



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS

Juliana Lopes de Lima

**HIDROLISADO ENZIMÁTICO ASSISTIDO POR ULTRASSOM DE SUBPRODUTO
DE FRANGO: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PEPTÍDEOS**

Florianópolis
2026

Juliana Lopes de Lima

**HIDROLISADO ENZIMÁTICO ASSISTIDO POR ULTRASSOM DE SUBPRODUTO
DE FRANGO: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PEPTÍDEOS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de
Santa Catarina como parte das exigências para obtenção
do título de doutora em Ciências dos Alimentos

Orientador: Profa. Dra. Maria Manuela Camino Feltes.
Coorientadora: Profa. Dra. Marta Suely Madruga

Florianópolis

2026

Ficha de identificação da obra

Lima, Juliana Lopes de
HIDROLISADO ENZIMÁTICO ASSISTIDO POR ULTRASSOM DE
SUBPRODUTO DE FRANGO: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE
PEPTÍDEOS / Juliana Lopes de Lima ; orientador, Maria
Manuela Camino Feltes, coorientador, Marta Suely Madruga,
2026.

160 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Hidrolise. 3. Subproduto.
4. Enzima. 5. Colágeno. I. Feltes, Maria Manuela Camino.
II. Madruga, Marta Suely. III. Universidade Federal de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos
Alimentos. IV. Título.

Juliana Lopes de Lima

Hidrolisado enzimático assistido por ultrassom de subproduto de frango: obtenção e caracterização de peptídeos

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado, em 13 de abril de 2026 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Juliano de Dea Lindner
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Profa. Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco
Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL

Profa. Dra. Taliana Kennia Alencar Bezerra
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em Ciências dos Alimentos pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.



Documento assinado digitalmente
JANE MARA BLOCK
Data: 26/06/2026 10:23:16-0300
CPF: ***.767.659-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profª. Dra. Jane Mara Block
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos



Documento assinado digitalmente
Maria Manuela Camino Feltes
Data: 26/06/2026 09:19:20-0300
CPF: ***.421.910-**
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Profª. Dra. Maria Manuela Camino Feltes
Orientadora

Florianópolis, 2026.

Este trabalho é dedicado a todos aqueles que não tiveram as mesmas oportunidades que eu de estudar, especialmente meus pais. Que a educação seja um direito e não um privilégio.

AGRADECIMENTOS

A Capes pela concessão da bolsa;

Ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) - UFSC;

Ao laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) - UFSC;

Ao laboratório de Controle e Processos de Polimerização (LCP) - UFSC;

Ao laboratório Interdisciplinar para Desenvolvimento de Nanoestruturas – UFSC;

Ao laboratório de Óleos e Gorduras (LOG) – CAL/UFSC;

Ao laboratório de Bromatologia - CAL/UFSC;

Ao laboratório de Análise de Alimentos (LACA) - UFPB;

A minha orientadora Dra. M. Manuela Feltes pela confiança e toda ajuda na execução do projeto. E pelo acolhimento em seu grupo de pesquisa;

A minha coorientadora Dra. Marta Madruga, por fazer parte de mais uma etapa da minha formação acadêmica, por me permitir usar o espaço coordenado por ela nos testes iniciais e toda a contribuição na execução do projeto;

Ao professor Dr. André Zibetti, por suas considerações no planejamento do experimento e nas análises estatísticas;

Ao professor Dr. Giustino Tribuzi, por viabilizar a infraestrutura para a condução dos experimentos;

Aos professores da banca pela disponibilidade em avaliar este estudo, e suas valiosas contribuições;

Aos espaços e pessoas da UFPB e UFSC utilizados na execução do projeto;

Ao André Uginone e aos Frangos Morgana, pela doação da matéria-prima utilizada na pesquisa;

À LNF- pela doação das enzimas;

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, especialmente a minha família.

A Deus, pela vida.

“É justo que muito custe, o que muito vale” (TERESA DE ÁVILA, 1577).

RESUMO

A produção avícola global e brasileira apresenta um crescimento contínuo, gerando um volume significativo de subprodutos que, muitas vezes, são subutilizados como ingredientes de baixo valor agregado. Informações sobre a caracterização físico-química da moela, do revestimento interno da moela e do proventrículo de frango são escassos. Além disso, dados sobre a obtenção de hidrolisados enzimáticos destes subprodutos avícolas e a sua caracterização são inexistentes. Diante desse cenário, este estudo teve como objetivo avaliar o aproveitamento do revestimento interno da moela de frango, uma película rica em proteínas (42,30 g/100g) e com baixo teor lipídico (0,74 g/100g), como substrato para a obtenção de colágeno hidrolisado enzimaticamente. A metodologia iniciou-se com uma prospecção científica e bibliométrica nas bases Scopus® e Web of Science, que revelou uma tendência crescente de publicações (2012-2025) focadas no uso de enzimas como a Alcalase® para extração de colágeno de pés e pele, mas indicou uma lacuna inédita quanto ao uso da moela e ultrassom assistivo para a condução das reações. A caracterização físico-química preliminar confirmou que o revestimento interno da moela e o proventrículo possuem alto teor proteico e baixo teor lipídico, sendo o revestimento selecionado como o substrato ideal após cinéticas de hidrólise que demonstraram sua maior susceptibilidade à ação enzimática. O processo de obtenção do hidrolisado foi conduzido por um delineamento experimental completo 2³, avaliando as variáveis concentração de ácido acético, concentração de enzima e tempo de aplicação de ultrassom (20 kHz, 153 W/cm²). Os resultados mostraram que a relação enzima/substrato foi o fator mais significativo, alcançando um Grau de Hidrólise (GH) máximo de 21,19% com 5% de Alcalase® e 30 minutos de sonicação no ultrassom. A análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelou que a combinação de ácido e ultrassom promoveu uma desintegração estrutural profunda, criando porosidades que facilitaram a clivagem proteica, enquanto a espectroscopia de infravermelho (FTIR) confirmou a manutenção da identidade química do colágeno (amidas I, II e III). As propriedades funcionais demonstraram que o grau de hidrólise influencia diretamente a estabilidade da espuma e a solubilidade, com peptídeos menores apresentando maior solubilidade, mas menor resistência interfacial. Diante disso, conclui-se que o revestimento interno da moela é uma fonte sustentável e tecnologicamente viável para a produção de ingredientes funcionais de alto valor agregado, especificamente, hidrolisados de colágeno com características tecnofuncionais, alinhando-se aos preceitos da economia circular.

Palavras-chave: Colágeno. Alcalase®. Hidrolisado. Subprodutos. Caracterização estrutural.

ABSTRACT

Global and Brazilian poultry production is experiencing continuous growth, generating a significant volume of by-products that are often underutilized as low value-added ingredients. Information on the physicochemical characterization of chicken gizzards, gizzard lining, and proventriculus is scarce. Furthermore, data on obtaining enzymatic hydrolysates from these poultry by-products and their characterization are nonexistent. Given this scenario, this study aimed to evaluate the use of chicken gizzard lining, a film rich in proteins (42.30 g/100g) and with a low lipid content (0.74 g/100g), as a substrate for obtaining enzymatically hydrolyzed collagen. The methodology began with a scientific and bibliometric search in the Scopus® and Web of Science databases, which revealed a growing trend of publications (2012-2025) focused on the use of enzymes such as Alcalase® for collagen extraction from feet and skin, but indicated a unique gap regarding the use of gizzard and assisted ultrasound to conduct the reactions. Preliminary physicochemical characterization confirmed that the gizzard lining and proventriculus have a high protein content and low lipid content, with the lining being selected as the ideal substrate after hydrolysis kinetics demonstrated its greater susceptibility to enzymatic action. The hydrolysate production process was conducted using a complete 2³ experimental design, evaluating the variables acetic acid concentration, enzyme concentration, and ultrasound application time (20 kHz, 153 W/cm²). The results showed that the enzyme/substrate ratio was the most significant factor, reaching a maximum Degree of Hydrolysis (DH) of 21.19% with 5% Alcalase® and 30 minutes of ultrasound sonication. Scanning electron microscopy (SEM) analysis revealed that the combination of acid and ultrasound promoted deep structural disintegration, creating porosities that facilitated protein cleavage, while Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) confirmed the maintenance of the chemical identity of collagen (amides I, II, and III). Functional properties demonstrated that the degree of hydrolysis directly influences foam stability and solubility, with smaller peptides exhibiting greater solubility but lower interfacial resistance. Therefore, it is concluded that the inner lining of the gizzard is a sustainable and technologically viable source for the production of high-value-added functional ingredients, specifically collagen hydrolysates with technofunctional characteristics, aligning with the principles of the circular economy.

Keywords: Collagen. Alcalase®. Hydrolyzed. By-products. Structural characterization.

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO II

Figura 1 – Moela, revestimento interno da moela e proventrículo de frango.....24

Figura 2 – Estrutura química do colágeno e sequência de amino ácidos.....30

CAPÍTULO III

Figura 3 – Desenho das etapas da pesquisa..... 51

Figura 4 – Fluxograma do processo de extração do hidrolisado de colágeno de frango.....55

CAPÍTULO IV

Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados das diferentes variáveis testadas no grau de hidrólise proteica (DH%) na hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango usando Alcalase®, com um nível de confiança de 95%.....83

Figura 2. Avaliação dos parâmetros do processo na produção de hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango utilizando Alcalase®: (a) DH% vs. Alcalase® (%) e ácido acético (mol/L); (b) Gráfico de contorno para DH vs. Alcalase® (%) e ácido acético (mol/L); (c) DH% vs. Alcalase® (%) e tempo de ultrassom (min); (d) Gráfico de contorno para DH% vs. Alcalase® (%) e tempo de ultrassom (min).....84

Figura 3. Perfil de eletroforese do revestimento interno da moela de frango e seus hidrolisados proteicos. M: marcador; R1: revestimento interno da moela; R2: revestimento interno da moela tratado com NaOH; R3: revestimento interno da moela tratado com NaOH e ácido acético 0,5 mol/L; <DH: menor grau de hidrólise (11,36%); >DH: maior grau de hidrólise (21,19%).....86

Figura 4. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do colágeno do revestimento interno da moela de frango antes (A) e após pré-tratamentos com NaOH (B) e com NaOH e ácido acético 0,5 mol/L (C).....88

Figura 5. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do colágeno hidrolisado do revestimento interno da moela de frango usando Alcalase®: A-C: hidrolisados da execução 3

(ver Tabela 2), com menor grau de hidrólise (DH, 11,36%); D-F: hidrolisados enzimáticos da execução 7 (DH, 21,19%).....89

Figura 6. Espectros FTIR do revestimento interno da moela de frango (R) e hidrolisados com graus de hidrólise (DH) menores (11,36%) e maiores (21,19%) obtidos por hidrólise assistida por ultrassom com Alcalase®.....92

Figura 7. Influência do %DH na estabilidade da espuma do hidrolisado de moela de frango com Alcalase®.....96

Figura 8. Análise de Componentes Principais das propriedades tecnológicas dos hidrolisados¹ do revestimento interno da moela de frango.....98

Figura 9. Coeficientes de correlação de Pearson entre as propriedades tecnológicas dos hidrolisados¹ do revestimento interno da moela de frango.....99

CAPÍTULO V

Figura 1. Fluxograma do processo de extração e processamento dos dados coletados.....114

Figura 2 – Tendências de publicação por ano relacionadas à produção de colágeno de frango (busca realizada na base de dados Web of Science® em janeiro de 2026, utilizando os termos “Chicken AND Collagen AND Functional”).....115

Figura 3 – Mapa de visualização da rede de (A1) – Número de documentos de organizações de acordo com a coautoria e (A2) – Colaboração entre organizações de acordo com a coautoria; (B1) – Colaboração entre países de acordo com a coautoria (Mapa de visualização da rede)...120

Figura 4 – Análise de co-ocorrência de palavras-chave de documentos (Mapa de visualização sobreposto) referentes a estudos sobre a obtenção de colágeno de frango.....125

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1 – Composição físico-química da moela de frango e do revestimento interno da mesma.....	27
Tabela 2 – Tipos de colágeno.....	30
Tabela 3 – Estudos publicados em artigos científicos, avaliando o efeito da aplicação de colágeno hidrolisado nas características de produtos alimentícios.....	37
Tabela 4 – Estudos publicados em artigos científicos, avaliando a bioatividade de colágeno hidrolisado.....	41

CAPÍTULO II

Tabela 5 – Valores experimentais e níveis codificados das variáveis independentes (concentração de ácido acético, concentração de enzima e tempo de hidrólise no ultrassom), utilizados no delineamento experimental completo para seleção das condições de hidrólise do colágeno do subproduto de frango com Alcalase® assistida por ultrassom.....	56
--	----

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Grau de hidrólise proteica (DH%) sob diferentes condições experimentais da hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango utilizando Alcalase® em um planejamento experimental fatorial completo com três fatores (valores codificados e reais) e três repetições no ponto central.....	76
Tabela 2. Análise de variância (ANOVA) para o planejamento experimental fatorial completo da hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango usando Alcalase® com nível de confiança de 95%.....	84
Tabela 3. Posições dos picos espectrais de FTIR do revestimento interno da moela de frango (R) e hidrolisados com graus de hidrólise (DH) mais baixos (11,36%) e mais altos (21,19%) obtidos por hidrólise assistida por ultrassom com Alcalase®.....	91
Tabela 4. Propriedades físico-químicas e funcionais ¹ dos hidrolisados obtidos por hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango Revestimento com Alcalase® (média e desvio padrão, n=3).	93

CAPÍTULO V

Tabela 1 - Combinação de termos de busca usados nas bases de dados.....	113
Tabela 2 – Áreas de publicação, organizações e países que publicaram o maior número de artigos sobre colágeno em uma busca realizada na base de dados Web of Science®.....	117
Tabela 3 – Classificação dos periódicos, autores e documentos mais citados sobre produção enzimática de colágeno hidrolisado de frango.....	123
Tabela 4 – Estudos sobre extração e/ou hidrólise de colágeno de subprodutos de frango.....	128
Tabela 5. Estudos publicados em artigos científicos que avaliam o efeito da aplicação de colágeno hidrolisado nas características de produtos alimentícios.....	135

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal
AOAC – Association of Official Analytical Chemists
ANOVA – Análise de Variância
CAL – Centro de Ciências Agrárias
CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CRA – Capacidade de retenção de água
CRO – Capacidade de retenção de óleo
DH – Degree of Hydrolysis / Grau de hidrólise
DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAI – *Emulsifying Activity Index* / Índice de atividade emulsificante
EC – Enzyme Commission
EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE – Estabilidade da espuma
EIE – Índice de estabilidade da emulsão
ESI – *Emulsion Stability Index* / Índice de estabilidade da emulsão
FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations
FS – *Foam Stability* / Estabilidade da espuma
FTIR – Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
GH – Grau de hidrólise
HM – Hidrolisado da moela
HP – Hidrolisado do proventrículo
HR – Hidrolisado do revestimento interno da moela
IAE – Índice de atividade emulsificante
IEE – Índice de estabilidade da emulsão
ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos
kDa – quilodalton
LACA – Laboratório de Análise de Alimentos
LCP – Laboratório de Controle e Processos de Polimerização
LCME – Laboratório Central de Microscopia Eletrônica
LFDGV – Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal

LOG – Laboratório de Óleos e Gorduras

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

NaCl – Cloreto de sódio

NaOH – Hidróxido de sódio

ORC – *Oil Retention Capacity* / Capacidade de retenção de óleo

PCA – Análise de Componentes Principais

pH – potencial hidrogeniônico

PZ – Potencial zeta

R – Revestimento interno da moela de frango

S4 – Solubilidade em pH 4

S7 – Solubilidade em pH 7

S10 – Solubilidade em pH 10

SDS-PAGE – Eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

USDA – United States Department of Agriculture

WHC – *Water Holding Capacity* / Capacidade de retenção de água

Web of Science – Base de dados Web of Science

WoS – Web of Science

ZP – *Zeta Potential* / Potencial zeta

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	19
1. INTRODUÇÃO.....	22
1.1 OBJETIVOS.....	21
1.1.1 Objetivo Geral.....	24
1.1.2 Objetivos Específicos.....	24
CAPÍTULO II	23
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1 AVICULTURA NO BRASIL E NO MUNDO.....	24
2.1.1 Subprodutos do abate de aves: moela, revestimento interno da moela e proventrículo.....	26
2.2 COLÁGENO.....	30
2.2.1 Extração e obtenção de hidrolisado de colágeno.....	36
2.2.2 Propriedades e aplicação de hidrolisado enzimático de colágeno.....	38
2.3 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA.....	43
2.3.1 Alcalase®.....	46
2.4 TECNOLOGIAS VERDES ASSISTIVAS.....	45
2.4.1 Ultrassom	48
CAPÍTULO III	49
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3.1 DESENHO DAS ETAPAS DO PROJETO.....	50
3.2 METODOLOGIA DA PROSPECÇÃO CIENTÍFICA.....	52
3.3 CARACTERIZAÇÃO E ENSAIOS PRELIMINARES PARA A SELEÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA A SER UTILIZADA NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE COLÁGENO (UFPB).....	52
3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS/ UFSC.....	54
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	60

CAPÍTULO IV	70
A DINÂMICA ENZIMA-SUBSTRATO INFLUENCIA A EFICIÊNCIA DA HIDRÓLISE DO COLÁGENO DA MOELA DE FRANGO: O ULTRASSOM COMO FATOR SECUNDÁRIO..	70
CAPÍTULO V	110
ARTIGO II.....	110
PROSPECÇÃO CIENTÍFICA DE COLÁGENO DE SUBPRODUTOS DE FRANGO: EXTRAÇÃO, PROPRIEDADES BIOATIVAS E FUNCIONAIS, E APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS.....	110
CAPÍTULO VI	148
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	148

DIAGRAMA CONCEITUAL

Hidrolisado enzimático assistido por ultrassom de subproduto de frango: obtenção e caracterização de peptídeos

O QUÊ?

- Hidrólise enzimática de colágeno de resíduos da moela de frango, revestimento interno da moela e proventrículo de frango assistido por ultrassom para obter peptídeos com características tecnofuncionais.

POR QUÊ?

- A demanda crescente na produção de frangos gera uma grande quantidade de subprodutos e resíduos. Grande parte desses subprodutos é direcionado à fabricação de ração e fertilizantes de baixo valor agregado. Contudo, são matérias-primas ricas em nutrientes valiosos, como lipídeos e proteínas;

- A moela, o revestimento interno da moela e o proventrículo de frango são órgãos do sistema digestivo da ave, sendo a moela uma víscera comestível, apreciada em diversas culturas devido às suas características sensoriais únicas, preço acessível e composição química rica em proteínas de alto valor biológico. Já o revestimento interno da moela e o proventrículo são descartados na graxaria, apesar de apresentar uma composição muito similar à moela (proventrículo) ou até mesmo com maior teor proteico (revestimento interno da moela).

O QUE JÁ EXISTE?

- Os subprodutos avícolas comuns na obtenção de colágeno hidrolisado são a pele e os pés de frango;

- Estudos indicaram que a hidrólise bacteriana de moela de frango revela redução na área específica do tecido conjuntivo, no diâmetro das fibras colágenas e na espessura das fibras musculares, além aumento na concentração de aminoácidos livres.

- Pré-tratamentos são etapas comuns no processo de hidrólise, com a finalidade de reduzir a quantidade de proteínas não colagenosas e gorduras das fontes de colágeno. No entanto, o uso do ultrassom como pré-tratamento para reduzir tempo de obter o hidrolisado ainda não foi investigado na moela, no revestimento interno ou proventrículo de frango.

HIPÓTESE DO ESTUDO

- O processo de hidrólise enzimática assistido por ultrassom aplicado à moela, ao revestimento interno ou proventrículo de frango poderá resultar na obtenção de peptídeos de colágeno com propriedades tecnológicas e funcionais, demonstrando potencial para serem utilizados como ingredientes em produtos alimentícios.

CONTRIBUIÇÕES DO PRESENTE TRABALHO

- Aproveitamento de subprodutos de frango, convertendo em fontes valiosas de peptídeos com propriedades tecnológicas e funcionais;

- Inovação na indústria de alimentos;

- Informações sobre a aplicação industrial e comercial;

- Desenvolvimento de ingrediente funcional; e

- Conhecimento científico inédito.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1. INTRODUÇÃO

A produção avícola vem apresentando crescimento constante ao longo dos últimos 20 anos (2012- 2025) em escala global, fato impulsionado, principalmente, pela demanda de consumo. Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), a produção mundial de carne de frango, em 2025, foi de aproximadamente 103, 046 milhões de toneladas. Países como Estados Unidos, China e Brasil mantêm a liderança como maiores produtores de carne de frango (21, 384; 15, 000 e 14, 972 milhões de toneladas, respectivamente) (ABPA, 2025).

Com o aumento na produção e no abate de frangos, vários subprodutos são gerados, incluindo penas, pés, cérebro, ossos, sangue e vísceras (Lasekan; Abu Bakar; Hashim, 2013). Tradicionalmente, a cabeça, os ossos, a cartilagem, a pele, as vísceras não comestíveis e os resíduos são destinados à fabricação de fertilizantes e ração para animais. Caso sejam descartados, isso não configura apenas um desperdício de recursos, mas também se trata de um problema ambiental, quando o material é descartado incorretamente (Akram; Zhang, 2020b; Cao et al., 2021). Todavia, a composição dos subprodutos de frango é bastante diversificada, sendo geralmente rica em lipídios e proteínas (Jamdar; Harikumar, 2008). Esse aspecto confere a esse material uma qualidade nutricional com potencialidades para a geração de produtos derivados de valor agregado. Ademais, cerca de 10 a 13% do peso vivo do animal é composto por pele, estômago, coração e outros subprodutos (Akimova et al., 2023), o que justifica a exploração de alternativas para o seu aproveitamento.

A moela, o revestimento interno da moela e o proventrículo de frango são subprodutos (comestíveis ou não) resultantes do abate das aves. São ricos em componentes importantes como proteínas, na moela (19,20 g/100g), no revestimento interno da moela (42,30 g/100g) e no proventrículo (18,30 g/100g dados não publicados) e aminoácidos (ácido glutâmico, ácido aspártico, leucina, valina e arginina) (Ni et al., 2018). As características únicas da textura da moela fazem com que esta víscera seja uma iguaria apreciada por diversas culturas. A sua comercialização como víscera é feita em bandejas, entretanto, o revestimento interno da moela é retirado da moela e descartado junto ao proventrículo, após a depenagem na área suja (Brasil, 2018). Porém, é um material pouco explorado pela indústria de alimentos (Ni et al., 2018), apresentando potencialidades para a obtenção de peptídeos com diferentes propriedades, como bioatividade ou características tecnofuncionais.

O revestimento interno da moela, por sua vez, é uma película que recobre a mesma e tem a função de reduzir os efeitos prejudiciais das matérias ácidas que vêm do proventrículo (Bell, D. J., & Freeman, 1971). Pouco se tem estudado sobre este subproduto, mas sabe-se que seu teor de proteínas é alto (42, 30g/100g), e contém aminoácidos do umami e baixo teor lipídico (0,74g/100g) (Ni et al., 2018). Já o proventrículo de frango é uma parte do estômago das aves que não é comestível, sendo que dados sobre sua composição são escassos na literatura.

Subprodutos de frango são fontes potenciais para a obtenção de proteínas hidrolisadas, que podem ser excelentes fontes de peptídeos com propriedades únicas, dentre elas, a bioatividade ou características tecnofuncionais. As propriedades dos peptídeos dependem muito da origem da proteína nativa, sendo os subprodutos de frango, ricos em hemoglobina, queratina e colágeno (Ibarz-Blanch et al., 2023).

O colágeno é uma proteína predominante no tecido conjuntivo dos animais, podendo ser encontrado em diversas partes do corpo, como ossos, cartilagens, tendões, pele, veias, dentes e músculos (Cao et al., 2021; Oechsle et al., 2016), sendo os tipos I, II e III os mais comuns. Representa cerca de 30% da proteína total do animal, desempenhando diversas funções no tecido das espécies de organismos multicelulares, como proteger os órgãos e sustentar o corpo (Akram; Zhang, 2020a; Lee; Singla; Lee, 2001; Tang et al., 2022a).

O colágeno tem sido amplamente utilizado em alimentos, engenharia de tecidos, cosméticos e outros, devido a sua excelente biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa antigenicidade e atividade biológica (Cao et al., 2021). É utilizado também na produção de gelatina e hidrolisados proteicos, os quais, por sua vez, são largamente usados como aditivos para melhorar a textura, a capacidade de retenção de água e a estabilidade oxidativa dos alimentos (Cordeiro et al., 2020).

Os hidrolisados de colágeno possuem diversas aplicações em alimentos, tais como antioxidantes em alimentos lipídicos, emulsificantes em alimentos à base de emulsões, substitutos de gordura em produtos cárneos com baixo teor de gordura, clarificantes em bebidas e aditivos para melhoria da qualidade do leite (Tang et al., 2022b).

