatures compared to other fish collagens, thereby providing
333 a greater variety of industrial applications. In addition to factors such as the species, habitat,
334 season and region of capture (Muyonga et al. 2004), the thermal stability of collagen is
335 attributed to the presence of the pyrrolidine rings of proline and hydroxyproline, and also

336 partially to hydrogen bonding through the hydroxyl group of hydroxyproline (Benjakul et al.
337 2010).

338 **3.4 Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)**

339 The ASC and PSC were submitted to SDS-PAGE analysis using 10% running gel
340 (Figure 4). Both samples showed two visible bands close to 100 kDa that showed two α
341 chains (α_1 and α_2). High molecular weight components, including β chains (150 kDa) and γ
342 chains (250 kDa), were also observed. These effects indicate that the ASC and PSC belonged
343 to Type I (Pearson and Young 1989), which is mainly found in skin, bones, tendons, blood
344 vessels and corneas (Damodaran et al., 2010). In contrast to these results, bands of low
345 molecular weight (below 100 kDa) were not visible in this study, indicating that the extracted
346 collagen may have been of greater purity. Research on collagen extracted from fish has
347 demonstrated results with the same characteristics, such as striped catfish skin (*Pangasian*
348 *odonhyphopthalmus*) (Singh et al. 2011), Malaysian catfish skin (*Hybrid Clarias sp.*) (Kiew
349 and Mashitah 2013), African catfish skin (*Clarias gariepinus*) (Tylingo et al. 2016) and aerial
350 bladder of striped catfish (*Pangasius hipoftalmia*) (Vijayan et al. 2018).

351 **3.5 Evaluation of the technological properties of the collagen**

352 It is necessary to carry out analyses to determine the technological properties of
353 collagen so that the correct type can be used for industrial purposes such as emulsifying
354 agents, gelling agents, fat substitutes, surfactants and foaming agents. The ASC and PSC
355 exhibited 55.1 ± 0.4 and $45.6\pm 0.2\%$ of *in vitro* digestibility, respectively ($P < 0.05$) (data not
356 shown). A higher level of digestibility was found by Dominguez-Hernandez et al. (2018) in
357 heated fish flesh (94.9%). However, it is likely that this difference in results was due to the
358 action of different chemical or physical agents, temperature, pressure, pH and other factors.
359 Thus, depending on the chemical agent used, and the intensity of the process, tested samples
360 may display alterations from the original native structure, thereby resulting in a gain or loss of

361 the tested property (Sgarbieri 1996). Furthermore, the lower levels of digestibility in the
362 present study may have been due to the use of the enzyme pepsin, which was used to extract
363 the PSC.

364 The relative solubility as a function of pH of the ASC and PSC are shown in Figure 5.
365 The data were adjusted by linear regression, and the solubility percentages were initially
366 demonstrated at pH 1 (91.6 and 88.3%) and final solubility at pH 10 (12.4 and 12.7%) for the
367 ASC and PSC, respectively. Both the ASC and PSC showed maximum solubility at pH 2 and
368 affinity in an acid environment (pH 1 to 3). The lowest solubility was at basic pH (pH 10).
369 Thus, it can be seen that the collagen extracts showed identical solubility. Hukmi and Sarbon
370 (2018) studied collagen extracted from the skin of silver catfish (*Pangasius sp.*) and found the
371 highest solubility at pH 1 and 4, and the lowest solubilization point at pH 6 and 9 for ASC and
372 PSC, respectively. Thus, they observed that the highest solubility was in an acid environment
373 and the lowest solubility of collagen was found in slightly alkaline pH. Montero et al. (1991)
374 noted that different results regarding protein solubilities as a function of pH are related to the
375 isoelectric point (pI). In this case, the net charge is zero and repulsion forces are minimized,
376 implying the aggregation of protein molecules and reduced solubility. However, proteins tend
377 to carry a positive charge at low pH and a negative charge at high pH. Consequently, when
378 proteins contain molecules with the same charge they repel each other and increase the
379 solubility.

380 The emulsifying properties of the ASC and PSC were evaluated in relation to the
381 indices of emulsifying activity (EAI) and emulsion stability (ESI) (Table 3). The temperatures
382 of 4 and 25 °C were used to evaluate the emulsifying behavior of the samples in products
383 stored in refrigeration or at room temperature. It was observed that the best results for EAI
384 were found when the samples were submitted to a temperature of 4 °C for 24 hours. However,
385 Jellouli et al. (2011) reported a lower EAI value (21.4 m²/g) for gelatin extracted from grey

386 triggerfish skin (*Balistes capriscus*) and cuttlefish skin (*Sepia pharaonis*) (24.3 m²/g)
387 (Aewsiri et al. 2009). In the present study, both the ASC and PSC showed the highest level of
388 ESI when subjected to a temperature of 4 °C for 24 hours. However, gelatin derived from
389 squid skin (*Loligo formosana*) (1%) extracted at different temperatures (50 to 80 °C) showed
390 low ESI values (14.5 to 12.7 minutes) (Nagarajan et al. 2012) and in cuttlefish skin (*Sepia*
391 *pharaonis*), 15.1 minutes (Aewsiri et al. 2009). The diversity of results regarding emulsifying
392 properties is related to the solubility of proteins; the greater the protein solubilization the
393 quicker molecules are able to migrate to the fat droplets, thereby stabilizing the emulsion
394 (Zayas 1997).

395 The foaming capacity (FC) and foam stability (FS) are shown in Table 4. The FC for the
396 ASC and PSC increased with the concentration of collagen (0.25 to 1.0%). Zeng et al. (2013)
397 observed that this phenomenon occurs because a large concentration of proteins migrates to
398 the surface of the air bubbles, resulting in quicker formation and stabilization. The ASC and
399 PSC showed lower FC at a concentration of 0.25%, which may have been related to the lack
400 of exposure of hydrophobic regions sufficient for the occurrence of protein breakdown,
401 thereby reducing foam production (Wierenga and Gruppen 2010). In addition, the ASC and
402 PSC showed an increase in FS over the period observed, and a difference in the concentration
403 of only 0.25%. Furthermore, there was an increase in FS at each monitoring time as the ASC
404 and PSC concentration rates increased. According to Zayas (1997), foams with higher
405 concentrations of protein tend to be denser and maintain stability because of the increased
406 thickness of the interfacial film. Furthermore, factors such as the raw material, intrinsic
407 properties, and the composition and conformation of the proteins are all characteristics that
408 influence foaming properties.

409 **4 Conclusions**

410 It was possible to extract high-quality acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble
411 collagen (PSC) from the skin of jundiá (*Rhamdia quelen*) (JS). The PSC (71.3%) showed a
412 higher yield than the ASC (15.1%), which was attributed to the use of the enzyme. The ASC
413 and PSC mainly showed a high protein and collagen content. The ASC and PSC provided
414 similar results in relation to the FTIR spectra. The helical polypeptide chain was unaffected
415 by the extraction methods. The ASC and PSC showed greater thermal stability than other
416 types of fish-derived collagen, and the SDS-PAGE analysis determined that the collagen was
417 mainly Type I. Both the ASC and PSC showed solubility in acid pH and positive results
418 regarding technological properties. Consequently, this fish by-product has great potential for
419 the extraction of collagen and could be attractive in several industrial areas where it could be
420 used as an alternative to mammalian collagen.

421 **Conflicts of interest**

422 The authors declare that there were no conflicts of interest.

423 **Acknowledgments**

424 This study was financed in part by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal*
425 *de Nível Superior* - Brasil (CAPES) - Finance Code 001 and by the Research Support
426 Foundation of the State of Rio Grande do Sul (FAPERGS), nº 88887.202379/2018-00.

427 **References**

- 428 Abe Y, Krimm S. 1972. Normal vibrations of crystalline polyglycine I, *Biopolym: Orig. Res.*
429 *On Biomol.* 11: 1817-1839. <https://doi.org/10.1002/bip.1972.360110905>.
- 430 Association of Official Analytical Chemists. 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC*
431 *International*, twentieth ed., Rockville, Maryland.

- 432 Aewsiri T, Benjakul S, Visessanguan W. 2009. Functional properties of gelatine from
433 cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide.
434 Food Chem. 115:243–249. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.012>.
- 435 Baderi, NA, Sarbon, NM. 2019. Microstructure, extractability and physicochemical
436 properties of shortfin scad (*Decapterus macrosoma*) bone collagen as influenced by
437 acetic acid concentration. Int. Food Res. J. 26:451–458.
438 [http://www.ifrj.upm.edu.my/26%20\(02\)%202019/\(10\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/26%20(02)%202019/(10).pdf)
- 439 Benjakul S, Thiansilakul Y, Visessanguan W, Roytrakul S, Kishimura H, Prodpran T. 2010.
440 Extraction and characterisation of pepsin solubilised collagens from the skin of bigeye
441 snapper (*Priacanthus tayenus* and *Priacanthus macracanthus*). J Sci Food Agric.
442 90:132-138. doi: 10.1002 / jsfa.3795
- 443 Chuaychan S, Benjakul S, Kishimura H. 2015. Characteristics of acid- and pepsin-soluble
444 collagens from scale of seabass (*Lates calcarifer*). Food Sci and Techn. 63:71–76.
445 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.002>
- 446 Damodaran KP, Parkin KL, Fennema OR. 2010. Química de Alimentos de Fennema. 4th ed.,
447 Artmed, Porto Alegre.
- 448 Dave D, Liu Y, Clark L, Dave N, Trenholm S, Westcott, J. 2019. Availability of marine
449 collagen from New found land fisheries and aquaculture waste resources. Biores Techn
450 Rep. 7:100271. doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100271
- 451 Diemer O, Boscolo WR, Signor AA, Sary C, Neu DH Feiden A. 2011. Total phosphorus
452 contents for feeding silver catfish juveniles reared in net cages. Pesqui. Agropecu.
453 Tropic. 41:559–563. <https://doi.org/10.5216/pat.v41i4.15017>.
- 454 Dominguez-Hernandez E, Salaseviciene A, Ertbjerg, P. 2018. Low-temperature long-time
455 cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms. Meat Sci. 143:140–113.
456 <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.032>

- 457 Doyle BB, Bendit EG, Blout ER. 1975. Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like
458 polypeptides. *Biopolym.* 14:937–957. <https://doi.org/10.1002/bip.1975.360140505>
- 459 Fracalossi DM, Meyer G, Weingartner M, Santamaria MF, Weingartner M, Filho EZ. 2004.
460 Performance of Jundiá, *Rhamdia quelen*, and Dourado, *Salminus brasiliensis*, in
461 earth ponds of southern Brazil. *Acta Sci.* 26:345–352.
462 <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v26i3.1806>
- 463 Heu MS, Lee JH, Kim HJ. 2010. Characterization of acid-and pepsin-soluble collagens from
464 flatfish skin. *Food Sci. Biotechnol.* 19:27–33. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0004-3>
- 465 Hukmi NM, Sarbon, NM. 2018. Isolation and characterization of acid soluble collagen (ASC)
466 and pepsin soluble collagen (PSC) extracted from silver catfish (*Pangasius* sp.) skin.
467 *Int. Food Res. J.* 25:2601–2607.
468 [http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(06\)%202018/\(48\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(06)%202018/(48).pdf)
- 469 Jackson MPH, Watson WC, Halliday HHM. 1995. Beware of connective tissue proteins:
470 assignment and implications of collagen absorptions in infrared spectra of human
471 tissues. *Biochem.* 6:1270–1276. [https://doi.org/10.1016/0925-4439\(94\)00056-v](https://doi.org/10.1016/0925-4439(94)00056-v)
- 472 Jellouli K, Balti R, Bougateg A, Hmidet N, Barkia A, Nasri M. 2011. Chemical composition
473 and characteristics of skin gelatin from grey triggerfish (*Balistes caprisucus*). *LWT -*
474 *Food Sci. Technol.* 44:1965–1970. [https://](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643811001411)
475 www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643811001411.
- 476 Jeevithan E, Wu W, Nanping W, Lan H, Bao B. 2014. Isolation, purification and
477 characterization of pepsin soluble collagen isolated from silvertip shark (*Carcharhinus*
478 *albimarginatus*) skeletal and head bone. *Process Biochem.* 49: 1767–1777.
479 <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.06.011>
- 480 Jeevithan E, Jingyi Z, Wang N, He L, Bao B, Wu W. 2015. Physico-chemical, antioxidant
481 and intestinal absorption properties of whale shark type-II collagen based on its

- 482 solubility with acid and pepsin. *Process Biochem.* 50:463–472.
483 <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.11.015>
- 484 Jia Y, Wang H, Li Y, Wang M, Zhou J. 2012. Biochemical properties of skin collagens
485 isolated from black carp (*Mylopharyngodon piceus*). *Food Sci. Biotechnol.* 21:1585–
486 1592. <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0211-1>
- 487 Kaewdang O, Benjakul S, Kaewmanee T, Kishimura H. 2014. Characteristics of collagens
488 from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Chem.* 155:264–
489 270. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.076>
- 490 Kiew PP, Mashita MD. 2013. Isolation and characterization of collagen from the skin of
491 Malaysian catfish (*Hybrid Clarias sp.*). *J Korean Soc Appl Biol Chem.* 56:441–450.
492 <https://doi:10.1007/s13765-013-3114-9>
- 493 Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, Nagai T, Tanaka, M.
494 2005. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper
495 (*Priacanthus tayenus*). *Food Chem.* 89:363–372.
496 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.042>
- 497 Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, Kishimura H, Shahidi, F. 2010. Isolation
498 and characterization of collagen from the skin of brown banded bamboo
499 shark (*Chiloscyllium punctatum*). *Food Chem.* 119:1519–1525.
500 <https://doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.037>
- 501 Kollar K. 1990. Colorimetric Determination of hydroxyproline as measure of collagen content
502 in meat and meat products. *J Assoc Off Anal Chem.* 73:54–57.
503 <https://doi.org/10.1093/jaoac/73.1.54>
- 504 Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of
505 bacteriophage. *Nature.* 227:680–685. <https://www.nature.com/articles/227680a0>.

- 506 Li MH, Edwin HR, Daniel FO. 2007. Proximate Composition and Collagen Concentration of
507 Processing Residue of Channel Catfish. *N. Am. J. Aquac.* 69:211–213.
508 <https://doi.org/10.1577/A06-055.1>
- 509 Li ZR, Wang B, Chi CF, Zhang QH, Gong YD, Tang JJ, Luo HY, Ding G. 2013. Isolation
510 and Characterization of Acid Soluble Collagens and Pepsin Soluble Collagens from the
511 Skin and Bone of Spanish Mackerel (*Scomberomorous niphonius*). *Food Hydrocoll.*
512 31:103–113. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912005546>
- 513 Liu DHY, Li S, Guo D. 2007. Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus*
514 *punctatus*). *Food Chem.* 101:621–625. doi:10.1016/j.foodchem.2006.01.059
- 515 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin
516 phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265–275. <http://www.jbc.org/content/193/1/265.long>
- 517 Montero P, Jiménez-Colmenero F, Borderías J. 1991. Effect of pH and the presence of NaCl
518 on some hydration properties of collagenous material from trout (*Salmo irideus Gibb*)
519 muscle and skin. *J. Sci. Food Agric.* 54:137–
520 146. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2740540115>
- 521 Muyonga JH, Cole CGB, Duodu KG. 2004. Characterisation of Acid Soluble Collagen from
522 Skins of Young and Adult Nile Perch (*Lates niloticus*). *Food Chem.* 85:81–89.
523 <https://doi:10.1016/j.foodchem.2003.06.006>
- 524 Nagai T, Yasuhiro T, Norihisa K, Nobutaka ST. 2015. Characterization of collagen from emu
525 (*Dromaius novaehollandiae*) skins. *J. Food Sci. Technol.* 52:2344–2351.
526 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4375231/>
- 527 Nagarajan M, Benjakul S, Prodpran T, Songtipya P, Kishimura H. 2012. Characteristics and
528 functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected
529 by extraction temperatures. *Food Hydrocoll.* 29:389–397.
530 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.04.001>

- 531 Normah I, Maidzatul Afiqah M. 2018. Effect of extraction time on the physico-chemical
532 characteristics of collagen from sin croaker (*Johniecop sina*) waste. *Int. Food Res. J.*
533 25:1074–1080. [http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(03\)%202018/\(26\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(03)%202018/(26).pdf)
- 534 Pearce KN, Kinsella J. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric
535 technique. *J. Agric. Food Chem.* 26:719–723.
536 <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf60217a041?rand=pkuiughr>
- 537 Pearson AM, Young RB. 1989. *Muscle and Meat Biochemistry*. 1th ed., San Diego:
538 Academic Press Inc. 1:457–468.
- 539 Plepis AMDG, Goissis G, Das-Gupta DK. 1996. Dielectric and pyroelectric characterization
540 of anionic and native collagen. *Polym Eng Sci.* 36:2932–2938.
541 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/pen.10694>.
- 542 Prestes RC, Golunski SM, Toniazzo G, Kempka AP, Di Luccio M. 2013. Caracterização da
543 fibra de colágeno, gelatina e colágeno hidrolisado. *Rev. Bras. Prod. Agroind* 15:375–
544 382. <http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev154/Art1547.pdf>
- 545 Rodrigues APO, Gominho-Rosa MDC, Ferreira EC, Francisco A, Fracalossi DM. 2012.
546 Different utilization of plant sources by the omnivores jundiá catfish (*Rhamdia quelen*)
547 and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Nutr.* 18:65–
548 72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00877.x>
- 549 Schmidt MM, Fontoura AM, Vidal AR, Dornelles RCP, Kubota EH, Mello RO, Cansian RL,
550 Demiate IM, Oliveira CS. 2020. Characterization of hydrolysates of collagen from
551 mechanically separated chicken meat residue. *Food Sci. Technol.* 40:1–8.
552 <http://dx.doi.org/10.1590/fst.14819>
- 553 Senaratne LS, Park PJ, Kim SK. 2006. Isolation and characterization of collagen from brown
554 backed toadfish (*Lagocephalus gloveri*) skin. *Bioresour Technol.* 97:191–197.
555 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.024>

