
Collagen extraction and physicochemical characterization of animal by-products

Extração de colágeno e caracterização físico-química de subprodutos de origem animal

Received: 15-06-2024 | Accepted: 19-07-2024 | Published: 23-07-2024

Rherysonn Pantoja de Jesus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9316-6138>

Universidade Federal do Amazonas, Brasil

E-mail: rherysonn@ufam.edu.br

Ariane Mendonça Kluczkovski

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1785-3766>

Universidade Federal do Amazonas, Brasil

E-mail: ariane@ufam.edu.br

Antonio José Inhamus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8663-2786>

Universidade Federal do Amazonas, Brasil

E-mail: asilva@ufam.edu.br

Tatiane Pereira de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1164-2191>

Universidade Federal do Amazonas, Brasil

E-mail: tpsouza@ufam.edu.br

ABSTRACT

Collagen is the most abundant structural protein in animals, being the main component of the skin, and can be researched and utilized by the cosmetics, pharmaceutical, food, and packaging industries. The present study investigates the extraction and quantification of collagen from three different animal sources: beef mocotó, chicken feet, and tambaqui swim bladder. Using the method of extraction in soluble acid solution (acetic acid) and precipitation in sodium chloride saline solution, collagen yields and their physicochemical properties were determined. The results revealed that the tambaqui swim bladder, especially the outer layer, presented the highest yield (39.97%), followed by chicken feet (3.49%) and bovine mocotó (1.79%). This study highlights the viability of these sources for the production of high-quality collagen, with potential applications in the cosmetics, pharmaceutical, and biomaterials industries, promoting a sustainable and economical approach to the use of animal by-products.

Keywords: Collagen; Protein; Swim bladder.

RESUMO

O colágeno é a proteína estrutural mais abundante em animais, sendo o principal componente da pele, podendo ser pesquisada e utilizada pelas indústrias de cosméticos, medicamentos, alimentos e embalagens. O presente estudo investiga a extração e quantificação de colágeno de três diferentes fontes animais: mocotó bovino, pés de galinha e bexiga natatória do tambaqui. Utilizando o método de extração em solução ácido solúvel (ácido acético) e precipitação em solução salina de cloreto de sódio, foram determinados os rendimentos de colágeno e suas propriedades físico-químicas. Os resultados revelaram que a bexiga natatória do tambaqui, especialmente a camada externa, apresentou o maior rendimento (39,97%), seguido pelo pé de galinha (3,49%) e pelo mocotó bovino (1,79%). Este estudo destaca a viabilidade dessas fontes para a produção de colágeno de alta qualidade, com potenciais aplicações em indústrias cosméticas, farmacêuticas e biomateriais, promovendo uma abordagem sustentável e econômica para a utilização de subprodutos animal.

Palavras-chave: Colágeno; Proteína; Bexiga natatória.

INTRODUÇÃO

O colágeno é a proteína estrutural mais abundante em animais, compreendendo cerca de 30% da proteína total no corpo humano e desempenhando um papel crucial na formação de tecidos conjuntivos, como pele, ossos, tendões e cartilagens, apresentando alto teor de proteínas e propriedades funcionais (capacidade de absorção de água, formação de gel, emulsões estabilizadoras e etc.) (Lin et al., 2018). Suas propriedades únicas de biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade de formar redes tridimensionais o tornam um material de grande interesse em aplicações biomédicas, farmacêuticas e teciduais, tendo várias aplicações industriais, incluindo cosméticos, produtos farmacêuticos, biomateriais e alimentos (Silva et al., 2014; Hashemi et. al., 2019).

Tradicionalmente, o colágeno é extraído de subprodutos de animais como a pele, os ossos bovinos e suínos, uma vez que esses materiais são abundantes em colágeno do tipo I e III (Schrieber & Gareis, 2007). No entanto, tais fontes citadas apresentam desafios expressivos relacionados à segurança devido ao risco de transmissão de doenças zoonóticas, tais como: encefalopatia espongiforme bovina (BSE), encefalopatia espongiforme transmissível (TSE) e febre aftosa (FA). Também existem problemas éticos e religiosos com restrições culturais para sua utilização nesse meio (White et al., 2020; Krishnamoorthi et al., 2017). O colágeno pode ser extraído de inúmeras espécies animais e geralmente é derivado da pele, tendão, cartilagem e osso de animais como as principais fontes de colágeno. Alguns pesquisadores têm investigado diferentes

abordagens de extração de colágeno de diferentes fontes animais, como peixes e aves (Kaewdang et al., 2014; Matinong et al., 2022).