Algumas enzimas comerciais podem ser utilizadas para hidrolisar o colágeno, dentre elas, pepsina, papaína, tripsina, bromelina e Alcalase (Cao et al., 2022). Alcalase® é uma serina endopeptidase, produzida atualmente a partir de *Bacillus licheniformis*, que apresenta ampla especificidade e tem pH ótimo alcalino, sendo também chamada de subtilisina (Tacias-Pascacio et al., 2020). Possui ampla gama de aminoácidos que pode reconhecer, sendo que a reação de

hidrólise de proteínas catalisada por Alcalase® tem uma forte tendência a gerar hidrolisados com muitos peptídeos de tamanho pequeno.

Schmidt et al. (2020) investigaram a obtenção de peptídeos bioativos de colágeno derivados do resíduo da carne mecanicamente separada de frango, usando a Alcalase®, e observaram um maior grau de hidrólise e um maior índice de atividade emulsificante utilizando essa enzima do que a Flavourzyme. Bezerra et al. (2019) obtiveram peptídeos anticoagulantes e inibidores da enzima conversora de angiotensina I (ECA), utilizando a Alcalase®, sendo que os substratos foram crista e barbola de frango.

Para obter colágeno hidrolisado, métodos tradicionais para a extração de peptídeos bioativos como hidrólise química (ácida e alcalina), hidrólise enzimática e fermentação podem ser aplicados, conforme o resultado esperado. Outros métodos vêm sendo utilizados, tais como micro-ondas, alta pressão hidrostática (Gao et al., 2022), hidrólise assistida por ultrassom (Kaewbangkerd; Hamzeh; Yongsawatdigul, 2023), hidrólise de água subcrítica e explosão de vapor (Zhang; Li; Liu, 2023), com os objetivos de reduzir o tempo de reação e aumentar a bioatividade ou outra propriedade de interesse. O ultrassom é uma tecnologia não térmica e não invasiva, que pode ser usada de forma assistiva ou combinada para a liberação de peptídeos, tornando o substrato mais acessível à ação enzimática de peptídeos obtidos de colágeno (Cao et al., 2023a). Entretanto, estudos que utilizem essa tecnologia assistiva na hidrólise enzimática das proteínas da moela, do revestimento interno da moela ou do proventrículo de frango, até o presente momento, não foram relatados na literatura científica.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso de pré-tratamento ácido, ultrassom e diferentes concentrações enzimáticas na obtenção de colágeno hidrolisado enzimaticamente, utilizando o revestimento interno da moela frango como substrato, e investigar as características físico-químicas, a microestrutura do hidrolisado e da matéria-prima, e seu potencial tecnológico e funcional.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Realizar prospecção científica sobre a obtenção de colágeno hidrolisado de subprodutos de frango utilizando enzimas proteolíticas;
- Caracterizar físico-quimicamente a moela, o revestimento interno da moela e o proventrículo;
- Selecionar a matéria-prima a ser utilizada para a obtenção do colágeno hidrolisado (peptídeos), com base em reações preliminares de hidrólise enzimática com Alcalase®;
- Realizar a extração química de colágeno do revestimento interno da moela de frango, substrato selecionado na etapa anterior;
- Otimizar o processo de hidrólise enzimática assistida por ultrassom da matéria-prima selecionada em etapa anterior, variando os fatores ácido acético, concentração enzimática e tempo de ultrassom;
- Avaliar o uso do ultrassom como tecnologia assistiva na hidrólise enzimática do revestimento interno da moela de frango, com base no grau de hidrólise proteica;
- Determinar a condição de maior e menor grau de hidrólise proteica do colágeno hidrolisado obtido por via enzimática utilizando o subproduto de frango selecionado anteriormente como substrato, e utilizando um planejamento experimental completo;
- Caracterizar físico-quimicamente o colágeno hidrolisado obtido a partir da matéria-prima selecionada, na melhor condição do planejamento experimental, referente às modificações estruturais dos componentes por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).
- Avaliar as características tecnológicas e funcionais do hidrolisado com maior e menor grau de hidrólise selecionado em etapas anteriores.

CAPÍTULO II

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AVICULTURA NO BRASIL E NO MUNDO

A avicultura tem se destacado como o setor mais eficiente no mercado mundial de carnes, apresentando um crescimento notável no volume de produção em comparação aos demais segmentos. Esse crescimento é atribuído ao aumento do número de animais e à melhoria da produtividade por animal (OECD/FAO, 2022). As técnicas avançadas de manejo, alimentação e melhoramento genético desempenham um papel crucial na garantia do crescimento da cadeia produtiva de aves, influenciando positivamente o consumo global da carne (Hötzel; Vandresen, 2022).

O mercado mundial de carne de aves produziu, em 2024, mais de 103 milhões de toneladas de carne de frango, sendo os Estados Unidos, China e Brasil os três maiores produtores de carne, apresentando valores de 21,384; 15,000 e 14,972 milhões de toneladas, respectivamente, no ano mencionado (ABPA, 2025). A perspectiva para o futuro da avicultura está projetada para aumentar em 16% (21Mt) nos próximos dez anos (2022-2031), respondendo por 45% do crescimento da produção global de carnes, dada a expectativa de rentabilidade sustentada em função da crescente demanda e preços acessíveis da carne de aves em comparação com outras fontes de carne (Hötzel; Vandresen, 2022).

A produção de carne de frango configura-se como uma das atividades agropecuárias de maior relevância para o Brasil, exercendo um impacto significativo no cenário econômico do país. Em termos de valores brutos, em 2022, esse setor movimentou mais de 105 bilhões de reais, e registrou uma produção superior a 14,9 milhões de toneladas de carne de frango. Além disso, o país exporta cerca de 35,3% dessa produção para mais de 150 países, consolidando-se como um protagonista no mercado internacional (ABPA, 2025).

No ano de 2024, o Brasil destacou-se não somente pelo terceiro lugar alcançado em termos de produção de carne de frango, mas também por se posicionar como o maior exportador dessa fonte de proteína animal, enviando mais de 4,822 milhões de toneladas para outros países (ABPA, 2025). Esses dados atestam a importância estratégica e o papel de destaque do Brasil na indústria avícola global.

A produção de carne de frango ocorre em praticamente todos os estados brasileiros, entretanto, são os estados da região sul do país, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul,

que se destacam como os maiores produtores, representando aproximadamente 39,39%, 13,98% e 11,52%, respectivamente, de cabeças de animais abatidos em 2024. Esses estados foram responsáveis, no ano de 2024, por mais de 64% da produção nacional de carne de frango (USDA, 2025; ABPA, 2025).

Em 2024, o estado de Santa Catarina ocupou o segundo lugar em número de produção de carne de frangos no Brasil, tendo sido responsável por aproximadamente 13,98% do abate das aves brasileiras. O estado também ocupa o segundo lugar na exportação de carne de frango, sendo que cerca de 22,63% da exportação de carne de frango do Brasil é da produção oriunda do mesmo (ABPA, 2025).

A exportação brasileira de carne de frango movimentou mais de \$ 9,92 milhões de dólares em 2024, gerando um volume de mais de 5,2 mil toneladas de carne para a exportação. Entre os importadores da carne de frango do Brasil, os principais países são China, Emirados Árabes Unidos e Japão; e as regiões da Ásia, Oriente Médio e África (ABPA, 2025) lideram o *ranking* de importação. Os cortes representam mais de 74% do frango exportado; 20,22% são de frangos inteiros, 2,94% de produtos salgados e 2,8 de produtos industrializados (ABPA, 2025).

Isso ocorre devido ao papel significativo que a carne de frango desempenha na nutrição humana, uma vez que é uma excelente fonte de nutrientes. Tanto a composição nutricional quanto as propriedades organolépticas da carne são essenciais tanto para os consumidores quanto para a indústria de carnes. Os produtos derivados da carne de frango são extremamente versáteis, completos e acessíveis, fornecendo uma fonte rica em proteínas, vitaminas e minerais, além de apresentarem menos calorias e colesterol em comparação com outras fontes de carne (Hailemariam et al., 2022; Lima et al., 2022).

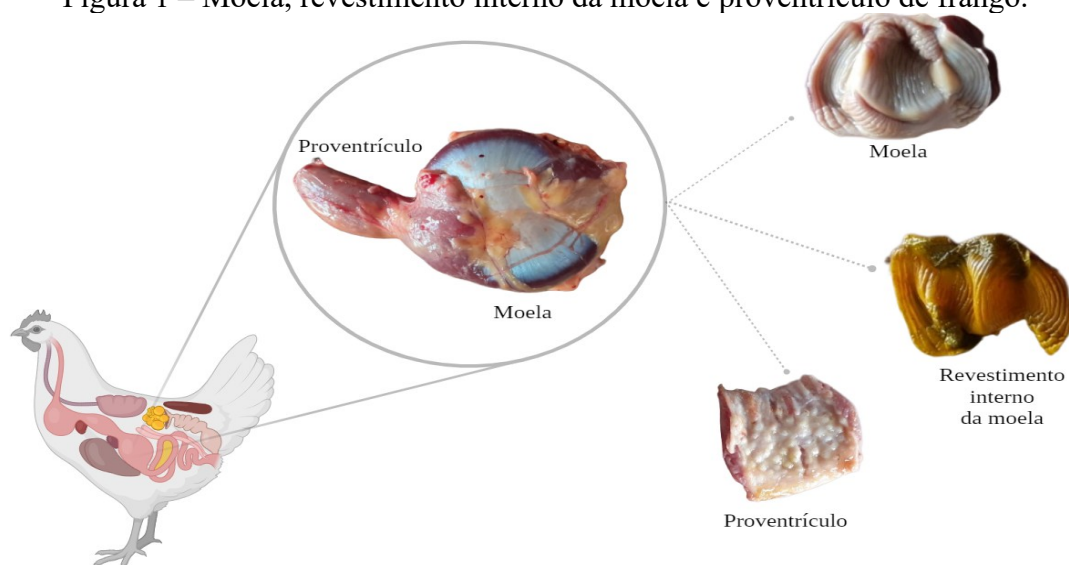
Esse crescimento constante na cadeia produtiva de aves brasileira gera uma grande quantidade de subprodutos, visto que aproximadamente de 10 a 13% do peso vivo do animal compreende pele, estômago, coração e outros subprodutos (Akimova et al., 2023). Segundo a Instrução Normativa do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento Nº 81/2018, subproduto é “o produto ou substância que resultam de um processo produtivo cujo principal objetivo não seja a sua produção, podendo ser utilizado diretamente na alimentação animal, sem qualquer outro processamento que não seja o da prática industrial normal” (Brasil, 2018).

2.1.1 Subprodutos do abate de aves: moela, revestimento interno da moela e proventrículo

Os subprodutos do abate e processamento de frango são fontes potenciais de macronutrientes, como lipídios e proteínas. O valor nutricional desses subprodutos em termos de proteínas e gorduras é igual ao da carne magra de frango (Akimova et al., 2023). Os subprodutos comestíveis de frango, geralmente, são aproveitados na elaboração de produtos reestruturados de baixo valor, por exemplo, linguiça (Lima et al., 2020), “force meat” (Akimova et al., 2023), almôndega (Bhat; Kumar; Kumar, 2013), mortadela de carne de aves (Brasil, 2000), entre outros. Já os subprodutos não comestíveis são descartados na graxaria, e posteriormente aproveitados na fabricação de ração animal (Limpisophon; Hirunrattana; Prachom, 2023), como uma forma de maximizar os retornos da produção avícola.

Um dos produtos secundários da produção avícola é a moela de frango. A moela (Figura 1) é uma víscera comestível (Brasil, 1998) que compõe o sistema digestivo de aves, conhecido também por estômago musculoso ou ventrículo, que compõe 2,5% da massa da carcaça de frango (Naeem et al., 2021). Apresenta dois pares de músculos circulares altamente desenvolvidos, que, em frangos, são denominados músculos intermediários e laterais. Sua função é desenvolvida pela atividade mecânica intensa, provocando hipertrofia e aumento da massa muscular, cujas contrações rítmicas e fortes são responsáveis pela trituração do alimento ingerido (Du et al., 2021).

Figura 1 – Moela, revestimento interno da moela e proventrículo de frango.



Fonte: Autoria própria usando o BioRender.com, 2022.

A moela contém alto teor de proteína (Tabela 1) e ferro, e apresenta potencialidades para ser usada na produção de medicamentos, tendo efeitos na digestão, no controle das náuseas e na defecação (Merenkova et al., 2021). É uma fonte econômica de nutrientes, sendo um exemplo de proteína de custo baixo se comparado à carne de frango.

Tabela 1 – Composição físico-química da moela de frango e do revestimento interno da mesma em base úmida.

Parâmetro	Moela	Revestimento Interno da Moela
Umidade (g/100g)	76, 62 a 79, 94	57, 01
Cinzas (g/100g)	0, 91	0, 34
Lipídio (g/100g)	0, 81 a 1, 26	0, 74
Proteína (g/100g)	17, 26 a 19, 60	42, 30 ¹
<i>Aminoácidos essenciais (%)</i>		
Leucina (Leu)	1, 27	8, 27
Valiana (Val)	0, 69	8,00
Isoleucina (Ile)	0, 61	6, 15
Fenilalanina (Phe)	0, 66	5, 87
Treonina (Thr)	0, 76	4, 92
Lisina (Lys)	1, 25	2, 58
Triptofano (Trp)	-	1, 44
Metionina (Met)	0, 40	1, 17
Histidina (His)	0, 37	0, 68
<i>Aminoácidos não essenciais (%)</i>		
Ácido glutâmico (Glu)	2, 73	13, 16
Ácido aspártico (Asp)	1, 50	11, 41
Arginina (Arg)	1, 16	7, 86
Tirosina (Tyr)	0, 56	7, 63
Glicina (Gly)	1, 15	5, 75
Alanina (Ala)	0, 99	4, 85
Serina (Ser)	0, 77	4, 40
Prolina (Pro)	0, 82	3, 53

Cisteína (Cys)	0, 20	2, 34
Referência	(Henry et al., 2019; Seong et al., 2015)	(Ni et al., 2018)

¹ Determinação de proteína bruta. Os dados sobre aminoácidos são de várias fontes, e não refletem a quantidade de proteínas encontrada na amostra.

O consumo da moela de frango proporciona benefícios à saúde humana, porque contém vários aminoácidos essenciais, a exemplo da lisina, leucina e treonina (Seong *et al.*, 2015), e ácidos graxos saturados, mono e poli-insaturados (28,08 %; 30,87 % e 37, 38 %, respectivamente) (Güven; Karakaya; Babaoğlu, 2021).

A moela, um subproduto significativo resultante do processamento de ave (representa aproximadamente 2,5 da massa da carcaça de frango) (Naeem et al., 2021), é atualmente comercializada como uma variedade de carne juntamente com o frango temperado ou separadas (Brasil, 2018). Em virtude de seu sabor e textura particulares, é menos preferido pelos consumidores. A moela apresenta cerca de 20% de proteínas em sua composição, 4% de carboidratos e 2,8% de lipídios (Li et al., 2022; Ni et al., 2018) o que a torna um potencial ingrediente em produtos de frango prontos para consumo, que são convenientes e econômicos, com composição nutricional adequada.

Uma das funções mais cruciais da moela é a trituração dos alimentos. Para desempenhar essa função, a moela possui um revestimento interno, conhecido como “membrana koilin”, que é extremamente espessa. Essa “membrana koilin” tem a capacidade de reduzir os efeitos prejudiciais das misturas ácido-enzimáticas provenientes do proventrículo e que passam para a moela. Além disso, a espessura dessa membrana atua como uma proteção para o estômago contra a pressão exercida pelos alimentos e grãos quando a moela se contrai (Bell, D. J., & Freeman, 1971).

O revestimento interno da moela é formado por uma camada sólida (Figura 1) de complexo carboidrato-proteína (Hofmann; Pregl, 1907), formada pelas secreções das glândulas, criptas e células epiteliais superficiais (Akester, 1986). O proventrículo de frango faz parte do sistema, responsável pela digestão química dos alimentos, onde os sucos digestivos são produzidos (Silva; Freitas; Momo, 2013).

Apesar de a moela ser um alimento popular, consumido por povos de diversas culturas, o revestimento interno da moela não é atualmente processado para o consumo humano direto.

O revestimento da moela é ácido (pH 3,4), pobre em teor lipídico (aproximadamente 0,74 g/100g), colágeno e rico em proteína (cerca de 42 g/100g) e aminoácidos (Karuppa Swamy; Kuppanagounder Kandaswamy; Sundara Rajulu, 1976; Ni et al., 2018). O revestimento interno da moela é rico em ácido glutâmico (13,16%), ácido aspártico (11,41%), leucina (8,27%), valina (8,00%) e arginina (7,86%) (Tabela 1). Além disso, todos os 9 aminoácidos essenciais são encontrados no revestimento interno da moela (Ni et al., 2018).

Segundo Ni et al. (2018), o revestimento da moela é provavelmente rico em proteínas bioativas, transformando-se, dessa forma, em um subproduto animal que apresenta concentrações elevadas de proteínas e aminoácidos de suma importância, tais como os aminoácidos essenciais, em semelhança a outros produtos provenientes do reino animal. Esses mesmos autores sugerem que esse subproduto avícola contém a proteína GKN1, que se relaciona com várias bioatividades, por exemplo, proteção da barreira da mucosa intestinal (Walsh-Reitz et al., 2005).

Portanto, embora esses subprodutos apresentem-se como uma boa fonte de proteína, com potencialidades para consumo humano (Ni et al., 2018), pesquisas que analisem seus componentes visando seu uso como aditivo alimentar e que investiguem suas funções são escassas.

2.2 COLÁGENO

O colágeno é a proteína estrutural mais abundante nos animais, representando 30% do teor total de proteínas. Nos mamíferos, 25% a 35% da massa total de proteínas corresponde ao colágeno (Sibilla et al., 2015), o qual desempenha um papel crucial na integridade e resistência dos tecidos corporais. Sua extração e uso têm sido amplamente explorados em diversas aplicações devido às suas propriedades funcionais e potenciais benefícios para a saúde (Campos; Pereira; Cazarin, 2023; Tang et al., 2022a).

Até o momento, aproximadamente 29 tipos diferentes de colágeno foram identificados e descritos (Tabela 2), dos quais o colágeno tipo I é o mais comum (Jafari et al., 2020). Os tipos I, II e III correspondem a 80% - 90% do colágeno total encontrado no corpo humano, e o tipo I é o mais abundante na pele (80%) (Campos; Pereira; Cazarin, 2023). Todos os tipos de colágeno são compostos por três cadeias α idênticas ou diferentes e apresentam, no mínimo, um domínio

de tripla hélice (Tang et al., 2022b). No corpo humano, a proteína colágena pode ser encontrada nos ossos, tendões, ligamentos, cabelos, pele e músculos.

Tabela 2 – Tipos de colágeno

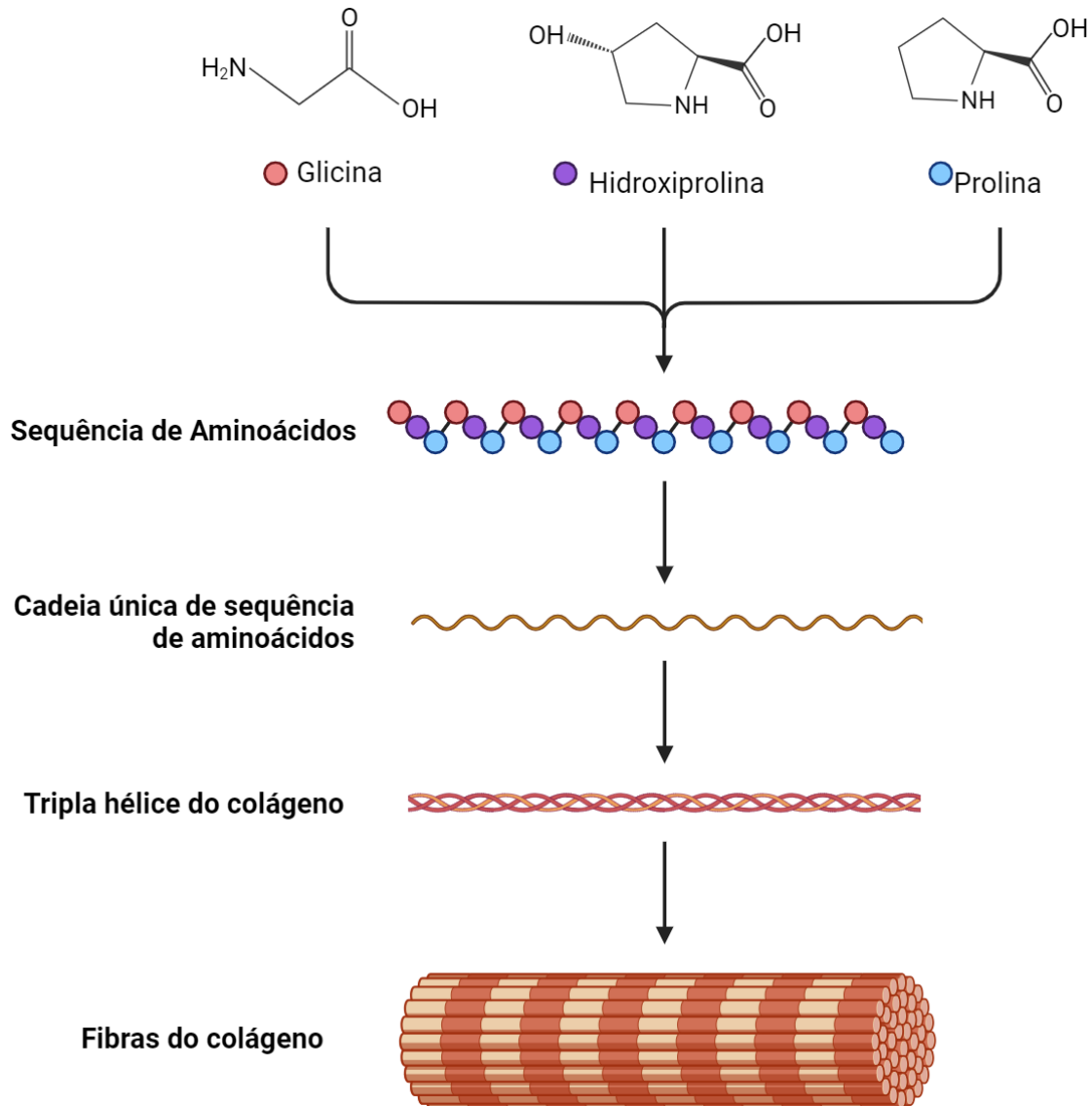
Tipos	Fórmula molecular	Localização
<i>Colágenos formadores de fibrilas</i>		
I	$\alpha 1[\text{I}]2\alpha 2[\text{I}]$	Abundante e difundido: derme, osso, tendão, ligamento
II	$\alpha 1[\text{II}]3$	Cartilagem, vítreo
III	$\alpha 1[\text{III}]3$	Pele, vasos sanguíneos, intestino
V	$\alpha 1[\text{V}]3 \alpha 1[\text{V}]2\alpha 2[\text{V}]$ $\alpha 1[\text{V}]\alpha 2[\text{V}]\alpha 3[\text{V}]$	Generalizada: osso, derme, córnea, placenta
XI	$\alpha 1[\text{XI}]\alpha 2[\text{XI}]\alpha 3[\text{XI}]$	Cartilagem, disco intervertebral
XXIV	-	Osso, córnea
XXVII	-	Cartilagem
<i>Colágenos não fibrilares</i>		
IX	$\alpha 1[\text{IX}]\alpha 2[\text{IX}]\alpha 3[\text{IX}]$	Cartilagem, córnea, vítreo
XII	$\alpha 1[\text{XII}]3$	Derme, tendão
XIV	$\alpha 1[\text{XIV}]3$	Generalizada: osso, derme, cartilagem
XVI	-	Derme, rim
XIX	-	Membrana basal
XX	-	Córnea (pintinho)
XXI	-	Estômago, rim
XXII	-	Junções teciduais
<i>Colágeno da membrana basal</i>		
IV	$\alpha 1[\text{IV}]2\alpha 2[\text{IV}]$ $\alpha 3[\text{IV}]\alpha 4[\text{IV}]$ $\alpha 5[\text{IV}]\alpha 5[\text{IV}]2\alpha 6[\text{IV}]$	Membranas basais
<i>Colágeno de cadeia curta</i>		
VIII	$\alpha 1[\text{VIII}]3$ $\alpha 2[\text{VIII}]3$	

	$\alpha 1[\text{VIII}]2\alpha 2[\text{VIII}]$	
X	$\alpha 1[\text{X}]3$	Cartilagem
	<i>Colágeno de fixação das fibrilas</i>	
VII	$\alpha 1[\text{VII}]2\alpha 2[\text{VII}]$	Derme, bexiga
	<i>Colágenos de microfibrilas</i>	
VI	$\alpha 1[\text{VI}]\alpha 2[\text{VI}]\alpha 3[\text{VI}]d$	Generalizado: osso, cartilagem, córnea,
	$\alpha 1[\text{VI}]\alpha 2[\text{VI}]\alpha 4[\text{VI}]$	derme
XXVIII	-	Derme, nervo ciático
XV	-	Capilares, testículos, rins, coração
	<i>Mutiplexins</i>	
XVIII	-	Membrana basal, fígado
	<i>Colágeno de transmembrana</i>	
XIII	-	Células endoteliais, derme, olho, coração
XVII	$\alpha 1[\text{XVII}]3$	Hemidesmossomos no epitélio
XXIII	-	Coração, retina
XXV	-	Cérebro, coração, testículo

Fonte: (Brodsky e Persikov, 2005; Shoulders e Raines, 2009).