- 556 Sgarbieri VC. 1996. Proteínas em alimentos protéicos. (1th ed.), Livraria Varela, São Paulo.
- 557 Shahidi F, Han XQ, Synowieck J. 1995. Production and characteristics of protein
558 hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chem. 53:285–293. [https://](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030881469593934J)
559 www.sciencedirect.com/science/article/pii/030881469593934J
- 560 Singh P, Benjakul S, Maqsood S, Kishimura H. 2011. Isolation and characterization of
561 collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*).
562 Food Chem. 124:97–105. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2010.05.111>
- 563 Sperotto RA. 2014. Protocolos e métodos de análise em laboratórios de biotecnologia
564 agroalimentar e de saúde humana, first ed., Univates, Lageado.
- 565 Tylingo R, Mania S, Panek A, Piątek R, Pawłowicz R. 2016. Isolation and Characterization of
566 Acid Soluble Collagen from the Skin of African Catfish (*Clarias gariepinus*), Salmon
567 (*Salmo salar*) and Baltic Cod (*Gadus morhua*). J Biotechnol Biomater. 6:234–242.
568 <https://doi:10.4172/2155-952X.1000234>
- 569 Veeruraj A, Arumugam M, Balasubramanian, T. 2013. Isolation and characterization of
570 thermostable collagen from the marine eel-fish (*Evenchelys macrura*). Biochem.
571 48:1592–1602. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.07.011>
- 572 Veeruraj A, Arumugam M, Ajithkumar T, Balasubramanian T. 2015. Isolation and
573 Characterization of Collagen from the Outer Skin of Squid (*Doryteuthis singhalensis*).
574 Food Hydrocoll. 43:708–716.
575 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X14002689>
- 576 Vidal, AR, Duarte, LP, Schmidt, MM, Cansian, RL, Fernandes, IA, Mello, RO, Demiate, IM,
577 Dornelles, RCP. 2020. Extraction and characterization of collagen from sheep slaughter
578 by products. Waste Manage. 102:838–846.
579 <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.12.004>

- 580 Vijayan DK, Sreerekha PR, Tejpal CS, Asha KK, Mathew S, Ravishankar CN, Anandan R.
581 2018. Extraction and characterization of acid soluble collagen (ASC) from airbladder of
582 striped cat fish (*Pangasius hypophthalmus*). Int. J. Fish. 6:310–
583 318.[http://www.fisheriesjournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=4&part=D&](http://www.fisheriesjournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=4&part=D&ArticleId=1648)
584 [ArticleId=1648](http://www.fisheriesjournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=4&part=D&ArticleId=1648)
- 585 Voet D, Voet JG. 2013. Bioquímica. 4th ed., Artmed, Porto Alegre.
- 586 Wierenga PA, Gruppen H. 2010. New views on foams from protein solutions. Curr. Opin.
587 Colloid Interface Sci. 15:365–373. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2010.05.017>.
- 588 Xu S, Huan Y, Lirui, S, Li G. 2017. Purity and yield of collagen extracted from southern
589 catfish (*Silurus meridionalis Chen*) skin through improved pretreatment methods. Int. J.
590 Food Prop. 20:141–153. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1291677>
- 591 Yakimets I, Paes SS, Wellner N, Smith AC, Wilson RH, Mitchell JR. 2007. Effect of water
592 content on the structural reorganization and elastic properties of biopolymer films: A
593 comparative study. Biomacromolecules. 8:1710–22. doi: 10.1021 / bm070050x.
- 594 Yu D, Chi CF, Wang B, Ding GF, Li ZR. 2014. Characterization of acid-and pepsin-soluble
595 collagens from spines and skulls of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). Chin J Nat
596 Medicines. 12:712–720. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(14\)60110-2](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(14)60110-2)
- 597 Zayas JF. 1997. Functionality of proteins in food. Springer-Verlag/Harwood Academic
598 Publishers, Berlin/UK.
- 599 Zeng SK, Zhang CH, Lin HL, Yang P, Hong PZ, Jiang Z. 2009. Isolation and characterization
600 of acid-solubilised collagen from the skin of Nile
601 tilapia (*Oreochromis niloticus*). Food Chem. 116:879–83. [https://doi:10.1016/](https://doi:10.1016/j.foodchem.2009.03.038)
602 [j.foodchem.2009.03.038](https://doi:10.1016/j.foodchem.2009.03.038)

- 603 Zeng QR, Zhang M, Adhikari BP, Mujumdar AS. 2013. Effect of drying processes on the
604 functional properties of collagen peptides produced from chicken skin. *Dry. Technol.*
605 31:1653–1660. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.790826>
- 606 Zhang Y, Liu W, Li G, Shi B, Miao Y, Wu X. 2007. Isolation and partial characterization of
607 pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Food*
608 *Chemistry*. 103:906–912.
609 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606007679>



Figure 1. (a) Jundiá (*Rhamdia quelen*) skin in fresh state; (b) lyophilized acid-soluble collagen (ASC); and (c) lyophilized pepsin-soluble collagen (PSC).

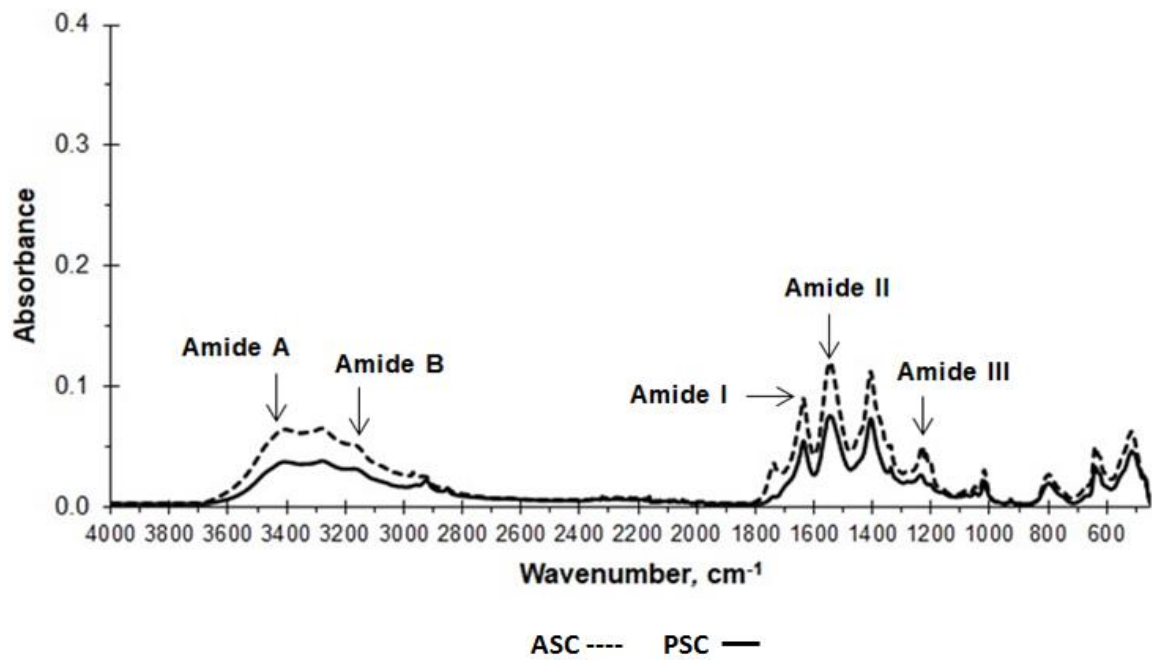


Figure 2. FTIR spectra of acid-soluble collagen (a) and pepsin-soluble collagen (b) extracted from jundiá skin.

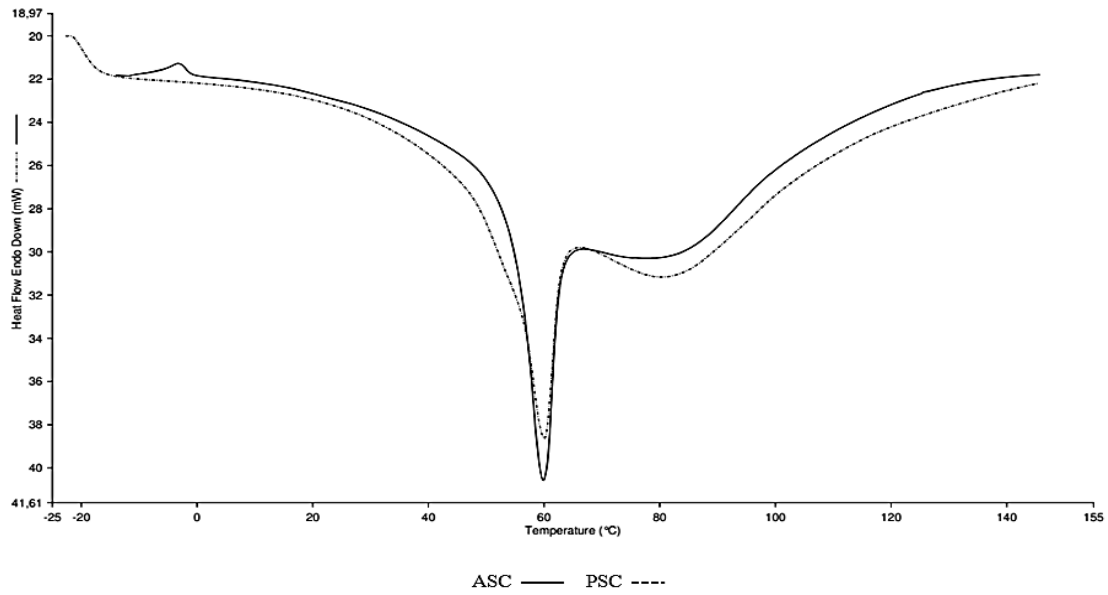


Figure 3. Analysis of differential scanning calorimetry (DSC) of acid-soluble collagen (a) and pepsin-soluble collagen (b) extracted from jundiá skin.

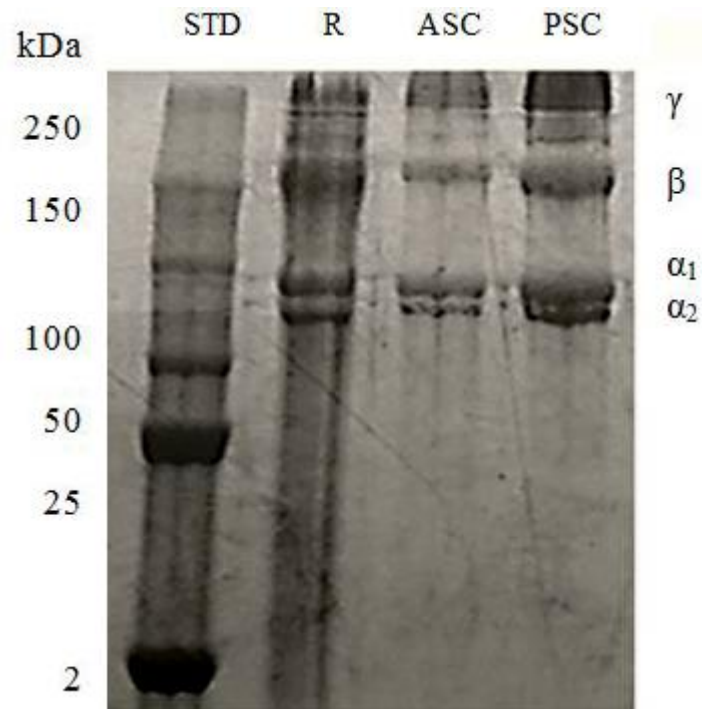


Figure 4. Results of electrophoresis analysis (SDS-PAGE) of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) extracted from jundiá skin using a Precision Plus Protein Dual Xtra Standards molar mass standard (Bio-Rad Laboratories Inc., Richmond, VA, USA) (STD) and rat tail (R).

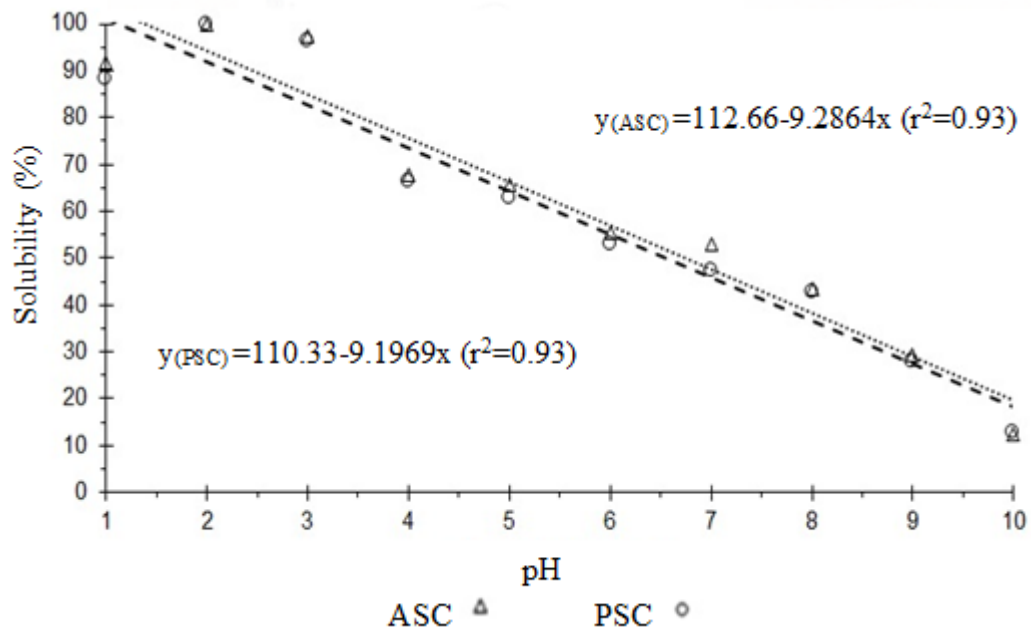


Figure 5. Solubility of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) extracted from jundiá skin as a function of pH.

Table 1. Chemical composition, hydroxyproline, collagen and yield of jundiá skin (JS) with pre-treatment (PTJ), acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC).

%	JS	PTJ	ASC	PSC
Moisture	71.4 ^a ± 0.0	78.2 ^b ± 1.7	9.6 ^A ± 0.4	9.2 ^A ± 0.2
Protein	26.8 ^b ± 0.2	20.8 ^a ± 0.6	89.7 ^A ± 1.1	90.1 ^A ± 1.0
Ash	0.8 ^b ± 0.1	0.3 ^a ± 0.7	0.1 ^A ± 0.0	0.1 ^A ± 0.0
Lipids	1.5 ^b ± 0.0	0.9 ^a ± 0.0	0.5 ^A ± 0.0	0.5 ^A ± 0.4
Hydroxyproline	1.5 ± 0.1	-	9.4 ^A ± 0.2	9.5 ^A ± 0.2
Collagen	12.3 ± 1.0	-	75.2 ^A ± 1.6	76.3 ^A ± 1.2
Yield	-	-	*15.1 ^B ± 0.3	*71.3 ^A ± 0.4

Values expressed as mean ± standard deviation, n = 3; values expressed on a wet basis. *Values expressed on a dry basis. ^{aa} Different superscript letters on the same line indicate significant differences ($P < 0.05$). Factor 5.5 was used to calculate the ASC and PSC protein levels.

Table 2. General peak assignment of the FTIR spectra of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC).

Region	ASC (cm⁻¹)	PSC (cm⁻¹)	Assignment	Reference
Amide A	3,410	3,410	Elongation of the free NH	Doyle et al. 1995;
Amide B	3,080	3,070	Elongation Asymmetric CH ₂	Doyle et al. 1995;
Amide I	1,636	1,635	Stretching vibration C = O	Muyonga et al. 2004;
Amide II	1,542	1,540	NH bend coupled with CN stretch	Jackson et al. 1995;
-	1,406	1,407	COO ⁻ symmetrical stretch	Jackson et al. 1995;
-	1,019	1,019	C-O stretch	Jackson et al. 1995;
-	793/635/513	796/638/510	Skeletal stretching	Abe and Krim 1995;
Amide III	1,237	1,236	CN stretch vibration	Jackson et al. 1995;

Table 3. Emulsifying activity (EAI) and emulsion stability (ESI) of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) extracted from jundiá skin.

	EAI (m ² /g)		ESI (min.)	
	4 °C/24 h	25 °C	4 °C/24 h	25 °C
ASC	39.9 ^a ± 1.3	28.8 ^a ± 1.3	44.5 ± 0.6	36.4 ± 0.5
PSC	38.3 ^b ± 0.7	26.2 ^b ± 1.3	45.1 ± 0.6	34.3 ± 0.6

Values expressed as mean ± standard deviation, n=3; ^{ab} superscript letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

Table 4. Foaming capacity (FC) and foam stability (FS) at different concentrations (C) of acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC) extracted from jundiá skin.

	C (%)	FC (%)	FS (%)				
			1 min	5 min	10 min	30 min	60 min
ASC	0.2	27.9 ^C ±0.6	94.4 ^{Ca} ±0.0	91.2 ^{Cb} ±0.0	75.0 ^{Dc} ±2.0	58.8 ^{Cd} ±0.0	44.1 ^{Ce} ±0.0
	0.5	42.5 ^B ±0.0	94.4 ^{Ca} ±0.0	94.1 ^{Ba} ±0.0	83.3 ^{Cb} ±1.4	63.7 ^{Bc} ±1.4	55.8 ^{Bd} ±1.4
	1.0	70.0 ^A ±0.0	100.0 ^A ±0.0	94.6 ^B ±0.8	92.9 ^A ±0.8	89.3 ^A ±0.0	58.3 ^A ±0.0
PSC	0.2	29.2 ^C ±0.0	97.2 ^{Ba} ±0.0	92.9 ^{Cb} ±2.0	61.4 ^{Ec} ±2.0	50.0 ^{Dd} ± 2.0	37.1 ^{De} ±0.0
	0.5	44.2 ^B ±0.0	98.1 ^{Ba} ±0.0	97.1 ^{Aa} ±1.3	85.8 ^{Bb} ±1.3	62.3 ^{Bc} ±2.7	46.2 ^{Cd} ±1.3
	1.0	70.0 ^A ±0.0	100.0 ^{Aa} ±0.0	97.0 ^{Ab} ± 0.8	91.7 ^{Ac} ±0.0	88.7 ^{Ad} ±0.8	54.8 ^{Be} ±0.0

Values expressed as mean ± standard deviation, n=3. ^{Aa} Different superscript letters on the same column or line indicate significant differences ($P < 0.05$).

4.2 Manuscrito 2

Pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) utilizada para a extração de gelatina: uma alternativa ao subproduto descartado

Artigo em fase de revisão para ser submetido à Food Hydrocolloids
(Formatado conforme as normas da revista)

1 **Pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) utilizada para a extração de gelatina: uma alternativa**
2 **ao subproduto descartado**

3
4 Camila Giacomelli da Silva^{a*}, Angela Souza Rodrigues^a, Ana Carolina Lima^b, Renius de
5 Oliveira Mello^a, Fernando Dal Pont Morisso^b, Rosa Cristina Prestes Dornelles^a, Ernesto
6 Hashime Kubota^a;

7
8 ^aFederal University of Santa Maria (UFSM), Department of Food Science and Technology,
9 Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Camobi, Santa Maria, RS, Brazil.

10 ^bFeevale University, Advanced Materials Research Laboratory, ERS 239, 2755, 93525-075,
11 Vila Nova, Novo Hamburgo, RS, Brazil.