A extração de colágeno de diferentes fontes animais varia em termos de eficiência, pureza e propriedades finais do produto. Mamíferos, como bovinos e suínos, são fontes comuns de colágeno devido à sua disponibilidade e alto teor de colágeno em tecidos como pele e cartilagem. Bovinos e suínos ainda representam a principal fonte desta proteína (Chen et al., 2019), mas devido aos recorrentes casos de zoonoses mencionadas anteriormente e as já citadas barreiras religiosas presentes em grupos como Judeus, Muçulmanos, Hindus e Adventistas, a busca por fontes alternativas e mais seguras de colágeno tornou-se uma opção atrativa (Benjakul et al., 2019). Nesse contexto, produtos animais de outras origens como aves e pescados surgem como alternativas promissoras. Subprodutos, como os pés de galinha e bexiga natatória de pescado, podem frequentemente ser descartados como resíduos, mas representam uma oportunidade de agregar valor por meio da extração de colágeno, contribuindo assim para a sustentabilidade ambiental e economia circular (Sun et al., 2017; Zhang et al., 2020(1)).

Quanto a extração de colágeno, o “mocotó” bovino, que é composto de cartilagem e tendões dos cascos de bovinos, é uma rica fonte de colágeno tipo I, conhecido por suas aplicações na saúde das articulações e no reparo de tecidos (Rahimi, 2020). Estudos demonstram que o colágeno extraído do tendão bovino, apresenta alta capacidade de hidratação e excelente estabilidade térmica, o que o torna adequado para aplicações biomédicas e cosméticas (Zhang et al., 2020(2)). Os pés de galinha, outro subproduto abundante, contêm uma alta concentração de colágeno tipo I. Sendo amplamente utilizado na produção de gelatinas, produtos cosméticos e biomateriais devido à sua pureza e excelente biocompatibilidade (Lin & Liu 2006). Pesquisas sugerem que o colágeno extraído dos pés de galinha tem propriedades reológicas e funcionais comparáveis às fontes tradicionais, mas com a vantagem de ser uma fonte mais sustentável e econômica (Zhou et al., 2016). A bexiga natatória do tambaqui (*Colossoma macroponum*), um subproduto da indústria pesqueira, é uma fonte não convencional, porém promissora a extração de colágeno. Pesquisas demonstraram que as bexigas natatórias de peixes podem fornecer colágeno de alta qualidade com propriedades valiosas para a produção de biomateriais e suplementos alimentares

(Zhang et al., 2020). O tambaqui, um peixe de água doce nativo da região amazônica, é amplamente cultivado no Brasil, tornando esta fonte de colágeno não apenas sustentável, mas também economicamente viável (Procópio et al., 2024).

Levando em consideração as vantagens que a proteína de colágeno apresenta, tendo em vista sua vasta aplicação e diante da importância e do destaque em desenvolver mais pesquisas relacionadas à extração desta biomolécula, o objetivo deste estudo visa investigar a viabilidade de extração de colágeno a partir de resíduos e partes do processamento de matéria-prima de origem animal incluindo: colágeno dos pés de bovinos, pés de frango e bexiga natatória de tambaqui. Acredita-se que o uso de subprodutos animais para extração de colágeno pode contribuir significativamente para a sustentabilidade ambiental e economia circular, ao mesmo tempo em que atende à crescente demanda por produtos naturais e funcionais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção de amostras

Amostras de origem bovina e avícola foram adquiridas em supermercados de grandes redes localizados em diferentes locais na cidade de Manaus-AM, enquanto as amostras do pescado tambaqui foram obtidas de doação de um frigorífico da cidade de Manaus-AM. Os materiais de diferentes fontes nutricionais, após aquisição, foram transportados para o Laboratório de Inovação e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica (LIDETEF) e Núcleo de Estudos em Composição e Toxicologia de Alimentos (NECTA) no Setor Sul do Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), em caixas térmicas com gelo e mantidas em freezer (-18 °C).

Pré-tratamento das Amostras

As amostras de origem bovina e avícola foram lavadas em água corrente, posteriormente o excesso de água foi eliminado com o auxílio de peneira e papel toalha. Em seguida, foram retiradas as peles e gordura e posteriormente cortadas, com o auxílio de uma faca, em diâmetro médio de 0,5cm a 1,0cm. As amostras de pescado foram preparadas a partir limpeza e separação das bexigas natatórias, as quais foram lavadas para retirar o excesso de sangue sendo, em seguida, o excesso de água retirado com o auxílio de papel toalha. Após esse procedimento, as bexigas foram separadas em dois tipos de amostras, (B1 – camada interna da bexiga e B2 – camada externa da bexiga).