O termo coletivo "colágeno" engloba uma família de glicoproteínas que apresentam três características distintas, de acordo com evidências científicas. A primeira característica é a presença da sequência repetitiva de aminoácidos $[\text{Gly-X-Y}]_n$, que pode ocorrer com ou sem interrupções (Figura 2). Essa sequência é uma marca registrada da família do colágeno (Sorushanova et al., 2019).

Figura 2 – Estrutura química do colágeno e sequência de aminoácidos.



Fonte: Autoria própria usando BioRender.com, 2023.

A segunda característica é a ocupação das posições X e Y na sequência [Gly–X–Y]_n pela prolina e sua forma hidroxilada, a hidroxiprolina, respectivamente (Soroushanova et al., 2019). A prolina desempenha um papel essencial na estabilização da estrutura helicoidal do colágeno, enquanto a hidroxiprolina contribui para a estabilidade e resistência da proteína devido à sua capacidade de formar pontes de hidrogênio (Campos; Pereira; Cazarin, 2023).

Em terceiro lugar, o colágeno apresenta uma estrutura quaternária única, na qual uma tripla hélice direita é formada por três cadeias α de poliprolina de comprimento idêntico. Essas cadeias α se enrolam entre si, formando a hélice tripla estável característica do colágeno (León-López et al., 2019).

Essas três características, sequência de repetição de aminoácidos [Gly–X–Y]_n, com ocupação de prolina e hidroxiprolina nas posições X e Y, e a estrutura quaternária com hélice tripla formada pelas cadeias α de poliprolina, são fundamentais para as propriedades estruturais e funcionais do colágeno. Essa proteína desempenha um papel essencial na integridade e resistência dos tecidos do organismo (Gomez-Guillen et al., 2011).

Os relatos da literatura com relação aos benefícios do consumo de colágeno são diretamente associados à promoção da saúde. O objetivo final do produto influencia diretamente no método escolhido para o isolamento da proteína, uma vez que o processo de obtenção dessa proteína isolada é demorado e complexo, e vários fatores interferem na qualidade dos peptídeos obtidos, como matéria-prima, método de extração e condições do processo (Tang et al., 2022b).

2.2.1 Extração e obtenção de hidrolisado de colágeno

O colágeno é extraído de subprodutos industriais, como ossos, cartilagens, ligamentos, tecidos, órgãos, tendões e pele de bovinos, suínos, peixe, frangos e organismos marinhos, tendo potencial para um processo de hidrólise para a obtenção de peptídeos bioativos (Lu et al., 2023; Tang et al., 2022a), dentre outras características.

De modo geral, o isolamento do colágeno envolve etapas de preparação, extração e recuperação. Diferentes métodos podem ser empregados para a extração de colágeno, sendo que os métodos térmicos ou enzimáticos, ou uma combinação dos mesmos, são as estratégias mais utilizadas, dependendo do produto final esperado (León-López et al., 2019).

O método térmico consiste na extração do colágeno mediante o tratamento com elevadas temperaturas, o que resulta na desnaturação do material, transformando-o em gelatina, a qual, por sua vez, tem uma ampla aplicação na indústria (Toldrá et al., 2012).

A técnica de extração de colágeno por hidrólise enzimática envolve a utilização de uma enzima (protease), normalmente empregada para obter colágeno solúvel quando combinada com uma temperatura elevada (Alam et al., 2022). A preparação inicial do substrato consiste na limpeza, lavagem e separação das partes dos animais, seguida da redução do tamanho das amostras por meio de cortes, a fim de facilitar as etapas subsequentes, incluindo o pré-tratamento das amostras (Jafari et al., 2020).

Após a etapa de preparação, é comum realizar um pré-tratamento químico leve para aumentar a eficácia da extração e remover substâncias não colagenosas. Dependendo das matérias-primas e do método de extração, diferentes tipos de pré-tratamentos podem ser utilizados, como tratamento alcalino ou ácido. O pré-tratamento emprega ácido ou base diluída para hidrolisar o colágeno reticulado presente no tecido conjuntivo dos animais. Esse processo de pré-tratamento resulta em uma hidrólise parcial, mantendo as cadeias de colágeno intactas (Suurs; Barbut, 2020).

No pré-tratamento ácido, a matéria-prima é imersa em uma solução ácida, que penetra na estrutura do colágeno, fazendo com que ele aumente seu volume inicial duas ou três vezes. Isso leva à quebra das ligações inter e intramoleculares não covalentes. Já no pré-tratamento alcalino, são utilizados principalmente hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de cálcio (CaOH₂), e o processo pode levar de alguns dias a várias semanas (Jafari et al., 2020).

O processo mais promissor para a extração de colágeno é a combinação de um pré-tratamento ácido (acético, cítrico, clorídrico por exemplo) e a extração enzimática (Alam et al., 2022; Jafari et al., 2020). Araújo et al. (2018) extraíram colágeno de pés de frango usando um pré-tratamento ácido (acético) seguido do processo enzimático utilizando pepsina. Observaram que as condições que resultaram no maior rendimento de colágeno foram utilizando 0,3 mol/L de ácido acético, 0,2% de pepsina e 12 horas de hidrólise. O isolado de colágeno nessas condições apresentou maior teor de aminoácidos, maior soma de áreas peptídicas, maior solubilidade em água e maior retenção de água a 60 °C, o que indica seu potencial para ser usado na indústria.

O colágeno demonstra potencialidades para ser utilizado em diversas indústrias, com destaque para as áreas farmacêutica, biomédica e alimentícia. Suas características biológicas, tais como não toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, integridade estrutural, afinidade celular e baixa antigenicidade, têm impulsionado consideravelmente seu uso em aplicações biomédicas e farmacêuticas (Alam et al., 2022).

Na indústria de alimentos, o colágeno é empregado pelas suas funções biológicas, tais como ação antimicrobiana, capacidade quelante de minerais, propriedades antioxidantes, formação de gel, retenção de água, emulsificação, espessamento e a formação de filmes (Toldrá et al., 2012). Essas características permitem sua aplicação em uma ampla variedade de produtos alimentícios, pois, quando adicionado às formulações, o colágeno pode aprimorar a textura do

produto e, dependendo das propriedades bioativas da molécula, contribuir para a estabilidade do alimento durante o armazenamento (Da Silva Araújo et al., 2021; Toldrá et al., 2012).

Araújo et al. (2021) investigaram o uso de colágeno comercial e extraído de pés de frango como substituto de 50% da gordura em linguiça de frango. Observaram que a linguiça enriquecida com colágeno extraído de pés de frango apresentou maior grau de capacidade de retenção de água (CRA), menor valor de ácido tiobarbitúrico (TBARS) e maior atividade antioxidante, em comparação com a controle e a linguiça com colágeno comercial.

As propriedades bioativas do colágeno variam de acordo com o método de extração ou hidrólise empregado. Como já mencionado, o colágeno hidrolisado tem potencialidades para uso em várias aplicações na indústria de alimentos (Toldrá et al., 2018). Contudo, colágeno hidrolisado utilizando-se como substrato a moela, o revestimento interno da moela ou o proventrículo de frango ainda não foram relatados, até o presente momento, na literatura consultada.

2.2.2 Propriedades e aplicação de hidrolisado enzimático de colágeno

O colágeno hidrolisado tem sido utilizado para auxiliar na promoção de benefícios à saúde do consumidor e melhorar as características do produto. Na literatura, têm sido citadas associações do consumo de colágeno com benefícios à saúde, prevenindo diversas doenças crônicas e agindo como um aliado na saúde dos ossos e da pele (Campos; Pereira; Cazarin, 2023).

O alto teor proteico do hidrolisado de colágeno (84 a 90%) (León-López et al., 2019), combinado com características funcionais, pode melhorar aspectos físico-químicos, reológicos e microbiológicos dos alimentos, possibilitando o uso desse ingrediente em uma ampla variedade de produtos (Tabela 3). Estudos já relataram o uso, por exemplo, em produtos panificados (Kumar et al., 2019), cárneos (Sousa et al., 2017), lácteos (León-López et al., 2020), entre outras aplicações.

1 Tabela 3 – Estudos publicados em artigos científicos, avaliando o efeito da aplicação de colágeno hidrolisado nas características de produtos
2 alimentícios.

Produto	Fonte do hidrolisado	Objetivo	(%) mássico de colágeno hidrolisado	Principais resultados	Referência
Biscoito	Peixe	Aplicação do colágeno hidrolisado como potencial suplemento dietético na farinha de biscoito e avaliação dos seus efeitos sobre comportamento físico, textura e sensorial dos biscoitos.	0-10%	Reduziu a capacidade armazenamento de água e os parâmetros de gelatinização-viscosidade (pico, vale, quebra, final e recuo da viscosidade). Aumento no teor proteico e antioxidante, juntamente com uma ligeira diminuição ($p < 0,05$) no conteúdo energético dos biscoitos.	(Kumar et al., 2019).
Leite fermentado	Ovino	Criar uma bebida láctea fermentada enriquecida com colágeno hidrolisado e analisar suas propriedades físico-químicas, nutricionais, antioxidantes, microbiológicas, além de investigar	0,3%, 05%, 0,75% e 1%.	Aumento da qualidade nutricional e valor proteico, manutenção da concentração inicial de gordura e lactose, aumento da atividade antioxidante e antimicrobiana, e alta biodisponibilidade de colágeno hidrolisado.	(León-López et al., 2020).

		sua biodisponibilidade por meio e espectroscopia.			
Queijo	Peixe	Avaliar os efeitos da adição de colágeno hidrolisado na atividade proteolítica e nos peptídeos inibidores da Enzima Conversora da Angiotensina I (ECA-I) e nas características sensoriais.	0,2%	Aumento da atividade proteolítica e peptídeos anti-ACE-I; Manutenção das características sensoriais.	(Bakr Shori; Chia Hong; Salihin Baba, 2021).
Linguiça	-	Substituir parcialmente o toucinho suíno utilizado na formulação de linguiças tipo Frankfurt por colágeno hidrolisado e verificar o efeito dessa substituição nos atributos físicos, químicos, textura sensorial e instrumental desses produtos.	25% a 75%	Resultou em maior qualidade das linguiças tipo Frankfurt, como dureza e mastigabilidade (até 50%). Além disso, os benefícios nutricionais, como aumento do teor de proteínas e minerais e redução do teor de lipídios, são alcançados com maior redução de gordura.	(Sousa et al., 2017).
Presunto	Suíno	Avaliar o efeito da substituição total de proteína vegetal e fosfatos por colágeno hidrolisado e fibras cítricas, respectivamente, nas perdas por	0,4%	O presunto elaborado com fibra cítrica B e colágeno suíno hidrolisado apresentou melhores resultados em textura, sinérese, análise sensorial e perdas por	(Cardona-Hincapié; Restrepo-

cozimento e sinérese de um presunto
York picado.

cocção, sem diferenças significativas Molina; López-
Vargas, 2020). com o padrão.

Kumar et al. (2019) utilizaram peptídeos de colágeno de escamas/pele de peixes como substituto parcial de farinha de trigo em biscoitos, e observaram redução na capacidade de retenção de água, e nos parâmetros de gelatinização-viscosidade, além de redução no conteúdo energético. León-López et al. (2020) aplicaram colágeno hidrolisado ovino em bebida fermentada de soro, e observaram que a adição de 1% de colágeno hidrolisado aumentou o valor nutricional e a atividade antioxidante (inibição dos radicais DPPH e ABTS). Sousa et al. (2017) adicionaram colágeno hidrolisado comercial em linguiça tipo Frankfurt para substituir o toucinho suíno, e observaram melhoria na textura e no sabor do produto, e maior aceitabilidade pelos consumidores.

Hidrolisados de colágeno, derivados de subprodutos do processamento cárneo, podem apresentar propriedade de eliminação de radicais de oxidação e a capacidade de fazer associação com proteínas miofibrilares, visando aprimorar sua solubilidade (Jenkelunas; Li-Chan, 2018). Outra funcionalidade do colágeno hidrolisado é atuar como anticongelante, sendo útil em reduzir o número de danos causados a células e tecidos durante o processamento a baixas temperaturas, sendo oportuno para alimentos refrigerados ou congelados, podendo atuar como crioprotetores (Cao et al., 2023b; León-López et al., 2019).

O hidrolisado de colágeno pode apresentar algumas bioatividades, tais como atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-hipertensiva, antitrombótica, antitumoral, cardioprotetora, antienvelhecimento, entre outras (Tabela 4).

Tabela 4 - Estudos publicados em artigos científicos, avaliando a bioatividade de colágeno hidrolisado.

Matéria-prima	Enzima	Pré-tratamento	Bioatividade	Principais resultados	Referência
Escama de salmão	Alcalase	Ultrassom e tratamento térmico	Antioxidante	O pré-tratamento em ultrassom da osseína, juntamente com o tratamento térmico subsequente aumentou o rendimento e as atividades antioxidantes do colágeno hidrolisado.	(Sae-leaw; Benjakul, 2018).
Osso bovino	Alcalase e papaína	-	Antioxidante	Os resultados mostraram atividade de eliminação dos radicais DPPH e ABTS.	(Zhang et al., 2023).
Extrato de osso bovino	Colagenase B, Catepsina B e Bromelina	-	Antioxidante	As três enzimas testadas mostraram-se eficazes na geração de complexos antioxidantes peptídeos-minerais a partir de osso bovino. Nem sempre foi notado um resultado melhorado pelo aumento da quantidade da enzima (efeito da relação E:C); em alguns casos, a proporção de 1/50 m/m permitiu melhores resultados.	(Aubry et al., 2023).
Escamas de peixe	Papaína	-	Antioxidante e antimicrobiana	Capaz de inibir o radical e inibir <i>E. coli</i> , apresentando assim atividade antioxidante e antimicrobiana.	(Hernández-Ruiz et al., 2023).
Couro bovino	neutrased:tripsina = 0,016:0,048 m/m	-	Antioxidante e anticâncer	Os peptídeos bioativos do colágeno bovino BPCC têm atividades de eliminação significativas de radicais livres DPPH, ABTS e hidroxila, excelente poder redutor, bem como grandes efeitos protetores em macromoléculas biológicas, incluindo proteínas, lipídios e DNA contra $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ e dano oxidativo induzido por AAPH. Entretanto, a dose administrada é fundamental.	(Xie et al., 2024).

Couro bovino	Papaína e protease composta (Yuanye Biotechnology Co., ltd (Shanghai, China))	Extração de colágeno (ácido acético e pepsina). Líquidos iônicos assistidos por ultrassom.	Antidiabética (DPP-IV).	A combinação dos pré-tratamentos (líquidos iônicos assistidos por ultrassom) e a combinação de dupla hidrólise enzimática apresentou a maior atividade inibitória.	(He et al., 2023).
---------------------	---	--	-------------------------	--	--------------------

Capacidade antioxidante de peptídeos de colágeno é uma das bioatividades mais estudadas, contudo, as atividades anti-hipertensiva, antidiabética e antimicrobiana de peptídeos de colágeno, vêm sendo comprovadas em peptídeos de colágeno de diversas espécies. (Zhang; Li; Liu, 2023) hidrolisaram osso bovino utilizando as enzimas Alcalase® e papaína, e observaram potencial antioxidante nos peptídeos resultantes da enzimólise. Peptídeos com capacidade de inibir radicais livres e a atividade da bactéria *E. coli*, foram identificados na digestão enzimática de escamas de peixe, utilizando papaína como catalisadora na reação (Hernández-Ruiz et al., 2023). (Xie et al., 2024) observaram capacidade antioxidante e anticâncer em peptídeos hidrolisados de couro bovino.

No intuito de aumentar a atividade biológica de interesse, pré-tratamentos vêm sendo estudados no auxílio à hidrólise enzimática. Sae-leaw; Benjakul (2018) utilizaram tratamento térmico e ultrassom como pré-tratamento na obtenção de peptídeos antioxidantes de escamas de salmão (*Salmo salar*) utilizando Alcalase®, e observaram que o pré-tratamento térmico juntamente ao ultrassom poderia aumentar o rendimento e as atividades antioxidantes.

Alguns estudos indicam que hidrolisado enzimático de colágeno pode inibir a atividade da Enzima Conversora da Angiotensina I (ECA I) (Saiga et al., 2008), apresentar atividade antioxidante (León-López et al., 2020), melhorar as propriedades funcionais, como redução na perda por gotejamento e cozimento da carne, e apresentar melhoria nos parâmetros de textura (Zou et al., 2022). Além dessas utilizações, o colágeno hidrolisado também pode ser usado com outras finalidades, por exemplo, como um aditivo na indústria têxtil (Brouta-Agnés; Balsells; Paul, 2013). No entanto, a enzima utilizada no processo deve atender às expectativas esperadas para o produto, sendo essa uma das etapas mais importantes na obtenção de hidrolisado de colágeno.

2.3 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

A hidrólise enzimática de proteínas foi desenvolvida como uma alternativa à hidrólise ácida ou alcalina, na década de 1990. A obtenção de hidrolisados proteicos por hidrólise enzimática mostrou-se uma ferramenta altamente eficaz para potencializar as bioatividades dos produtos da reação, tais como a proteção contra danos oxidativos no DNA e a eliminação de radicais livres, incluindo ROS e outras substâncias oxidativas (Habinshuti et al., 2023).

A alta especificidade, as condições suaves, a ausência de resíduos de solventes orgânicos e de produtos tóxicos químicos no processo de obtenção dos peptídeos posicionaram a hidrólise enzimática como o método preferido para a obtenção de peptídeos bioativos

(Indriani et al., 2022). O processo de hidrólise enzimática também demanda condições criteriosamente controladas do sistema de reação, incluindo pH, temperatura, relação enzima-substrato e tempo de reação, a fim de alcançar a hidrólise ideal para o produto desejado (Ulug; Jahandideh; Wu, 2021).

Adicionalmente, tem sido demonstrado que a utilização de hidrolisados proteicos obtidos por meio de biocatálise representa uma alternativa promissora para aumentar o valor agregado de diversos subprodutos industriais. Essa abordagem pode desempenhar um papel significativo para auxiliar na promoção da saúde dos consumidores, permitindo desenvolver produtos diferenciados e de baixo custo suplementados com peptídeos antioxidantes, que são reconhecidos por seus benefícios para a saúde (Habinshuti et al., 2023).

Nesse contexto, diversas proteases têm sido empregadas na hidrólise das ligações peptídicas em proteínas. Enzimas como Alcalase®, Flavorzyme®, papaína, tripsina, neutrase, protamex, entre outras, têm sido amplamente utilizadas na hidrólise de diferentes proteínas presentes em alimentos (Habinshuti et al., 2023). Estudos recentes apontam a Alcalase® como a mais utilizada, devido aos resultados promissores obtidos em uma ampla gama de alimentos, especialmente devido à sua capacidade de gerar uma grande quantidade de peptídeos de tamanho reduzido (Tacias-Pascacio et al., 2020).

A escolha das enzimas comerciais a serem utilizadas na transformação de proteínas depende, portanto, de uma análise criteriosa dos custos e benefícios associados a cada fonte enzimática, levando em consideração a eficiência e a relação custo-eficácia (Toldrá et al., 2012).

2.3.1 Alcalase®

A Alcalase® (3.4.21.62) é uma protease que tem como função característica a promoção da proteólise, que a classifica como uma “hidrolase” no sistema de classificação internacional e nomenclatura de enzimas (número EC), classe 3 e subclasse 3.4 (hidrólise de ligações peptídicas). O nome aceito pela *Enzyme Commission* (EC) é subtilisina, por ter sido obtida do *Bacillus subtilis*. É uma serina endopeptidase, que não contém resíduos de cisteína (BRENDA, 2023). Realiza a hidrólise de proteínas com ampla especificidade para ligações peptídicas e preferência por uma ampla gama de resíduo não carregado em P!. Hidrolisa amidas peptídicas (Petrillo et al., 2012).

Essa protease apresenta ampla especificidade com pH ótimo alcalino. Atualmente, é produzida por fermentação submersa em batelada alimentada com *Bacillus licheniformis*. A faixa de pH ótima para a Alcalase® é entre 7,00 e 9,00, tendo como pH ótimo 8,00. Já para temperatura, a faixa fica entre 40 e 70 °C, sendo 60 °C a temperatura ótima de atuação (Habinshuti et al., 2023).

Ainda, os peptídeos obtidos por hidrólise enzimática utilizando enzimas de grau alimentício são considerados seguros. Contudo, o alto custo das enzimas, combinado ao baixo rendimento de peptídeos, obrigam a indústria a buscar métodos alternativos para melhorar o rendimento do hidrolisado/peptídeo (Habinshuti et al., 2023).

Teshnizi; Robatjazi; Mosaabadi (2020) utilizaram a enzima comercial Alcalase®, usando a superfície de resposta, e obtiveram maior grau de hidrólise (12,78%) em uma relação mássica enzima/substrato de 3,5%, pH de 7,5 e temperatura de 60 °C. Nas condições otimizadas, as proteínas apresentaram pesos moleculares inferiores a 14,5 kDa para obter hidrolisados proteicos de pele de frango.

Outros pesquisadores vêm apresentando tecnologias sequencial ou assistivas para melhorar o tempo de extração e a atividade biológica de interesse. Indriani et al. (2022) mostraram a importância da hidrólise enzimática combinada com o ultrassom na extração de colágeno da pele de rã-touro asiática, relatando a obtenção de hidrolisados proteicos altamente antioxidantes usando a tecnologia de ultrassom de forma sequencial por 20 min, ou combinada por 30 min.

Sendo assim, o uso de ultrassom como tecnologia assistiva, para a obtenção de peptídeos bioativos da moela, do revestimento interno da moela ou do proventrículo de frango, é uma das hipóteses inéditas para obter colágeno hidrolisado enzimático desses subprodutos avícolas, com tempo de processo reduzido e melhor capacidade antioxidante dos hidrolisados, sem gerar resíduos tóxicos.

2.4 TECNOLOGIAS VERDES ASSISTIVAS

Atualmente, a aplicação de tecnologias não clássicas é uma área de desenvolvimento dinâmico na pesquisa voltada para a indústria de alimentos. Processos alternativos aos convencionais de extração têm potencialidades para aumentar a eficácia da produção e contribuir para a preservação do meio ambiente, reduzindo o uso de recursos naturais e solventes, eliminando efluentes, o consumo de energia fóssil e a geração de substâncias tóxicas (Chemat et al., 2019; Chemat; Zill-e-Huma; Khan, 2011).

Tecnologias não térmicas inovadoras, como alta pressão e ultrassom, têm o potencial de afetar as estruturas das proteínas sem alterar a temperatura do processo (Thoresen et al., 2020). Podem ser usadas com a finalidade de obter maior rendimento de extração de proteínas, usando a alta pressão e maior capacidade antioxidante com o ultrassom. Essas tecnologias são especialmente projetadas para serem econômicas, simples e eficientes energeticamente, e não poluentes (Chemat; Zill-e-Huma; Khan, 2011).

Habinshuti et al. (2023) relataram a utilização de tecnologias alternativas para reduzir a quantidade de enzimas e o tempo de reação na obtenção de peptídeos bioativos de diferentes fontes proteicas. Essas tecnologias incluíram tratamentos térmicos, ultrassom, micro-ondas, alta pressão hidrostática e campo elétrico pulsado, aplicados tanto como pré-tratamento, quanto durante a hidrólise enzimática.

Essas inovações tecnológicas potencializam a hidrólise enzimática, induzindo a desnaturação e o desdobramento da estrutura da proteína, o que facilita a suscetibilidade da mesma à ação das enzimas. Como resultado, é possível modificar a enzima e o substrato, gerando melhorias na capacidade antioxidante dos peptídeos obtidos.

Entretanto, algumas tecnologias assistivas enfrentam algumas barreiras no uso industrial, como o alto custo e a dificuldade de desenvolvimento de equipamentos em larga escala (Soares et al., 2020). Todavia, o ultrassom é uma tecnologia emergente, não térmica, não invasiva e verde (Alarcon-Rojo et al., 2019), de custo relativamente baixo quando comparado a outras tecnologias, como alta pressão (Soares et al., 2020). Ganha espaço na indústria de alimentos, devido ao fato de as indústrias poderem dispor de equipamentos de ultrassom práticos e confiáveis (Chemat et al., 2019).

2.4.1 Ultrassom

O ultrassom consiste no uso de energia acústica, com frequências superiores a 20 kHz, para aumentar a eficácia no processamento e preservação de alimentos (Alarcon-Rojo et al., 2019). As ondas ultrassônicas são vibrações mecânicas (superiores a 20 kHz) que podem ser divididas basicamente em duas faixas, a de baixo potencial (baixa intensidade) e alta potência (alta intensidade) (Barekat; Soltanizadeh, 2019). As condições mais utilizadas são de 200 a 600 W; e 20 a 50 kHz (Habinshuti et al., 2023).

A aplicação do ultrassom no processamento de alimentos é relativamente recente, contudo, é comprovado que as ondas ultrassônicas de alta intensidade podem romper células,

e mesmo o ultrassom de baixa intensidade é capaz de modificar o metabolismo das células (Chemat et al., 2017).