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25 *Autor correspondente: camilagiacomellicgs@gmail.com

26 **Pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) utilizada para a extração de gelatina: uma alternativa**
27 **ao subproduto descartado**

28 **Resumo**

29 A produção de gelatina a partir de subprodutos da indústria pesqueira valoriza a matéria-
30 prima descartada e atende uma parte da população que não consome produtos originados de
31 mamíferos. Diante disso, o objetivo da pesquisa foi utilizar a pele de jundiá (*Rhamdia quelen*)
32 (PJ) para a obtenção de gelatina (GPJ) e caracterizar este produto, ainda não estudado até o
33 presente momento. Assim, o processo de extração mostrou rendimento de 7,3% para a PJ e de
34 18,2% para a GPJ (em peso úmido). Tanto a PJ quanto a GPJ apresentaram, na sua
35 composição, elevada concentração de proteína (26,3 e 88,1%), níveis baixos de resíduo
36 mineral fixo (1,0 e 1,9%), lipídeos (1,7 e 1,5%) e teor de hidroxiprolina (1,5 e 7,2%),
37 respectivamente. A dispersão de GPJ apresentou valor de pH de 4,7 e a análise de cor indicou
38 um efeito de neve com aparência branca. A espectroscopia no infravermelho por transformada
39 de Fourier (FTIR) mostrou bandas de amida comumente encontradas em gelatina, a
40 eletroforese em gel (SDS-PAGE) bandas de alto peso molecular, a calorimetria diferencial
41 exploratório (DSC) revelou uma temperatura de desnaturação de 69,4 °C e a microscopia
42 eletrônica de varredura (MEV) apresentou uma estrutura compacta e não porosa. A
43 propriedade emulsionante foi elevada quando submetidas à temperatura a 80 °C por 30
44 minutos, enquanto a capacidade de formação de espuma mostrou-se expressiva em
45 concentração de 1%. A maior dispersividade foi observada em pH 2,0 e, nesta condição, a
46 viscosidade mostrou-se superior que a de outras fontes de gelatina (25,5 cP). Diante do
47 exposto, se chama a atenção para a utilização da PJ como matéria-prima para obtenção de
48 gelatina e para as diversas possibilidades de aplicação.

49 **Palavras-chave:** Residual do pescado; Ingrediente proteico; Composição química;
50 Eletroforese; Caracterização térmica; Propriedades tecnológicas;

51 **1 Introdução**

52 A gelatina é um composto proteico obtido a partir de ossos, cartilagens e peles residuais
53 do processamento da carne animal (Ali, Kishimura & Benjakul, 2018). É uma proteína
54 solúvel obtida por hidrólise parcial de colágeno nativo (Johnston-Banks, 1990). Mas, para tal,
55 é necessário submeter à pele animal ao tratamento com reagentes químicos para remoção de
56 componentes não desejáveis e ao aquecimento em temperaturas maiores do que 45 °C, que
57 promove inchamento da estrutura molecular e desestabilização da tripla hélice característica
58 do colágeno, por clivagem da ligação H – X (com X sendo o átomo em que está ligado a este
59 hidrogênio que compõem a ligação a ser clivada), resultando na gelatina (Gomez-Guillén,
60 Fernández-Díaz, Ulmo, Lizarbe & Montero, 2002).

61 A gelatina é amplamente aplicada em diversas áreas. Particularmente, na indústria de
62 alimentos tem sido utilizada como um clarificador de bebidas, espessante para sobremesas,
63 texturizador para confeitos, estabilizante em sorvetes, espumas alimentares, melhorador de
64 propriedades reológicas na fabricação de produtos lácteos e cárneos, dentre outras aplicações
65 (Hashim et al. 2010; Gomez-Guillén, Giménez, López-Caballero & Montero, 2011). A
66 gelatina também é usada nas indústrias farmacêutica, médica, cosmética, fotográfica e no
67 setor de embalagens, conferido características funcionais e participando do desenvolvimento
68 produtos de alta tecnologia (Karim & Bhat, 2009; Wu, Li, Hou, Zhang & Zhao, 2017). Além
69 disso, a utilização de fonte pescada é uma alternativa às fontes tradicionais, derivada de
70 suínos e bovinos, pois não estão associados ao desenvolvimento de encefalopatia
71 espongiiforme, febre aftosa e reações alérgicas (Karim & Bhat, 2009). Também a de se
72 considerar que uma parte da população não consome produtos provindos de mamíferos, como
73 os judeus e islamistas (Koli et al. 2012).

74 Além de aspectos tecnológicos, sanitários e socioculturais, pode ser mencionado o
75 crescente interesse no aproveitamento dos subprodutos da indústria do peixe (Balti et al.

76 2011; Kiplagat, Onyari, Mulla & Wabomba, 2017; Ali et al. 2018; Pradarameswari, Zaelani,
77 Waluyo & Nurdiani, 2018), que pode proporcionar maiores lucros e redução dos problemas
78 de poluição ambiental. Essas são algumas das razões pelas quais a exploração de diferentes
79 espécies pescadas e a otimização da extração da gelatina de peixe têm atraído a atenção do
80 setor acadêmico (Muyonga, Cole & Duodu, 2004; Karim & Bhat, 2009; Abdelmalek et al.
81 2016; Tylingo, Mania, Panek, Piątek & Pawłowicz, 2016; Talapphet, Trakul & Raviyan,
82 2017; Silva, Lourenço & Pena, 2017).

83 Diante disso, a pele de jundiá (*Rhamdia quellen*) (PJ) se mostra como uma matéria-
84 prima alternativa para extração de gelatina (GPJ), pois o animal se reproduz facilmente
85 oferecendo carne sem espinho intramuscular de excelente sabor e apresenta potencial de
86 criação significativo, sendo facilmente adaptado a diferentes condições de temperatura e à
87 diversidade alimentar (Gomes, Golombieski, Chippari, Gomes & Baldisserotto, 2000;
88 Coldebella & Radünz Neto, 2002). Além disso, a PJ até o presente momento não foi utilizada
89 para a extração de compostos gelatinosos. Então, como sugestão para agregar valor e
90 apresentar alternativa à utilização do resíduo do processamento da carne de jundiá, o artigo
91 tem como objetivo divulgar resultados da extração de gelatina da pele do animal (GPJ), como
92 a caracterização físico-química, estrutural e térmica deste produto, e também são sugeridas
93 possibilidades de aplicação tecnológica.

94 **2 Materiais e métodos**

95 *2.1 Material*

96 Os peixes jundiá (*Rhamdia quelen*) foram adquiridos de um produtor da cidade de
97 Pelotas – RS. Os animais eviscerados com pesos de 1,2 a 1,8 kg foram transportados em
98 veículo sob congelamento em caixas térmicas e passaram por descongelamento sob
99 refrigeração em temperatura de 7 °C por 2 horas para o leve amolecimento da pele (PJ), que
100 resulta em maior facilidade para a retirada da pele com auxílio de facas e alicate. Em seguida,

101 as PJ foram armazenadas sob congelamento em temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ em sacos plásticos de
102 polietileno em freezer (Metalfrio, VF50F) até a sua utilização.

103 *2.2 Obtenção da gelatina*

104 *2.2.1 Pré-tratamento*

105 A metodologia descrita por Rawdkuen, Thitipramote & Benjakul (2013) foi seguida
106 para o pré-tratamento e obtenção da gelatina da pele de jundiá (GPJ), com modificações nas
107 proporções das soluções e tempo de extração. Todo o procedimento foi realizado sob agitação
108 em Incubadora Shaker (Solab SL-223, Piracicaba, Brasil) a 150 rpm. As PJ frescas foram
109 lavadas em água destilada e embebidas em NaOH 0,2 M na proporção de 1:10 (p/v) a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$
110 durante 2 horas sob agitação contínua suave para a remoção da pigmentação e das proteínas
111 não colagenosas. As PJ pré-tratadas foram lavadas com água destilada até o pH neutro e
112 colocadas em solução de ácido acético 0,1 M na proporção de 1:10 (p/v) durante 3 horas à
113 temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, sob agitação constante para o inchamento da PJ e, em seguida, lavadas
114 até pH neutro com água destilada.

115 *2.2.2 Extração*

116 As PJ inchadas foram mantidas imersas em água destilada a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 9 horas sob
117 agitação contínua. Em seguida, a mistura foi filtrada usando duas camadas de panos de tecido
118 de algodão. O filtrado resultante foi colocado em frascos plásticos para congelamento em
119 freezer (Metalfrio, VF50F) a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas e para posterior liofilização em
120 equipamento Terroni, modelo LS 3000.

121 *2.3 Rendimento*

122 O rendimento percentual da obtenção da PJ foi determinado pela razão do peso da pele
123 úmida dividido pelo peso do animal, multiplicado por 100. O rendimento da GPJ foi
124 calculado pela relação do peso da amostra liofilizada e peso na amostra úmida ou seca da PJ,
125 multiplicado por 100 (Rawdkuen et al. 2013).

126 2.4 Propriedades físico-químicas e teor de hidroxiprolina

127 O teor de água foi avaliado por secagem em estufa em temperatura de 105 °C até peso
128 constante. O resíduo mineral fixo foi medido por meio da calcinação em temperatura de 550
129 °C. O percentual de proteína bruta obtido pelo método Micro-Kjeldahl e de lipídios pela
130 metodologia de Soxhlet (AOAC, 2016).

131 Para a avaliação do teor de hidroxiprolina, foi utilizada a metodologia descrita por
132 Kollar (1990). Assim, foi realizada a hidrólise das amostras com ácido sulfúrico 3,5 M por 16
133 horas a 103 °C em estufa de circulação de ar em frasco de vidro vedado. Em seguida o
134 produto do processo de hidrólise foi filtrado diretamente para um balão volumétrico de 500
135 mL e avolumado com água destilada, como preparação estoque. Desta preparação, uma
136 alíquota de 5 mL foi conduzida para um balão volumétrico de 100 mL e da diluição final, 2
137 mL foi colocado em tubo de ensaio com 1 mL de cloramina-T 1,41% em solução tampão por
138 2 minutos em temperatura ambiente. Após, 1 mL de 4-dimetilaminobenzaldeído foi
139 adicionado ao tubo com a diluição para proporcionar o desenvolvimento de coloração
140 vermelho-púrpura e submetido a aquecimento a 60 °C por 15 minutos em banho-maria. A
141 preparação corada foi avaliada fotometricamente por acompanhamento do comprimento de
142 onda 558 nm, em espectrofotômetro (Servylab, UV – M51, B, São Leopoldo, RS, Brasil).

143 2.5 Determinação do pH e da cor

144 Para a análise do pH foi utilizada uma dispersão de 6,67% (p/v) de gelatina em água
145 destilada a 55 – 60 °C com agitação mecânica constante por 30 minutos, em ultra-turrax
146 (Tecnal TE-102 Piracicaba, Brasil), que foi, em seguida, resfriada à temperatura ambiente (25
147 °C). A medida de pH foi realizada em potenciômetro digital (MS Tecnopon, mPA210) (BSI,
148 1975).

149 A determinação de cor foi realizada de acordo com o sistema da Comissão Internacional
150 de Iluminação (CIE), usando os parâmetros L^* , a^* e b^* (escala CIELAB), através da leitura

151 em colorímetro Konica Minolta Sensing Ins., modelo Chroma Meter CM-700D (Japão)
152 calibrado em placa de calibração branca. Foram efetuadas dez leituras na superfície de cada
153 amostra em pó. O valor L^* determina a posição do ponto sobre o eixo vertical de claridade, o
154 valor a^* o ponto sobre o eixo (-) verde/vermelho (+) e o valor de b^* o ponto correspondente
155 sobre o eixo (-) azul/amarelo (+) (Jridi et al. 2015).

156 *2.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)*

157 A presença de grupos funcionais característicos foi determinada pela análise de
158 espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier – FTIR (Shimadzu
159 Corporation, Japão) com acessório de reflectância total atenuada (ATR) no intervalo de 4,000
160 a 400 cm^{-1} , com 16 varreduras por espectro e resolução de 2 cm^{-1} (Zhang et al. 2016).

161 *2.7 Distribuição do peso molecular por SDS-PAGE*

162 Para caracterizar a distribuição do peso molecular com a eletroforese em gel (SDS-
163 PAGE) foi seguida a metodologia descrita por Laemmli (1970) com modificações.
164 Inicialmente foram preparados os géis de resolução 10% e empilhamento 4%, que foram
165 colocados em placas para polimerização. A medida foi realizada com a utilização de 200 V
166 por em torno de 1 hora em cuba de eletroforese vertical (Mini-Protean Tetra Cell, Bio-
167 RadLaboratories Inc., Richmond, VA, USA). Em seguida, o gel foi corado com Coomassie
168 Brilliant Blue R-250 (Bio-RadLaboratories Inc., Richmond, VA, USA) a 0,1% por
169 aproximadamente 20 horas para a visualização das bandas.

170 *2.8 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)*

171 A curva da DSC foi obtida utilizando um equipamento Perkin Elmer, modelo DSC
172 6000, que foi calibrado com padrão de índio de pureza 99,99%, com ponto de fusão $156,6\text{ }^{\circ}\text{C}$
173 e $\Delta H_f = 28,56\text{ J.g}^{-1}$. Os parâmetros calorimétricos, temperatura e entalpia de desnaturação,
174 foram obtidos a partir de um programa de aquecimento de 25 até $200\text{ }^{\circ}\text{C}$, com taxa de

175 10°C.min⁻¹, sob fluxo de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹. A análise foi realizada em cadinhos de
176 alumínio hermeticamente lacrados, a amostra foi preparada com 2,5 mg de gelatina.

177 2.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

178 As análises foram realizadas no microscópio eletrônico de varredura marca Jeol,
179 modelo JSM-6510LV. A amostra foi preparada sobre fita carbono em stub de latão por
180 deposição de uma fina com camada de ouro segundo procedimento padrão, em um
181 equipamento Denton Vacuum, modelo Desk - V. Após a metalização, as amostras tiveram
182 suas morfologias analisadas pela aplicação de tensão de 10 kV para a coleta de micrografias
183 com aproximações de 100, 500 e 1000x.

184 2.10 Propriedades tecnológicas

185 2.10.1 Emulsificantes

186 A metodologia de Pearce & Kinsella (1978) foi utilizada para determinar o índice de
187 atividade de emulsão (EAI) e estabilidade emulsificante (ESI). Assim, uma amostra de 2 mL
188 de óleo de soja contendo 1% de proteína foi homogeneizada por 1 minuto em
189 homogeneizador ultra-turrax (Tecnal TE-102 Piracicaba, Brasil) em uma velocidade de
190 20,000 rpm. Em seguida, 100 µL das emulsões foram coletadas a 0 e 10 minutos e, em
191 seguida a cada coleta, diluídas 100 vezes com SDS (dodecil sulfato de sódio) 0,1% (p/v) e
192 agitadas. A absorbância das dispersões diluídas foi medida com um espectrofotômetro
193 Servylab, modelo UV – M51B (São Leopoldo, RS, Brasil) pelo acompanhamento do
194 comprimento de onda de 500 nm. O EAI e o ESI foram calculados por meio das Equação 1 e
195 2, respectivamente.

$$196 \quad \text{EAI} \left(\frac{\text{m}^2}{\text{g}} \right) = \frac{(2 \times 2.303 \times A_0)}{(0.25 \times \text{concentração de amostra})} \quad (1)$$

$$197 \quad \text{ESI} (\text{min}) = \frac{A_0 \times 10 \text{ min}}{A_0 - A_{10}} \quad (2)$$

198 Nestas equações, A_0 é a absorvância determinada imediatamente após a formação da
199 emulsão (0 minuto) e A_{10} , a absorvância determinada 10 minutos após a formação da emulsão.
200 Foi avaliada amostras em temperatura de 24 °C, outra resfriada a 4 °C por 24 horas e uma
201 terceira a 80 °C por 30 minutos.

202 *2.10.2 Formação e estabilidade da espuma*

203 A capacidade de formação de espuma (CFE) e a estabilidade da espuma (EE) foram
204 avaliadas segundo o método de Shahidi & Synowieck (1995). Amostras de 20 mL foram
205 diluídas em água destilada em concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0 % e misturadas em tubo
206 Falcon (50 mL) com o homogenizador ultra-turrax (Tecnal TE-102 Piracicaba, Brasil) por 2
207 minutos para incorporar ar, a temperatura ambiente (20–25 °C) e velocidade de 10,000 rpm. A
208 CFE foi calculada como a porcentagem (%) de aumento de volume baseando-se no volume
209 inicial e após a formação de espuma, como mostra a Equação 3.

$$210 \quad CFE (\%) = \frac{(V-V_0)}{(V_0)} \times 100 \quad (3)$$

211 Nesta equação V_0 é o volume antes da agitação (mL) e V é o volume depois da agitação
212 (mL). A EE foi determinada através do repouso da amostra à temperatura ambiente, com
213 leitura do volume após intervalos de 1, 5, 10, 30 e 60 minutos, sendo a estabilidade calculada
214 por meio da Equação 4.

$$215 \quad EE (\%) = \frac{(V_f)}{(V_0)} \times 100 \quad (4)$$

216 Na Equação 4, V_f é o volume final (mL) de espuma, após cada intervalo de tempo e V_0
217 o volume inicial (mL) da espuma formada.

218 *2.10.3 Solubilidade*

219 Para a determinação da solubilidade, a amostra foi dissolvida em ácido acético 0,5 M
220 para se obter uma concentração final de 3 mg/mL e a mistura foi agitada a 4 °C até ser
221 completamente solubilizada em incubadora shaker Solab, modelo SL-223 (Piracicaba, Brasil)

222 a 80 rpm. Em seguida, 8 mL das soluções foram transferidas para um tubo de centrífuga de 50
223 mL e o pH ajustado para 1,0 e 10,0, com HCl 6 M e NaOH 6 M, respectivamente. Após o
224 ajuste, o volume foi completado até 10 mL com água destilada com o pH previamente
225 ajustado para o mesmo das amostras. As soluções foram, então, agitadas a 4 °C durante 20
226 minutos em incubadora shaker Solab, modelo SL-223 (Piracicaba, Brasil) a 80 rpm e, em
227 seguida, centrifugadas em centrífuga Eppendorf, modelo 5804/5804 R, a 10,000 rpm a 4 °C
228 durante 30 minutos. A proteína no sobrenadante foi determinada pelo método de Lowry,
229 Rosebroug, Farr & Randall (1951) e a solubilidade relativa das amostras foram calculadas em
230 comparação com a obtida no pH com maior solubilidade, tornando esta 100 % (Montero,
231 Jiménez-Colmenero & Borderías, (1991).

232 *2.10.4 Viscosidade*

233 Para a avaliação da viscosidade foi preparada uma dispersão de gelatina com
234 concentração de 6,67% e aquecida e agitada continuamente em banho-maria a 60 °C. A
235 viscosidade (cP) foi medida usando um viscosímetro Brookfield, modelo DV-II+Pro com
236 velocidade de 20 rpm. A leitura foi realizada após 1 minuto de rotação completa com o
237 spindle n°. 1 (BSI, 1975).