Em seguida foram cortadas, com o auxílio de uma tesoura, em diâmetro médio de 0,5cm a 1,0cm.

Determinação da composição centesimal das amostras

As análises da composição centesimal das quatro amostras, foram realizadas em triplicata seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). O teor de umidade foi determinado, por método gravimétrico, através da secagem em estufa (105°C) até obtenção de peso constante; a quantificação de minerais foi realizada por método gravimétrico, através da carbonização em fogão a gás e posteriormente a incineração em mufla a 550°C até apresentar cor cinza claro ou branca; o teor de lipídios totais foi determinado pela extração com hexano em extrator tipo Soxhlet.

Extração de Colágeno pelo Método Ácido Solúvel (ASC)

Para extração de colágeno, foi utilizado o método de Sinthusamran (2013) com modificações, onde as amostras foram separadas de acordo com a origem animal e, posteriormente, pesadas 100 gramas de cada. Em seguida, foi adicionado solução de ácido acético (0,5M) na proporção 1:15 (m/v) para as amostras de origem bovina e avícola, sendo que para as amostras da bexiga natatória, foi respeitado a proporção 1:20 (m/v). Posteriormente, deixou-se em repouso sob refrigeração a 4°C por 72 horas. Após o tempo de repouso, foi adicionado uma solução de NaCl a 0,8M, de acordo com o volume inicial, deixando-a em contato sob refrigeração a 4°C por 24 horas. O precipitado foi centrifugado, no equipamento *Hitachi high-speed refrigerated centrifuge* CR21GIII, a 12000 rpm por 25 min à 4°C. As etapas de centrifugação e precipitação repetiram-se por 3 vezes, sempre tendo o descarte do sobrenadante e adição de água destilada. Por fim, o material extraído foi congelado para posteriormente ser liofilizado em equipamento Alpha 1-2 LSCbasic, Martin Christ.

Quantificação de Proteína Bruta

Para a determinação do conteúdo proteico dos extratos foi utilizado o método de Kjeldahl, de acordo com IAL, 2008, que determina o Nitrogênio (N) total na amostra, sendo realizado ao final o fator de conversão de 6,25. O método de Kjeldahl consiste em determinar o conteúdo de nitrogênio total da amostra, utilizando três fases: Digestão, destilação e titulação.

Rendimento de colágeno

O rendimento em porcentagem do colágeno obtido da extração foi determinado utilizando a equação abaixo, a qual foi definida utilizando e considerando: o Produto acabado (colágeno) como sendo o Peso produto final encontrado e o peso da Matéria-Prima utilizada para extração. Após a divisão, o resultado foi multiplicado por 100 para chegar no rendimento em porcentagem do colágeno obtido.

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

Análise Estatística

Os resultados foram analisados através de análise de variância (ANOVA), seguido de testes de tuckey, considerando um $p < 0,05$ para estatisticamente significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados das avaliações físico-químicas relativas à composição centesimal das amostras antes do processo de extração de colágeno. Estes dados são essenciais para entender o potencial de cada fonte na extração de colágeno e suas possíveis aplicações industriais.

Tabela 1: Composição centesimal e valor energético em amostras para extração de colágeno.

Amostras	Composição centesimal (média ± desvio padrão)					Valor Energético (Kcal/100g)
	Umidade (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	Minerais (%)	Carboidratos* (%)	
Pé de galinha	64,69 ^b ± 0,67	16,30 ^d ± 0,52	17,95 ^a ± 0,58	0,93 ^b ± 0,03	0,13	227,27
Mocotó bovino	65,26 ^b ± 0,63	27,66 ^c ± 0,14	6,13 ^b ± 0,46	0,96 ^b ± 0,05	0,00	165,81
Bexiga Natatória (B1)	66,95 ^a ± 0,22	29,19 ^b ± 0,17	2,61 ^c ± 0,15	1,21 ^a ± 0,05	0,04	140,41
Bexiga Natatória (B2)	60,98 ^c ± 0,13	36,21 ^a ± 0,28	1,77 ^c ± 0,22	0,93 ^b ± 0,02	0,11	161,21

Médias seguidas de mesma letra nas linhas significa que não há diferença estatística pelo teste de Tukey com nível de significância de $p < 0,05$. *O valor de carboidratos foi calculado pela diferença da soma (umidade, proteínas, lipídios, minerais) menos cem (100).