O funcionamento do ultrassom se dá pela cavitação acústica que ocorre quando as variações de pressão das ondas ultrassônicas passam por uma substância. Geralmente, se refere à formação, ao crescimento e à implosão de bolhas que ocorrem durante a propagação de uma onda de ultrassom em um meio líquido (Chemat et al., 2017; Habinshuti et al., 2023), provocando efeitos químicos, físicos e biológicos (Natarajan; Ponnusamy, 2020) na matéria.

A redução do tempo de processamento, da quantidade de energia e dos solventes utilizados, das operações unitárias e da emissão de CO₂ (Chemat; Zill-e-Huma; Khan, 2011) são os principais pontos que motivam o uso do ultrassom pela indústria de alimentos. Além disso, a sustentabilidade do meio ambiente é outro ponto importante, que estimula o uso dessa tecnologia.

Existe uma grande área de aplicação do ultrassom de baixa e alta intensidade no processamento de alimentos, por exemplo no congelamento (Zhang et al., 2022), no descongelamento (Xu et al., 2022), na secagem (Fernandes; Rodrigues, 2023), no amaciamento (Li et al., 2022), na marinação (Lima et al., 2022), na pasteurização (Liu et al., 2022), entre outros processamentos comuns na indústria alimentícia.

Recentemente, essa tecnologia tem sido utilizada na modificação do desempenho de enzimas. Na prática, o ultrassom é capaz de aumentar a atividade enzimática, em condições de tempo, temperatura e potência específicos (Bruno Siewe; Kudre; Narayan, 2021). As mudanças na cavitação do ultrassom resultam em alterações na conformação da proteína, favorecendo a exposição dos sítios de clivagem durante o processo, como a hidrólise, que tem sido amplamente utilizada para aprimorar as propriedades antioxidantes de diferentes substratos (Habinshuti et al., 2023). Além de ser aplicado de forma isolada, o ultrassom tem sido empregado combinado com outros tratamentos para otimizar o processamento de alimentos.

O uso do ultrassom como pré-tratamento do substrato a ser utilizado em reações de hidrólise enzimática, ou simultaneamente à hidrólise enzimática, vem sendo objeto de investigação, no intuito de aumentar o rendimento do processo e as características-alvo da proteína hidrolisada (Indriani et al., 2022; Vidal et al., 2018).

Na extração e/ou hidrólise do colágeno, o ultrassom vem sendo usado de forma assistiva ou combinado com as enzimas. Pacheco et al. (2023) usaram ultrassom como pré-processo e/ou durante a proteólise com o objetivo de melhorar o tempo de hidrólise, aumentar a concentração final dos hidrolisados, bem como melhorar a solubilidade e a capacidade antioxidante *in vitro* dos hidrolisados. Os autores perceberam que o uso da sonicação pode

proporcionar um aumento de até 280% na velocidade de proteólise, resultando em uma concentração de peptídeos solúveis até 24% maior do que a obtida na hidrólise convencional.

Kaewbangkerd; Hamzeh; Yongsawatdigul (2023) utilizaram o ultrassom na extração de colágeno da traqueia de frango, mostrando que a tecnologia não afetou a microestrutura do colágeno, e não danificou a tripla hélice, nem a estrutura secundária da proteína. Indriani et al. (2022) utilizaram o ultrassom como pré-tratamento ou de forma simultânea durante a hidrólise de pele da rã-touro asiática, utilizando papaína para o preparo de colágeno hidrolisado. Observaram que o uso da tecnologia de ultrassom como pré-tratamento por 20 min ou como tratamento simultâneo à hidrólise enzimática por 30 min, forneceu hidrolisados altamente antioxidantes, resultando em um produto de maior bioatividade do que o substrato original.

Portanto, o uso do ultrassom na obtenção de hidrolisado de colágeno de subprodutos de origem animal é uma alternativa que pode ser utilizada para obter produtos com maior atividade biológica. Contudo, até o presente momento, não foi documentado o uso dessa tecnologia combinada com Alcalase® para a obtenção de colágeno hidrolisado enzimático de moela, revestimento interno da moela ou proventrículo de frango.

CAPÍTULO III

METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

3.1 DESENHO DAS ETAPAS DO PROJETO

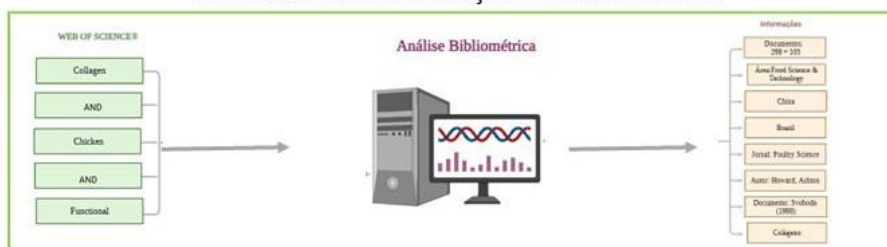
Esta pesquisa foi planejada para ser executada em três etapas (Figura 3). A primeira etapa envolveu uma prospecção científica na base de dados da Coleção Principal da Web Of Science®, utilizando uma combinação de palavras-chave definida após buscas preliminares de teste, nos campos que incluem título do artigo, resumo e palavras-chave. Os artigos selecionados foram classificados após a leitura de título e resumo, e submetidos a análise.

Na segunda etapa do estudo, realizou-se a caracterização da matéria-prima visando a obtenção de hidrolisados enzimáticos, tomando-se por base os resultados dos teores dos macronutrientes (umidade, cinzas, lipídio e proteína), das matérias-primas investigadas e do teor de hidroxiprolina/colágeno. Nesta etapa, outras análises envolveram a determinação da cor instrumental e pH, realização de eletroforese SDS-PAGE, perfil de aminoácidos e avaliação da microestrutura da matéria-prima, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

A partir dos resultados da segunda etapa, foram realizados testes preliminares visando selecionar a matéria-prima para a obtenção dos hidrolisados enzimáticos. O substrato selecionado foi utilizado no estudo de otimização do processo de hidrólise com a enzima proteolítica Alcalase®, nas condições de temperatura e pH ótimas deste biocatalisador e em processo assistido por ultrassom (pré-tratamento), utilizando um planejamento sequencial variando a concentração de ácido acético, tempo no banho ultrassônico (10, 20 e 30 minutos) como pré-tratamento; e concentração de enzima (m/v). Nesta etapa, foi levado em consideração o maior grau de hidrólise proteica e a atividade antioxidante *in vitro* das amostras obtidas nos diferentes experimentos. Os hidrolisados com maior grau de hidrólise e maior capacidade antioxidante foram avaliados quanto à atividade antioxidante por ORAC, eletroforese SDS-PAGE, o perfil de aminoácidos, a identificação de sequências peptídicas, espectroscopia de infravermelho pela transformada de Fourier e a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Figura 3 – Desenho das etapas da pesquisa.

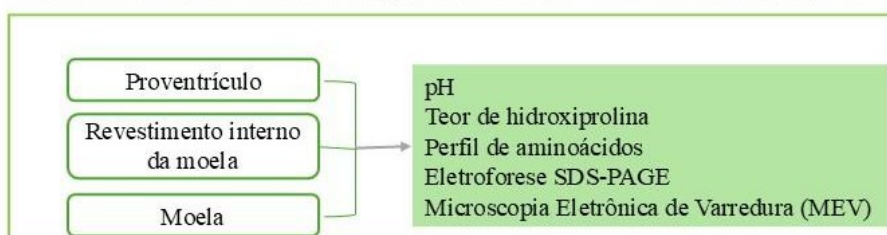
1 ETAPA: PROSPECÇÃO CIENTÍFICA



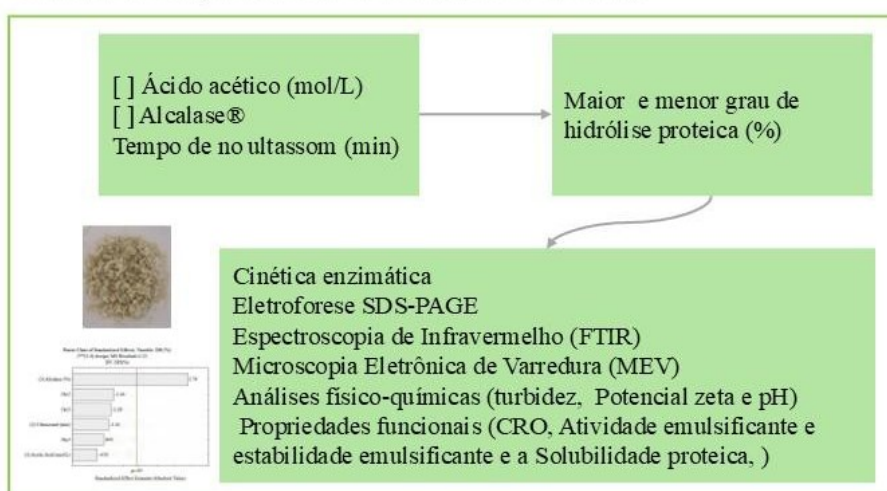
2 ETAPA: TESTE PILOTO – UFPB



3 ETAPA: CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA/UFSC



4 ETAPA: OBTENÇÃO DE HIDROLISADO ENZIMÁTICO DE COLÁGENO, ASSISTIDO POR ULTRASSOM



Fonte: Autoria própria, 2026.

3.2 METODOLOGIA DA PROSPECÇÃO CIENTÍFICA

A etapa de prospecção científica foi realizada em janeiro de 2026, utilizando a metodologia descrita segundo Melo et al. (2021). Para a coleta de dados, foi realizada uma busca na base de dados da Coleção Principal da Web Of Science®. Os dados foram filtrados utilizando os termos “Collagen AND Chicken AND Functional”, no item do tópico que inclui título do artigo, resumo e palavras-chave; nenhum filtro de campo de pesquisa ou ano foi adicionado, para garantir que todos os estudos presentes na base de dados fossem obtidos.

A busca resultou em 268 artigos, sendo que todos foram analisados quanto ao título e ao resumo, tendo sido classificados como artigos originais de pesquisa. Após essa etapa inicial, as informações referentes à distribuição dos artigos, com base no ano, na área geográfica, no idioma e na área de publicação dos mesmos, foram extraídas diretamente do banco de dados.

Os materiais coletados no banco de dados foram então processados no *software* VosViewer (version 1.6.20), objetivando-se coletar informações sobre a cooperação entre países, organizações e autores. O Excel (Microsoft 365 MSO Versão 2601 Build 16.0.19628.20132) foi utilizado para tratar os dados e gerar os gráficos para a visualização dos mesmos.

3.3 CARACTERIZAÇÃO E ENSAIOS PRELIMINARES PARA A SELEÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA A SER UTILIZADA NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE COLÁGENO

Os ensaios preliminares foram realizados no Laboratório de Química de Alimentos – LAQA/UFPB, objetivando a seleção da matéria-prima a ser utilizada para a obtenção dos hidrolisados enzimáticos de colágeno. Os testes preliminares foram realizados com a moela, com o revestimento interno da moela e com o proventrículo de frango obtidos de um revendedor localizado na cidade de Bananeiras – PB.

3.3.1 Composição físico-química

A moela, o revestimento interno da moela e o proventrículo de frango foram triturados separadamente em um liquidificador (Mondial Power- L-550 2 Velocidades + Pulsar 550W) e usados para as análises, as quais foram realizadas em triplicata.

As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2000), e os resultados expressos em g.100g⁻¹ (base úmida).

A umidade (n° 950.46.41) foi determinada em estufa a 105 °C, por 24h; as cinzas (n° 39.1.09) foram determinadas em mufla a 550 °C; os lipídios foram quantificados pelo método de Folch; Lees; Sloane Stanley (1957); as proteínas (n° 928.08), dosadas pelo método de Kjeldahl.

Para a determinação de hidroxiprolina (AOAC, n° 990.26), a amostra passou por um processo de hidrólise ácida a quente, em estufa a 105 °C por 16 horas. Após à hidrólise, foi realizada uma filtração e posterior diluição (10 vezes). Para a realização da reação de cor, foram adicionados 2 mL do extrato diluído, 1 mL da solução oxidante (1,41 g do reagente cloramina T em 100 mL de solução tampão de ácido cítrico em pH 6), agitou-se e deixou-se em repouso por 20 minutos. Logo após, foi adicionado 1 mL do reagente de cor (10 g de 4-dimetilaminobenzaldeído em 35 mL de ácido perclórico a 60% e 65 mL de 2-propanol); homogeneizado vigorosamente, e acondicionado à temperatura de 60 °C em banho-maria, por 15 minutos. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância das soluções contra o branco de reagentes a 558 nm, em espectrofotômetro UV-VIS (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil). A quantificação foi realizada utilizando curva padrão preparada com diferentes concentrações de hidroxiprolina (0,6 a 3,6 µg/mL). A conversão da concentração de hidroxiprolina para colágeno foi realizada multiplicando-se o valor final por 8.

3.3.2 Teste de hidrólise proteica da moela, do revestimento interno da moela e do proventrículo de frango com Alcalase®

Individualmente, o substrato (a moela, o revestimento interno e o proventrículo) foi submetido a inativação das enzimas endógenas em banho a 90°C por 15 minutos, e resfriamento em banho de gelo. O material inativado foi transferido para um reator encamisado com banho termostatizado e previamente aquecido. Ao sistema, adicionou-se água ultrapura na proporção de 1:2 (m/v), com agitação constante. A relação enzima:substrato (5%, m/m) e o tempo total de hidrólise (240 minutos) foram definidos com base em Bezerra et al. (2020) e De Queiroz et al. (2017). Durante a hidrólise, o pH foi controlado pela adição de solução de NaOH 0,5 mol / L. Aliquotas foram retiradas ao longo do tempo de reação. Após 240 minutos de hidrólise, foi realizada a inativação da enzima, pelo uso de temperatura a 90 °C por 15 minutos, e a amostra foi armazenada sob congelamento para posterior análise.

3.3.3 Grau de hidrólise proteica

O grau de hidrólise proteica sob ação da Alcalase® nos extratos da moela de frango e dos resíduos foi determinado através do consumo de base, utilizando a Equação 1 descrita por (Adler-Nissen, 1986).

$DH (\%) = B * Nb * \left(\frac{1}{\alpha}\right) * \left(\frac{1}{MP}\right) * \left(\frac{1}{htot}\right) * 100$ (Equação 1), onde DH (%) = grau de hidrólise; B = consumo de NaOH (0,5 mol/L) em mL; Nb = normalidade NaOH (0,5 mol/L); $1/\alpha$ = média de grau de dissociação do grupo α -NH₂; MP = massa da proteína em g; htot = número total de ligações peptídicas no substrato proteico, sendo 7,6 para carnes.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS/ UFSC

A moela de frango, o revestimento interno e o proventrículo foram adquiridos em abatedouro localizado no estado de Santa Catarina (Brasil), devidamente fiscalizado pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF). Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em uma caixa térmica com gelo e transportadas até o laboratório de Compostos Bioativos, localizado no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina, para as análises posteriores.

A Alcalase® 2,4 L, com uma temperatura ótima de 60 °C e pH ótimo 8,00, produzida pela Novozymes, foi doada pela empresa LNF Latino Americana, Fioravante Pozza, Bento Gonçalves, RS.

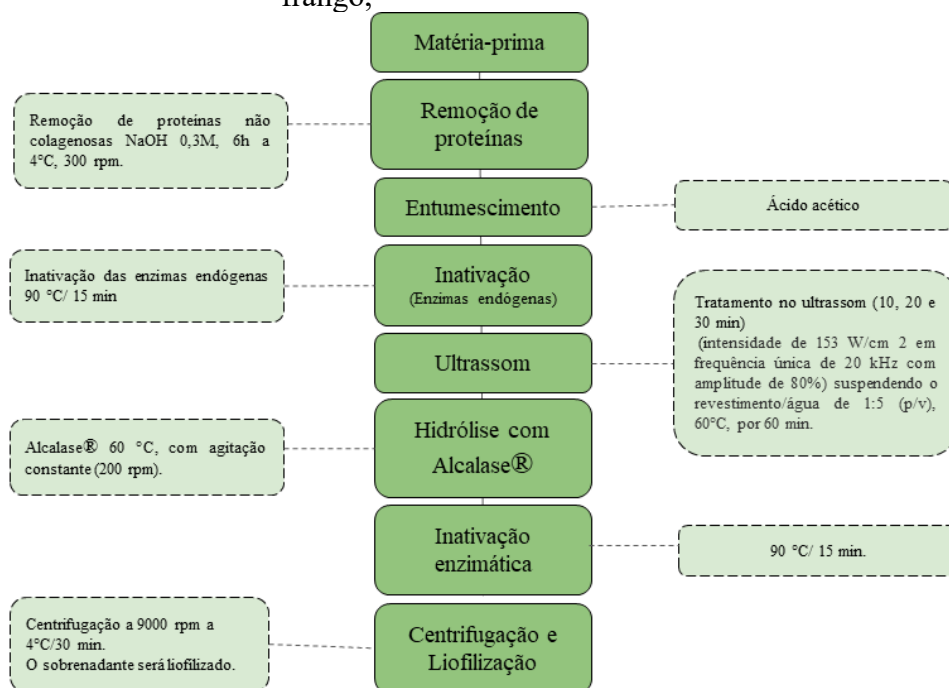
O material congelado foi triturado em um moedor de carnes e utilizado para todas as análises que foram realizadas em triplicata.

O pH foi determinado utilizando um pHmetro Modelo Q400 AS (Quimis Aparelhos Científicos Ltda., Diadema, SP, Brasil) segundo a AOAC (2000) n° 981.12.

3.4.1 Estratégia sequencial de planejamentos experimentais para a maximização do hidrolisado de colágeno da moela, do revestimento interno da moela ou do proventrículo de frango utilizando a Alcalase®, assistido por ultrassom

O processo de hidrólise da matéria-prima selecionada utilizando a Alcalase® (com base na metodologia de Indriani et al., 2022) está descrito na Figura 4.

Figura 4 – Fluxograma do processo de extração enzimática do hidrolisado de colágeno de frango,



Fonte: Adaptado de Indriani et al. (2022), usando BioRender.com, 2023.

3.4.1.1 Pré-tratamento para remoção das proteínas não colagenosas do substrato de frango selecionado para posterior hidrólise enzimática

As proteínas não colagenosas do substrato selecionado (moela, revestimento interno da moela ou do proventrículo) foram removidas após a etapa de trituração segundo a metodologia de Indriani et al. (2022), com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,3 mol L⁻¹ em uma proporção amostra/solução alcalina 1:10 (m/v), por 6 h a 4 °C. A mistura foi agitada continuamente a 300 rpm, e a solução alcalina foi trocada a cada 2 h. Em seguida, o subproduto selecionado foi lavado em água fria corrente (5 °C) até a água da lavagem atingir um pH levemente básico ou neutro (7,0 – 7,5).

3.4.1.2 Pré-tratamento do subproduto em ácido acético

A matéria-prima selecionada, já sem as proteínas não colagenosas, foi embebida em ácido acético na proporção de amostra/solução de 1:10 (m/v), e a mistura foi agitada a 200 rpm a 4 °C durante 4 h, para facilitar o acesso da água as fibras de colágeno, podendo assim melhorar os resultados no processo de hidrólise. O substrato entumescido resultante foi lavado

com água fria até obter água de lavagem com pH neutro ou ligeiramente ácido (6,5–7,0), usado como substrato para preparar o hidrolisado.

3.4.1.3 Planejamento experimental da hidrólise enzimática assistida por ultrassom de colágeno do subproduto de frango selecionado na etapa anterior

A escolha das variáveis do planejamento experimental levou em consideração os testes preliminares, bem como as condições que permitissem preservar a qualidade do hidrolisado e fossem adequadas para a hidrólise enzimática. Para a temperatura e pH, foram selecionadas as condições ótimas para a atividade catalítica da Alcalase® (60 °C e 8,00, respectivamente), para garantir o máximo de atuação da enzima. A concentração mássica máxima da relação enzima/substrato foi de 5%, definida com base nos ensaios de seleção das matérias-primas testadas e de acordo com os estudos de Bezerra et al. (2020) e De Queiroz et al. (2017).

Um planejamento experimental completo foi adotado para obter o hidrolisado de colágeno presente na matéria-prima assistida por enzimas e ultrassom. Este planejamento incluiu 11 ensaios, com três repetições no ponto central. Foram estudadas 3 variáveis independentes: concentração de ácido acético (mol/L) (Araújo et al., 2018; Indriani et al., 2022), concentração de enzima (% m/m, em relação à massa total de substrato) (Bezerra et al., 2020; Dos Santos Aguilar; De Souza; De Castro, 2020) e o tempo de hidrólise no ultrassom (min) (Indriani et al., 2022; Magalhães et al., 2022) (Tabela 4). Como variável dependente, foram estudados o grau de hidrólise proteica (descrito no item 3.3.3). Estes ensaios foram conduzidos em um tempo de incubação de 4 horas. Os efeitos destas variáveis foram analisados estatisticamente.

Tabela 4 – Valores experimentais e níveis codificados das variáveis independentes (concentração de ácido acético, concentração de enzima e tempo de hidrólise no ultrassom), utilizados no delineamento experimental completo para seleção das condições de hidrólise do colágeno do subproduto de frango com Alcalase® assistida por ultrassom.

Variáveis	-1	0	+1
Ácido acético (mol/L)	0,5	0,75	1,0
Ultrassom (min)	10	20	30
Enzima (%)	1	3	5

Os resultados do planejamento experimental foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o *software* STATISTICA 5.0 (STATSOFT, 2010) e R Studio (versão 2023.06.2) a 95% de confiança para o delineamento completo 2³.

3.4.1.4 Obtenção dos hidrolisados de colágeno da moela, do revestimento interno da moela ou proventrículo usando Alcalase® e ultrassom

O subproduto selecionado na etapa anterior, triturado e tratado com NaOH, para remoção de proteínas não colagenosas, foi usado como substrato na hidrólise. Na primeira etapa, foi realizada uma inativação das enzimas endógenas, com base nos achados de (Cordeiro et al., 2020), submetendo a matéria-prima selecionada a 90 °C por 15 min. Em seguida, a matéria-prima tratada foi embebida em ácido acético em diferentes concentrações, tratada em banho ultrassônico, conforme descrito por (Indriani et al. 2022), com adaptações. O pré-tratamento com ultrassom foi realizado suspendendo o substrato entumescido (50 g) em água destilada na proporção amostra/água 1:5 (m/v) usando uma lavadora ultrassônica (Q 5.9/37 A, ECO-SONICS, Indaiatuba – SP, Brasil), com intensidade de 153 W/cm² em frequência única de 20 kHz. Este tratamento foi realizado em vários tempos de ultrassom (10, 20 e 30 min) (Tabela 4). Durante o processo, a temperatura foi mantida a 40 °C em banho-maria e monitorada com termômetro digital até o final do processo (60 min de tempo total).

Na terceira etapa, a matéria-prima tratada com ultrassom foi então hidrolisada usando Alcalase®, sendo incubado a 60 °C com agitação constante a 200 rpm até o fim da hidrólise, usando um agitador. A hidrólise foi interrompida por aquecimento a 90 °C por 15 minutos e a mistura resultante foi centrifugada a 9.000 rpm a 4 °C por 30 minutos. O sobrenadante foi coletado e liofilizado. O liofilizado foi mantido em sacos de polietileno e armazenado a – 20 °C até o uso nas análises.

Após os resultados do processo de otimização, foi realizada uma hidrólise sem adição de enzima e outra reação sem tempo no ultrassom, nas condições otimizadas, para a realização do estudo da caracterização.

3.4.2 Caracterização dos hidrolisados proteicos de colágeno obtidos a partir do subproduto de frango otimizado

3.4.2.1 Eletroforese da moela, revestimento interno da moela e proventrículo, e do hidrolisados de colágeno na condição otimizada

O perfil das frações proteicas e dos peptídeos foi determinado por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo SDS para separação das bandas de maior peso molecular (225 kDa à 38 kDa) (LAEMMLI, 1970) e de menor peso (38 kDa a 3,5 kDa) por SDS-PAGE-Tricina (Schägger; Von Jagow, 1987). As amostras foram diluídas em tampão redutor (0,5 mol/L Tris-HCl, pH 6,8, 10% SDS, 10% glicerol, 5% β mercaptoetanol e 0,1% Comassie Blue G250), homogeneizadas com auxílio de vórtex e sonicadas por 10 minutos. Logo após, foram aquecidas a 90 °C por 5 minutos em banho a seco (Loccus, São Paulo, Brasil). Pelo sistema SDS-PAGE, o gel de aplicação (stacking gel) foi preparado na concentração de 3,5% de poliacrilamida em tampão Tris - HCl 0,5 mol/L, pH 6,8 e SDS a 1%, enquanto que o gel de separação foi montado formando um gradiente de 7,5 a 17,5% de poliacrilamida em tampão Tris - HCl 3 mol/L, pH 8,8 e SDS a 1%. A corrida foi realizada sob amperagem constante (25 mA) e ao final da corrida, o gel foi retirado da placa e fixado em TCA 12,5% por uma hora, sendo então corado com Coomassie brilliant blue R250. A remoção do excesso de corante foi realizada com o auxílio de uma solução descorante de metanol, ácido acético e água (1:3,5:8 v/v/v). Os pesos moleculares das frações proteicas foram comparados mediante utilização de marcador de peso molecular (GE Healthcare Life Sciences, Piscataway, NJ, USA). No sistema SDS-PAGE-Tricina, foram utilizados géis de poliacrilamida de diferentes concentrações: gel de separação (16% T e 3% C), gel espaçador (10% T e 3% C) e gel de empilhamento (4% T e 3% C). Após as corridas, o gel foi fixado por 1 h em solução metanol, ácido acético e água (5:1:4 v/v/v) e corados por Coomassie brilliant Blue G250 (0,025% de Coomassie Blue em 10% ácido acético), durante 48 horas e posteriormente descorados em 10% ácido acético. Os pesos moleculares das frações de baixo peso foram comparados mediante utilização de marcador de peso molecular (GE Healthcare Life Sciences, Nova Jersey, USA).