238 *2.11 Análise estatística*

239 As análises foram realizadas em triplicata e o experimento foi repetido três vezes (n =
240 3). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas
241 entre si pelo teste de Tukey com nível de significância de 95% ($P > 0,05$). Os cálculos dos
242 efeitos foram avaliados no software Statistica® 8.0 (STATSOFT, INC). Além disso, foi
243 testado a primeira e segunda derivadas dos espectros de FTIR utilizando o procedimento
244 EXPAND com o propósito de linearizá-los. Os dados de solubilidade da gelatina em função
245 da variação do pH foram ajustados por função empírica sigmoidal (logística), conforme a
246 Equação 5, a seguir.

$$Y_i = \alpha + \frac{(\beta - \alpha)}{1 + e^{-k(\gamma - \delta)}} + \varepsilon_i \quad (5)$$

Na Equação 5, Y_i = solubilidade (%) da gelatina na i -ésima repetição sob o pH γ ; α = solubilidade final (%) na linha de base pós-transição (*post-transition baseline*) ou fase assintótica/estacionária/estado estável (*plateau phase/stationary phase/steady state*), quando $\gamma \rightarrow \infty$; β = solubilidade inicial (%) na linha de base pré-transição (*pre-transition baseline*) ou fase de latência (*lag phase*); e^{ℓ} = exponencial; k = taxa de alteração na solubilidade; γ = valor de pH (1 a 10); δ = ponto no pH em que a solubilidade alcança 50% da amplitude da zona de transição (*transition zone*), ponto médio (*midpoint*) ou ponto de inflexão (*inflection point*); ε_i = erro experimental associado a cada observação, pressuposto $\varepsilon_i \stackrel{iid}{\sim} N(0, \sigma^2)$. Os parâmetros do modelo foram estimados pelo algoritmo de Gauss-Newton modificado com o procedimento NLIN do SAS[®]. As análises estatísticas foram realizadas no aplicativo SAS[®] *System for Windows*[™] versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary - NC, USA), ao nível de 5% de significância.

3 Resultados e discussão

3.1 Rendimento

A pele de jundiá (PJ) e a gelatina da pele de jundiá (GPJ) apresentaram rendimentos interessantes demonstrados na Tabela 1. O resultado foi considerado alto para gelatina obtida a partir de espécies de peixes, visto que Karim & Bhat (2009) relataram que as extrações variam entre 6 e 19% (gramas de gelatina seca por 100 g de pele limpa). Os dados de Talapphet et al. (2017) para gelatina extraída de couro bovino, quando submetido a temperatura de 80 °C e de Abdelmalek et al. (2016) para a gelatina de pele de lula (*Loligo vulgaris*), apresentaram rendimentos inferiores, de 13,2 e 6,8%, respectivamente. Além disso, para a obtenção de alguns subprodutos, é necessária a utilização de pepsina. Esta enzima solubiliza o colágeno na região do telopeptídeo por meio da clivagem de algumas ligações peptídicas e resulta em maior eficácia da extração de gelatina. Assim, considerando que a

272 obtenção de gelatina a partir da PJ sem a utilização da enzima, que sugere a obtenção de uma
273 quantidade menor de gelatina, foi possível apresentar resultados superiores aos encontrados
274 por Jridi, et al. (2015) para gelatinas extraídas da pele do polvo (*Octopus vulgaris*) com
275 diferentes concentrações de pepsina (5,4, 6,9 e 7,8% em base de peso úmido).

276 3.2 Propriedades físico-químicas e teor de hidroxiprolina

277 Dos componentes da PJ, a umidade foi encontrada em maior quantidade, como pode ser
278 observado na Tabela 1. Este teor de umidade está de acordo com os resultados obtidos para a
279 pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*, 71,4%) e para a pele de peixe-gato africano (*Clarias*
280 *gariiepinus*, 70,8%) (Tylingo et al. 2016). Quanto à proteína, a PJ apresentou teor superior ao
281 encontrado na pele de peixe-gato (*Clarias batrachus*) e peixe-gato pangas (*Pangasius sutchi*),
282 de 19,9 e 18,9%, respectivamente (See, Hong, Ng, Wan Aida & Babji, 2010). O teor de
283 proteína na PJ também foi superior ao encontrado na pele do peixe gato africano (*Clarias*
284 *gariiepinus*, 17,9 %) (Alfaro et al. 2013). Sobre o resíduo mineral fixo resultados superiores a
285 PJ foram encontrados na pele de tilápia (*Oreochromis niloticus*, 3,9%) (Alfaro & Silva, 2010)
286 e na pele de lula (*Loligo vulgaris*, 3,7%) (Abdelmalek et al. 2016) Da mesma forma, o
287 conteúdo lipídico da PJ foi considerado baixo quando comparado com o teor deste
288 componente na pele e ossos de poleiros do Nilo (*Lates niloticus*), apresentaram 5,0 e 6,8% de
289 gordura, respectivamente (Muyonga et al. 2004). Quando comparado ao teor de lipídios da
290 pele de atum (*Katsuwonus pelami*, 18,0%) (Shyni et al. 2014) e pele de kumakuma
291 (*Brachyplatystoma filamentosum*, 14,2%) (Silva et al. 2017), a presença deste componente é a
292 ainda menor.

293 Quanto ao teor de umidade encontrado na GPJ (Tabela 1), o resultado foi semelhante ao
294 observado para gelatina comercial da pele bovina, que é reportado como 7,4% (See et al.
295 2010) e para gelatina de couro bovino, como 7,6% (Talapphet et al. 2017). A diferença de
296 umidade na amostra pode estar relacionada com a perda ou ganho de água durante o processo

297 de extração e do tratamento térmico e, ainda, com o tempo utilizado para a secagem da
298 amostra, semelhantes para os três casos. Já o teor de proteínas da GPJ foi considerado
299 elevado quando comparado ao encontrado na gelatina de matéria-prima bovina (84,5%)
300 (Prestes, Golunski, Toniazzo, Kempka & Luccio, 2013), na gelatina extraída de couro bovino
301 (79,0%) (Talapphet et al. 2017) ou na gelatina da pele de kumakuma (*Brachyplatystoma*
302 *filamentosum*, 72,8%) (Silva et al. 2017). O teor máximo de resíduo mineral fixo
303 recomendado para a gelatina é 2,6% (Muyonga et al. 2004), em acordo com este estudo.
304 Porém, Alfaro, Fonseca, Costa & Prentice, (2009) relataram concentração deste residual
305 acima da recomendação de 3,8% para gelatinas de peixe extraídas de ossos de peixe rei
306 (*Macrodon ancylodon*). A GPJ apresentou porcentagem de lipídeos abaixo da pesquisa de
307 Pradarameswari et al. (2018) que avaliaram a gelatina de pele de peixe-gato pangas
308 (*Pangasius pangasius*) em diferentes temperaturas (45, 50 e 55 °C) e obtiveram resultados de
309 1,5, 2,3 e 3,7%, respectivamente, e da gelatina da pele de kumakuma (*Brachyplatystoma*
310 *filamentosum*) que apresentou 29,7% (Silva et al. 2017).

311 Desse modo, os resultados permitem concluir que a PJ é considerada um subproduto
312 importante em processo de extração de compostos gelatinosos. Pois, a escolha de matéria-
313 prima com baixas concentrações de constituintes não desejáveis, como lipídeos e resíduo
314 mineral fixo, auxiliam na diminuição do tempo do pré-tratamento e menor uso de soluções
315 para extração de gelatina mais pura.

316 A PJ apresentou conteúdo de hidroxiprolina (Tabela 1) semelhante com o da pele de
317 peixe-gato africano (*Clarias gariepinus*, 1,6%) (Tylingo et al. 2016). Já o teor de
318 hidroxiprolina da GPJ foi semelhante ao encontrado na gelatina da pele de corvina dentada de
319 tigre (*Otolithes ruber*, 7,7%) e de poleiro rosa (*Nemipterus japonicus*, 7,6%) (Koli et al.
320 2012). Porém, a GPJ apresentou teor de hidroxiprolina superior ao da gelatina de matéria-
321 prima de bovino, descrito como 1,95% (Prestes et al. 2013).

322 Neste sentido, quanto maior a concentração de hidroxiprolina, melhor poderá ser
323 estabilidade de géis formados a partir desta gelatina, efeito relacionado à capacidade de
324 estabelecimento de ligação de hidrogênio através dos grupos hidroxilas (Chandra &
325 Shamasundar, 2015). Por outro lado, os distintos resultados são justificados pelo fato de que,
326 no processo de extração, as amostras são submetidas a altas e diferentes temperaturas, que
327 provocam a solubilização e fragmentação da estrutura da proteína (Gómez-Guillén et al.
328 2011).

329 3.3 Determinação do pH e da cor

330 A avaliação de pH em gelatina é uma análise importante, pois pode interferir em
331 algumas características sensoriais do produto em que for adicionada. Por esse motivo, o pH da
332 GPJ foi medido e mostrou-se com valor $4,7 \pm 0,1$. Outros resultados apresentados na literatura,
333 como o pH 4,0 e 4,4 para as gelatinas extraída de ossos do peixe rei (*Macrodon ancylodon*)
334 (Alfaro et al. 2009), pH 6,1 para a gelatina de bovino (Prestes et al. 2013), pH em tono de 4,2
335 para gelatinas das peles de atum (*Katsuwonus pelamis*), tubarão cão (*Scoliodon sorrakowah*)
336 e rohu (*Labeo rohita*) (Shyni et al. 2014), ainda, pH 5,0 e 5,1 para a gelatina da pele de cabra
337 e pele bovina, respectivamente (Zilhada, Yahdiana, Irwandi & Effionora, 2018), apresentam
338 valores diferentes que podem estar relacionados à origem e natureza da matriz de onde foram
339 extraídas. Além disso, os diferentes valores de pH também podem ser relacionados com
340 tratamento químico utilizado durante a fase de extração (Afaro, Fonseca & Prentice, 2013).
341 Neste sentido, o pH mais alto pode ser atribuído à eficiência na fase de lavagem após os
342 tratamentos químicos durante a preparação das peles e antes da fase de extração para a
343 remoção de soluções do pré-tratamento.

344 A GPJ apresentou valor de luminosidade ($L^* = 66,4 \pm 0,3$), vermelhidão ($a^* = -0,24 \pm 0,3$)
345 e amarelidão ($b^* = 0,96 \pm 0,0$) que indicam um efeito de neve com aparência branca. Por outro
346 lado, a literatura apresenta outras gelatinas, extraídas de peles de diferentes espécies de peixes

347 de água doce, com luminosidades entre 37,3 e 61,6 (See et al. 2010) menores que a GPJ. A
348 gelatina da pele de robalo (*Lates calcarifer*), após 18 dias de armazenamento (Sae-Leaw &
349 Benjakul, 2015) mostrou-se mais amarelada, com valores de b^* entre 9,5 e 13,7. Da mesma
350 forma, a gelatina obtida a partir da pele do polvo (*Octopus vulgaris*), com a utilização de
351 diferentes concentrações de pepsina (Jridi et al. 2015), apresentaram valores de b^* entre 7,6 e
352 11,6. Todos, valores maiores que a GPJ apresenta e que, tecnologicamente são menos
353 apreciáveis do que a característica de menor amarelidão. Neste sentido, dependendo da
354 aplicação a que se destina a gelatina, as cores são propriedades estéticas importantes e o uso
355 de pepsina implica na tonalidade da coloração, principalmente a amarela, pois os aminoácidos
356 livres liberados pela enzima reagem por reação de Maillard com os grupos C=O presentes na
357 estrutura molecular da gelatina (Jridi et al. 2015). Baseados nesta premissa sugere-se que
358 fatores como a distribuição de peso molecular podem influenciar as características de cor da
359 gelatina, visto que materiais com menor peso molecular podem apresentar aminoácidos livres
360 na sua composição.

361 3.4 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

362 A análise de FTIR foi utilizada para apontar a presença dos grupos funcionais da
363 estrutura molecular da gelatina e discutir a estrutura secundária da GPJ. A Figura 1 apresenta
364 as bandas mais significativas relacionadas à estrutura molecular da GPJ, na região da amida.
365 A banda correspondente amida A foi encontrada em 3300 cm^{-1} e está associada com o
366 estiramento de ligações N-H. Os estiramentos deste grupo geralmente ocorrem entre 3400 e
367 3440 cm^{-1} , porém, quando a posição do grupo NH é deslocada para um número de onda
368 menor, sugere-se que o peptídeo está envolvido em uma ligação de hidrogênio (Muyonga et
369 al. 2004). A amida B mostrou a deformação assimétrica de grupos CH_2 em 2940 cm^{-1} e a
370 mudança na localização da banda para números de onda mais altos sugere que a amostra
371 apresenta desnaturação proteica (Li-Chan, Nakai & Hirotsuka, 1994).

372 As bandas da amida I, II e III são muito úteis para a investigação da estrutura secundária
373 de proteínas. Assim, a amida I apresentou banda em 1632 cm^{-1} que está relacionada com o
374 estiramento C=O do esqueleto polipeptídico que faz parte da estrutura secundária (Muyonga
375 et al., 2004). Sae-Leaw & Benjakul (2015) relataram bandas de absorção na região da amida I
376 para a gelatina extraída da pele de robalo (*Lates calcarifer*) entre 1641 e 1637 cm^{-1} . A amida
377 II foi observada em 1545 cm^{-1} , que caracteriza deformações angulares de N–H juntamente
378 com estiramento de C–N (Barth & Zscherp, 2002). Quando comparando com a faixa de
379 absorção normal ($1600 - 1550\text{ cm}^{-1}$), a posição deslocada para uma frequência mais baixa,
380 indica a existência de ligação de hidrogênio sugerindo que a tríplice hélice não foi afetada
381 pelo tratamento térmico (Zhang et al. 2016). A amida III apresentou absorção em 1237 cm^{-1} ,
382 que corresponde aos estiramentos C–N e N–H, bem como absorções provenientes de
383 vibrações de grupos CH_2 de cadeias laterais de glicina e de prolina (Jackson, Choo, Watson,
384 Halliday & Mantsch, 1995). Nikoo et al. (2014) relataram que a gelatina da pele de esturção
385 de amur (*Acipenser schrenckii*) mostrou amida III em 1242 a 1236 cm^{-1} concordando como
386 que se observa para a GPJ.

387 3.5 Distribuição do peso molecular por SDS-PAGE

388 As propriedades físicas da gelatina são dependentes do conteúdo relativo de cadeias α ,
389 componentes β e da presença ou não de fragmentos de proteínas de baixo peso molecular
390 (Johnston-Banks, 1990). Desse modo, o perfil de peso molecular da GPJ foi avaliado por
391 SDS-PAGE que mostrou bandas de proteína que continham duas subunidades α (α_1 e α_2) em
392 torno de 100 kDa cada uma, cadeia de banda β em torno de 150 kDa e quantidade de
393 componente γ também foi observado (Figura 2). A gelatina da pele do peixe-gato de canal
394 (*Ictalurus punctatus*) também tratada com ácido acético (Liu, Li & Guo, 2008), a gelatina da
395 pele de robalo (*Lates calcarifer*) (Sae-Leaw & Benjakul, 2015), a gelatina de ossos de pargo
396 vermelho (*L. campechanus*) e de garoupa marrom (*E. chlorostigma*) (Shakila, Jeevithan,

397 Varatharajakumar, Jeyasekaran, & Sukumar, 2012), apresentaram características semelhantes
398 às observadas para a GPJ. Entretanto, a gelatina de pele de lula (*Loligo vulgaris*) (Abdelmalek
399 et al. 2016) e a gelatina extraída de couro bovino (Talapphet et al. 2017) apresentaram perfil
400 eletroforético de menor peso molecular. Geralmente, as gelatinas com baixo peso molecular
401 se formam quando o processo de extração foi mais agressivo como, por exemplo, utilização
402 de altas temperaturas (Alfaro et al. 2009). Desse modo, a gelatina pode apresentar menor
403 funcionalidade, como a redução da estabilidade térmica, de viscosidade e da força de gel, o
404 que tem como consequência, a produção de géis menos estáveis (Muyonga et al. 2004; Alfaro
405 et al. 2009; Prestes et al. 2013). Além disso, a idade da fonte do material pode influenciar a
406 facilidade com que a gelatina pode ser extraída e a extensão da hidrólise de peptídeo durante a
407 extração (Muyonga et al. 2004), o que afeta de forma significativa quanto agressivo será o
408 processo de extração e assim, a massa molar da gelatina.

409 3.6 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

410 A análise de DSC (Figura 3) foi utilizada para avaliar a característica térmica da GPJ e
411 mostrou um único sinal, de carácter endotérmico, que geralmente é utilizado para descrever a
412 temperatura de desnaturação. A estabilidade térmica dos géis é definida com a temperatura
413 correspondente à ruptura de interações entre as cadeias, resultando na fusão de cadeias
414 peptídicas (Flory & Garrett, 1958). O estudo de Sarbon, Badii & Howell (2013) sugere menor
415 estabilidade térmica para a gelatina bovina (26,1 °C) e gelatina de frango (31,1 °C).
416 Entretanto, Sai-Ut, Jongjareonrak & Rawdkuen (2012) observando o comportamento térmico
417 da gelatina de pele de bagre gigante cultivado (*Pangasianodon gigas*), apontam a temperatura
418 de 80,9 °C e para a gelatina comercial de bovino, de 67,2 °C. Os autores sugeriram que a
419 diferença de temperatura para a estabilidade térmica das gelatinas pode estar relacionada com
420 o teor de aminoácidos prolina e hidroxiprolina constituintes da estrutura molecular das
421 respectivas proteínas. Jongjareonrak, Benjakul, Visessanguan, Prodpran & Tanaka (2006)

422 relataram que o peso molecular das cadeias de proteínas também contribuíra para a formação
423 de uma forte estrutura de rede tridimensional e como consequência, aumento da estabilidade
424 térmica do material. Assim, com sinal endotérmico em 69,42 °C sugere-se estabilidade
425 térmica compatível com a da gelatina bovina comercial. Por outro lado, as diferentes
426 temperaturas de desnaturação encontrada na literatura podem estar relacionadas com a massa
427 molar das espécies químicas, que foram obtidas por vias diferentes.

428 *3.7 Morfologia*

429 As microestruturas da GPJ foram examinadas por microscopia eletrônica de varredura
430 (MEV) em ampliações de 100, 500 e 1000x, conforme apresentado na Figura 4. Observa-se
431 na amostra, uma superfície lisa com partes fibrosas e ausência de porosidade. Normalmente, o
432 arranjo e associação de moléculas de proteína na matriz do gel contribuem diretamente para a
433 força do gel (Benjakul, Oungbho, Visessanguan, Thiansilakul e Roytrakul, 2009) e a
434 microestrutura densa e não porosa da gelatina é relacionada com melhores propriedades
435 físicas (Yang, Wang, Zhou & Regenstein, 2008). Wangtueai, Noomhorm & Regenstein
436 (2010) avaliaram a morfologia da gelatina de escamas do peixe lagarto (*Saurida spp.*) e
437 relataram que a gelatina com maior força de gel apresentava uma rede mais densa e quando o
438 tempo de extração foi mais longo, as camadas foram diminuindo e apresentaram maior
439 porosidade. Este efeito também foi observado para a microestrutura da gelatina extraída da
440 escama da carpa cabeça-dura (*Hypophthalmichthys nobilis*) que apresentou micrografias com
441 certa porosidade, que também foi associada à diminuição da força de gel (Tu et al. 2015).