Os resultados indicam diferenças significativas na composição centesimal entre as quatro fontes de colágeno. Obteve-se diferença maior nos valores de proteínas,

lipídeos e potencial calórico final, este, sendo mais elevado no pé de galinha, devido a maior quantidade de lipídeos totais encontrado na amostra. Comparado as outras três amostras, o pé de galinha apresentou maior quantidade de lipídeos e conseqüentemente menor valor de proteínas, fator inversamente proporcional nos resultados obtidos da camada externa da bexiga natatória (B2), pois apresentou menor quantidade de lipídeos e maior quantidade de proteínas. De acordo com Zienkiewicz et al. (2014) os lipídeos contidos na matéria-prima podem interferir negativamente no rendimento da extração de proteínas, diminuindo o rendimento do colágeno a ser obtido.

O pé de galinha apresentou uma composição média de 64,69% de umidade, 16,30% de proteínas, 17,95% de lipídios, 0,93% de minerais e 0,13% de carboidratos, calculados pela diferença. Estes resultados corroboram com os estudos de Lin & Liu (2006), que identificaram uma alta proporção de lipídios no pé de galinha, destacando suas potenciais aplicações em produtos alimentares e cosméticos, bem como na produção de colágeno tipo I, que é altamente puro e biocompatível. Já um estudo realizado pela Universitat Rovira i Virgili, em Tarragona (Espanha), Bravo et al., 2023, com o escopo de valorização, verificou a composição centesimal de diferentes subprodutos de abatedouros de frangos, e constatou que amostras de pé de frango apresentam médias de 62% de umidade, 20% proteínas, 5% de lipídeos e 8% de minerais, tais resultados demonstram variações significativas em relação aos nossos dados, especialmente na quantificação de lipídios e minerais. Essas discrepâncias podem ser atribuídas a diferenças nos métodos de processamento, local, condições de criação dos frangos e nas técnicas analíticas empregadas. É importante notar que a menor proporção de lipídios reportada por Bravo et al. (2023) pode influenciar diretamente a extração e a qualidade do colágeno obtido, uma vez que a presença de lipídios pode interferir na pureza do colágeno.

A alta proporção de proteínas em ambos os estudos destaca o potencial do pé de galinha como uma fonte viável para a extração de colágeno. O colágeno tipo I, que pode ser isolado do pé de galinha, é altamente valorizado por suas propriedades estruturais e funcionais, sendo amplamente utilizado na indústria cosmética, alimentícia e farmacêutica. A compatibilidade dos resultados proteicos com os achados de Lin & Liu (2006) e Bravo et al. (2023), reforçam a robustez dos nossos dados e a viabilidade de utilização do pé de galinha para tais fins.

O mocotó bovino apresentou uma composição média de 65,26% de umidade, 27,66% de proteínas, 6,13% de lipídios, e 0,96% de minerais. Esses resultados são consistentes com os relatados por Noorzai et al. (2020), que investigaram a extração de colágeno de várias fontes de resíduos de couro bovino. O estudo de Noorzai et al. (2020) destacou que a composição dos resíduos bovinos pode variar, mas geralmente apresenta altos teores de proteínas e baixos teores de lipídios e minerais, tornando-os adequados para a extração de colágeno. Em estudo realizado por Matinong et al. (2022), que focou na extração de colágeno da pele animal, os autores destacaram que a composição dos tecidos conectivos varia amplamente entre diferentes fontes animais e que os métodos de processamento podem influenciar significativamente os rendimentos e a pureza do colágeno extraído. Embora o foco principal do estudo de Matinong et al. (2022) fosse a pele animal, as conclusões sobre a eficiência de extração e a pureza do colágeno são relevantes para a análise do mocotó bovino. A semelhança na composição proteica e lipídica entre os estudos sugere que o mocotó bovino pode ser um material alternativo valioso para a produção de colágeno.

A análise da bexiga natatória do tambaqui (camada interna) revelou uma composição média de 66,95% de umidade, 29,19% de proteínas, 2,61% de lipídios, 1,21% de minerais e 0,04 % de carboidratos, enquanto a camada externa apresentou 60,98% de umidade, 36,21% de proteínas, 1,77% de lipídios, 0,93% de minerais e 0,11% de carboidratos. Esses resultados são superiores aos encontrados por Kaewdang et al. (2014), que relataram valores inferiores de proteínas e lipídios na bexiga natatória de atum albacora (*Thunnus albacares*). No entanto, Kaewdang et al. (2014) destacaram a adequação da bexiga natatória de atum como uma fonte rica de colágeno de alta qualidade devido à sua alta concentração de proteínas e baixos teores de lipídios.