3.4.2.2 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Características estruturais foram avaliadas através da análise de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR em equipamento Shimadzu IR Prestige-21 (Shimadzu Corporation, Japan), utilizando a técnica de refletância total atenuada (ATR) no intervalo de 400 a 4500 cm^{-1} , com varreduras de 45 scans e resolução de 2 cm^{-1} .

3.4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia da superfície, que foi realizada nas matérias-primas e na amostra de colágeno hidrolisado obtidos nas condições reacionais otimizadas, foi visualizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV, Hitachi S-3400N, Japão). A amostra foi montada em stubs de amostra MEV e revestida com partículas de ouro sob vácuo. Após o revestimento, a amostra foi examinada a um potencial de aceleração de 20 kV inicialmente (Dhakal et al., 2018).

3.4.2.4 Análise das propriedades funcionais

As propriedades funcionais foram avaliadas em quadruplicata.

A turbidez dos hidrolisados (0,5 g de amostra hidrolisada diluída em 5 mL de água destilada) foi medida a 600 nm usando um espectrofotômetro UV-Visível (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil) de acordo com Fuentes et al. (2024).

O pH do hidrolisado dissolvido (0,5 g em água destilada) foi medido à temperatura ambiente (25 °C) usando um pHmetro EDGE (HI2020 – 02).

As amostras de colágeno hidrolisado foram dissolvidas em água até uma concentração final de 10 mg/mL e agitadas em vórtex por 3 minutos. O potencial zeta dessas amostras foi determinado usando um analisador de potencial zeta (Zetasizer Nano ZsMalvern).

A solubilidade dos hidrolisados foi avaliada em vários níveis de pH seguindo a metodologia descrita por Fuentes et al. (2024). Resumidamente, 0,5 g de hidrolisado foram dispersos em 5 ml de água deionizada. Após o ajuste do pH da solução para 4, 7 e 10 utilizando HCl 6 mol/L ou NaOH 6 mol/L, a mistura foi agitada à temperatura ambiente por 30 minutos e centrifugada a 7.500 x g por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e seu teor proteico foi quantificado pelo método de Kjeldahl. A solubilidade da proteína foi calculada utilizando a seguinte equação e expressa em porcentagem (% em peso) (Equação 1).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Conteúdo proteico na amostra}}{\text{Conteúdo proteico total}} \times 100 \quad (\text{Eq. 1}),$$

A capacidade de retenção de óleo (CRO) foi determinada de acordo com o método de Fernández-López et al. (2009) e Fuentes et al. (2024) com adaptações. Uma amostra de 0,5 g

foi misturada com 15 mL de óleo de girassol, homogeneizada em vórtex por 1 minuto, armazenada à temperatura ambiente por 24 horas e centrifugada a 3.000 x g por 20 minutos. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi pesado. A CRO foi calculada como gramas de óleo retido por grama de amostra.

A capacidade emulsificante dos hidrolisados foi avaliada por dois parâmetros: o índice de atividade emulsificante (IAE) e o índice de estabilidade da emulsão (IEE), seguindo a metodologia de Noman et al. (2018), modificada por Fuentes et al. (2024). Aproximadamente 0,2 g da amostra foi misturada com 45 mL de água deionizada e 15 mL de óleo de girassol. A mistura foi homogeneizada utilizando um Ultra-Turrax (T18 digital ULTRA-TURRAX® - IKA, Alemanha) na velocidade máxima (20.000 rpm) por 1 minuto. Em seguida, 50 µL da camada inferior da emulsão foram coletados e misturados com 2 mL de solução de SDS a 1%. A absorbância das misturas foi medida imediatamente a 500 nm (A0) e após 10 minutos (A10) utilizando um espectrofotômetro UV-Visível (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil). O EAI (m²/g) e o ESI (min) foram calculados usando as Equações 2 e 3, respectivamente:

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times A0}{0.25 \times \text{massa proteica}} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$ESI = A0 \times \frac{A10}{A0 - A10} \quad (\text{Eq. 3})$$

A estabilidade da espuma (FS) foi medida seguindo Fuentes et al. (2024) e Noman et al. (2018). Aproximadamente 0,5 g de hidrolisado foi misturado com 30 mL de água deionizada (V0) em um cilindro volumétrico de 100 mL. A mistura foi homogeneizada utilizando um Ultra-Turrax (T18 digital ULTRA-TURRAX® - IKA, Alemanha) na velocidade máxima (20.000 rpm) durante 1 minuto. O volume da espuma foi registrado imediatamente (V0) e 30 minutos após a formação da espuma (V2). O FS foi calculado de acordo com a Equação 4.

$$FS (\%) = \frac{(V2-V0)}{V0} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados da caracterização dos subprodutos de frango e dos hidrolisados foi realizada por meio de Análise de Variância (ANOVA). Posteriormente, as

médias foram submetidas ao teste *post hoc* de Tukey, ao nível de significância de 5%, utilizando o *software* R Studio (versão 2024). Os dados obtidos na otimização do processo de hidrólise dos subprodutos de frango foram avaliados por análise de variância (ANOVA) utilizando-se o *software* R Studio (versão 2023.06.2) onde, a partir deste, foram estimados os efeitos das variáveis estudadas e determinados os coeficientes do modelo para a resposta experimental, utilizando um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

4. REFERÊNCIAS

- ABPA (Associação Brasileira de Proteína Animal). **Relatório Anual 2025. São Paulo:** ABPA, 2025, 67 p. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2025/04/ABPA.-Relatorio-Anual-2025.pdf>. Acesso em: 31 janeiro de 2026.
- ADLER-NISSEN, J. **Enzymic Hydrolysis of Food Proteins**. New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986.
- AKESTER, A. R. Structure of the glandular layer and koilin membrane in the gizzard of the adult domestic fowl (*Gallus gallus domesticus*) **J. Anat.** [s.l: s.n.].
- AKIMOVA, D.; SUYCHINOV, A.; KAKIMOV, A.; KABDYLZHAR, B.; ZHARYKBASOV, Y.; YESSIMBEKOV, Z. Effect of chicken by-products on the physicochemical properties of forcemeat formulations. **Future Foods**, p. 100238, jun. 2023.
- AKRAM, A. N.; ZHANG, C. Effect of ultrasonication on the yield, functional and physicochemical characteristics of collagen-II from chicken sternal cartilage. **Food Chemistry**, v. 307, p. 125544, 1 mar. 2020a.
- AKRAM, A. N.; ZHANG, C. Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 64, p. 105053, 1 jun. 2020b.
- ALAM, M. R.; SHAHID, M. A.; ALIMUZZAMAN, S.; KHAN, A. N. Sources, extractions and applications of bio-maker collagen—A review. **Biomedical Engineering Advances**, v. 4, p. 100064, 1 dez. 2022.
- ALARCON-ROJO, A. D.; CARRILLO-LOPEZ, L. M.; REYES-VILLAGRANA, R.; HUERTA-JIMÉNEZ, M.; GARCIA-GALICIA, I. A. Ultrasound and meat quality: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 55, p. 369–382, jul. 2019.
- AOAC. **Association of Official Chemists, Official methods of analysis the os AOAC International**, 17th ed., Washington, USA, 2000.
- ARAÚJO CORDEIRO, A. R. R. DE; MEDEIROS, L. L. DE; BEZERRA, T. K. A.; PACHECO, M. T. B.; SOUSA GALVÃO, M. DE; MADRUGA, M. S. Effects of thermal processing on the flavor molecules of goat by-product hydrolysates. **Food Research International**, v. 138, n. September, p. 109758, dez. 2020.
- ARAÚJO, Í. B. D. S.; BEZERRA, T. K. A.; NASCIMENTO, E. S. DO; GADELHA, C. A. D. A.; SANTI-GADELHA, T.; MADRUGA, M. S. Optimal conditions for obtaining collagen from chicken feet and its characterization. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 38, p. 167–173, 1 dez. 2018.
- ARAÚJO, Í. B. S.; LIMA, D. A. S.; PEREIRA, S. F.; PASETO, R. P.; MADRUGA, M. S. Effect of storage time on the quality of chicken sausages produced with fat replacement by collagen gel extracted from chicken feet. **Poultry Science**, v. 100, n. 2, p. 1262–1272, 1 fev. 2021.
- AUBRY, L.; SY, K.; SAYD, T.; FERRARO, V. Collagen Peptides-Minerals Complexes from the Bovine Bone by-Product to Prevent Lipids Peroxidation in Meat and Butter and to Quench Free Radicals—Influence of Proteases and of Steam Sterilisation. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 13, n. 6, 1 mar. 2023.
- BAKR SHORI, A.; CHIA HONG, Y.; SALIHIN BABA, A. Proteolytic profile, angiotensin-I

converting enzyme inhibitory activity and sensory evaluation of Codonopsis pilosula and fish collagen cheese. **Food Research International**, v. 143, p. 110238, 2021.

BAREKAT, S.; SOLTANIZADEH, N. Application of high-intensity ultrasonic radiation coupled with papain treatment to modify functional properties of beef Longissimus lumborum. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 1, p. 224–232, 2019.

BELL, D. J., & FREEMAN, B. M. (1971). Physiology and biochemistry of the domestic fowl. **Academic Press, Inc.**, 1–3.

BEZERRA, T.; ESTÉVEZ, M.; LACERDA, J. T.; DIAS, M.; JULIANO, M.; MENDES, M. A.; MORGANO, M.; PACHECO, M. T.; MADRUGA, M. Chicken Combs and Wattles as Sources of Bioactive Peptides: Optimization of Hydrolysis, Identification by LC-ESI-MS2 and Bioactivity Assessment. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1698, 7 abr. 2020.

BEZERRA, T. K. A.; LACERDA, J. T. J. G. DE; SALU, B. R.; OLIVA, M. L. V.; JULIANO, M. A.; PACHECO, M. T. B.; MADRUGA, M. S. Identification of Angiotensin I-Converting Enzyme-Inhibitory and Anticoagulant Peptides from Enzymatic Hydrolysates of Chicken Combs and Wattles. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n. 12, p. 1294–1300, 1 dez. 2019.

BHAT, Z. F.; KUMAR, P.; KUMAR, S. Effect of skin, enrobing and refrigerated storage on the quality characteristics of chicken meat balls. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 5, p. 890–899, 28 out. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA - 4, de 31/03/2000. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 março 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA - 17, de 29/05/2018. Aprova o Regulamento Técnico sobre a identidade e requisitos de qualidade que deve atender o produto cárneo temperado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 maio 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. PORTARIA Nº 210, DE 10 DE NOVEMBRO DE 1998. Aprovar o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 novembro 1998

BRODSKY, B.; PERSIKOV, A. V. MOLECULAR STRUCTURE OF THE COLLAGEN TRIPLE HELIX. In: **ADVANCES IN PROTEIN CHEMISTRY**. [s.l: s.n.]. v. 70p. 302–333.

BROUTA-AGNÉSA, M.; BALSELLS, S.; PAUL, R. Synergistic effect of hydrolyzed collagen in the dyeing of wool. 2013.

CAMPOS, L. D.; PEREIRA, A. T. S. DE A.; CAZARIN, C. B. B. The collagen market and knowledge, attitudes, and practices of Brazilian consumers regarding collagen ingestion. **Food Research International**, v. 170, p. 112951, 1 ago. 2023.

CAMPOS, L. D.; SANTOS JUNIOR, V. DE A.; PIMENTEL, J. D.; CARREGÃ, G. L. F.; CAZARIN, C. B. B. Collagen supplementation in skin and orthopedic diseases: A review of the literature. **Heliyon**, v. 9, n. 4, p. e14961, 1 abr. 2023.

CAO, C.; XIAO, Z.; GE, C.; WU, Y. Animal by-products collagen and derived peptide, as important components of innovative sustainable food systems—a comprehensive review.

Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 62, n. 31, p. 8703–8727, 2022.

CAO, C.; XIAO, Z.; TONG, H.; TAO, X.; GU, D.; WU, Y.; XU, Z.; GE, C. Effect of ultrasound-assisted enzyme treatment on the quality of chicken breast meat. **Food and Bioproducts Processing**, v. 125, p. 193–203, jan. 2021.

CAO, L.; MAJURA, J. J.; LIU, L.; CAO, W.; CHEN, Z.; ZHU, G.; GAO, J.; ZHENG, H.; LIN, H. The cryoprotective activity of tilapia skin collagen hydrolysate and the structure elucidation of its antifreeze peptide. **LWT**, p. 114670, abr. 2023.

CARDONA-HINCAPIÉ, J. A.; RESTREPO-MOLINA, D. A.; LÓPEZ-VARGAS, J. H. Effect of a total substitution of vegetable protein and phosphates on shrinkage by cooking and purging in chopped york ham. **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 73, n. 3, p. 9333–9340, 2020.

CHEMAT, F.; ABERT-VIAN, M.; FABIANO-TIXIER, A. S.; STRUBE, J.; UHLENBROCK, L.; GUNJEVIC, V.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 248–263, 1 set. 2019.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 1 jan. 2017.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, jul. 2011.

DHAKAL, D.; KOOMSAP, P.; LAMICHHANE, A.; SADIQ, M. B.; ANAL, A. K. Optimization of collagen extraction from chicken feet by papain hydrolysis and synthesis of chicken feet collagen based biopolymeric fibres. **Food Bioscience**, v. 23, p. 23–30, 1 jun. 2018.

DU, X.; LI, H.; NUERJIANG, M.; SHI, S.; KONG, B.; LIU, Q.; XIA, X. Application of ultrasound treatment in chicken gizzards tenderization: Effects on muscle fiber and connective tissue. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 79, p. 105786, nov. 2021.

FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Ultrasound applications in drying of fruits from a sustainable development goals perspective. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 96, p. 1350–4177, 2023.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SENDRA-NADAL, E.; NAVARRO, C.; SAYAS, E.; VIUDAMARTOS, M.; ALVAREZ, J. A. P. Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products. **International Journal of Food Science and Technology**, 44(4), 748–756, 2008.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A SIMPLE METHOD FOR THE ISOLATION AND PURIFICATION OF TOTAL LIPIDES FROM ANIMAL TISSUES. **Journal Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

FUENTES, C.; VERDÚ, S.; GRAU, R.; BARAT, J. M.; FUENTES, A. Impact of raw material and enzyme type on the physico-chemical and functional properties of fish by-products hydrolysates. **LWT**, 201, 116247, 2024.

GAO, Y.; QIU, Y.; NAN, H.; WANG, L.; YANG, D.; ZHANG, L.; YU, Q. Ultra-high pressure-assisted preparation of cowhide gelatin as a promising fat substitute: Improve the

nutrition ratio and antioxidant capacity of beef patties. **Food Research International**, v. 157, p. 111260, 1 jul. 2022.

GOMEZ-GUILLEN, M. C.; GIMENEZ, B.; LOPEZ-CABALLERO, M. E.; MONTERO, M. P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 8, p. 1813–1827, 1 dez. 2011.

GÜVEN, S. Y.; KARAKAYA, M.; BABAOĞLU, A. S. Proximate compositions, fatty acids and mineral contents of chicken and turkey gizzards, and textural properties after tenderization with proteolytic enzymes. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 10, p. 1–8, 2021.

HABINSHUTI, I.; NSENGUMUREMYI, D.; MUHOZA, B.; EBENEZER, F.; YINKA AREGBE, A.; ANTOINE NDISANZE, M. Recent and novel processing technologies coupled with enzymatic hydrolysis to enhance the production of antioxidant peptides from food proteins: A review. **Food Chemistry**, v. 423, p. 136313, 15 out. 2023.

HAILEMARIAM, A.; ESATU, W.; ABEGAZ, S.; URGE, M.; ASSEFA, G.; DESSIE, T. Sensory Characteristics, Nutritional Composition, and Quality of Eggs from Different Chickens. **Open Journal of Animal Sciences**, v. 12, n. 04, p. 591–615, 2022.

HE, L.; WANG, X.; WANG, Y.; LUO, J.; ZHAO, Y.; HAN, G.; HAN, L.; YU, Q. Production and identification of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from discarded cowhide collagen. **Food Chemistry**, v. 405, 30 mar. 2023.

HENRY, S.; DARWISH, S.; SALEH, A.; KHALIFA, A. Carcass Characteristics and Nutritional Composition of Some Edible Chicken By-products. **Egyptian Journal of Food Science**, v. 0, n. 0, p. 0–0, 16 set. 2019.

HOFMANN, K. B.; PREGL, F. Über Koilin. **Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie**, v. 52, n. 5–6, p. 448–471, jan. 1907.

HÖTZEL, M. J.; VANDRESEN, B. Brazilians' attitudes to meat consumption and production: Present and future challenges to the sustainability of the meat industry. **Meat Science**, v. 192, 1 out. 2022.

IBARZ-BLANCH, N.; ALCAIDE-HIDALGO, J. M.; CORTÉS-ESPINAR, A. J.; ALBI-PUIG, J.; SUÁREZ, M.; MULERO, M.; MORALES, D.; BRAVO, F. I. Chicken slaughterhouse by-products: A source of protein hydrolysates to manage non-communicable diseases. **Trends in Food Science & Technology**, v. 139, p. 104125, set. 2023.

INDRIANI, S.; SAE-LEAW, T.; BENJAKUL, S.; HONG QUAN, T.; KARNJANAPRATUM, S.; NALINANON, S. Impact of different ultrasound-assisted processes for preparation of collagen hydrolysates from Asian bullfrog skin on characteristics and antioxidative properties. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 89, p. 106163, 1 set. 2022.

JAFARI, H.; LISTA, A.; SIEKAPEN, M. M.; GHAFARI-BOHLOULI, P.; NIE, L.; ALIMORADI, H.; SHAVANDI, A. Fish collagen: Extraction, characterization, and applications for biomaterials engineering. **Polymers**, v. 12, n. 10, p. 1–37, 2020.

JAMDAR, S. N.; HARIKUMAR, P. A rapid autolytic method for the preparation of protein hydrolysate from poultry viscera. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 15, p. 6934–6940, 1 out. 2008.

JENKELUNAS, P. J.; LI-CHAN, E. C. Y. Production and assessment of Pacific hake (*Merluccius productus*) hydrolysates as cryoprotectants for frozen fish mince. **Food Chemistry**, v. 239, p. 535–543, jan. 2018.

- KAEWBANGKARD, K.; HAMZEH, A.; YONGSAWATDIGUL, J. Ultrasound-assisted extraction of collagen from broiler chicken trachea and its biochemical characterization. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 95, p. 106372, 1 maio 2023.
- KARUPPA SWAMY, S. A.; KUPPANNAGOUNDER KANDASWAMY, C.; SUNDARA RAJULU, G. An investigation on the nature of the inner lining of the gizzard of a fish-eating bird *Pelecanus phillippensis*. **Acta Histochemica**, v. 56, n. 2, p. 188–199, jan. 1976.
- KUMAR, A.; ELAVARASAN, K.; HANJABAM, M. D.; BINSI, P. K.; MOHAN, C. O.; ZYNUDHEEN, A. A.; KUMAR K, A. Marine collagen peptide as a fortificant for biscuit: Effects on biscuit attributes. **LWT**, v. 109, p. 450–456, 1 jul. 2019.
- KUNITZ, M. CRYSTALLINE SOYBEAN TRYPSIN INHIBITOR: II general properties. **The Journal of General Physiology**, v. 30, n. 4, p. 291–310, 1946.
- LAEMMLI, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680–685, ago. 1970.
- LASEKAN, A.; ABU BAKAR, F.; HASHIM, D. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. **Waste Management**, v. 33, n. 3, p. 552–565, 2013.
- LEE, C. H.; SINGLA, A.; LEE, Y. Biomedical applications of collagen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 221, n. 1–2, p. 1–22, 19 jun. 2001.
- LEÓN-LÓPEZ, A.; MORALES-PENALOZA, A.; MARTÍNEZ-JUÁREZ, V. M.; VARGAS-TORRES, A.; ZEUGOLIS, D. I.; AGUIRRE-ÁLVAREZ, G. Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. **Molecules** **2019**, Vol. **24**, Page **4031**, v. 24, n. 22, p. 4031, 7 nov. 2019.
- LEÓN-LÓPEZ, A.; PÉREZ-MARROQUÍN, X. A.; CAMPOS-LOZADA, G.; CAMPOS-MONTIEL, R. G.; AGUIRRE-ÁLVAREZ, G. Characterization of whey-based fermented beverages supplemented with hydrolyzed collagen: Antioxidant activity and bioavailability. **Foods**, v. 9, n. 8, 1 ago. 2020.
- LI, H.; FENG, J.; SHI, S.; WANG, X.; XIA, X. Evaluation of effects of ultrasound-assisted saucing on the quality of chicken gizzards. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 86, p. 106038, 2022.
- LILIÁN HERNÁNDEZ-RUIZ, K.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N.; ARAÍ QUINTERO-GUERRERO, A.; DE, M.; GRIJALVA-DELGADO, L.; CHÁVEZ-ALMANZA, F. Collagen peptide fractions from tilapia (*Oreochromis aureus* Steindachner, 1864) scales: Chemical characterization and biological activity. **Food Bioscience**, v. 53, p. 102658, 2023.
- LIMA, J. L.; ASSIS, B. B. T.; ARCANJO, N. M. O.; GALVÃO, M. DE S.; OLEGÁRIO, L. S.; BEZERRA, T. K. A.; MADRUGA, M. S. Impact of use of byproducts (chicken skin and abdominal fat) on the oxidation of chicken sausage stored under freezing. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 4, p. 1114–1124, 1 abr. 2020.
- LIMA, J. L.; BEZERRA, T. K. A.; CARVALHO, L. M.; GALVÃO, M. S.; LUCENA, L.; ROCHA, T. C.; ESTEVEZ, M.; MADRUGA, M. S. Improving the poor texture and technological properties of chicken wooden breast by enzymatic hydrolysis and low-frequency ultrasound. **Journal of Food Science**, v. 87, n. 6, p. 2364–2376, 1 jun. 2022.
- LIMPISOPHON, K.; HIRUNRATTANA, P.; PRACHOM, N. Valorization of chicken intestine: A process of protein hydrolysate for fish feed attractant using pilot plant scale system. **Animal Feed Science and Technology**, v. 296, p. 115554, 1 fev. 2023.
- LIU, B.; JIN, F.; LI, Y.; WANG, H.; CHI, Y.; TIAN, B.; FENG, Z. Pasteurization of egg

white by integrating ultrasound and microwave: Effect on structure and functional properties. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 79, p. 103063, 2022.

LU, W. C.; CHIU, C. S.; CHAN, Y. J.; MULIO, A. T.; LI, P. H. Characterization and biological properties of marine by-product collagen through ultrasound-assisted extraction. **Aquaculture Reports**, v. 29, 1 abr. 2023.

MAGALHÃES, I. S.; GUIMARÃES, A. D. B.; TRIBST, A. A. L.; OLIVEIRA, E. B. DE; LEITE JÚNIOR, B. R. DE C. Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of goat milk casein: Effects on hydrolysis kinetics and on the solubility and antioxidant activity of hydrolysates. **Food Research International**, v. 157, p. 111310, 1 jul. 2022.

MELO, A. M. DE; ALMEIDA, F. L. C.; CAVALCANTE, A. M. DE M.; IKEDA, M.; BARBI, R. C. T.; COSTA, B. P.; RIBANI, R. H. *Garcinia brasiliensis* fruits and its by-products: Antioxidant activity, health effects and future food industry trends – A bibliometric review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 112, p. 325–335, 1 jun. 2021.

MERENKOVA, S.; ZININA, O.; LYKASOVA, I.; KUZNETSOV, A.; SHNYAKINA, T. Effect of microbial enzymes on the changes in the composition and microstructure of hydrolysates from poultry by-products. **Fermentation**, v. 7, n. 3, 1 set. 2021.

NAEEM, M.; BURTON, E.; SCHOLEY, D.; ALKHTIB, A.; BROADBERRY, S. Estimation of body weight via gizzard weight in growing broilers. In: **Animal - Science Proceedings**. [s.l.: s.n.]. v. 12p. 84.

NATARAJAN, S.; PONNUSAMY, V. A review on the applications of ultrasound in food processing. **Materials Today: Proceedings**, n. xxxx, 2020.

NI, C. H.; LEE, C. S.; CHUAN, F. Y.; ENOMOTO, H.; TAKEDA, S.; LIN, L. C.; SAKATA, R. Investigation of the chemical composition and functional proteins of chicken gizzard inner lining. **Food Science and Technology Research**, v. 24, n. 5, p. 893–901, 2018.