442 *3.8 Propriedades tecnológicas*

443 *3.8.1 Emulsificantes*

444 O índice de atividade emulsificante (EAI) e estabilidade emulsificante (ESI) foram
445 avaliados na GPJ em concentração de 1% de proteína sob variações de tempo e temperatura.
446 Estes resultados estão descritos na Tabela 2 e apresentam diferença estatística ($P < 0,05$).

447 Observou-se elevada propriedade emulsionante para a GPJ quando esta é submetida à
448 temperatura a 80 °C por 30 minutos. Este resultado sugere que a GPJ apresenta potencial para
449 utilização em muitos processos agroindustriais pela alta capacidade térmica do material.
450 Abdelmalek et al. (2016) avaliaram o EAI e ESI da gelatina extraída da pele de lula (*Loligo*
451 *vulgaris*) em concentrações de 1 a 4% e relataram que com o aumento da concentração de
452 gelatina na solução, aumentaram os valores de EAI e diminuíram a ESI. Porém, estes
453 resultados ainda são inferiores aos encontrados pela GPJ na concentração de 1% e em
454 diferentes tempos e temperaturas testadas para este material. De acordo com Surh, Decker &
455 McClements (2006) a propriedade emulsificante pode ser parcialmente atribuída ao peso
456 molecular da gelatina. Neste caso os autores avaliaram a emulsão de óleo em água preparada
457 com gelatina de peixe com alto peso molecular (120 kDa), e esta foi mais estável do que a
458 preparada com gelatina de peixe de baixo peso molecular (50 kDa).

459 3.8.2 Formação e estabilidade da espuma

460 A propriedade espumante da GPJ foi avaliada quanto à capacidade de formação de
461 espuma (CFE) e estabilidade da espuma (EE) e apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$)
462 nas condições de temperatura testadas (Tabela 3). Com relação à formação de espuma,
463 observou-se a CFE que aumenta com o aumento da concentração de GPJ. Isso se deve ao
464 fato de uma concentração maior de proteínas contribuir para que estas estruturas migrem do
465 seio da dispersão e para a superfície da fase dispersante de forma a proporcionar a formação
466 de bolhas de ar e assim, incrementar a formação destas estruturas e a estabilidade da espuma
467 (Zeng, Zhang, Adhikari & Mujumdar, 2013). A EE foi observada em diferentes concentrações
468 e tempos, demonstrando que a esta estabilidade é afetada à medida que se aumenta o tempo.
469 Resultado semelhante foi relatado para a gelatina de pele de cabra e de pele bovina (Zilhada
470 et al. 2018), e nas gelatinas da pele de bagre (*Pangasianodon gigas*) e tilápia (*Oreochromis*
471 *niloticus*) (Rawdkuen et al. 2013). Já a melhor estabilidade de espuma observada para a GPJ

472 foi alcançada em concentração de 1% e tempo de até 60 minutos, com resultados mais
473 interessantes do que os observados na literatura citada. Segundo Zayas (1997) as espumas
474 com concentrações mais altas são mais densas e mantêm a estabilização por causa do aumento
475 da espessura do filme interfacial. Enquanto para Shakila et al. (2012) a capacidade de
476 espumação da proteína pode melhorar em função da concentração, que permite torná-la mais
477 flexível, expondo mais resíduos hidrofóbicos e aumentando a sua capacidade de diminuir a
478 tensão da superfície. Já Balti et al. (2011) relataram que outros fatores podem influenciar as
479 propriedades espumantes como a matéria-prima utilizada para a extração, propriedades
480 intrínsecas e composição deste material e, ainda, a conformação da proteína.

481 3.8.3 Solubilidade

482 Os dados da solubilidade da GPJ em diferentes valores de pH são apresentados na
483 Figura 4. Observa-se que a maior solubilidade é alcançada em meio ácido (pH 2,0), ao mesmo
484 tempo em que observa-se uma menor solubilidade em meio alcalino (pH 10,0).
485 Kittiphattanabawon, Benjakul, Visessanguan & Shahidi (2012) utilizaram as peles de duas
486 espécies de tubarão, bambu de faixa marrom (*Chiloscyllium punctatum*) e ponta negra
487 (*Carcharhinus limbatus*), para extrair gelatina em temperaturas de 45, 60 e 75 °C e
488 apresentaram resultados de solubilidade parecidos com os obtidos para GPJ, e mais, relataram
489 que a gelatina extraída em temperaturas de extração mais alta apresentou maior de
490 solubilidade percentual. Estes autores sugerem que a gelatina extraída em temperaturas de
491 extração mais elevada apresente maior teor de peptídeos menores e maior quantidade de
492 grupos hidrofílicos, o que proporcionaria maior solubilidade, como observado. De acordo
493 com Santana, Sato & Cunha (2012), a solubilidade da gelatina é normalmente mais baixa em
494 pH alcalino, pois quando o pH está abaixo do ponto isoelétrico, observa-se densidade de carga
495 mais altas, devido ao aumento da concentração de íons hidrogênicos ligados aos aminoácidos.
496 Assim as partículas da proteína tornam-se positivamente carregadas, causando repulsão entre

497 as mesmas. Estas modificações provocam a abertura da tripla hélice, facilitando a interação
498 com a água e aumentando sua solubilidade em ambiente ácido.

499 3.8.4 Viscosidade

500 A viscosidade é uma propriedade física muito importante para a avaliação de
501 compostos gelatinosos e o resultado obtido para a GPJ foi de 25,5 (\pm 0,1) cP. O estudo de
502 Koli et al. (2012) demonstrou que as gelatinas extraídas da pele de catla (*Catla catla*), de
503 peixe-gato (*Pangasius hypophthalmus*), de tilápia-preta (*Oreochromis mossambicus*) e de
504 peixe-rei preto (*Ranchycentron canadus*) a 45 °C apresentaram viscosidades de 9,5, 8,21, 6,9
505 e 13,15 cP, respectivamente. Kusumaningrum, Pranoto & Hadiwiyoto (2018) extraíram
506 gelatina da pele seca de peixe cavala espanhola (*Scomberromorus commersoni*) e compararam
507 com gelatina bovina comercial, obtendo viscosidades de 8,0 e 8,2 cP, respectivamente. As
508 características de viscosidade exibidas por uma determinada gelatina estão relacionadas com a
509 distribuição do peso molecular das moléculas do material (Karim & Bhat, 2009),
510 principalmente as subunidades de alto peso molecular proporcionam valores mais altos de
511 viscosidade que, no caso da GPJ, está de acordo com os resultados da análise de SDS-PAGE.
512 Além disso, quanto mais longa a cadeia de aminoácidos, maior o peso molecular do material,
513 de modo que apresenta a maior viscosidade (Johnston-Banks, 1990).

514 4 Conclusão

515 A pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) (PJ) é um subproduto promissor para extração de
516 gelatina, pois foi identificado na amostra alta percentual de proteína e conteúdo de
517 hidroxiprolina principalmente. A gelatina da pele de jundiá (GPJ) apresentou alto rendimento,
518 vantagens com respeito à composição química e coloração tecnologicamente mais
519 interessante, quando comparados com gelatinas de outras fontes. A análise de FTIR mostrou
520 aspectos relacionados à estrutura secundária da amostra, que concordam com dados obtidos
521 na literatura. A SDS-PAGE exibiu bandas de alto peso molecular que indicaram boa

522 possibilidade funcional e a análise térmica por calorimetria exortória diferencial (DSC)
523 mostrou uma temperatura de desnaturação interessante quando comparadas com outras
524 encontradas na literatura. Tecnicamente a GPJ pode ser utilizada como emulsificantes em
525 todas as temperaturas testadas, porém apresentou melhor resultado a 80 °C e para a formação
526 de espuma, o melhor resultado foi encontrado para concentrações maiores do que 1%. Quanto
527 à solubilidade, a GPJ mostrou-se mais solúvel em meio ácido e adequada para a obtenção de
528 produtos com mais viscosidade. Portanto, destaca-se a importância da utilização da PJ para a
529 obtenção de GPJ, visto que, a caracterização do material exibiu propriedades interessantes e
530 bom potencial tecnológico. Ainda, a pesquisa apresenta uma possibilidade viável de
531 valorização do subproduto descartado e a possibilidade de desenvolvimento de vários outros
532 produtos em escala industrial.

533 **Conflitos de interesse**

534 Os autores declaram não haver conflito de interesses. Os patrocinadores fundadores não
535 tiveram nenhum papel no desenho do estudo, na coleta, análise ou interpretação dos dados, na
536 redação do manuscrito e na decisão de publicar os resultados.

537 **Contribuições dos autores**

538 Os autores contribuíram igualmente para o manuscrito.

539 **Agradecimentos**

540 Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de
541 Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001 e pela Fundação de
542 Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), nº 88887.202379 / 2018-
543 00.

544 **Referências**

545 Abdelmalek, B. E., Gomez-Estaca, J., Sila, A., Martinez-Alvarez, O., M. Carmen Gomez-
546 Guillen, M. C., Chaabouni-Ellouz, S., Ayadi, M. A., & Bougatef, A. (2016).

- 547 Characteristics and functional properties of gelatin extracted from squid (*Loligo*
548 *vulgaris*) skin. Food Science and Technology, 65, 924–931.
549 <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.024>.
- 550 Ali, A. M. M., Kishimura H., & Benjakul, S. (2018). Physicochemical and molecular
551 properties of gelatine from the skin of golden carp (*Probarbus Jullieni*), influenced by
552 acid pretreatment and previous ultrasound. Food Hydrocolloids. 82, 164–172. doi:
553 10.1016 / j.foodhyd.2018.03.052.
- 554 Alfaro, A. T., Fonseca, G. G., Costa, C. S., & Prentice, C. (2009). Effect of extraction
555 parameters on the properties of gelatin from King Weakfish (*Macrodon ancylodon*)
556 bones. Food Science and Technology International, 15, 553–562.
557 <https://doi.org/10.1177/1082013209352921>.
- 558 Alfaro A. T, & Silva E. F. (2010). Rheological properties of gelatin from skin of tilapia
559 (*Oreochromis niloticus*). Revista Instituto Adolfo Lutz, 69, 555–561.
560 <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2010/ses-19257/ses-19257-2289.pdf>.
- 561 Alfaro, A. T., Fonseca, G. G., & Prentice, C. (2013). Enhancement of functional properties of
562 wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin at different pH values. Food
563 Bioprocess Technology, 6,2118–2127. [https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-](https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-012-0859-9)
564 012-0859-9.
- 565 AOAC (2016). Association of Official Analytical Chemists. Virginia, USA: Association of
566 Official and Analytical Chemists International.
- 567 Balti, R., Jridi, M., Sila, A., Souissi, N., Nedjar-Arroume, N., & Guillochon, D. (2011).
568 Extraction and functional properties of gelatin from the skin of cuttlefish (*Sepia*
569 *officinalis*) using smooth hound crude acid protease-aided process. Food Hydrocolloids,
570 25, 943–950. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.005>.

- 571 Barth, A., & Zscherp, C. (2002). What vibrations tell us about protein? Quarterly Reviews of
572 Biophysics, 35, 369–430. <https://doi.org/10.1017/S0033583502003815>.
- 573 Benjakul, S., Oungbho, K., Visessanguan, W., Thiansilakul, Y., & Roytrakul, S. (2009).
574 Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, *Priacanthus tayenus* and
575 *Priacanthus macracanthus*. Food Chemistry, 116, 445–451.
576 doi:10.1016/j.foodchem.2009.02.063.
- 577 BSI (1975). British Standards Institution. Métodos de amostragem e teste de gelatina
578 (Métodos físicos e químicos). Londres.
- 579 Coldebella, I. J., & Radünz Neto, J., (2002). Farelo de soja na alimentação de alevinos de
580 jundiá (*Rhamdia quelen*). Ciência Rural, 32, 499–503.
581 <http://www.scielo.br/pdf/cr/v32n3/a21v32n3>.
- 582 Chandra, M. V., & Shamasundar, B. A., (2015). Rheological properties of gelatin prepared
583 from the swim bladders of freshwater fish (*Catla catla*). Food Hydrocolloids, 48, 47–
584 54. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.022>.
- 585 Flory, P. J., & Garrett, R. R. (1958). Phase transition in collagen and gelatin systems. Journal
586 of the American Chemical Socociety, 80, 4836–4845.
587 <https://doi.org/10.1021/ja01551a020>.
- 588 Gomes, L. C., Golombieski, J. I., Chippari, A. R., Gomes, A. R. C., & Baldisserotto, B.
589 (2000). Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). Ciência Rural, 30,
590 179–185. <https://www.researchgate.net/publication/281122497>.
- 591 Gómez-Guillén, M. C., Fernández-Díaz, M. D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A., & Montero, P.
592 (2002). Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine
593 species: a comparative study. Food Hydrocolloids, 16, 25–34. doi:10.1016/S0268-
594 005X(01)00035-2 j.foodhyd.2011.04.006.

- 595 Gómez-Guillén, M. C., Giménez, B., López-Caballero, M. E., & Montero, M. P. (2011).
596 Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A
597 review. *Food Hydrocolloids*, 25, 1813–1827.
598 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007>.
- 599 Hashim, D. M., Che Mana, Y. B., Norakasha, R., Shuhaimi, M., Salmah, Y., & Syahariza, Z.
600 A. (2010). Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation
601 of bovine and porcine gelatins. *Food Chemistry*, 118, 856–860.
602 [doi:10.1016/j.foodchem.2009.05.049](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.049).
- 603 Jackson, M., Choo, L. P., Watson, P. H., Halliday, W. C., & Mantsch, H. H. (1995). Beware
604 of connective tissue proteins: Assignment and implications of collagen absorptions in
605 infrared spectra of human tissues. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1270, 1–6.
606 [https://doi.org/10.1016/0925-4439\(94\)00056-V](https://doi.org/10.1016/0925-4439(94)00056-V).
- 607 Johnston-Banks, F. A. (1990). Gelatin. In: *Food Gels*. (edited by P. Harris), 233-289 Elsevier
608 Applied Science Publishers: London.
- 609 Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Prodpran, T., & Tanaka, M. (2006).
610 Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe, red snapper and
611 bigeye snapper. *Food Hydrocolloids*, 20, 492–501. [10.1016/j.foodhyd.2005.04.007](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.04.007).
- 612 Jridi, M., Nasri, R., Salem, R. B. S-B., Lassoued, I., Nasri, A. B. M., & Souissi, N. (2015)
613 Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from the skin of octopus
614 (*Octopus vulgaris*). *LWT - Food Science and Technology*, 60, 881–889.
615 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.057>.
- 616 Karim, A. A., & Bhat, R. (2009). Fish gelatin: properties, challenges and prospects as an
617 alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23, 563–576.
618 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.002>.

- 619 Kiplagat, C. S., Onyari, J. M., Mulla, F., & Wabomba, J. (2017). Extraction and
620 characterization of gelatin from *Lates niloticus* and potential industrial applications.
621 Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry15, 53–64. DOI:
622 10.13057/biofar/f150202.
- 623 Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Shahidi, F. (2012). Effect of
624 extraction temperature on functional properties and antioxidative activities of gelatin
625 from shark skin. Food Bioprocess Technol. 5:2646–2654. DOI 10.1007/s11947-010-
626 0427-0.
- 627 Kollar, K. (1990). Colorimetric Determination of hidroxyproline as Measure of collagen
628 content in meat and meat products Colaborative Study AOAC, 76, 54-57.
- 629 Koli, J. M., Basu, S., Nayak, B. B., Patange, S. B., Pagarkar, A.U., & Gudipati, V. (2012).
630 Functional characteristics of gelatin extracted from skin and bone of Tiger-toothed
631 croaker (*Otolithes ruber*) and Pink perch (*Nemipterus japonicus*). Food and Bioproducts
632 Processing, 90, 555–562. Doi: 10.1016/j.fbp.2011.08.001.
- 633 Kusumaningrum, I., Pranoto, Y., & Hadiwiyoto, S. (2018). Extraction optimization and
634 characterization of gelatine from fish dry skin of Spanish mackerel (*Scomberromorus*
635 *commersoni*). International Conference on Tropical Studies and Its Application, 144,
636 012036. doi :10.1088/1755-1315/144/1/012036.
- 637 Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of
638 bacteriophage. Nature, 227, 680–685. <https://www.nature.com/articles/227680a0>.
- 639 Li-Chan, E., Nakai, S., & Hirotsuka, M. (1994). Raman spectroscopy as a probe of protein
640 structure in food systems. In R. Y. Yada, R. L. Jackman, & J. L. Smith (Eds.), London,
641 England.