Chen et al. (2019) examinaram as propriedades físico-químicas e antioxidantes do colágeno extraído das bexigas natatórias do giant croaker (*Nibea japonica*) e avaliaram sua eficácia na cicatrização de feridas. Os resultados indicaram que a bexiga natatória é uma excelente fonte de colágeno, com propriedades antioxidantes e de cicatrização de feridas significativas. Comparando com os resultados obtidos para a bexiga natatória do tambaqui, observa-se que a alta concentração de proteínas e os baixos teores de lipídios tornam a bexiga natatória do tambaqui igualmente promissora para aplicações biomédicas e cosméticas.

A análise da quantidade de nitrogênio total nas diferentes amostras revelou variações significativas, refletindo a natureza e a composição única de cada fonte. Sendo a essencial a determinação de proteínas para avaliar o potencial das amostras na extração de colágeno de alta qualidade.

A tabela abaixo apresenta os resultados da quantidade de proteínas, e atividade de água dos extratos colagenosos, após multiplicação do fator de conversão (6,25), nas amostras de pé de galinha, mocotó bovino e bexiga natatória do tambaqui (camadas interna e externa).

Tabela 2: Quantificação de proteínas e atividade de água nos extratos de colágeno.

Amostras	Proteínas (%)	Atividade de Água (Aw)
Pé de galinha	24,87 ^d ± 0,263	0,6358
Mocotó bovino	68,37 ^c ± 0,355	0,6179
Bexiga Natatória (B1 - Camada Interna)	73,51 ^b ± 0,561	0,6730
Bexiga Natatória (B2 - Camada Externa)	77,14 ^a ± 0,252	0,5730

Médias seguidas de mesma letra nas linhas significa que não há diferença estatística pelo teste de Tukey com nível de significância de $p < 0,05$

Os resultados da média dos valores de proteínas para as amostras de extrato avícola de colágeno revelaram um teor médio de proteínas de 24,87%. Tal valor é relativamente baixo em comparação com o estudo de Almeida (2018), que reportou uma composição proteica significativa no colágeno extraído de *Gallus gallus domesticus*. Esse alto teor proteico destaca o potencial do colágeno avícola para aplicações biomédicas e cosméticas, porém quanto a quantidade total de proteínas comparado as outras amostras, verificou-se um valor bem abaixo. Gardim et al. (2018) investigaram a otimização da extração de colágeno de pés de frango utilizando a metodologia da superfície de resposta, encontrando resultados semelhantes. A abordagem de Gardim et al. (2018) enfatiza a importância de otimizar as condições de extração para maximizar o rendimento e a qualidade do colágeno, o que pode ser aplicado ao colágeno avícola, aumentando ainda mais seu valor como matéria-prima.

Para o mocotó bovino, os resultados mostraram um teor médio de proteínas de 70,78%, um valor bastante significativo que é equivalente ao estudo de Noorzai et al. (2020), com resíduos de couro bovino. Este elevado teor de proteínas no mocotó bovino reforça sua adequação para a extração de colágeno tipo I, amplamente utilizado em aplicações biomédicas e cosméticas devido às suas propriedades de hidratação e

estabilidade térmica. Fauzi et al. (2016) estudaram a extração e caracterização do colágeno de tendões ovinos, revelando que o colágeno extraído possui características favoráveis para aplicações em engenharia de tecidos. A comparação com os nossos resultados mostra que tanto o colágeno avícola quanto o bovino possuem altos teores proteicos, porém, o colágeno bovino destaca-se ainda mais devido ao seu teor proteico excepcionalmente alto.

Para a bexiga natatória do tambaqui, os resultados ficam próximos, porém a camada externa apresentou uma média maior em comparação à camada interna, 80,66% e 77,51%, respectivamente. Esses resultados são corroborados por estudos como os de Costa et al. (2022), que avaliaram as propriedades físico-químicas do colágeno extraído da pele de tilápia do Nilo em meio ácido, destacando a alta concentração de proteínas e a baixa presença de lipídios. Em comparação com estudos sobre a extração de colágeno a partir da cabeça de pirarucu (Guida, 2019) e extração de gelatina a partir de subprodutos (pele e carcaça) de tilápia (Ferreira et al., 2015), verifica-se que a bexiga natatória do tambaqui possui características similares em termos de composição proteica, tornando-a uma fonte promissora de colágeno para diferentes aplicações industriais e médicas. Além disso, estudos como o de Muyonga et al. (2004) sobre a caracterização físico-química da gelatina de pele e ossos do pescado perca-do-nilo enfatizam a importância de fontes sustentáveis e eficientes para a extração de proteínas colagenosas, reforçando a relevância dos nossos resultados para o potencial uso da bexiga natatória do tambaqui como uma matéria-prima valiosa.