NOMAN, A., XU, Y., AL-BUKHAITI, W. Q., ABED, S. M., ALI, A. H., RAMADHAN, A. H., & XIA, W. Influence of enzymatic hydrolysis conditions on the degree of hydrolysis and functional properties of protein hydrolysate obtained from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) by using papain enzyme. **Process Biochemistry**, 67, 19–28, 2018.

OECHSLE, A. M.; AKGÜN, D.; KRAUSE, F.; MAIER, C.; GIBIS, M.; KOHLUS, R.; WEISS, J. Microstructure and physical–chemical properties of chicken collagen. **Food Structure**, v. 7, p. 29–37, 1 jan. 2016.

PACHECO, A. F. C.; SOUZA, L. B. DE; PAIVA, P. H. C.; LELIS, C. A.; VIEIRA, E. N. R.; TRIBST, A. A. L.; LEITE JÚNIOR, B. R. DE C. Impact of ultrasound on pumpkin seed protein concentrate hydrolysis: Effects on Alcalase, protein, and assisted reaction. **Applied Food Research**, v. 3, n. 1, 1 jun. 2023.

PEREDO-LOVILLO, A.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A.; VALLEJO-CORDOBA, B.; ROMERO-LUNA, H. E. Conventional and in silico approaches to select promising food-derived bioactive peptides: A review. **Food Chemistry: X**, v. 20, p. 100183, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100183>

PETRILLO, T.; O'DONOHUE, C. A.; HOWE, N.; MALTHOUSE, J. P. G. Importance of tetrahedral intermediate formation in the catalytic mechanism of the serine proteases chymotrypsin and subtilisin. **Biochemistry**, v. 51, n. 31, p. 6164–6170, 7 ago. 2012.

QUEIROZ, A. L. M. DE; BEZERRA, T. K. A.; FREITAS PEREIRA, S. DE; SILVA, M. E. C. DA; ALMEIDA GADELHA, C. A. DE; GADELHA, T. S.; PACHECO, M. T. B.;

- MADRUGA, M. S. Functional protein hydrolysate from goat by-products: Optimization and characterization studies. **Food Bioscience**, v. 20, n. July, p. 19–27, 2017.
- SOUSA, S. C.; FRAGOSO, S. P.; PENNA, C. R. A.; ARCANJO, N. M. O.; SILVA, F. A. P.; FERREIRA, V. C. S.; BARRETO, M. D. S.; ARAÚJO, Í. B. S. Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 320–325, mar. 2017.
- SUURS, P.; BARBUT, S. **Collagen use for co-extruded sausage casings – A review** *Trends in Food Science and Technology* Elsevier Ltd, , 1 ago. 2020.
- TACIAS-PASCACIO, V. G.; MORELLON-STERLING, R.; SIAR, E. H.; TAVANO, O.; BERENGUER-MURCIA, Á.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Use of Alcalase in the production of bioactive peptides: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 2143–2196, 2020.
- TANG, C.; ZHOU, K.; ZHU, Y.; ZHANG, W.; XIE, Y.; WANG, Z.; ZHOU, H.; YANG, T.; ZHANG, Q.; XU, B. **Collagen and its derivatives: From structure and properties to their applications in food industry** *Food Hydrocolloids* Elsevier B.V., , 1 out. 2022.
- TANG, P.; ZHENG, T.; YANG, C.; LI, G. Enhanced physicochemical and functional properties of collagen films cross-linked with laccase oxidized phenolic acids for active edible food packaging. **Food Chemistry**, v. 393, p. 133353, 1 nov. 2022.
- TESHNIZI, Z. M.; ROBATJAZI, S. M.; MOSAABADI, J. M. Optimization of the enzymatic hydrolysis of poultry slaughterhouse wastes using alcalase enzyme for the preparation of protein hydrolysates. **Applied Food Biotechnology**, v. 7, n. 3, p. 153–160, 1 jun. 2020.
- THORESEN, P. P.; ÁLVAREZ, R. G.; VAKA, M. R.; RUSTAD, T.; SONE, I.; FERNÁNDEZ, E. N. Potential of innovative pre-treatment technologies for the revalorisation of residual materials from the chicken industry through enzymatic hydrolysis. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 64, n. May, p. 102377, 2020.
- TOLDRÁ, F.; ARISTOY, M. C.; MORA, L.; REIG, M. Innovations in value-addition of edible meat by-products. **Meat Science**, v. 92, n. 3, p. 290–296, 1 nov. 2012.
- TOLDRÁ, F.; REIG, M.; ARISTOY, M. C.; MORA, L. Generation of bioactive peptides during food processing. **Food Chemistry**, v. 267, p. 395–404, 30 nov. 2018.
- ULUG, S. K.; JAHANDIDEH, F.; WU, J. Novel technologies for the production of bioactive peptides. **Trends in Food Science & Technology**, v. 108, n. November 2020, p. 27–39, fev. 2021.
- VIDAL, A. R.; FERREIRA, T. E.; MELLO, R. D. O.; SCHMIDT, M. M.; KUBOTA, E. H.; DEMIATE, I. M.; ZIELINSKI, A. A. F.; DORNELLES, R. C. P. Effects of enzymatic hydrolysis (Flavourzyme®) assisted by ultrasound in the structural and functional properties of hydrolyzates from different bovine collagens. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 38, p. 103–108, 1 dez. 2018.
- WALSH-REITZ, M. M.; HUANG, E. F.; MUSCH, M. W.; CHANG, E. B.; MARTIN, T. E.; KARTHA, S.; TOBACK, F. G. AMP-18 protects barrier function of colonic epithelial cells: role of tight junction proteins. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 289, n. 1, p. G163–G171, jul. 2005.
- XIE, Z.; ZHAI, Y.; ZHANG, Y.; HE, M.; WANG, X.; YU, S.; XIAO, H.; SONG, Y. Antioxidant and anti-HepG2 cell activities of a novel bioactive peptide from cowhide collagen in vitro. **Journal of Future Foods**, v. 4, n. 3, p. 248–257, set. 2024.

XU, C.; ZANG, M.; QIAO, X.; WANG, S.; ZHAO, B.; SHI, Y.; BAI, J.; WU, J. Effects of ultrasound-assisted thawing on lamb meat quality and oxidative stability during refrigerated storage using non-targeted metabolomics. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 90, p. 1350–4177, 2022.

ZHANG, C.; CHEN, Q.; SUN, Q.; LIU, H.; XIA, X.; KONG, B. Ultrasound-assisted freezing retards the deterioration of functional properties of myofibrillar protein in chicken breast during long-term frozen storage. **LWT**, v. 170, p. 114064, 1 dez. 2022.

ZHANG, C.; DU, B.; SONG, Z.; DENG, G.; SHI, Y.; LI, T.; HUANG, Y. Antioxidant activity analysis of collagen peptide-magnesium chelate. **Polymer Testing**, v. 117, p. 142–9418, 2023.

ZOU, Y.; LI, L.; YANG, J.; YANG, B.; MA, J.; WANG, D.; XU, W. Effect of ultrasound assisted collagen peptide of chicken cartilage on storage quality of chicken breast meat. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 89, p. 106154, 2022.

CAPÍTULO IV

ARTIGO I

A DINÂMICA ENZIMA-SUBSTRATO INFLUENCIA A EFICIÊNCIA DA HIDRÓLISE DO COLÁGENO DA MOELA DE FRANGO: O ULTRASSOM COMO FATOR SECUNDÁRIO QUE AFETA A MICROESTRUTURA E A DISPERSÃO DE PEPTÍDEOS.

O texto e os dados discutidos neste capítulo foram reproduzidos ou adaptados da publicação de autoria de Juliana Lopes de Lima, André W. Zibetti, Marta Suely Madruga e Maria Manuela Camino Feltes, disponível em Food Bioprocess Technology 19, 49 (2026). DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-025-04122-y>

**A DINÂMICA ENZIMA-SUBSTRATO IMPULSIONA A EFICIÊNCIA DA
HIDRÓLISE DO COLÁGENO DA MOELA DE FRANGO: O ULTRASSOM COMO
FATOR SECUNDÁRIO QUE AFETA A MICROESTRUTURA E A DISPERSÃO DE
PEPTÍDEOS**

Juliana Lopes de Lima ^a; André Wüst Zibetti ^b; Marta Suely Madruga ^c; Maria Manuela
Camino Feltes ^{ad}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Itacorubi, 88034-001, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

^b Departamento de Informática e Estatística, Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Trindade, 88040-900 Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

^c Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, Jardim Cidade Universitária, 58900-000, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

^d Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Itacorubi, 88034-001 Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

E-mail para correspondência: manuela.feltes@ufsc.br

Resumo

Subprodutos do sistema digestivo de frangos, particularmente o revestimento da moela, apresentam significativo potencial para a produção de colágeno hidrolisado. Este estudo investigou os efeitos do pré-tratamento ácido, ultrassom e relação enzima-substrato na hidrólise enzimática do revestimento da moela de frango utilizando Alcalase® e nas propriedades tecnológicas dos hidrolisados liberados. Foi aplicado um planejamento fatorial completo e dois hidrolisados com baixo (<DH, 11,36%) e alto (>DH, 21,19%) grau de hidrólise foram selecionados para caracterização adicional. Os resultados indicaram que uma maior concentração de Alcalase® levou a um aumento no DH%. No entanto, o pré-tratamento com ácido e ultrassom não afetou significativamente a hidrólise, nas condições estudadas. Ambos os hidrolisados selecionados para caracterização adicional foram obtidos sob condições idênticas de pré-tratamento (ácido acético 0,5 mol/L e ultrassom por 30 min), mas com diferentes proporções mássicas enzima/substrato (1% e 5% de Alcalase®, respectivamente). O hidrolisado com baixo DH% apresentou maior turbidez, menor potencial zeta (ZP) e menor pH. O hidrolisado com alto DH% apresentou maior atividade formadora de emulsão, estabilidade da espuma e maior solubilidade em pH 7. Independentemente do DH%, a solubilidade máxima foi observada em pH 10. Além disso, os hidrolisados com menor DH% demonstraram maior capacidade de retenção de óleo, estabilidade da emulsão e solubilidade em pH 4, tornando-os adequados para aplicações que requerem maior retenção de gordura e estabilidade da emulsão. Esses resultados reforçam o papel crucial tanto da concentração da enzima quanto da extensão da hidrólise na obtenção de hidrolisados com propriedades específicas, enfatizando a importância do processo enzimático no desenvolvimento de hidrolisados de proteínas e peptídeos para aplicações com funções específicas.

Palavras-chave: Resíduos de aves; Hidrólise enzimática; Pré-tratamento por ultrassom; Colágeno hidrolisado; Funcionalidade.

1 Introdução

O colágeno é uma proteína estrutural com composição única de aminoácidos, características distintas e valiosas propriedades físico-químicas. Existe uma crescente demanda por colágeno com atributos específicos para uso em diversas áreas, como alimentos, produtos farmacêuticos, produtos médicos e cosméticos (Hou et al., 2023; Jayaprakash et al., 2024).

Há uma abundância de biomassa rica em colágeno subutilizada com potencial para aplicações de alto valor agregado, inclusive como um biopolímero degradável (Campos et al., 2023; Hou et al., 2023). Notavelmente, subprodutos do processamento de carne e peixe servem como fontes ricas em colágeno, oferecendo um potencial considerável para utilização sustentável (Hou et al., 2023; Qi et al., 2024). Além disso, o colágeno derivado de subprodutos de frango apresenta maior estabilidade térmica do que o obtido de fontes marinhas e está livre de restrições religiosas (Jayaprakash et al., 2024).

O revestimento interno da moela de frango é uma película que a cobre e tem a função de reduzir os efeitos nocivos de materiais ácidos provenientes do proventrículo (Bell, D. J., & Freeman, 1971). Pouco se estudou sobre esse subproduto, mas sabe-se que ele possui alto teor de proteína (42,30 g/100 g) e baixo teor de lipídios (0,74 g/100 g), além de aminoácidos umami (Ni et al., 2018). Atualmente, ele é destinado à indústria de processamento de resíduos animais e utilizado na preparação de ração animal. No entanto, pode ser uma excelente alternativa para a obtenção de compostos com alto valor biológico, como o colágeno.

A produção tradicional de colágeno envolve a separação e o processamento de diversos tecidos animais. Os métodos de extração normalmente requerem ajustes de pH, energia térmica ou hidrólise em condições alcalinas, ácidas ou enzimáticas (C. Cao et al., 2021; Jayaprakash et al., 2024; Kristoffersen et al., 2022; Oechsle et al., 2016). A maioria dos produtos de colágeno, como a gelatina, são derivados principalmente de fontes bovinas e suínas. Isolar colágeno de animais menores, como aves e peixes, costuma ser um desafio e exige muita mão de obra (Kristoffersen et al., 2023).

Embora os métodos enzimáticos continuem sendo amplamente utilizados para a extração de colágeno, o avanço das tecnologias para processar fontes de colágeno subutilizadas é necessário (Abedinia et al., 2020). A combinação de diferentes tecnologias surgiu como uma estratégia viável para melhorar os processos de extração. Proteases específicas e parâmetros de processamento otimizados podem ser usados para separar componentes em materiais de aves ricos em colágeno. Isso facilita a solubilização e hidrólise seletivas de proteínas musculares e colágeno em vários estágios de processamento (Pap et al., 2022).

A obtenção de hidrolisados proteicos por processo enzimático é uma ferramenta altamente eficaz para aumentar as bioatividades e propriedades funcionais (Habinshuti et al., 2023). A alta especificidade, as condições brandas e a ausência de resíduos de solventes orgânicos e produtos químicos tóxicos posicionaram a hidrólise enzimática como o método preferido para a obtenção de peptídeos (Indriani et al., 2022). No entanto, as proteases apresentam limitações, como custos elevados e tempos de ação específicos (Kaewbangkerd et al., 2023; Lu et al., 2023), tornando as tecnologias combinadas particularmente promissoras.

O ultrassom, uma tecnologia não térmica e não invasiva, está ganhando destaque na indústria alimentícia devido aos seus atributos não tóxicos e ecologicamente corretos (Kaewbangkerd et al., 2023). Quando usado isoladamente ou em combinação com outros métodos, o ultrassom pode auxiliar na extração de peptídeos, aumentando a acessibilidade do substrato para a ação enzimática, melhorando potencialmente as qualidades funcionais dos peptídeos derivados de colágeno (L. Cao et al., 2023).

Akram e Zhang (2020) investigaram a aplicação do ultrassom durante o processamento enzimático da cartilagem esternal de frango. O ultrassom aumentou a capacidade de retenção de água, a capacidade de retenção de óleo e as propriedades emulsificantes e espumantes do produto hidrolisado. Esses pesquisadores também relataram um maior rendimento de proteína após 36 minutos de tratamento com ultrassom e melhorias nas propriedades reológicas e funcionais do hidrolisado, com os melhores resultados obtidos após 24 minutos de exposição ao ultrassom (Akram & Zhang, 2020a).

Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes variáveis de processo na produção de peptídeos de colágeno a partir do revestimento interno da moela de frango e caracterizar suas propriedades tecnológicas, visto que nenhum estudo até o momento utilizou essa fonte específica para a liberação de peptídeos em um processo enzimático assistido por ultrassom.

2 Material e Métodos

2.1 Material

O revestimento da moela foi obtido de um abatedouro inspecionado pelo governo federal (Frangos Morgana Ltda., Palhoça, SC, Brasil) com selo brasileiro (SIF, Ministério da Agricultura e Pecuária) e transportado para o laboratório em um recipiente refrigerado com gelo. No laboratório, as moelas foram separadas, limpas do excesso de gordura e congeladas.

Após o congelamento, as amostras foram trituradas em um liquidificador (Mondial Power-L-550, 2 velocidades + Pulsar 550W), seladas a vácuo e armazenadas congeladas até a análise. A Alcalase® 2.5L da Novozymes foi doada pela LNF Latino Americana (Bento Gonçalves, RS, Brasil).

2.2 Composição físico-química

O teor de umidade (Método Oficial da AOAC 950.46.41); cinzas (Método 39.1.09); proteínas pelo método de Kjeldahl (Método 928.08); hidroxiprolina (Método n.º 990.26) foram determinados de acordo com a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000). Os lipídios foram quantificados utilizando o método de Folch, Lees e Sloane Stanley (1957). Os resultados foram expressos em g.100 g⁻¹ (base seca).

2.3 Tratamento das amostras

As proteínas não colágenas foram removidas de acordo com Karnjanapratum et al. (2017). O revestimento interno da moela foi imerso em uma solução de NaOH 0,3 M na proporção de 1:10 (p/v) pele/solução para remover as proteínas não colágenas. A mistura foi agitada à temperatura ambiente (28–30 °C) por 6 h utilizando um agitador mecânico (IKA® RW 20 D S032 -Werke GmbH & Co. 111 KG, Staufen, Alemanha) a 300 rpm. A solução alcalina foi trocada na 2ª e na 4ª hora, após o que o revestimento interno tratado foi lavado com água corrente até que a água de lavagem atingisse um pH neutro ou ligeiramente básico (7,0–7,5).

Após a remoção das proteínas não colágenas, o revestimento interno da moela foi tratado com ácido acético (Tabela 1), de acordo com Indriani et al. (2022). O revestimento foi imerso em ácido acético na proporção de 1:10 (p/v) amostra:solução e agitado a 200 rpm (IKA® RW 20 D S032 - Werke GmbH & Co. 111 KG, Staufen, Alemanha) à temperatura ambiente (28 a 30 °C) durante 4 horas. O substrato resultante foi enxaguado com água fria até atingir um pH neutro a ligeiramente ácido (6,5–7,0) na água de lavagem.

2.4 Delineamento experimental para hidrólise enzimática de colágeno assistida por ultrassom

Um delineamento experimental foi adotado para avaliar a hidrólise do colágeno a partir da matéria-prima utilizando enzimas e ultrassom. Os efeitos de três variáveis do processo – concentração de ácido acético, mol/L (A), tempo de pré-tratamento com ultrassom, minutos (U), e razão enzima/substrato, %, m/m em relação à massa do substrato (E) – sobre o grau de hidrólise proteica (DH%) foram investigados utilizando um delineamento fatorial completo (2^3 + 3 réplicas no ponto central, totalizando 11 ensaios). As variáveis independentes foram escolhidas com base na literatura (Araújo et al., 2018; Bezerra et al., 2020; dos Santos Aguilár et al., 2020; Indriani et al., 2022; Magalhães et al., 2022) (Tabela 1).

Tabela 1. Grau de hidrólise proteica (DH%) sob diferentes condições experimentais da hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango utilizando Alcalase® em um planejamento experimental fatorial completo com três fatores (valores codificados e reais) e três repetições no ponto central.

Experimento	Ácido cítrico, A (mol/L)	Ultrassom, U (min)	Relação enzima/Subs trato, E (%, g/g)	DH (%)
1	-1 (0.5)	-1 (10)	-1 (1.0)	13.39
2	+1 (1.0)	-1 (10)	-1 (1.0)	14.34
3	-1 (0.5)	+1 (30)	-1 (1.0)	11.36
4	+1 (1.0)	+1 (30)	-1 (1.0)	12.18
5	-1 (0.5)	-1 (10)	+1 (5.0)	18.52
6	+1 (1.0)	-1 (10)	+1 (5.0)	19.67
7	-1 (0.5)	+1 (30)	+1 (5.0)	21.19
8	+1 (1.0)	+1 (30)	+1 (5.0)	16.37
9	0 (0.75)	0 (20)	0 (3.0)	16.62
10	0 (0.75)	0 (20)	0 (3.0)	15.04
11	0 (0.75)	0 (20)	0 (3.0)	17.80

Os trechos em negrito indicam hidrolisados selecionados para caracterização adicional.

2.5 Pré-tratamento com ultrassom

O pré-tratamento com ultrassom foi realizado seguindo o método de Indriani et al. (2022), com modificações. O tempo de exposição (10 a 30 min) foi determinado com base em avaliações prévias relatadas por esses autores. O substrato foi diluído em água destilada na proporção de 1:2 (m/v) e tratado em um lavador ultrassônico (Q 5.9/37 A, ECO-SONICS, Indaiatuba – SP, Brasil) com intensidade de 153 W/cm², frequência de 20 kHz e temperatura de 40 °C (±1 °C) pelo tempo de reação especificado na Tabela 1.

2.6 Hidrólise enzimática

A hidrólise da amostra sonicada foi realizada em um reator encamisado com Alcalase® 2,5 L (Tabela 1) a 60 °C, pH 8,00 (ajustado com uma solução de NaOH 0,5 mol/L) e agitação a 300 rpm (T 18 digital ULTRA-TURRAX® - IKA, Alemanha) por 240 min. Os valores de temperatura e pH foram selecionados para maximizar a atividade da Alcalase®, de acordo com as instruções do fabricante e Bezerra et al. (2020).

A hidrólise foi interrompida por aquecimento a 90 °C por 15 min. A mistura resultante foi então centrifugada (Eppendorf – MODELO 5804 R) a 12.000 g por 30 min. O sobrenadante foi filtrado, liofilizado e armazenado a -18 °C até a análise.

2.7 Grau de hidrólise

O grau de hidrólise pela Alcalase® foi determinado através do consumo de base, calculado utilizando a equação de Adler-Nissen (1986) (Equação 1).

$$DH(\%) = B \cdot Nb \cdot \left(\frac{1}{\alpha}\right) \cdot \left(\frac{1}{MP}\right) \cdot \left(\frac{1}{htot}\right) \cdot 100 \quad (\text{Eq. 1}),$$

onde DH (%) = grau de hidrólise da proteína; B = volume de NaOH (0,5 mol/L) consumido, em mL; Nb = normalidade do NaOH (0,5 mol/L); 1/α = grau médio de dissociação do grupo α-NH₂; MP = massa da proteína (g); htot = número total de ligações peptídicas no substrato proteico (7,6 para carne).

2.8 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os hidrolisados foram caracterizados por espectroscopia FTIR com reflectância total atenuada (Tensor 27, Bruker, EUA) equipada com uma célula de cristal de placa horizontal ATR (ZnSe a 45°; 80 mm de comprimento, 10 mm de largura e 4 mm de espessura) (PIKE Technology Inc., Madison, WI, EUA). Os espectros na faixa de 4000–400 cm^{-1} (região do infravermelho médio) com ganho de sinal automático foram coletados em 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} e comparados com um espectro de fundo registrado em um ambiente de célula limpa e vazia a 25 °C.

2.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras liofilizadas foram fixadas em suportes de alumínio com fita adesiva de carbono dupla face, revestidas com uma camada condutora de ouro-paládio e, em seguida, as imagens foram geradas. As características morfológicas das amostras de colágeno foram observadas em ampliações que variaram de 30x (hidrolisados) a 500x (matéria-prima) utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV, JEOL JSM-6390LV) com tensão de aceleração de 8 a 10 kV no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica – LCME (UFSC).

2.10 Electroforese (SDS-PAGE)

As frações proteicas e os perfis peptídicos foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE) para separar bandas com peso molecular variando de 260 kDa a 10 kDa (Laemmli, 1970) e por SDS-PAGE-Tricina (Schägger & von Jagow, 1987). As amostras foram diluídas em tampão redutor (0,5 mol/L Tris-HCl, pH 6,8, 20% SDS, 20% glicerol, 5% β -mercaptoetanol e 0,1% Azul de Coomassie G250) e homogeneizadas em um agitador vortex. As amostras foram aquecidas a 100 °C por 10 minutos e centrifugadas a 5.000 rpm por 2 minutos (Loccus, São Paulo, Brasil). O gel de separação para amostras de maior massa molecular foi preparado com 7,5% de poliacrilamida em tampão Tris-HCl 3,0 M (pH 8,8) e 10% de SDS. Para os hidrolisados, utilizou-se um gel de acrilamida/bis-acrilamida a 12,5% como gel de separação, enquanto o gel de concentração foi preparado como uma malha de acrilamida/bis-acrilamida a 3,5%. A eletroforese foi realizada sob condições específicas: corrente de 25 mA, voltagem de 80 V e potência de 15 W durante os 20 minutos iniciais,

seguida de corrente de 30 mA, voltagem de 120 V e potência de 15 W até a conclusão. Após a eletroforese, o gel foi cuidadosamente removido da placa e corado com azul brilhante de Coomassie R250 por 16 horas. O excesso de corante foi removido utilizando uma solução de descoloração composta por metanol, ácido acético e água na proporção de 1:3,5:8 (v/v/v).

2.11 Análise das propriedades funcionais

A turbidez dos hidrolisados (0,5 g de amostra hidrolisada diluída em 5 mL de água destilada) foi medida a 600 nm usando um espectrofotômetro UV-Visível (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil) de acordo com Fuentes et al. (2024).

O pH do hidrolisado dissolvido (0,5 g em água destilada) foi medido à temperatura ambiente (25 °C) usando um pHmetro EDGE (HI2020 – 02).

As amostras de colágeno hidrolisado foram dissolvidas em água até uma concentração final de 10 mg/mL e agitadas em vórtex por 3 minutos. O potencial zeta dessas amostras foi determinado usando um analisador de potencial zeta (Zetasizer Nano ZsMalvern).