- 642 Liu, H., Li, D., & Guo, S. (2008). Rheological properties of channel catfish (*Ictalurus*
643 *punctatus*) gelatin from fish skins preserved by different methods. *LWT-Food Science*
644 *and Technology*, 41, 414–419. DOI10.1016/j.lwt.2007.09.006.
- 645 Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement
646 with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265–275.
647 <http://www.jbc.org/content/193/1/265.long>.
- 648 Montero, P., Jiménez-Colmenero F., & Borderías J. (1991). Effect of pH and the presence of
649 NaCl on some hydration properties of collagenous material from trout (*Salmo*
650 *irideus Gibb*) muscle and skin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54, 137–
651 146. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2740540115>.
- 652 Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., & Duodu, K. G. (2004). Extraction and physicochemical
653 characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food*
654 *Hydrocolloid*, 18, 581-592. Doi: 10.1016/j.foodhyd.2003.08.009.
- 655 Nikoo, M., Benjakul, S., Bashari, M., Alekhorshied, M., Idrissa Cissouma, A., Yang, N., et al.
656 (2014). Physicochemical properties of skin gelatin from farmed Amur sturgeon
657 (*Acipenser schrenckii*) as influenced by acid pretreatment. *Food Bioscience*, 5, 19–26.
658 <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.10.004>.
- 659 Pearce K. N., & Kinsella J. (1978). Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a
660 turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 719–723.
661 <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf60217a041?rand=pkuiughr>.
- 662 Pradarameswari, K. A., Zaelani, K., Waluyo, E., & Nurdiani, R. (2018). The physico-
663 chemical properties of pangas catfish (*Pangasius pangasius*) skin gelatin. *Earth and*
664 *Environmental Science*, 137, 012067. doi :10.1088/1755-1315/137/1/012067.
- 665 Prestes R. C., Golunski, S. M., Toniazzo, G., Kempka, A. P., & Di Luccio, M. (2013).
666 Caracterização da fibra de colágeno, gelatina e colágeno hidrolisado. *Revista Brasileira*

- 667 de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, 15, 375–382.
668 <http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev154/Art1547.pdf>.
- 669 Rawdkuen, S., Titipramote, N., & Benjakul, S. (2013). Preparation and functional
670 characterization of fish skin gelatin and comparison with commercial gelatin.
671 International Journal of Food Science e Technology, 48, 1093–1102.
672 doi:10.1111/ijfs.12067.
- 673 Sae-leaw, T., & Benjakul, S. (2015). Physico-chemical properties and fishy odour of gelatin
674 from seabass (*Lates calcarifer*) skin stored in ice. Food Bioscience, 10, 59–68.
675 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.02.002>.
- 676 Sai-UT, S., Jongjareonrak, A., Rawdkuen, S. (2012). Re-extraction, recovery, and
677 characteristics of skin gelatin from farmed giant catfish. Food and Bioprocess
678 Technology, 5:1197–1205. 10.1007 / s11947-010-0408-3.
- 679 Santana, R. C., Sato, A. C. K. Cunha, R. L. (2012). Emulsions stabilized by heat-treated
680 collagen fibers. Food Hydrocolloids, 26, 73–81. 10.1016/j.foodhyd.2011.04.006.
- 681 Sarbon, N. M., Badii, F., & Howell, N. k. (2013). Preparation and characterisation of chicken
682 skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. Food Hydrocolloids, 30, 143–151.
683 doi:10.1016/j.foodhyd.2012.05.009.
- 684 See, S. F., Hong, P. K., Ng, K. L., Wan Aida, W. M., & Babji, A. S. (2010). Physicochemical
685 properties of gelatins extracted from skins of different freshwater fish species.
686 International Food Research Journal, 17, 809–816.
687 <https://pdfs.semanticscholar.org/98ae/5422744eea90543bacdf9344fc6e491e8f3b.pdf>.
- 688 Shahidi, F., Han, X. Q., & Synowieck, J. (1995). Production and characteristics of protein
689 hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry, 53:285–293. [https://](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030881469593934J)
690 www.sciencedirect.com/science/article/pii/030881469593934J.

- 691 Shakila, R. J., Jeevithan, E., Varatharajakumar, A., Jeyasekaran, G., & Sukumar, D. (2012).
692 Functional characterization of gelatin extracted from bones of red snapper and grouper
693 in comparison with mammalian gelatin. *LWT – Food Science and Technology*, 48, 30–
694 36. doi:10.1016/j.lwt.2012.03.007.
- 695 Shyni, K., Hem, G. S., Ninan, G., Mathew, S., Joshy, C. G., & Lakshmanan, P. T. (2014).
696 Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus*
697 *pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). *Food*
698 *Hydrocolloids*, 39, 68–76. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.008.
- 699 Silva, E. V. C., Lourenço, L. F. H., & Pena, R. S. (2017). Optimization and characterization
700 of gelatin from kumakuma (*Brachyplatystoma filamentosum*) skin. *CyTA - Journal of*
701 *Food*, 15, 361–368. <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2016.1266391>.
- 702 Surh, J., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2006). Properties and stability of oil-in water
703 emulsions stabilized by fish gelatin. *Food Hydrocolloids*, 20, 596–606.
704 Doi:10.1016/j.foodhyd.2005.06.002.
- 705 Talapphet, N., Trakul, P., & Raviyan, P. (2017). Process Optimization and Properties of
706 Crude Gelatin Extracted from Tannery Bovine Hide, *Food and Applied Bioscience*
707 *Journal*, 5, 132–148. <https://doi.org/10.14456/fabj.2017.11>.
- 708 Tu, Z., Huang, T., Wang, H, Sha, X., Shi, Y., Huang, X., Man, Z., & Li, D. (2015). Physico-
709 chemical properties of gelatin from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) scales
710 by ultrasound-assisted extraction. *Journal Food Science Technology*, 52, 2166–2174.
711 DOI 10.1007/s13197-013-1239-9.
- 712 Tylingo, R., Mania, S., Panek, A., Piątek, R., & Pawłowicz. R., 2016. Isolation and
713 Characterization of Acid Soluble Collagen from the Skin of African Catfish
714 (*Clarias gariepinus*), Salmon (*Salmo salar*) and Baltic Cod (*Gadus morhua*). *Journal*
715 *Biotechnology Biomaterials*, 6, 234–242. doi:10.4172/2155-952X.1000234.

- 716 Wangtueai S., Noomhorm A., Regenstein J. M. (2010). Effect of microbial transglutaminase
717 on gel properties and film characteristics of gelatin from Lizardfish (*Saurida spp.*)
718 Scales. *Journal Food Science*, 75, 731–739. 10.1111 / j.1750-3841.2010.01835.x.
- 719 Wu, W., Li, B., Hou, H., Zhang, H., & Zhao, X. (2017). Identification of iron-chelating
720 peptides from Pacific cod skin gelatin and the possible binding modeh, 35, 418–
721 427. doi:10.1016/j.jff.2017.06.013.
- 722 Yang, H., Wang, Y., Zhou, P., & Regenstein, J.M. (2008). Effects of alkaline and acid
723 pretreatment on the physical properties and nanostructures of the gelatin from channel
724 catfish skins. *Food Hydrocolloids*, 22, 1541–1550. doi:10.1016/j.foodhyd.2007.10.007.
- 725 Zeng, Q. R, Zhang, M., Adhikari, B. P., & Mujumdar, A. S. (2013). Effect of drying
726 processes on the functional properties of collagen peptides produced from chicken skin.
727 *Drying Technology*, 3, 1653–1660. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.790826>.
- 728 Zilhadia, Yahdiana., H., Irwandi, J., & Effionora, A. (2018). Characterization and functional
729 properties of gelatin extracted from goatskin. *International Food Research Journal*, 25,
730 275-281. [http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(01\)%202018/\(36\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(01)%202018/(36).pdf).
- 731 Zhang, Q., Wang, Q., Lv, S., Lu, J., Jiang, S., Regenstein, J. C., & Lin, L. (2016).
732 Comparison of collagen and gelatin extracted from the skins of Nile tilapia
733 (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food Bioscience*, 13,
734 41–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.12.005>.

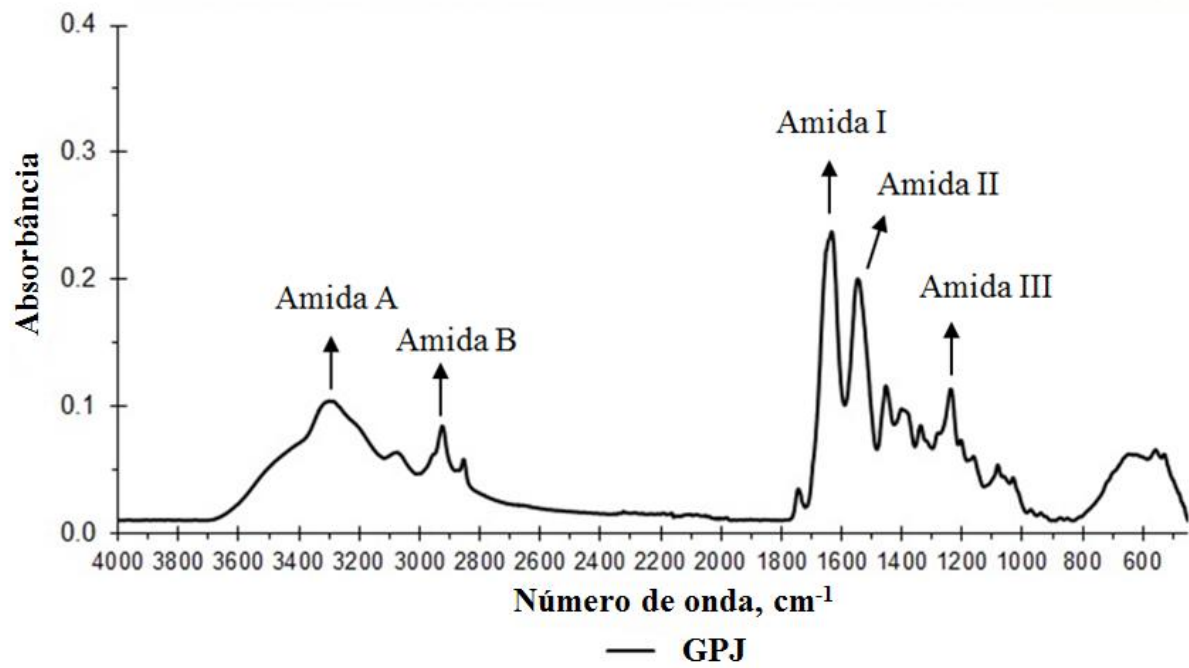


Figura 1: Espectro de FTIR da gelatina da pele de jundiá (GPJ).

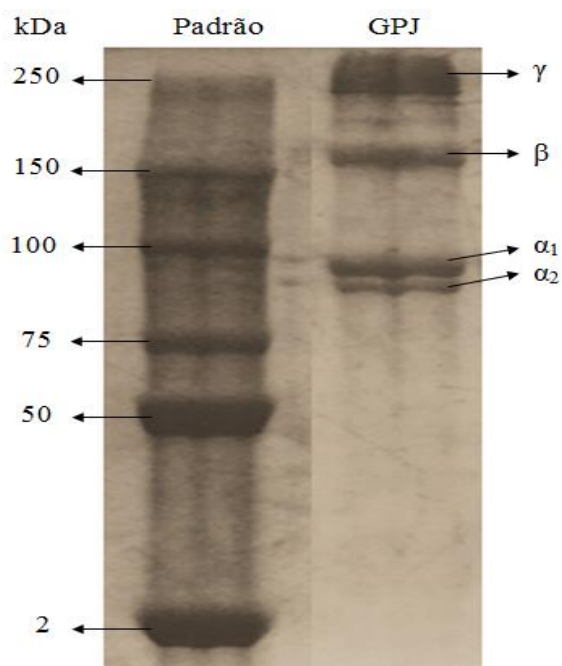


Figura 2: Distribuição do peso molecular da gelatina da pele de jundiá (GPJ) utilizando para comparação padrão de massa molar Precision Plus Protein Dual Xtras Standards, (Bio-Rad Laboratories Inc., Richmond, VA, USA).

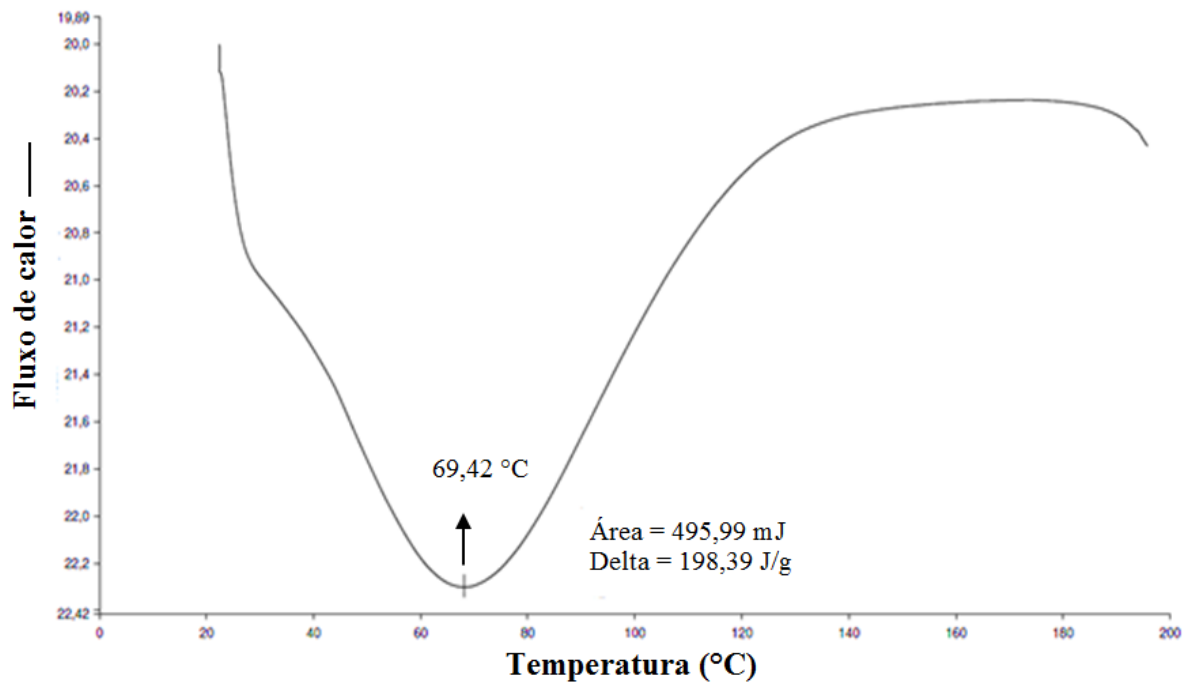


Figura 3: Curva da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) da gelatina da pele de jundiá (GPJ).

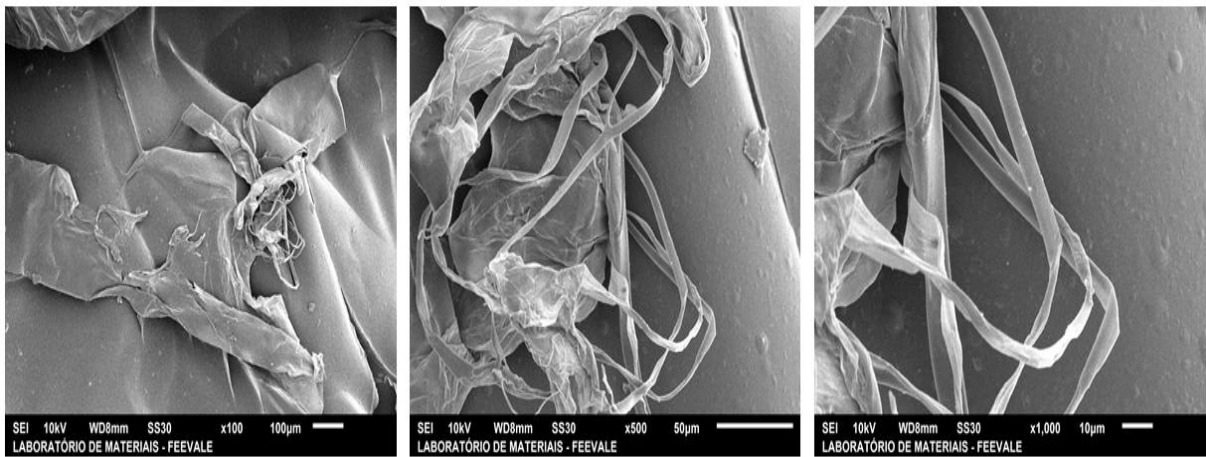


Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da gelatina da pele de jundiá (GPJ).

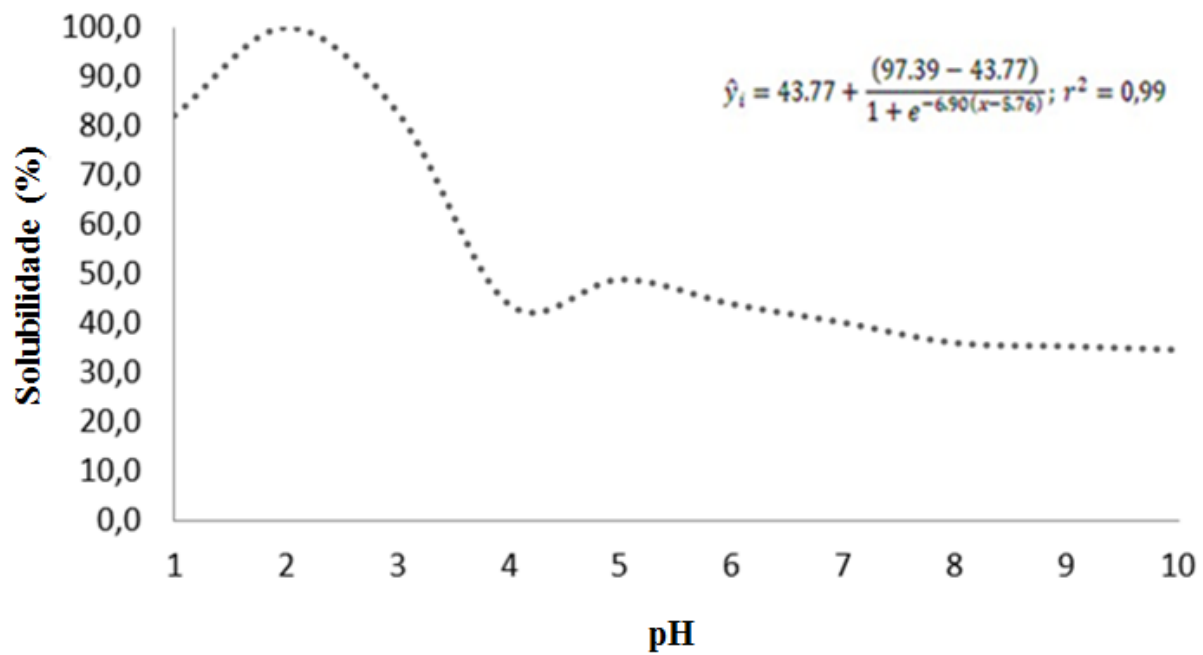


Figura 5: Gráfico da solubilidade da gelatina da pele de jundiá (GPJ).

Tabela 1: Rendimento e constituintes da pele de jundiá (PJ) e da gelatina da pele de jundiá (GPJ).

(%)	PJ		GPJ	
	AI	MS	AI	MS
Rendimento	7,3 ± 0,0	24,8 ± 0,1	18,2 ± 0,3	63,9 ± 0,0
Umidade	70,6 ± 0,8	-	6,7 ± 0,1	-
Proteína	26,3 ± 0,4	89,3 ± 2,9	88,1 ± 0,9	94,5 ± 1,0
Resíduo mineral	1,0 ± 0,1	3,4 ± 0,3	1,9 ± 0,1	2,2 ± 0,0
Lipídeos	1,7 ± 0,1	5,9 ± 0,4	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,0
Hidroxiprolina	1,5 ± 0,0	5,1 ± 0,1	7,2 ± 0,1	7,8 ± 0,2

Valores expressos em média ± desvio padrão; n=3; O fator 5,5 foi utilizado para calcular a proteína da GPJ. AI= amostra integral; MS= matéria seca.

Tabela 2: Resultados do índice de atividade emulsificante (EAI) e índice da estabilidade emulsificante (ESI) da gelatina da pele de jundiá (GPJ) em diferentes condições de temperatura e tempo.

Condições	EAI (m²/g)	ESI (min)
4 °C/24 h	83,9 ^b ± 0,6	47,9 ^b ± 0,4
24 °C	45,2 ^c ± 1,1	39,5 ^c ± 0,3
80 °C/30 min	110,5 ^a ± 0,3	156,0 ^a ± 0,5

Valores expressos em média ± desvio padrão, n=3; ^a Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (P <0,05).