A análise quantitativa de proteína total nas amostras revela que a bexiga natatória do tambaqui, tanto nas camadas interna e externa, são a fonte mais rica em proteínas, destacando-se como uma excelente matéria-prima para a extração de colágeno. As elevadas concentrações de proteínas nessas camadas são superiores às encontradas no mocotó bovino e no pé de galinha, indicando um maior potencial para aplicações industriais em produtos cosméticos, alimentares e biomédicos.

Após o processo de extração e liofilização, foram determinados os rendimentos de colágeno extraído das três fontes animais - mocotó bovino, pé de galinha e bexiga natatória do tambaqui (camadas interna e externa). A Tabela 3 resume os resultados obtidos.

Tabela 3. Porcentagem do rendimento de colágeno

Fonte de extração	Rendimento (%)
Mocotó bovino	1,79
Pé de galinha	3,49
Bexiga Natatória (B1 - Camada Interna)	5,18
Bexiga Natatória (B2 - Camada Externa)	39,97

Conforme verificado na tabela 3, os resultados indicam que a bexiga natatória do tambaqui apresentou o maior rendimento de colágeno, especialmente na camada externa, com um rendimento surpreendentemente alto de 39,97%. Isso contrasta fortemente com os rendimentos de colágeno do mocotó bovino (1,79%) e do pé de galinha (3,49%).

Ju et al. (2020) relataram rendimentos de colágeno utilizando métodos de extração solubilizada em ácido modificado e extração auxiliada por pepsina de tendões bovinos. Os rendimentos obtidos em nosso estudo para o mocotó bovino são consideravelmente menores, o que pode ser atribuído às diferenças na metodologia de extração e nas características dos tecidos utilizados. A extração auxiliada por pepsina geralmente resulta em rendimentos mais altos devido à eficácia da pepsina em clivar as ligações peptídicas específicas no colágeno, facilitando sua solubilização.

Para rendimentos de colágeno de pés de galinha, Zhou et al. (2016) reportaram rendimentos médios de 14,49% utilizando extração solubilizada em ácido acético. Em comparação, nosso rendimento de 3,49% é menor, o que pode ser resultado das variações nos procedimentos de extração, como o tipo e a concentração de ácido utilizado, o tempo de extração, e as condições de liofilização. No entanto, Woo et al. (2023) demonstraram que a hidrólise enzimática com alcalase pode aumentar significativamente o rendimento, resultando em colágeno de baixo peso molecular. Este método poderia ser explorado em futuros estudos para aumentar os rendimentos do pé de galinha em nosso protocolo.

Os resultados obtidos para a bexiga natatória do tambaqui destacam seu potencial como uma fonte altamente eficiente de colágeno. O rendimento significativamente maior da camada externa (39,97%) em comparação com a interna (5,18%), sugere uma maior concentração de colágeno na camada externa, possivelmente devido à sua estrutura mais densa e rica em fibras colágenas. Kurniasih et al. (2021)

estudaram a influência do período de extração nas características do colágeno solúvel em ácido da bexiga natatória do peixe-gato (*Arius thalassinus*). Eles observaram que o aumento do tempo de extração resultou em rendimentos mais elevados de colágeno (40,33%). Em nosso estudo, o tempo de extração também desempenhou um papel crucial, especialmente para a camada externa da bexiga natatória do tambaqui. O rendimento extremamente alto de 39,97%, sugerindo que as condições otimizadas de extração possam ter sido mais eficientes em solubilizar o colágeno da camada externa, que é mais robusta e estruturalmente complexa.

Estudos realizados por Dong e Dai (2022), que investigaram as propriedades físico-químicas, estruturais e antioxidantes de colágenos extraídos de bexigas natatórias de quatro espécies de peixes, relataram variações significativas nas propriedades do colágeno dependendo da espécie e do método de extração. O método utilizado pelos pesquisadores foi com solubilização em pepsina, obtendo rendimentos de variam entre 10,35% a 38,98%. Em comparação, os rendimentos obtidos em nosso estudo para a bexiga natatória do tambaqui, especialmente para a camada externa, são notavelmente altos, o que sugere uma alta eficiência na recuperação do colágeno.

A otimização dos métodos de extração, incluindo a variação do tempo e das condições de solubilização, é crucial para maximizar a recuperação do colágeno. Além disso, a caracterização detalhada das propriedades mecânicas e térmicas do colágeno extraído permitirá uma melhor compreensão de suas potencialidades e limitações em diferentes aplicações.