A solubilidade dos hidrolisados foi avaliada em vários níveis de pH seguindo a metodologia descrita por Fuentes et al. (2024). Resumidamente, 0,5 g de hidrolisado foram dispersos em 5 mL de água deionizada. Após o ajuste do pH da solução para 4, 7 e 10 utilizando HCl 6 mol/L ou NaOH 6 mol/L, a mistura foi agitada à temperatura ambiente por 30 minutos e centrifugada a 7.500 x g por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e seu teor proteico foi quantificado pelo método de Kjeldahl. A solubilidade da proteína foi calculada utilizando a seguinte equação e expressa em porcentagem (% em peso) (Equação 2).

$$\text{Solubility (\%)} = \frac{\text{Conteúdo proteico na amostra}}{\text{Conteúdo total na amostra}} \times 100 \quad (\text{Eq. 2}),$$

A capacidade de retenção de óleo (CRO) foi determinada de acordo com o método de Fernández-López et al. (2009) e Fuentes et al. (2024) com adaptações. Uma amostra de 0,5 g foi misturada com 15 mL de óleo de girassol, homogeneizada em vórtex por 1 minuto, armazenada à temperatura ambiente por 24 horas e centrifugada a 3.000 x g por 20 minutos. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi pesado. A CRO foi calculada como gramas de óleo retido por grama de amostra.

A capacidade emulsificante dos hidrolisados foi avaliada por dois parâmetros: o índice de atividade emulsificante (IAE) e o índice de estabilidade da emulsão (IEE), seguindo a

metodologia de Noman et al. (2018), modificada por Fuentes et al. (2024). Aproximadamente 0,2 g da amostra foi misturada com 45 mL de água deionizada e 15 mL de óleo de girassol. A mistura foi homogeneizada utilizando um Ultra-Turrax (T18 digital ULTRA-TURRAX® - IKA, Alemanha) na velocidade máxima (20.000 rpm) por 1 minuto. Em seguida, 50 µL da camada inferior da emulsão foram coletados e misturados com 2 mL de solução de SDS a 1%. A absorbância das misturas foi medida imediatamente a 500 nm (A0) e após 10 minutos (A10) utilizando um espectrofotômetro UV-Visível (Quimis, Q798U, São Paulo, Brasil). O EAI (m²/g) e o ESI (min) foram calculados usando as Equações 3 e 4, respectivamente:

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times A0}{0.25 \times \text{massa proteica}} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$ESI = A0 \times \frac{A10}{A0 - A10} \quad (\text{Eq. 4})$$

A estabilidade da espuma (FS) foi medida seguindo Fuentes et al. (2024) e Noman et al. (2018). Aproximadamente 0,5 g de hidrolisado foi misturado com 30 mL de água deionizada (V0) em um cilindro volumétrico de 100 mL. A mistura foi homogeneizada utilizando um Ultra-Turrax (T18 digital ULTRA-TURRAX® - IKA, Alemanha) na velocidade máxima (20.000 rpm) durante 1 minuto. O volume da espuma foi registrado imediatamente (V0) e 30 minutos após a formação da espuma (V2). O FS foi calculado de acordo com a Equação 5.

$$FS (\%) = \frac{(V2-V0)}{V0} \times 100 \quad (\text{Eq. 5})$$

2.12 Análise de dados

Os dados foram analisados utilizando o teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($\alpha = 0,05$), seguido por ANOVA e teste de Tukey ou teste t de Student ($p < 0,05$) no software R (2023.06.2). Gráficos de superfície e de contorno do modelo linear para hidrólise enzimática foram gerados usando o software R e o software STATISTICA (versão 10, StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Análise de Componentes Principais (PCA) e coeficientes de correlação de Pearson também foram utilizados. Realizou-se um estudo para descrever as relações entre todos os parâmetros tecnológicos dos hidrolisados derivados do revestimento interno da moela de frango, utilizando o software R.

3 Resultados e Discussão

3.1 Caracterização físico-química parcial do revestimento interno da moela de frango

A análise físico-química do revestimento interno da moela de frango revelou um teor de umidade de 47,47 g/100 g. O teor de proteína foi notavelmente alto ($98,32 \pm 0,84$ g/100 g, base seca), enquanto os teores de gordura ($2,91 \pm 0,17$ g/100 g) e cinzas (0,72 g/100 g) foram relativamente baixos. Além disso, o teor de colágeno medido foi de $18,07 \pm 0,60$ g/100 g.

A característica mais notável do revestimento interno da moela de frango é o seu alto teor de proteína, tornando este subproduto do abate de aves uma fonte alternativa promissora e de baixo custo de colágeno. Nossos resultados foram consideravelmente superiores aos 42,30 g/100 g (base úmida) relatados por (Ni et al., 2018) para o revestimento interno de moelas de frango, que continha 0,74 g/100 g de gordura e 0,34 g/100 g de cinzas.

Comparado a outros materiais derivados de aves, o teor proteico do revestimento da moela supera o encontrado na carne de frango ($83,45 \pm 1,50$ g/100 g (Lima et al., 2022)), bem como em subprodutos como pés de frango (21,30 g/100 g) (Dhakal et al., 2018) e ossos de frango (26,27 g/100 g) (Correia De Souza Cunha et al., 2023). Isso sugere que o revestimento da moela pode servir como uma fonte proteica superior. Sua estrutura, composta por uma superfície luminal interna rugosa e uma superfície lisa aderida ao músculo da moela (Ni et al., 2018), contribui para seu substancial teor de colágeno ($18,07 \pm 0,60$ g/100 g).

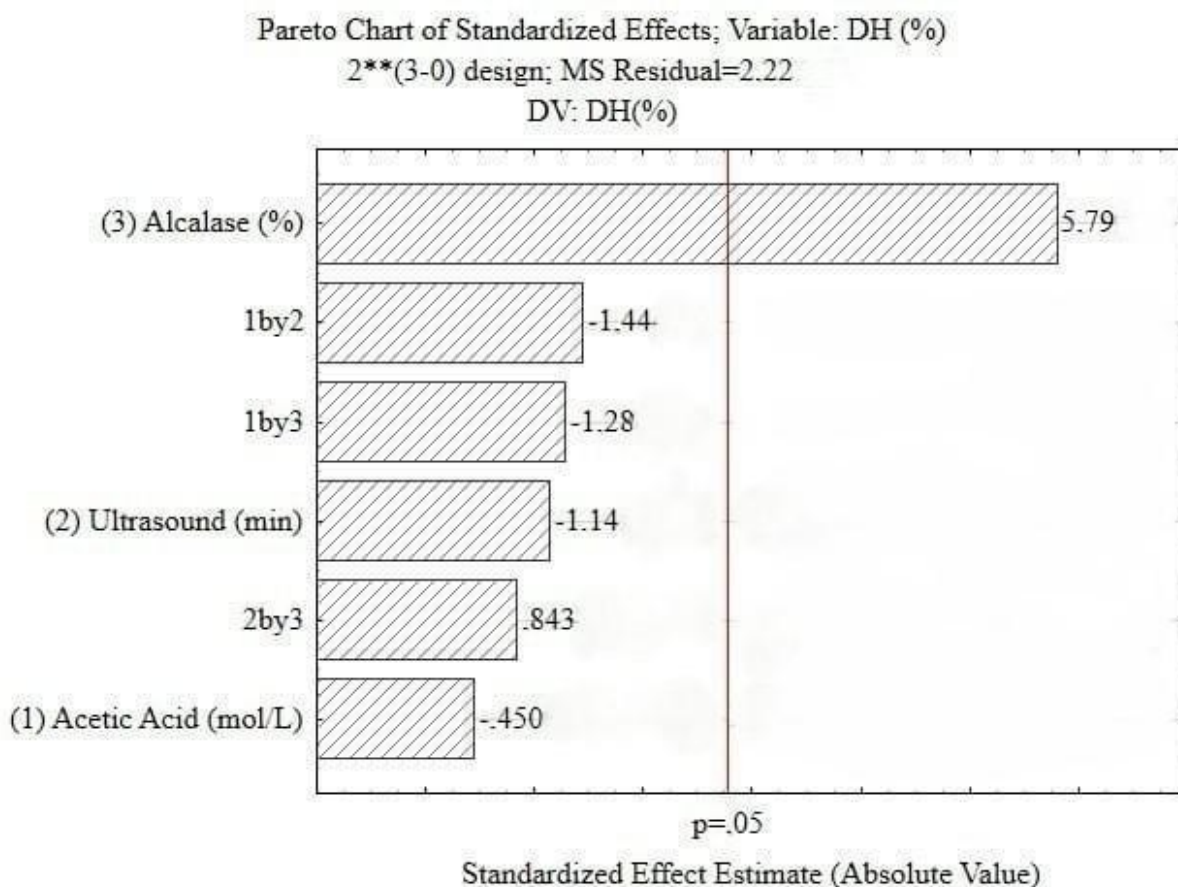
Diante dessas descobertas, o revestimento interno da moela representa um substrato adequado para a produção de colágeno hidrolisado. Seu alto teor de proteína e colágeno O teor de proteína, aliado à baixa concentração de lipídios, faz dela um subproduto avícola subutilizado, porém valioso. Atualmente descartada em abatedouros de aves ou utilizada na alimentação animal, suas aplicações potenciais na indústria alimentícia permanecem em grande parte inexploradas.

3.2 Avaliação dos parâmetros do processo no grau de hidrólise proteica (DH%) durante a hidrólise assistida por ultrassom utilizando Alcalase®

A Tabela 1 apresenta os valores de DH% obtidos sob diferentes condições experimentais. Os valores de DH% variaram de 11,36 a 21,19% (Tabela 1). O maior DH% (21,19%) foi alcançado utilizando uma baixa concentração de ácido acético (0,5 mol/L), 30

minutos de tratamento ultrassônico e uma alta concentração de Alcalase® (5%). Notavelmente, a relação enzima/substrato foi o fator mais significativo que influenciou o DH% (Figura 1). Por outro lado, o menor DH% (11,36%) foi observado nas reações utilizando a menor concentração de Alcalase® (1%), provavelmente devido à insuficiência de sítios catalíticos. para impulsionar a hidrólise de forma eficaz (Noman et al., 2018). Diferentes estudos relatam valores de DH% variáveis para proteínas de frango hidrolisadas enzimaticamente. Por exemplo, Bezerra et al. (2020) obtiveram valores de DH% de 19% e 7% ao hidrolisar crista e barbola de frango com Alcalase® usada. Enquanto isso, Tan et al. (2019) relataram que proteases de origem vegetal (papaína, ficina, bromelaína) atingiram valores de DH% mais altos do que proteases bacterianas (Alcase®, Protamex™, Novo-Pro D e termolisina). O processo de hidrólise enzimática expõe grupos hidrofóbicos previamente ocultos, reduz o peso molecular e aumenta o número de grupos ionizáveis (grupos peptídicos), aprimorando a funcionalidade do hidrolisado (Di Filippo et al., 2024).

Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados das diferentes variáveis testadas no grau de hidrólise proteica (DH%) na hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango usando Alcalase®, com um nível de confiança de 95%.



A proporção enzima-substrato foi um fator chave que influenciou o grau de hidrólise da proteína (DH%). Notavelmente, em experimentos com enzimas de menor e maior concentração, observou-se um aumento na concentração de enzimas. As concentrações, as condições de pré-tratamento - concentração de ácido acético (0,5 mol/mL) e duração do banho ultrassônico (30 min) - permaneceram consistentes.

Em algumas reações, valores de DH% semelhantes foram observados sob concentração enzimática idêntica, reforçando a proporcionalidade direta entre a concentração da enzima e o DH%. Essa descoberta está de acordo com (Teshnizi et al., 2020), que relataram que a manutenção de parâmetros enzimáticos ideais é essencial para preservar a alta atividade catalítica.

Os resultados da ANOVA para os gráficos de superfície e contorno do modelo linear são apresentados na Tabela 2. O modelo exibiu um alto coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9082$), demonstrando forte capacidade preditiva dentro da faixa experimental testada. A

proporção enzima/substrato influenciou significativamente o DH% (valor p de 0,0043), enquanto a concentração de ácido acético e o tempo de ultrassom tiveram efeitos mínimos.

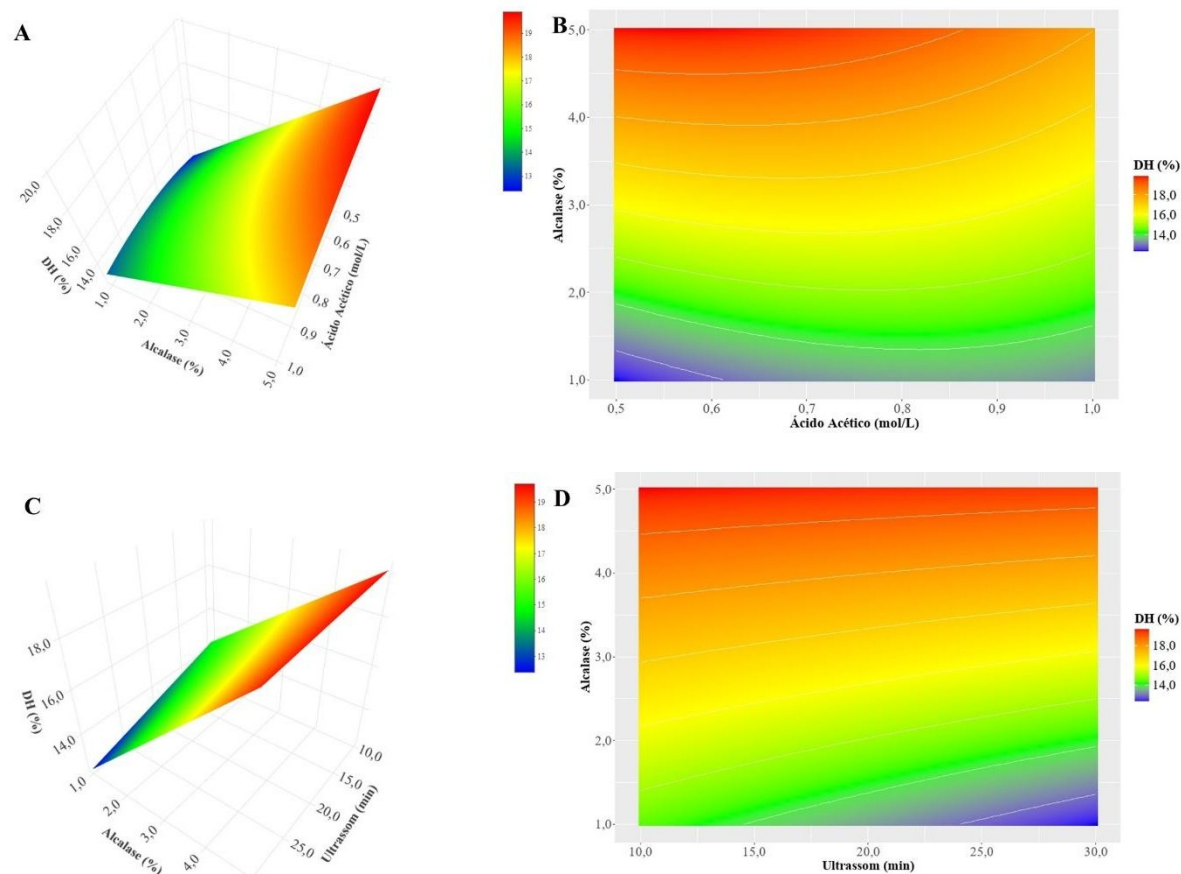
Tabela 2. Análise de variância (ANOVA) para o planejamento experimental fatorial completo da hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango usando Alcalase® com nível de confiança de 95%.

Fator	SQ	Df	Média	F -valor ¹	p -valor
1. Ácido acético (mol/L)	0.4513	1	0.4513	0.2026	0.6759
2. Ultrassom(min)	2.9041	1	2.9041	1.3040	0.3172
3. Enzima (%)*	74.9088	1	74.9088	33.6354	0.0043
1 by 2	4.6513	1	4.6513	2.0885	0.2219
1 by 3	3.6992	1	3.6992	1.6610	0.2669
2 by 3	1.5842	1	1.5842	0.7113	0.4464
Erro	8.9083	4	2.2271		
Total SS	97.1071				
R ²	0.9082				

Df: graus de liberdade; SQ: soma dos quadrados. ¹ Teste para comparar a variância do modelo com a variância residual (erro). % Enzima: m/m em relação ao substrato.

Essas descobertas também foram confirmadas pelo gráfico de Pareto (Figura 1). Os gráficos de superfície e contorno do modelo linear (Figura 2) corroboram ainda mais isso, mostrando uma correlação direta entre a concentração de Alcalase® e DH%.

Figura 2. Avaliação dos parâmetros do processo na produção de hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango utilizando Alcalase®: (a) DH% vs. Alcalase® (%) e ácido acético (mol/L); (b) Gráfico de contorno para DH vs. Alcalase® (%) e ácido acético (mol/L); (c) DH% vs. Alcalase® (%) e tempo de ultrassom (min); (d) Gráfico de contorno para DH% vs. Alcalase® (%) e tempo de ultrassom (min).



A Alcalase®, uma endoproteinase serina, possui ampla especificidade e degrada eficazmente a estrutura de tripla hélice do colágeno em um curto período de reação, clivando as ligações peptídicas dos aminoácidos não terminais (Sun et al., 2022). Nossos resultados indicam que o aumento da concentração de Alcalase® intensifica a hidrólise do revestimento interno da moela, provavelmente devido à maior clivagem das ligações químicas (Fuentes et al., 2024; Lalthanmawii et al., 2024)

Essas descobertas estão alinhadas com estudos anteriores que demonstram que a escolha da enzima e sua concentração em relação ao substrato são fatores críticos que influenciam o processo de hidrólise de proteínas. Cada enzima tem um modo de ação específico e a Alcalase® é particularmente adequada para produzir hidrolisados de proteínas com altos graus de hidrólise e recuperação (Teshnizi et al., 2020). Sua especificidade é especialmente pronunciada na clivagem de ligações peptídicas à direita de aminoácidos como Glu, Met, Leu,

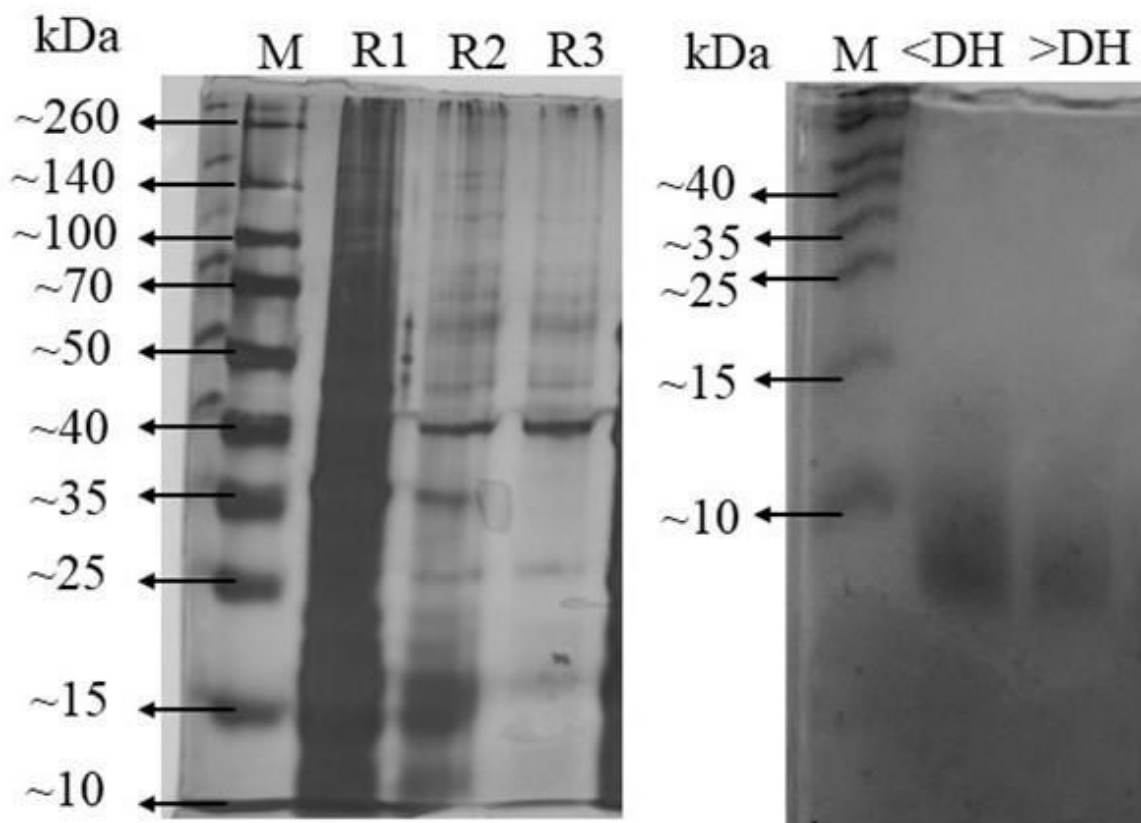
Tyr e Lys, com uma forte preferência por resíduos de Glu (Sun et al., 2022; Tacias-Pascacio et al., 2020). Além disso, sabe-se que a Alcalase® hidrolisa ligações peptídicas que contêm resíduos hidrofóbicos no lado carboxílico da cadeia proteica (Adler-Nissen, 1986).

Os hidrolisados proteicos obtidos por meio de processos enzimáticos têm diversas aplicações, em grande parte determinadas pelo seu grau de hidrólise, tamanho do peptídeo e composição de aminoácidos. Os hidrolisados com maior DH% geralmente exibem propriedades funcionais e bioativas superiores em comparação com seus equivalentes de menor DH% e com as moléculas de proteína originais. Essas propriedades aprimoradas incluem atividades antioxidantes, anti-hipertensivas, antidiabéticas e antimicrobianas, bem como funcionalidades tecnológicas aprimoradas, como emulsificação, formação de espuma e retenção de água e óleo (Fuentes et al., 2024; Santos et al., 2024). Além disso, os hidrolisados proteicos com alto grau de hidrólise são amplamente utilizados como suplementos nutricionais devido ao aumento da digestibilidade e biodisponibilidade (de Queiroz et al., 2017).

3.3 SDS-PAGE do revestimento interno da moela e hidrolisados

O perfil eletroforético do revestimento interno da moela e seus hidrolisados é mostrado na Figura 3. As amostras não tratadas (R1, R2 e R3) exibiram bandas >140 kDa, com R3 (tratada com NaOH e ácido acético 0,5 mol/L) também apresentando bandas em torno de 100 kDa, indicando que a hidrólise já havia começado durante o pré-tratamento.

Figura 3. Perfil de eletroforese do revestimento interno da moela de frango e seus hidrolisados proteicos. M: marcador; R1: revestimento interno da moela; R2: revestimento interno da moela tratado com NaOH; R3: revestimento interno da moela tratado com NaOH e ácido acético 0,5 mol/L; <DH: menor grau de hidrólise (11,36%); >DH: maior grau de hidrólise (21,19%).



Os hidrolisados mostraram bandas intensas em aproximadamente 15 kDa (menor DH%) e abaixo de 10 kDa (maior DH%). Uma maior abundância de peptídeos de baixo peso molecular foi observada no hidrolisado com o maior DH%, embora as bandas abaixo de 10 kDa parecessem difusas. Por outro lado, o hidrolisado com menor DH% exibiu bandas difusas na faixa de peso molecular intermediário (≤ 15 kDa), indicando hidrólise menos extensa. Resultados semelhantes foram relatados por Bezerra et al. (2020) para hidrolisados de crista e papada de frango tratados com Alcalase®. Reações enzimáticas com alto grau de hidrólise geralmente produzem peptídeos de menor peso molecular, que frequentemente apresentam importantes propriedades bioativas relevantes para a indústria alimentícia. Esses hidrolisados também exibem características tecnológicas desejáveis, como alta solubilidade. Por outro lado, peptídeos com maior peso molecular tendem a possuir propriedades funcionais favoráveis, incluindo maior capacidade emulsificante (Vásquez et al., 2022). A estabilidade da espuma é

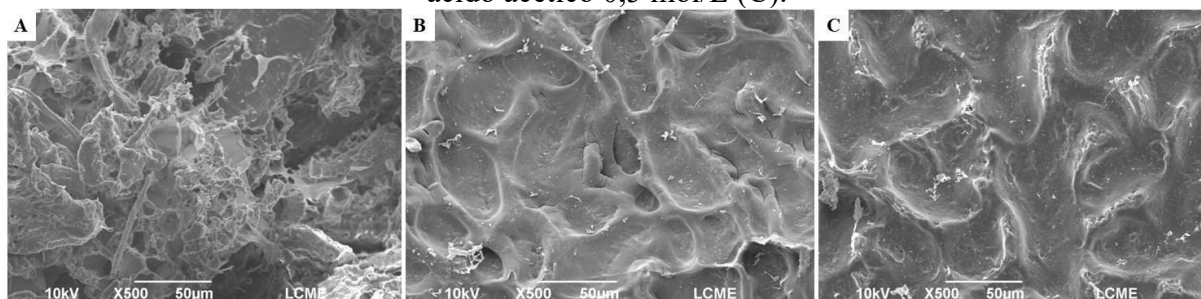
outra propriedade associada a peptídeos de maior peso molecular, uma vez que hidrolisados com menor %DH apresentam capacidade limitada de rearranjar sua estrutura na interface ar-água (Fuentes et al., 2024; Zamorano-Apodaca et al., 2020). A capacidade de retenção de óleo (CRO) é outro parâmetro que pode melhorar em hidrolisados proteicos com maior %DH, dependendo do equilíbrio entre o tamanho e a hidrofobicidade do peptídeo.