Tabela 3: Capacidade de formação de espuma (CFE) e estabilidade de espuma (EE) em diferentes concentrações (C) de gelatina da pele de jundiá (GPJ).

	C (%)	CFE (%)	EE (%)				
			1 min	5 min	10 min	30 min	60 min
GPJ	0,2	28,3 ^C ±0,0	94,4 ^{Ca} ±0,0	91,2 ^{Cb} ±0,0	76,5 ^{Dc} ±2,1	47,1 ^{Cd} ±2,1	47,1 ^{Ce} ±0,0
	0,5	43,3 ^B ±0,6	97,3 ^{Ca} ±1,3	94,2 ^{Ba} ±0,1	82,7 ^{Cb} ±0,2	48,1 ^{Bc} ±0,6	46,1 ^{Bd} ±0,5
	1,0	67,5 ^A ±0,0	100,0 ^A ±0,0	92,9 ^B ±0,0	92,9 ^A ±0,0	74,4 ^A ±0,8	60,1 ^A ±0,8

Valores expressos em média ± desvio padrão, n = 3. ^{Aa} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna ou linha indicam diferenças significativas (P < 0,05)

5 DISCUSSÃO GERAL

O colágeno é uma proteína originada de subprodutos (peles, ossos, músculos, tecidos e vasos sanguíneos) de animais principalmente de bovinos e suínos (LIU et al. 2007; DAMODARAN et al. 2010). O material geralmente descartado é submetido à hidrólise química e/ou enzimática para a obtenção da proteína colagenosa (ZAVAREZE et al. 2009) e mais, por hidrólise parcial em água ($> 45\text{ }^{\circ}\text{C}$) o colágeno nativo dá origem a outro composto, a gelatina (GOMÉZ-GUILLÉN et al. 2002). Ambos possuem características tecnológicas e nutricionais importantes para as mais diversas áreas industriais: biomédica, farmacêutica, cosmética, fotográfica e alimentícia (KARIM; BHAT, 2009; VEERURAJ et al. 2015; WU et al. 2017).

Devido à ampla utilização, problemas sanitários relacionados aos produtos de mamíferos e por uma parte da população não consumir produtos originados dessas fontes (LI et al. 2013; VEERURAJ et al. 2013), a descoberta e/ou utilização de novos subprodutos para a produção de colágeno e gelatina estão sendo estudados com resultados positivos para a adição em muitos produtos das áreas citadas anteriormente (KIPLAGAT et al. 2017; TYLINGO et al. 2017; ALI et al. 2018; HUKMI; SARBON, 2018; PRADARAMESWARI et al. 2018; DAVE et al. 2019). Apesar da grande quantidade de estudos de fontes alternativas às de mamíferos, ainda não haviam sido mencionadas na literatura pesquisas com a pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) utilizada como subproduto na produção de colágeno e gelatina.

Assim, a pele de jundiá pode ser utilizada para a extração de colágeno solúvel em ácido (ASC), colágeno solúvel em pepsina (PSC) e colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) (GPJ) por apresentar como constituinte principal a proteína (26,9%) e quantidade significativa de hidroxiprolina (1,5%), aminoácido importante para a determinação da composição de colágeno na amostra e, conseqüentemente, a escolha do subproduto para a extração de compostos colagenosos e gelatinosos. Da mesma forma, o ASC, PSC e GPJ apresentaram dados desses constituintes elevados (89,7, 90,1 e 88,1% de proteína; 9,4, 9,5 e 7,2% de hidroxiprolina na amostra integral, respectivamente).

Os materiais apresentaram resultados positivos para o rendimento (15,1, 71,3 e 63,9% em base seca) para o ASC, PSC e GPJ, respectivamente, principalmente quando foi utilizada a pepsina na hidrólise enzimática para a obtenção do colágeno. Quando comparados com os colágenos da bexiga natatória do atum albacora (*Thunnus albacares*) (1,0 e 12,1%) (KAEWDANG et al. 2014), das escamas de robalo (*Lates calcarifer*) (0,4 e 1,0%) (CHUAYCHAN et al. 2015) e da gelatina de pele de lula (*Loligo vulgaris*) (13,2 e 6,8%)

(ABDELMALEK et al. 2016) os resultados desses estudos mostraram dados inferiores. Diferentes resultados para o rendimento são devido a moléculas altamente reticuladas na região do teleopeptídeo, que torna o colágeno menos solúvel em condições ácidas (ZHANG et al. 2007).

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) mostrou picos característicos na região da amida para todas as amostras. Para o ASC e PSC, o espectro confirmou a estrutura tripla helicoidal do colágeno e para a GPJ mostrou a estrutura secundária na amostra, indicando o desenrolar da tripla hélice e conseqüentemente, a hidrólise do colágeno em gelatina. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de colágeno da pele de bagre da Malásia (*Híbrido Clarias sp.*) (KIEW; MASHITA, 2013) e de gelatina de pele de robalo (*Lates calcarifer*) (SAE-LEAW; BENJAKUL, 2015).

O peso molecular é um importante fator analisado e relacionado com as propriedades funcionais do material que foi determinado pela eletroforese em gel (SDS-PAGE). Os dados mostraram bandas marcadas em alto peso molecular para todas as amostras e não apresentou um amplo espectro molecular com proporções de baixo peso molecular. Foram encontradas as cadeias α (α_1 e α_2) indicando que o material foi extraído de fonte de colágeno Tipo I (PEARSON; YOUNG, 1989), componetes β e γ que somados determinam a força do gel (MUYONGA et al. 2004) e por isso, os efeitos funcionais positivos são relacionados ao alto peso molecular encontrado em todas as amostras. Portanto, as propriedades funcionais dos compostos obtidos da PJ são comprovadas pelo resultado da SDS-PAGE. Em desacordo, a gelatina extraída de couro bovino (TALAPPHET et al. 2017) apresentou o perfil com bandas de menor peso molecular podendo apresentar características funcionais inferiores ao presente estudo.

Tanto o ASC, o PSC e a GPJ apresentaram elevada capacidade térmica evidenciada pela análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC), determinando a temperatura de desnaturação da amostra. Essa característica permite o uso desses materiais em processos que necessitem maior condição térmica e as amostras apresentaram melhores resultados que outros colágenos (VEERURAJ et al. 2013) e gelatinas extraídos de outras fontes (SARBON et al. 2013). Diferentes temperaturas são relacionadas principalmente com a composição de aminoácidos (SAI-UT et al. 2012) e perfil de eletroforese com alto peso molecular (JONGJAREONRAK et al. 2006) confirmado pela presença de hidroxiprolina e SDS-PAGE com bandas marcadas acima de 100 kDa nos compostos extraídos da PJ.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi avaliada na GPJ e mostrou camadas densas e não porosas, sendo relacionadas a substâncias de alto peso molecular devido a possível associação de moléculas de proteínas. Geralmente, materiais com alta porosidade são utilizados quando há necessidade de maior absorção líquida, como por exemplo, na indústria biomédica na fabricação de curativos que necessitam incorporar ao material medicamentos (PIRES et al. 2015), porém a GPJ pode ser utilizada quando há necessidade de melhorar as propriedades funcionais do produto devido a estrutura exposta na análise. Esse fato pode ser comprovado por ter apresentado resultado com efeito positivo para as propriedades emulsificantes e principalmente na avaliação da viscosidade. De modo geral, o ASP e PSC também apresentaram propriedades tecnológicas com dados expressivos em relação a outros estudos de fontes alternativas de colágenos de mamíferos (AEWSIRI et al. 2009), sendo recomendado que sejam utilizados como emulsificantes em condições que exijam a refrigeração dos produtos.

Portanto, diante de todos os dados mostrados e discutidos pode-se concluir que a PJ pode ser utilizada para a extração de colágeno solúvel em ácido (ASC), colágeno solúvel em pepsina e colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) (GPJ), evitando assim o descarte inadequado e promovendo a valorização do subproduto. Além disso, podem ser utilizados em processos industriais dos mais diversos setores e recomenda-se a aplicação destes materiais na indústria alimentícia em produtos para conferir maior concentração de proteína, adição em produtos para diabéticos em substituição aos carboidratos, a adição em produtos emulsionados sob refrigeração para o ASC e PSC e aquecimento para a GPJ devido as propriedades emulsificantes e ainda, em produtos que necessitem de viscosidade elevada.

Além de todos os resultados expostos, sugere-se que sejam avaliados os métodos para a obtenção de colágeno hidrolisado (peptídeos) que são compostos utilizados em muitos setores em função das suas características. Recomenda-se avaliar as metodologias com a utilização de ultrassom, testar o efeito de outras enzimas para talvez aumentar o rendimento e diminuir o tempo de extração, analisar a atividade antioxidante e antimicrobiana, e mais, realizar a aplicação desses materiais extraídos para monitorar o comportamento na vida de prateleira do produto, principalmente na área de alimentos, farmacêutica e cosmética que necessitam de ingredientes com as características apresentadas.

6 CONCLUSÃO

A pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) apresentou elevada concentração de proteína, hidroxiprolina e menor conteúdo de constituintes não desejáveis, como os lípideos e o resíduo mineral fixo. Esses últimos são compostos químicos que quando presentes em elevadas concentrações resultam em longos processos de remoção desses componentes no pré-tratamento do material, aumentando o tempo do processo e volume de reagentes químicos para a obtenção de colágeno e gelatina. Da mesma forma, os compostos obtidos (ASC, PSC e GPJ) também apresentaram as mesmas características químicas mostrando a pureza dos materiais.

De acordo com os resultados, o rendimento da extração com a utilização de pepsina para a obtenção de PSC mostrou efeito significativo com o aumento da concentração. Confirma-se também que as amostras foram extraídas de colágeno Tipo I, os mais utilizados no setor industrial em função das suas características e mais, apresentaram perfil com alto peso molecular que contribuiu de forma positiva nas características funcionais, principalmente nos resultados expostos como as propriedades emulsificantes e a viscosidade.

Portanto, a pele de jundiá (*Rhamdia quelen*) mostrou ser um subproduto possível de ser utilizado na extração de colágeno solúvel em ácido (ASC), colágeno solúvel em pepsina e colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) (GPJ) que até o presente momento foi o único estudo a apresentar os resultados do processo de extração e caracterização desses produtos. Desse modo, pode-se valorizar o material que seria descartado de forma inadequada causando poluição ambiental de forma negativa e mais, a indústria do pescado pode aumentar o retorno econômico com o processo de obtenção desses compostos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELMALEK, B. E.; GOMEZ-ESTACA, J.; SILA, A.; MARTINEZ-ALVAREZ, O. M.; CARMEN GOMEZ-GUILLEN, M. C.; CHAABOUNI-ELLOUZ, S.; AYADI, M. A.; BOUGATEF, A. Characteristics and functional properties of gelatin extracted from squid (*Loligo vulgaris*) skin. **Food Science and Technology**, v.65, p.924-931, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.024>.

AEWSIRI, T.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. Functional properties of gelatine from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide. **Food Chemistry**, v.115,p.243-249, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.012>.

ALFARO, A. T.; FONSECA, G. G.; BALBINOT, E.; PRENTICE, C. Characterization of wami tilapia (*Oreochromis urolepis hornorum*) skin gelatin: microbiological, rheological and structural properties. **Food Science Technology and International**, v. 20, p. 373-381, 2013. Disponível em: [10.1177/1082013213488776](https://doi.org/10.1177/1082013213488776).

ALI, A. M. M.; KISHIMURA H.; BENJAKUL, S. Physicochemical and molecular properties of gelatine from the skin of golden carp (*Probarbus Jullieni*), influenced by acid pretreatment and previous ultrasound. **Food Hydrocolloids**, v.82, 164-172, Disponível em: 2018. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.03.052.

AMIRKOLAIE, A. K. Reduction in the environmental impact of waste discharged by fish farms through feed and feeding. **Reviews in Aquaculture**, v.3, p.19-26, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01040.x>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA. **Anuário da Piscicultura**, 2021. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2021>.

BADII, F.; HOWELL, N. K. Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. **Food Hydrocolloids**, v.20, p. 630–640, 2006. Disponível em: doi:10.1016/j.foodhyd.2005.06.006.

BALTI, R.; JRIDI, M.; SILA, A.; SOUISSI, N.; NEDJAR-ARROUME, N.; GUILLOCHON, D. Extraction and functional properties of gelatin from the skin of cuttlefish (*Sepia officinalis*) using smooth hound crude acid protease-aided process. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.943–950. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.005>.

BENJAKUL, S.; KITTIPHATTANABAWON, P.; REGENSTEIN, J. M. Fish gelatin. **Food Biochemistry and Food Processing**, v.2, p. 388-405. Disponível em: <https://eclass.uowm.gr/modules/document/file.php/FOODQUAL105/Supplementary%20materials/Food%20Biochemistry/Food-biochemistry-and-food-processing-Simpson.pdf>.

BENTO, D. M.; BEMVENUTI, M. A. Os peixes de água doce da pesca artesanal no sul da Lagoa dos Patos, RS. **Caderno de Ecologia Aquática**, v.3, p.33-41, 2008. Disponível em: <https://www.yumpu.com/pt/document/read/14696909/os-peixes-de-agua-doce-da-pesca-artesanal-no-sul-da-lagoa>.

BORGES, A. **Valores hematológicos e bioquímicos séricos, efeitos de doses subletais da cipermetrina e características físico-químicas do sêmem do Jundiá *Rhamdia quelen***. 2005. 175 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/7256/000497424.pdf?sequence=1>.

BUENO, R. V. C. C. **Efeito da fibra de colágeno na qualidade funcional de “Cooked frozen beef”**. 2008. 107 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, 2008.

CHENG, X.; SHAO, Z.; LI, C.; YU, L.; RAJA, M. A.; LIU, C. Isolation, Characterization and Evaluation of Collagen from Jellyfish *Rhopilema esculentum* Kishinouye for Use in Hemostatic Applications. **PLoS ONE** **12**, v. 1, p. 1-2. Disponível em: [doi:10.1371/journal.pone.0169731](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169731).

CHO, S.M.; KWAK, K.S.; PARK, D.C. et al. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. **Food Hydrocolloids**, v.18, p. 573-579, 2004. Disponível em: [10.1016 / j.foodhyd.2003.10.001](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.001).

CHUAYCHAN, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Characteristics of acid- and pepsin-soluble collagens from scale of seabass (*Lates calcarifer*). **Food Science and Technology**, v.63, p.71-76, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.002>.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.32, p.499-503, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000300021>.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 409p. 1994.

CZAJKA, A.; KANIA, E. M.; GENOVESE, L.; CORBO, A.; MERONE, G.; LUCI, C.; SIBILLA, S. Daily oral supplementation with collagen peptides combined with vitamins and other bioactive compounds improves skin elasticity and has a beneficial effect on joint and general wellbeing. **Nutrition Research**, v.57, p. 97-108, 2018. Disponível em: [doi:10.1016/j.nutres.2018.06.001](https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.06.001).

DAVE, D.; LIU, Y.; CLARK, L.; DAVE, N.; TRENHOLM, S.; WESTCOTT, J. Availability of marine collagen from New found land fisheries and aquaculture waste resources. **Bioresearch Technology Reports**, v.7, p.100271, 2019. Disponível em: doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100271.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**, Porto Alegre: Artmed, 900p. 2010.

DEMAN, J.M. **Principles of Food Chemistry**. Aspen: Maryland, p.147-149, 1999.

DENIS, A.; BRAMBATI, N.; DESSAUVAGES, B.; GUEDJI, S.; RIDOUX, C.; MEFFRE, N. et al. Molecular weight determination of hydrolyzed collagens. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p.989-994, 2008. Disponível em: [doi: 10.1016/j.foodhyd.2007.05.016](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.05.016).

DIAMANTINO, I. M. **Efeito de substitutos de gordura na qualidade de queijo Prato com reduzido teor de gordura**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Estadual Paulista, 2011. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/99044>.

FERREIRA, A.M.; GENTILE, P.; CHIONO, V.; CIARDELLI, G. Collagen for bone tissue regeneration. **Acta Biomaterialia**, v.8, p. 3191-3200, 2012. Disponível em: 10.1016 / j.actbio.2012.06.014.

FURLAN, C. P. B.; SREBERNICH, S. M. Avaliação sensorial de barras de cereais diet com adição de goma acácia ou com adição de colágeno hidrolisado como agente ligante. **Anais**. XIV Encontro de Iniciação Científica da PUC-Campinas, 2009. Disponível em: <http://www.puc-campinas.edu.br/websist/portal/pesquisa/ic/pic2009/htm/resumos.htm#93>.

FRANCISCHETTI, G.; ORTELAN, C. B.; CONTRERAS-CASTILHO, C. J. C.; GALLO, C. R.; CAVENAGHI, A.; MONTENEGRO, L. C. Caracterização e vida-útil do músculo *biceps femoris* (coxão duro) submetidos à marinação com pó de colágeno, fibra de trigo e proteína isolada de soja. **Anais**. 4º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes. Campinas; p.378-380, 2007. Disponível em: <https://bv.fapesp.br/pt/bolsas/67163/caracterizacao-e-vida-util-do-musculo-biceps-femoris-coxao-duro-submetidos-a-marinacao-com-fibra-d/>.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, p. 179-185, 2000. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782000000100029>.

GOMÉZ-GUILLÉN, M. C.; FERNANDÉZ-DÍAZ, M. D.; ULMO, N.; LIZARBE, M. A.; MONTERO, P. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.16, p.25-34, 2002. Disponível em: doi:10.1016/S0268-005X(01)00035-2 j.foodhyd.2011.04.006.

GOMÉZ-GUILLÉN, M. C.; PÉREZ-MATEOS, M.; GÓMEZ-ESTACA, J.; LOPEZ-CABALLERO, E.; GIMÉNEZ, B.; MONTERO, P. Fish Gelatin: Renewable material for developing active biodegradable films. **Food Science and Technology**, v.20, p.3-16, 2009. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/36028876.pdf>.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; GIMÉNEZ, B.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v.25, p.1813-1827, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.007>.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. Atheneu, São Paulo. 2011.

GROSSMAN, S.; BERGMAN, M. Process for the production of gelatin from fish skins. **US patent**, v.5, p.393-474, 1992. Disponível em: <https://patents.google.com/patent/US5093474A/en>.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia spp*) na região central do Rio Grande do Sul (*Pisces, Pimelodidae*)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Santa Maria, 1980.