CONCLUSÃO

Neste estudo, o colágeno foi extraído de três fontes animais, usando o ácido acético como solução ácida para extração de colágeno. Os resultados demonstram claramente que a bexiga natatória do tambaqui, particularmente a camada externa, é uma fonte superior de colágeno, tendo um rendimento significativamente maior em comparação a camada interna da bexiga, ao mocotó bovino e ao pé de galinha. Este alto rendimento, combinado com as características físico-químicas favoráveis do colágeno extraído, sugere que a camada externa da bexiga natatória do tambaqui pode ser uma matéria-prima altamente eficaz para a produção de colágeno em grande escala.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo de Pesquisa à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pelo apoio para realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. J. Extração e caracterização de colágeno provindo de *Gallus gallus domesticus*: desenvolvimento de tecnologias para o tratamento de lesões cutâneas. 2018. 135 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado Acadêmico em Socio biodiversidade e Tecnologias Sustentáveis - MASTS Instituto de Engenharia e Desenvolvimento Sustentável – IEDS Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2018.

BENJAKUL, S.; KITTIPHATTANABAWON, P. Gelatin. Module in Food Science, 2018.

BRAVO, F. I.; CALVO, E.; LÓPEZ-VILLALBA, R. A.; TORRES-FUENTES, C.; MUGUERZA, B.; GARCÍA-RUIZ, A.; MORALES, D. Valorization of Chicken Slaughterhouse Byproducts to Obtain Antihypertensive Peptides. *Nutrients*, v. 15, p. 457, 2023.

CHEN, Y.; JIN, H.; YANG, F.; JIN, S.; LIU, C.; ZHANG, L.; HUANG, J.; WANG, S.; YAN, Z.; CAI, X.; ZHAO, R.; YU, F.; YANG, Z.; DING, G.; TANG, Y. Physicochemical antioxidant properties of giant croaker (*Nibea japonica*) swim bladders collagen and wound healing evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 138, p. 483-491, 2019.

COSTA, F. T.; OLIVEIRA, T. P.; DROVAL, A. A.; MARQUES, L. L. M.; FUCHS, R. H. B.; CARDOSO, F. A. R. Evaluation of physicochemical properties of Nile tilapia skin collagen extracted in acid medium. *Brazilian Journal of Biology*, v. 84, p. e255440, 2022.

DONG, Y.; DAI, Z. Physicochemical, Structural and Antioxidant Properties of Collagens from the Swim Bladder of Four Fish Species. *Marine Drugs*, v. 20, 2022.

FAUZI, M.; LOKANATHAN, Y.; AMINUDDIN, B.; RUSZYMAH, B.; CHOWDHURY, S. Ovine tendon collagen: Extraction, characterisation and fabrication of thin films for tissue engineering applications. *Materials Science & Engineering C, Materials for Biological Applications*, v. 68, p. 163-171, 2016.

FERREIRA, M.; GOMES, A.; GOZZO, A. Extração e caracterização de gelatina a partir de subprodutos de Tilápia do Nilo (*Sarotherodon niloticus*). *Blucher Chemical Engineering Proceedings*, v. 1, n. 3, p. 1786-1792, 2015.

GARDIM, R. B.; ALMEIDA, P. F.; GAMARRA, F. M. C.; BORINI, G. B.; SANTANA, J. C. C. Otimização da extração do colágeno de pés de frango pela metodologia da superfície de resposta. São Paulo: Blucher, 2018. ISSN 2359-1757.

GUIDA, L. M. Extração de colágeno obtido a partir de subprodutos do pirarucu (*Arapaima gigas*). 2019.

JU, H.; LIU, X.; ZHANG, G.; LIU, D.; YANG, Y. Comparação das características estruturais de fibrilas de colágeno nativas derivadas de tendões bovinos usando dois métodos diferentes: extração solubilizada em ácido modificado e extração auxiliada por pepsina. *Materials*, v. 13, 2020.

HASHEMI, S. S.; MOHAMMADI, A. A.; KABIRI, H.; HASHEMPOOR, M. R.; MAHMOODI, M.; AMINI, M.; MEHRABANI, D. The healing effect of Wharton's jelly stem cells seeded on biological scaffold in chronic skin ulcers: A randomized clinical trial. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v. 18, n. 6, p. 1961-1967, 2019.

KAUSDANG, O.; BENJAKUL, S.; KAUSMANEE, T.; KISHIMURA, H. Characteristics of collagens from the swim bladders of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Food Chemistry*, v. 155, p. 264-270, 2014.

KRISHNAMOORTHY, J.; RAMASAMY, P.; SHANMUGAM, V.; SHANMUGAM, A. Isolation and partial characterization of collagen from outer skin of Sepia pharaonis (Ehrenberg, 1831) from Puducherry coast. *Biochemistry and Biophysics Reports*, v. 10, p. 39-45, 2017.

KURNIASIH, R.; SWASTAWATI, F.; RIYADI, P.; RIANINGSIH, L. The influence of extraction period on the characteristics of acid soluble collagen from sea catfish (*Arius thalassinus*) swim bladder. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, v. 890, 2021..

LIN, Y.; LIU, D. Comparison of physical-chemical properties of type I collagen from different species. *Food Chemistry*, v. 99, p. 244-251, 2006.

LIN, K.; ZHANG, D.; MACEDO, M.; CUI, W.; SARMENTO, B.; SHEN, G. Advanced Collagen-Based Biomaterials for Regenerative Biomedicine. *Advanced Functional Materials*, v. 29, 2018.

MATINONG, A.; CHISTI, Y.; PICKERING, K.; HAVERKAMP, R. Collagen Extraction from Animal Skin. *Biology*, v. 11, 2022.

MUYONGA, J. H.; COLE, C. G. B.; DUODU, K. G. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) skin and bone gelatin. *Food Hydrocolloids*, v. 18, n. 4, p. 581-592, 2004.

NOORZAI, S.; VERBEEK, C. J. R.; LAY, M. C. Extração de colágeno de várias fontes de resíduos de couro bovino. *Waste Biomass Valor*, v. 11, p. 5687-5698, 2020.

- PROCÓPIO, F. R. Pesquisadores obtêm gelatina da pele do tambaqui. Embrapa, 2024..
- RAHIMI, K.; ALIZADEH, M.; ABDEKHODAIE, M. Comparative study of physical properties of enzymatic in situ hydrogels based on bovine Achilles tendon collagen and rat tail collagen. In: 2020 27th National and 5th International Iranian Conference on Biomedical Engineering (ICBME). 2020. p. 143-147.
- SINTHUSAMRAN, S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Comparative study on molecular characteristics of acid soluble collagens from skin and swim bladder of seabass (*Lates calcarifer*). Food Chemistry, v. 138, n. 4, p. 2435-2441, 2013.
- SUN, L.; HOU, H.; LI, B.; ZHANG, Y. Characterization of acid-and pepsin-soluble collagen extracted from the skin of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Biological Macromolecules, v. 99, p. 8-14, 2017.
- SCHRIEBER, R.; GAREIS, H. Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice. Wiley-VCH, 2007.
- SILVA, T. H.; MOREIRA-SILVA, J.; MARQUES, A. L.; DOMINGUES, A.; BAYON, Y.; REIS, R. L. Marine origin collagens and its potential applications. Marine Drugs, v. 12, n. 12, p. 5881-5901, 2014.
- ZHANG, F.; WANG, A.; LI, Z.; HE, S.; SHAO, L. Extraction and characterization of collagen from fresh and aged grass carp skins: Comparative study on acid-soluble and pepsin-soluble collagen. Journal of Aquatic Food Product Technology, v. 29, n. 5, p. 497-508, 2020 (1).
- ZHANG, T.; SUN, R.; DING, M.; LI, L.; TAO, N.; WANG, X.; ZHONG, J. Commercial cold-water fish skin gelatin and bovine bone gelatina: structural, functional, and emulsion stability differences. LWT-Food Science and Technology, v. 125, 2020 (2).
- WHITE, R.; RAZGOUR, O. Emerging zoonotic diseases originating in mammals: a systematic review of effects of anthropogenic land-use change. Mammal Review, v. 50, p. 336-352, 2020.
- WOO, H.; JEONG, G.; CHOI, H.; LEE, C. Characterization of Low-Molecular-Weight Collagen from Korean Native Chicken Feet Hydrolyzed Using Alcalase. Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 33, p. 656-661, 2023.
- ZIENKIEWICZ, A.; REJÓN, J. D.; DIOS ALCHÉ, J.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M. I.; CASTRO, A. J. A protocol for protein extraction from lipid-rich plant tissues suitable for electrophoresis. Methods Mol Biol. 2014;1072:85-91.
- ZHOU, C.; YANHUA, L.; YU, X.; YANG, H.; MA, H.; YAGOUB, A.; CHENG, Y.; HU, J.; OTU, P. Extraction and characterization of chicken feet soluble collagen. LWT-Food Science and Technology, v. 74, p. 145-153, 2016.