- HAMDAN, F.S.; SARBON, N. M. Isolation and characterization of collagen from Fringescale sardinella (*Sardinella fimbriata*) waste materials. **International Food Research Journal**, v.26, p.133-140, 2019. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/26%20\(01\)%202019/\(14\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/26%20(01)%202019/(14).pdf).
- HOQUE, S. M.; BENJAKUL, S.; PRODPRANB, T. Effect of heat treatment of film-forming solution on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. **Journal Food Engineering**, v.96, p.66-73, 2010. Disponível em: 10.1016 / j.jfoodeng.2009.06.046.
- HUANG, C.Y.; KUO, J.M.; WU, S.J.; TSAI, H.T. Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis* sp.) by a novel extrusion–hydro-extraction process. **Food Chemistry**, 190: 997-1006, 2016. Disponível em: doi: 10.1016 / j.foodchem.2015.06.066.
- HUKMI, N. M.; SARBON, N. M. Isolation and characterization of acid soluble collagen (ASC) and pepsin soluble collagen (PSC) extracted from silver catfish (*Pangasius* sp.) skin. **International Food Research Journal**, v.25, p.2601-2607, 2018. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(06\)%202018/\(48\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(06)%202018/(48).pdf).
- JOHNSTON-BANKS, F. A. **Gelatin. In: Food Gels.** (Edited by P. Harris), 233-289. Elsevier Applied Science Publishers: London, 1990.
- JONGJAREONRAK, A.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; PRODPRAN, T.; TANAKA, M. Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe, red snapper and bigeye snapper. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.492-501, 2006. Disponível em: 10.1016/j.foodhyd.2005.04.007
- KAEWDANG, O.; BENJAKUL, S.; KAEWMANEE, T.; KISHIMURA, H. Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). **Food Chemistry**, v.155, p.264-270, 2014. Disponível em: <https://doi:10.1016/j.foodchem.2014.01.076>.
- KARIM, A. A.; BHAT, R. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. **Food Science Technology**, v.19, p.56, 2008. Disponível em: 10.1016 / j.tifs.2008.08.001.
- KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.563-576, 2009. Disponível em: 10.1016 / j.foodhyd.2008.07.002.
- KIEW, P. P.; MASHITA, M. D. Isolation and characterization of collagen from the skin of Malaysian catfish (*Hybrid Clarias* sp.). **Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry**. v.56, p.441-450, 2013. Disponível em: <https://doi:10.1007/s13765-013-3114-9>.
- KIPLAGAT, C. S.; ONYARI, J. M.; MULLA, F.; WABOMBA, J. Extraction and characterization of gelatin from *Lates niloticus* and potential industrial applications. **Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry**, v.15, p.53-64, 2017. Disponível em: 10.13057/biofar/f150202.
- KOLI, J. M.; BASU, S.; NAYAK, B. B.; PATANGE, S. B.; PAGARKAR, A.U.; GUDIPATI, V. Functional characteristics of gelatin extracted from skin and bone of Tiger-

toothed croaker (*Otolithes ruber*) and Pink perch (*Nemipterus japonicus*). **Food and Bioproducts Processing**, v.90, p.555-562, 2012. Disponível em: 10.1016/j.fbp.2011.08.001.

KITTIPHATTANABAWON, P.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; NAGAI, T.; TANAKA, M. Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). **Food Chemistry**, v.89, p.363-372, 2005. Disponível em: doi:10.1016/j.foodchem.2004.02.042.

KITTIPHATTANABAWON, P.; BENJAKUL, S.; SINTHUSAMRAN, S.; KISHIMURA, H. Characteristics of collagen from the skin of clown featherback (*Chitala ornata*). **International Journal of Food Science and Technology**, v.50, p.1972-1978, 2015. Disponível em: <https://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/bitstream/2115/62747/1/Kishimura.pdf>.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680-685, 1970. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/227680a0>.

LAFARGA, T.; HAYES, M. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. **Meat Science**, v.98, p.227-239, 2014. Disponível em: 10.1016 / j.meatsci.2014.05.036.

LEHNINGER A. L. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo (SP): Sarvier; 1995.

LI, Z. R.; WANG, B.; CHI, C. F.; ZHANG, Q. H.; GONG, Y. D.; TANG, J. J.; LUO, H. Y.; DING, G. Isolation and Characterization of Acid Soluble Collagens and Pepsin Soluble Collagens from the Skin and Bone of Spanish Mackerel (*Scomberomorus niphonius*). **Food Hydrocolloids**, v.3, p.103-113, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996912005546>.

LIU, D. H. Y.; LI, S.; GUO, D. Studies on collagen from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Food Chemistry**, v.101, p.621-625, 2007. Disponível em: doi:10.1016/j.foodchem.2006.01.059

MASILAMANI, D.; MADHAN, B.; SHANMUGAM, G.; PALANIVEL, S.; NARAYAN, B. Extraction of collagen from raw trimming wastes of tannery: a waste to wealth approach. **Journal of Cleaner Production**, v.113, p.338-344, 2016. Disponível em: 10.1016 / j.jclepro.2015.11.087.

MAXIMO G. J.; CUNHA R. L. Mechanical properties of collagen fiber and powder gels. **Journal Texture Study**, v.56, p.62, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00258.x>.

MEURER, S.; ZANIBONI FILHO, E. Z. Hábito alimentar do jundiá *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae), na região do alto rio Uruguai. XII Encontro Brasileiro de Ictiologia. **Anais**. São Paulo: p. 29, 1997.

MICHELINI, R. P.; NADAI, A. C.; KAMEI, C. A. K.; SANTANA, J.; YAMADA, E. A.; ANDRADE, J. C. Elaboração de hambúrguer bovino com baixo teor de gordura adicionado de colágeno. **Anais**. 4º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes. Campinas; p.378-80, 2007.

MOHTAR, N. F.; PERERA, C.; QUEK, S. Optimization of gelatin extraction from hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skins and measurement of gel strength and SDS-PAGE. **Food Chemistry**, v.122, p.307-313, 2010. Disponível em: [10.1016 / j.foodchem.2010.02.027](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.027).

MIZUTA, S.; FUJISAWA, S.; NISHIMOTO, M.; YOSHINAKA, R. Biochemical and immunochemical detection of types I and V collagens in tiger puffer (*Takifugu rubripes*). **Food Chemistry**, v.89, p.373-377, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.043>.

MUHAMMAD, K. M. L.; ARIFFIN, F.; ABD RAZAK, H. K. B.; SULAIMAN, P. D. S. Review of Fish Gelatin Extraction, Properties and Packaging Applications. **Food Science Nutrition**, v.56, p.47-59, 2016. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/234684459.pdf>.

MUYONGA, J. H.; COLE, C.G. B.; DUODU, K. G. Characterisation of Acid Soluble Collagen from Skins of Young and Adult Nile Perch (*Lates niloticus*). **Food Chemistry**, v.85, p.81-89, 2004. Disponível em: [https://doi:10.1016/j.foodchem.2003.06.006](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.006).

NAGARAJAN, M.; SHAKILA, R. J.; SUKUMAR, D.; JEYASEKARAN, G. Skin, bone and muscle collagen extraction from the trash fish, leather jacket (*Odonus niger*) and their characterization. **Journal of Food Science and Technology**, v.50, p.1106-1113, 2013. [10.1007 / s13197-011-0440-y](https://doi.org/10.1007/s13197-011-0440-y).

NALINANON, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H.; OSAKO, K. Type I collagen from the skin of ornate threadfin bream (*Nemipterus hexodon*): Characteristic and effect of pepsin hydrolysis. **Food Chemistry**, v. 125, p.500-507, 2011. Disponível em: [10.1016 / j.foodchem.2010.09.040](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.040).

NEKLYUDOV, A. D. Nutritive fibers of animal origin: collagen and its fractions as essential components of new and useful food products. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 39, p.229-238, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1023589624514>.

NORLAND, R. E. **Fish gelatin**. In Advances in fisheries technology and biotechnology for increased profitability, Lancaster: Technomic Publishing Co., p.325-333, 1990.

NUNES A, NETO C, SOUZA M, FELICIANO R, FORMIGONI MLM, ISAUSTI E. O. Processamento de mortadela de filé de Tilápia com fibras de colágeno. **Revista Eletrônica Educação e Tecnologia**, v.5, p. 1-25, 2011. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?lookup=0&q=Processamento+de+mortadela+de+fil%C3%A9+de+Til%C3%A1pia+com+fibras+de+col%C3%A1geno&hl=pt-BR&as_sdt=0,5.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: no caminho da pesquisa**. Cocal do Sul: Imprint. 2001.

PAMPLONA, J. H. **Avaliação dos efeitos tóxicos da dipirona sódica em peixe Rhamdia quelen: estudo bioquímico, hematológico e histopatológico**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 70 f, 2009. Disponível em: https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/22354/Dissertacao_JulianaPamplona.pdf?sequence=1&isAllowed=y

PEARSON, A. M.; YOUNG, R. B. **Muscle and Meat Biochemistry**. 1th ed., San Diego: Academic Press Inc. v.1, p.457-468, 1989.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v.38, p.957-971, 2015. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/v38n7a13.pdf>.

PRABHU, G. A.; DOERSCHER, D. R.; HULL, D. H.; Utilization of pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat products. **Journal of Food Science**, v.69, p.388-392, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10703.x>

PRADARAMESWARI, K. A.; ZAELANI, K.; WALUYO, E.; NURDIANI, R. The physico-chemical properties of pangas catfish (*Pangasius pangasius*) skin gelatin. **Earth and Environmental Science**, v.137, p.012067, 2018. Disponível em: doi :10.1088/1755-1315/137/1/012067.

PRESTES, R. C. Colágeno e seus derivados: características e aplicações em produtos cárneos. **Ciência Biológicas da Saúde**, v.15, p. 65-74, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2013v15n1p%25p>.

RAHMAN, M. S.; AL-SAIDI, G. S.; GUIZANI, N. Thermal characterization of gelatin extracted from yellowfin tuna skin and commercial mammalian gelatin. **Food Chemistry**, v.108, p.472-481, 2008. Disponível em: 10.1016 / j.foodchem.2007.10.079.

RAN, X. G.; WANG, L. Y. Use of ultrasonic and pepsin treatment in tandem for collagen extraction from meat industry by-products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, p.585-590, 2014. Disponível em: 10.1002/jsfa.6299.

SAATH, K. C. O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.56, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1234-56781806-94790560201>.

SAE-LEAW, T.; BENJAKUL, S. Physico-chemical properties and fishy odour of gelatin from seabass (*Lates calcarifer*) skin stored in ice. **Food Bioscience**, v.10, p.59-68, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.02.002>.

SAI-UT, S.; JONGJAREONRAK, A.; RAWDKUEN, S. Re-extraction, recovery, and characteristics of skin gelatin from farmed giant catfish. **Food and Bioprocess Technology**, v.5, p.1197-1205, 2012. Disponível em: 10.1007 / s11947-010-0408-3

SANTANA, R. C.; SATO, A. C. K.; CUNHA, R. L. Emulsions stabilized by heattreated collagen fibers. **Food Hydrocolloids**, v.26, p.73-81, 2012. Disponível em: 10.1016/j.foodhyd.2011.04.006.

SARABIA, A. I.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. The effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin. **Food Chemistry**, v.70, p.71-76, 2000. Disponível em: 10.1016 / S0308-8146 (00) 00073-X.

SARBON, N. M.; BADI, F.; HOWELL, N. K. Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.30, p.143-151, 2013. Disponível em: doi:10.1016/j.foodhyd.2012.05.009.

SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. **Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice**, 1st ed.; JohnWiley & Sons: Eberbach, Germany, 2007; p. 347.

SCHILLING, M. W.; MINK, L. E.; GOCHENOUR, P. S.; MARRIOTT, N. G.; ALVARADO, C. Z. Utilization of pork collagen for functionality improvement of boneless cured ham manufactured from pale, soft, and exudative pork. **Meat Science**, v.65, p.547-53, 2003. Disponível em: 10.1016 / S0309-1740 (02) 00247-4.

SCHULTER, E. P.; FILHO, E. R. V. **Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia**. 42 f, 2017. Disponível em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/8043/1/td_2328.pdf.

SILVA, R. S. G., BANDEIRA, S. F., PETRY, F. C.; PINTO, L. A. A. Extração de gelatina a partir das peles de cabeça de carpa comum. **Ciência Rural**, v.41, p.904-909, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000059>.

SILFVERGRIP, A. M. C. **A systematic revision of the neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. Thesis (PhD in Zoology) - Department of Zoology, Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, 1996.

SINGH, P.; BENJAKUL, S.; MAQSOOD, S.; KISHIMURA, H. Isolation and characterization of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). **Food Chemistry**, v.124, p.97-105, 2011. <https://doi:10.1016/j.foodchem.2010.05.111>.

SIONKOWSKA, A. The influence of UV light on collagen/poly (ethylene glycol) blends. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91, p.305-312, 2006. Disponível em: 10.1016 / j.polyimdegradstab.2005.05.012.

TALAPPHET, N.; TRAKUL, P., RAVIYAN, P. Process Optimization and Properties of Crude Gelatin Extracted from Tannery Bovine Hide. **Food and Applied Bioscience Journal**, v.5, p.132-148, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.14456/fabj.2017.11>.

TORLEY, P. J.; D'ARCY, B. R.; TROUT, G. R. The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and preblending on the functional properties of normal and pale, soft, exudative (PSE) pork. **Meat Science**, v.55, p.451-62, 2000. Disponível em: 10.1016 / s0309-1740 (00) 00004-8.

TYLINGO, R.; MANIA, S.; PANEK, A.; PIĄTEK, R.; PAWŁOWICZ, R. Isolation and Characterization of Acid Soluble Collagen from the Skin of African Catfish (*Clarias gariepinus*), Salmon (*Salmo salar*) and Baltic Cod (*Gadus morhua*). **Journal Biotechnology Biomaterials**, v.6, p.234-242, 2016. Disponível em: doi:10.4172/2155-952X.1000234.

VEERURAJ, A.; ARUMUGAM, M.; BALASUBRAMANIAN, T. Isolation and characterization of thermostable collagen from the marine eel-fish (*Evenchelys macrura*).

Biochemistry, v.48, p.1592-1602, 2013. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2013.07.011>.

VEERURAJ, A.; ARUMUGAM, M.; AJITHKUMAR, T.; BALASUBRAMANIAN, T. Isolation and Characterization of Collagen from the Outer Skin of Squid (*Doryteuthis singhalensis*). **Food Hydrocolloids**, v.43, p.708-716, 2015. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X14002689>.

VIJAYAN, D.K.; SREEREKHA, P. R.; TEJPAL, C. S.; ASHA, K. K.; MATHEW, S.; RAVISHANKAR, C. N.; ANANDAN, R. Extraction and characterization of acid soluble collagen (ASC) from airbladder of striped cat fish (*Pangasius hypophthalmus*). **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v.6, p.310-318, 2018. Disponível em: <https://www.fisheriesjournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=4&part=D&ArticleId=1648>.

WALRAND, S.; CHIOTELLI, E.; NOIRT, F.; MWEWA, S.; LASSEL, T. Consumption of a functional fermented milk containing collagen hydrolysate improves the concentration of collagen-specific amino acids in plasma. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.56, p.7790-7795, 2008. Disponível em: 10.1021 / jf800691f .

WARD, A. G.; COURTS, A. **The science and technology of gelatin**. Academic Press, London, 1977.

WASZKOWIAK, K.; DOLATA, W. The application of collagen preparations as carriers of Rosemary extract in the production of processed meat. **Meat Science**, v.75, p. 178-183, 2007. Disponível em: 10.1016 / j.meatsci.2006.01.004.

WOLF, F. A. Collagen and gelatina. **Progress in Biotechnology**, v.23, p.133-218, 2003. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=NL2003690260>.

WONG, D. W. S. **Química de los alimentos: mecanismos y teoría**. Zaragoza: Zaragoza; 1995.

YOUSEFI, M. F.; ARIFFIN, F.; HUDA, N. An alternative source of type I collagen based on by-product with higher thermal stability. **Food Hydrocolloids**, v.63, p.372-382, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.029>.

ZAVAREZE, E. R.; SILVA, C. M.; MELLADO, M. S.; PRENTICE- HERNÁNDEZ, C. Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*Prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas. **Química Nova**, v.32, p.1739-1743, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000700011>.

ZEUGOLIS, D.I.; RAGHUNATH, M. **Collagen: Materials Analysis and Implant Uses**. In: P. Ducheyne, K. Healy, D. Hutmacher, D. Grainger, C. Kirkpatrick (Eds.). **Comprehensive Biomaterials**, Ed. Elsevier , p.261- 278, 2011.

ZENG, Q.; Zhang, M.; Benu P. Adhikari, B. P.; Mujumdar, A. S. Effect of Drying Processes on the Functional Properties of Collagen Peptides Produced from Chicken Skin. **Drying Technology: An International Journal**, v.31, p.1653-1660, 2013. Disponível em: 10.1080/07373937.2013.790826.

ZHANG, Y.; LIU, W.; LI, G.; SHI, B.; MIAO, Y.; WU, X. Isolation and partial characterization of pepsin-soluble collagen from the skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Food Chemistry**, v.103,p.906-912, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814606007679>.

ZHOU, P.; REGENATEIN, J. M. Comparison of desserts from fish skin and meat of pork gelatin gel water using instrumental measurements. **Journal Food Science**, v.72, p.196–201, 2007. Disponível em: 10.1111 / j.1750-3841.2007.00320.




ANEXO

O manuscrito 1 intitulado “Jundiá fish skin (*Rhamdia quelen*): an unexplored by-product with great potential to be used as a novel source of collagen” foi publicado no Journal of Aquatic Food Product Technology em formato online em 08 de agosto de 2021. Acesso em: <https://doi.org/10.1080/10498850.2021.1963379>.

JOURNAL OF AQUATIC FOOD PRODUCT TECHNOLOGY
<https://doi.org/10.1080/10498850.2021.1963379>



Jundiá Fish Skin (*Rhamdia quelen*): An Unexplored By-product with Great Potential to Be Used as a Novel Source of Collagen

Camila Giacomelli Da Silva^a, Angela Souza Rodrigues^a, Daniela Pedrolo Weber Toniasso^a, Fernando Dal Pont Morisso^b, Paulo Cezar Bastianello Campagnol ^a, Renius de Oliveira Mello ^a, Rosa Cristina Prestes Dornelles^a, and Ernesto Hashime Kubota ^a

^aDepartment of Food Science and Technology, Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Brazil;

^bAdvanced Materials Research Laboratory, Feevale University, Novo Hamburgo, Brazil

ABSTRACT

For the first time, the skin of jundiá fish (*Rhamdia quelen*) (JS) was used to isolate acid-soluble collagen (ASC) and pepsin-soluble collagen (PSC). The ASC and PSC showed levels of 89.7 and 90.1% of protein, respectively. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) indicated that the samples had groups in the amide region (A, B, I, II, and III) and that the helical conformation was not affected by the extraction methods. Furthermore, Sodium dodecyl-sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) showed that the extracted collagens were Type I and that they presented high denaturation temperatures (57.7 and 59.9°C for ASC and PSC, respectively). ASC and PSC exhibited positive results in terms of technological properties. Thus, JS represents a novel source of collagen that can be used on an industrial scale.

KEYWORDS

Fish collagen; acid-soluble collagen; pepsin-soluble collagen; FTIR