Os peptídeos de colágeno produzidos durante a hidrólise tipicamente apresentam pesos moleculares muito menores (3–6 kDa) do que seus precursores proteicos nativos (285–300 kDa). A hidrólise enzimática altera o tamanho dos peptídeos e impacta significativamente suas propriedades biológicas e físico-químicas (Al Hajj et al., 2024). Teshnizi et al. (2020) utilizaram Alcalase® em condições otimizadas (relação massa enzima/substrato de 3,5%, pH 7,5 e 60 °C), obtendo um grau de hidrólise (DH%) de 12,78% para proteínas e peptídeos da pele de frango com pesos moleculares abaixo de 14,5 kDa, similar aos resultados encontrados.

3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

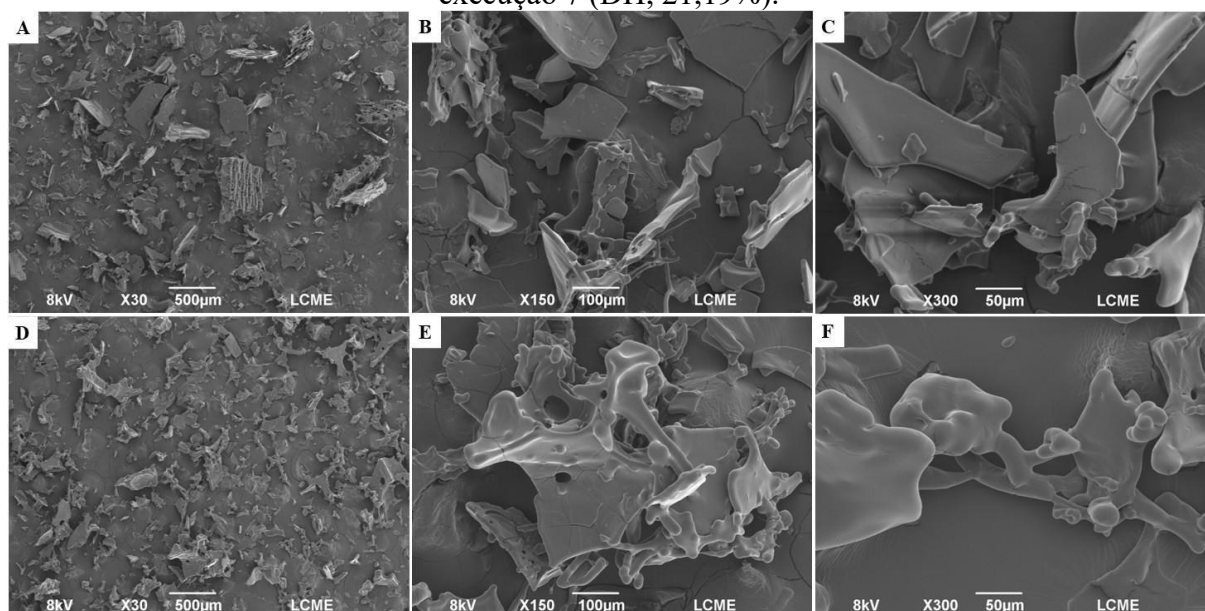
As microestruturas das amostras revelaram que ocorreram mudanças estruturais notáveis após os pré-tratamentos. O revestimento não tratado (Figura 4A) apresentou uma superfície altamente irregular, heterogênea, complexa e não modificada, refletindo sua composição inalterada. Após o tratamento com NaOH (Figura 4B), observou-se uma superfície mais lisa e homogênea, provavelmente devido à remoção de proteínas não colágenas. As amostras tratadas com ácido (Figura 4C) apresentaram uma superfície mais rugosa e porosa, com canais e cavidades visíveis, que podem ter resultado da degradação ou dissolução seletiva de certos componentes e da exposição de estruturas internas, facilitando a hidrólise enzimática.

Figura 4. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do colágeno do revestimento interno da moela de frango antes (A) e após pré-tratamentos com NaOH (B) e com NaOH e ácido acético 0,5 mol/L (C).



A hidrólise enzimática alterou ainda mais a microestrutura do revestimento interno da moela de frango (Figura 5). Comparado às amostras antes da hidrólise enzimática (Figuras 5A-C), os hidrolisados tratados com Alcalase® exibiram desintegração empaticulas menores, criando uma textura áspera em algumas áreas. Essas alterações provavelmente ocorreram devido à clivagem enzimática e à cavitação induzida por ultrassom (Ata et al., 2022). A rede porosa interconectada característica das moléculas de colágeno nativas estava ausente nos hidrolisados.

Figura 5. Imagens de microscopia eletrônica de varredura do colágeno hidrolisado do revestimento interno da moela de frango usando Alcalase®: A-C: hidrolisados da execução 3 (ver Tabela 2), com menor grau de hidrólise (DH, 11,36%); D-F: hidrolisados enzimáticos da execução 7 (DH, 21,19%).



Uma comparação das Figuras 5 A–C (DH menor, 11,36%) e das Figuras 5 D–F (DH maior, 21,19%) revela diferenças microestruturais distintas. Os hidrolisados com DH% menor (Figuras 5A-C) apresentaram partículas maiores, enquanto partículas menores predominam nos hidrolisados com maior proteólise (Figuras 5G-I). Em ampliações maiores (x300) (Figuras 5C e F), as deformidades na estrutura são mais evidentes em amostras com maior grau de hidrólise, devido à proteólise mais intensa e à maior uniformidade dos peptídeos liberados. Esses achados estão de acordo com Lalthanmawii et al. (2024), que relataram alterações microestruturais semelhantes em colágeno de pele de frango hidrolisado tratado com ultrassom.

Em menor ampliação (30x), o hidrolisado com o menor DH% (Figuras 5A-C) apresentou uma superfície irregular com estruturas dispersas, fragmentadas e heterogêneas de tamanhos variados, indicando hidrólise parcial. Em ampliação de 150x, bordas irregulares mais

detalhadas, cavidades e uma textura fibrosa desorganizada tornaram-se evidentes. Em ampliação de 300x, observou-se uma estrutura em camadas com bordas finas e claros sinais de fragmentação enzimática.

O hidrolisado com o maior DH% (Figura 5D) apresentou uma distribuição mais uniforme de partículas menores em ampliação de 30x, quando comparado ao hidrolisado com o menor DH%. O hidrolisado com o maior DH% também apresentou uma textura mais suave e fluida em ampliação de 150x (Figura 5E). Estruturas arredondadas ou parcialmente dissolvidas indicaram um maior grau de hidrólise. Com ampliação de 300x (Figura 5F), as partículas pareciam menores, com superfícies mais lisas e fundidas e bordas arredondadas, sugerindo proteólise ou solubilização avançada.

No geral, o pré-tratamento (NaOH ou ácido) produziu superfícies mais homogêneas e menos rugosas em comparação com as amostras não tratadas. Nos hidrolisados, a ação enzimática levou a estruturas mais fluidas com texturas fibrosas desorganizadas, bordas arredondadas e fragmentação, indicando um estado avançado de hidrólise.

3.5 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O colágeno é caracterizado por altos níveis de hidroxiprolina (Hyp) e prolina (Pro), sendo a Hyp encontrada quase exclusivamente nessa classe de proteínas estruturais. Essa composição única de aminoácidos se reflete em bandas de absorção distintas nos espectros de FTIR do colágeno. As principais regiões de absorção incluem a amida I ($\sim 1655\text{ cm}^{-1}$), a amida II ($\sim 1560\text{ cm}^{-1}$) e um conjunto de bandas mais fracas correspondentes à amida III ($\sim 1245\text{ cm}^{-1}$) (De Campos Vidal & Mello, 2011).

A amida I está principalmente associada à ligação de hidrogênio por meio de vibrações de estiramento C=O acopladas a COO, juntamente com contribuições do estiramento CN, deformação CCN e modos de flexão NH no plano. A posição exata da banda da amida I é influenciada pela ligação de hidrogênio e pela conformação estrutural geral da proteína. O pico de absorção na faixa de $1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ para a amida I é indicativo da estrutura espiralada característica dos hidrolisados (Kristoffersen et al., 2023).

Os espectros FTIR do revestimento interno da moela não tratado (R) e dos hidrolisados com graus de hidrólise menores ($< \text{DH}\%$) e maiores ($> \text{DH}\%$) são apresentados na Figura 6, com as posições dos picos correspondentes resumidas na Tabela 3. Apesar de pequenas variações, todas as amostras exibiram seus principais picos de absorção nas regiões

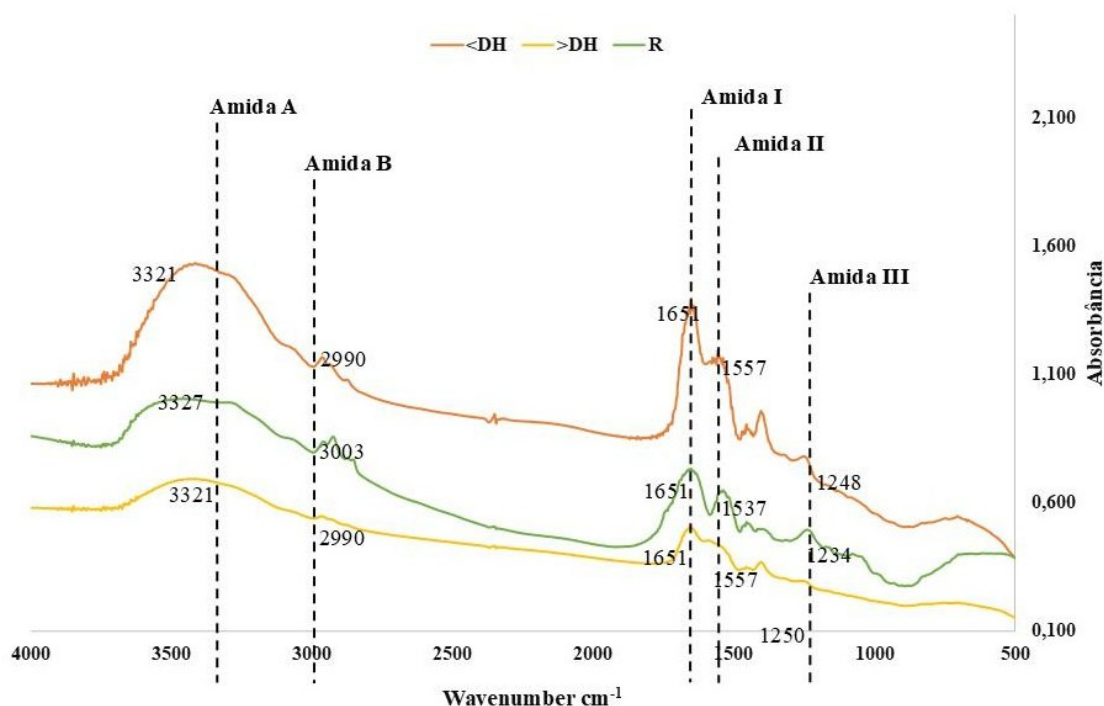
da amida, consistentes com resultados anteriores (Bryan et al., 2007), que relataram picos de amida I na faixa de 1629–1667 cm⁻¹.

Tabela 3. Posições dos picos espectrais de FTIR do revestimento interno da moela de frango (R) e hidrolisados com graus de hidrólise (DH) mais baixos (11,36%) e mais altos (21,19%) obtidos por hidrólise assistida por ultrassom com Alcalase®.

Banda	Pico número de onda (cm ⁻¹)		
	R	Baixo DH (11,36%)	Alto DH (21,19%)
Amida I	1651	1651	1651
Amida II	1537	1557	1557
Amida III	1234	1248	1250
Amida A	3327	3321	3321
Amida B	3003	2990	2990

Na amostra com menor grau de hidrólise, observou-se um aumento na intensidade relativa da amida A, acompanhado por um deslocamento de seu pico de absorção de 3327 cm⁻¹ para 3321 cm⁻¹. Essa mudança na intensidade da amida A é atribuída à ligação de hidrogênio intramolecular e intermolecular, indicando que o grupo NH do peptídeo participa da formação de ligações de hidrogênio (Zhang et al., 2021). Além disso, observou-se um alargamento da base de absorção nesta região, o que está associado às ligações N-H características das proteínas (Santos et al., 2024).

Figura 6. Espectros FTIR do revestimento interno da moela de frango (R) e hidrolisados com graus de hidrólise (DH) menores (11,36%) e maiores (21,19%) obtidos por hidrólise assistida por ultrassom com Alcalase®.



Como a matéria-prima e os hidrolisados são ricos em colágeno, não foram observadas grandes alterações estruturais após a hidrólise. No entanto, o aumento da intensidade relativa das amidas A e B nas amostras hidrolisadas (<DH%) sugere modificações enzimáticas. O pico de absorção deslocou-se de 3327 cm^{-1} para 3321 cm^{-1} (amida A) e de 3003 cm^{-1} para 2990 cm^{-1} (amida B), indicando alterações induzidas pela hidrólise enzimática. Notavelmente, não houve diferença significativa na frequência entre as amostras com diferentes graus de hidrólise, sugerindo que essa reação afeta principalmente a intensidade e a posição dos picos de absorção, em vez de introduzir grandes rearranjos estruturais.

Entretanto, uma investigação adicional sobre a composição da estrutura secundária de presença de proteínas nesta região é necessária. Para estudos futuros, recomenda-se que a banda amida I do FTIR (1600-1700 cm^{-1}) seja analisada utilizando o método de transformação de Fourier e ajuste de curva gaussiana para obter informações detalhadas sobre a estrutura secundária da proteína. Essa abordagem permitiria uma avaliação mais abrangente das variações na composição da estrutura secundária em diferentes graus de hidrólise.

3.6 Análise físico-química de hidrolisados enzimáticos do revestimento interno da moela

A turbidez é um parâmetro fundamental para avaliar hidrolisados como potenciais ingredientes alimentares, pois serve como uma medida indireta da formação de agregados peptídicos (Fuentes et al., 2024). Como mostrado na Tabela 4, a turbidez foi significativamente influenciada pelo grau de hidrólise (DH%) e, consequentemente, pela concentração da enzima utilizada no processo. O hidrolisado com menor grau de hidrólise (11,36%) apresentou valores de absorbância mais altos do que o hidrolisado com maior grau de hidrólise (21,19%). Essa tendência é esperada, pois o aumento da hidrólise leva a fragmentos peptídicos menores, reduzindo o tamanho das partículas e, consequentemente, a absorbância (Gao et al., 2019). De acordo com (Madadlou et al., 2009), o enfraquecimento das estruturas terciárias e quaternárias das proteínas, juntamente com a diminuição das interações proteína-proteína, contribui ainda mais para a redução da turbidez.

Tabela 4. Propriedades físico-químicas e funcionais¹ dos hidrolisados obtidos por hidrólise assistida por ultrassom do revestimento interno da moela de frango Revestimento com Alcalase® (média e desvio padrão, n=3).

Parâmetros	<DH% (11.36%)	>DH% (21.19%)	<i>p</i> -valor
Turbidez	0.154 ±0.02	0.107±0.01	0.0486
ZP (mV)	-34.47 ± 4.52	-23.13±0.60	0.0469
pH	8.51± 0.14	9.02 ±0.01	0.0236
Capacidade de Retenção de Óleo (ORC) (g _{óleo} / g)	4.21± 0.08	3.77 ± 0.33	0.1362
Índice de Atividade Emulsificante (EAI) (m ² /g ²)	0.35 ± 0.13	0.42 ± 0.12	0.4436
ESI (mg/g)	0.25 ± 0.25	0.14 ± 0.23	0.2741
FS (%)	47.9067 ± 3.18	53.9859 ± 2.06	0.05947
Solubilidade (%)			
pH 4	93.10 ± 1.33 ^b	82.11 ±2.20 ^b	0.000386
pH 7	90.91 ± 1.06 ^b	94.02 ± 1.31 ^a	0.01099

pH 10	99.26 ± 1.15 ^a	96.76 ± 2.17 ^a	0.3249
-------	---------------------------	---------------------------	--------

1 Capacidade de retenção de óleo (CRO), índice de atividade emulsificante (IAE), índice de estabilidade da emulsão (IEE), estabilidade da espuma (EE) do revestimento interno da moela de frango. *Médias na mesma coluna seguidas por letras sobrescritas diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O potencial zeta (ZP) é um indicador chave do tamanho do peptídeo e da formação de agregados. Valores de ZP dentro ou próximos da faixa de instabilidade (+ 30 a - 30 mV) promovem sedimentação e aglomeração devido às forças de van der Waals. Em contraste, valores de ZP altamente positivos ou negativos geram forças repulsivas que impedem a agregação de partículas (Gupta & Trivedi, 2018; Honary & Zahir, 2013). Como medida do equilíbrio eletroquímico entre as moléculas e seu meio dispersante, o ZP serve como um preditor crucial da estabilidade da dispersão e da emulsão (Lunardi et al., 2021). Nesse contexto, o aumento da turbidez e os baixos valores de ZP têm sido associados à formação de agregados proteicos, resultantes da atração entre as partículas causada pelas forças de van der Waals (Fuentes et al., 2024).

Neste estudo, todos os hidrolisados apresentaram carga líquida negativa (Tabela 4). Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas entre as amostras, com o hidrolisado com menor DH% apresentando um valor de ZP mais negativo (-34,47 mV). Em contraste, o hidrolisado com maior DH% apresentou um ZP menos negativo (-23,13 mV).

O pH dos hidrolisados também foi influenciado pelo grau de hidrólise (Tabela 4). Os hidrolisados com menor DH% apresentaram valores de pH mais baixos do que aqueles com maior DH%. Como o pH é um fator crítico que impacta o ZP, ambientes ácidos resultam em valores de ZP mais positivos, enquanto ambientes básicos produzem valores de ZP mais negativos (Fuentes et al., 2024). Conforme mostrado na Tabela 4, o hidrolisado com menor DH% é mais estável do que o hidrolisado com maior DH%, uma vez que seu potencial zeta tem um valor absoluto maior. Isso significa que as partículas na amostra com <DH% têm uma menor tendência a se agregarem em comparação com aquelas na amostra com >DH%.

Esses resultados indicam que os hidrolisados exibem estabilidade que varia de moderada (<DH) a alta (>DH), o que é essencial para formulações de alimentos e bebidas. A estabilidade adequada ajuda a prevenir a sedimentação e a separação de fases em emulsões, suspensões e sistemas coloidais. Além disso, o ZP e o pH desempenham um papel crucial no controle da textura, da sensação na boca e da aparência visual, garantindo consistência e maior vida útil aos produtos alimentícios.

3.7 Propriedades funcionais dos hidrolisados do revestimento interno da moela de frango

A funcionalidade proteica refere-se à capacidade de peptídeos e proteínas se dissolverem em diferentes níveis de pH, absorverem gordura, formarem espuma estável e emulsificarem (Tabela 4). Essas propriedades são cruciais para uma ampla gama de aplicações na indústria alimentícia, incluindo sopas, cremes, bebidas, carnes, produtos extrusados, produtos de panificação e confeitaria (León-López et al., 2019).

O ORC mede a quantidade de óleo absorvida pelo hidrolisado proteico, uma propriedade fundamental em aplicações na indústria de carnes e confeitaria para retenção de gordura, sabor e aprimoramento da textura (da Silva Araújo et al., 2021; Tang et al., 2022). Neste estudo, não foram observadas diferenças significativas entre os hidrolisados com diferentes graus de hidrólise (valor $p = 0,1362$). No entanto, o ORC ligeiramente inferior em hidrolisados com maior DH% provavelmente se deve ao seu menor tamanho molecular, o que reduz a capacidade de absorção de óleo (Noman et al., 2018). Fuentes et al. (2024) relataram valores de ORC de 3,17 g de óleo/g para hidrolisados de peixe.

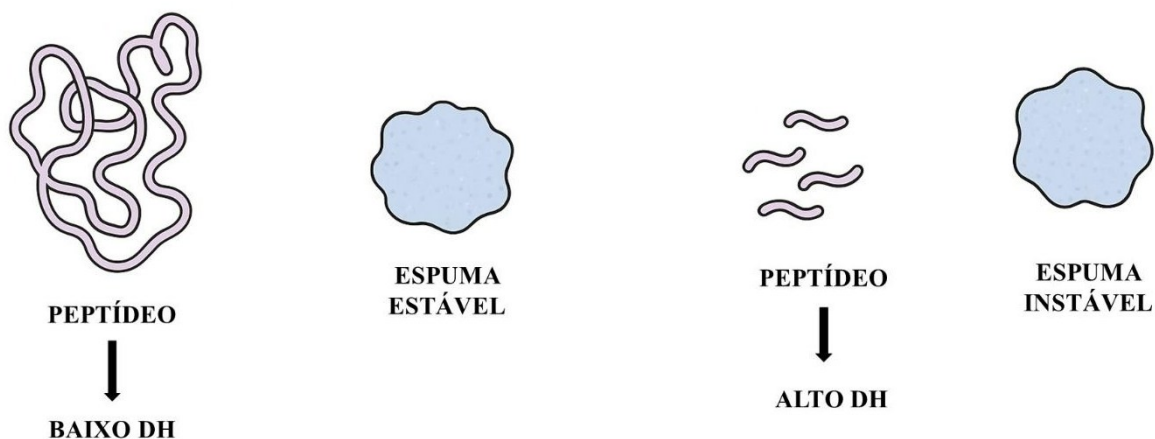
As propriedades emulsificantes, avaliadas pelo índice de atividade emulsificante (EAI) e pelo índice de estabilidade emulsificante (ESI), são essenciais para estabilizar produtos como sorvetes, molhos, mousses, patês, margarinas e bebidas (Santos et al., 2024). Essas propriedades dependem de propriedades tensoativas, impulsionadas por seus aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos, que são a base dessas funcionalidades.

Alavi et al. (2019) e Vásquez et al. (2022) relataram uma relação inversa entre o DH% e as propriedades emulsificantes dos hidrolisados. Vásquez et al. (2022) observaram que os hidrolisados de proteína de vísceras de truta arco-íris com maiores propriedades emulsificantes apresentavam o menor DH% (5%) e consistiam principalmente de peptídeos de alto peso molecular. Da mesma forma, hidrolisados derivados de proteína de resíduos de frango com um DH% menor podem reter peptídeos maiores que melhoram as propriedades emulsificantes. A otimização das condições de reação é crucial para maximizar o desempenho emulsificante, uma vez que esses fatores influenciam significativamente o tamanho e a hidrofobicidade dos peptídeos (Bezerra et al., 2020; Fuentes et al., 2024).

A estabilidade da espuma é fundamental para o desenvolvimento da textura em diversos produtos alimentícios. Neste estudo, a estabilidade da espuma ultrapassou 45% em todas as amostras, com um DH% mais alto correlacionando-se com maior estabilidade da espuma. Essa tendência está de acordo com achados anteriores (Ben Khaled et al., 2014; Rajabzadeh et al., 2018), visto que o aumento do DH% geralmente melhora as propriedades de formação de

espuma. No entanto, alguns estudos indicam que a hidrólise excessiva pode levar à redução da estabilidade da espuma devido à formação de peptídeos menores, que não possuem a resistência estrutural necessária para uma formação eficaz de espuma (Alavi et al., 2019; Fuentes et al., 2024). Essa redução na estabilidade da espuma ocorre porque os peptídeos menores têm dificuldade em rearranjar sua estrutura na interface ar-água (Zamorano-Apodaca et al., 2020). Em resumo, o grau de hidrólise influencia a estabilidade da espuma dos hidrolisados de moela de frango (Figura 7). Amostras com baixo DH provavelmente contêm uma proporção maior de proteínas maiores que formam espumas densas e estáveis por meio da formação de filmes robustos na interface ar-água. Em contraste, amostras com alto DH consistem principalmente de peptídeos menores, levando à redução da resistência interfacial e à formação de espumas instáveis caracterizadas por bolhas maiores e menos coesas. Consequentemente, o aumento do DH resulta em diminuição da estabilidade da espuma, o que pode ser atribuído à capacidade limitada de peptídeos curtos de manter a integridade estrutural da matriz da espuma.

Figura 7. Influência do %DH na estabilidade da espuma do hidrolisado de moela de frango com Alcalase®.



As propriedades de formação de espuma dos hidrolisados também são influenciadas por fatores como a hidrofobicidade da superfície das proteínas desnaturadas, a solubilidade da proteína, o tamanho do peptídeo e a distribuição de carga (de Queiroz et al., 2017).

A solubilidade da proteína é um atributo funcional crítico que influencia outras características funcionais e bioativas, definindo as potenciais aplicações industriais do hidrolisado. Como mostrado na Tabela 4, a solubilidade variou significativamente com o pH.

A maior solubilidade foi observada em pH 10 tanto para <DH% ($99,26\% \pm 1,15$) quanto para >DH% ($96,76\% \pm 2,17$). A menor solubilidade ocorreu em pH 7 ($90,91\% \pm 1,06$) para <DH% e em pH 4 ($82,11\% \pm 2,20$) para >DH%.

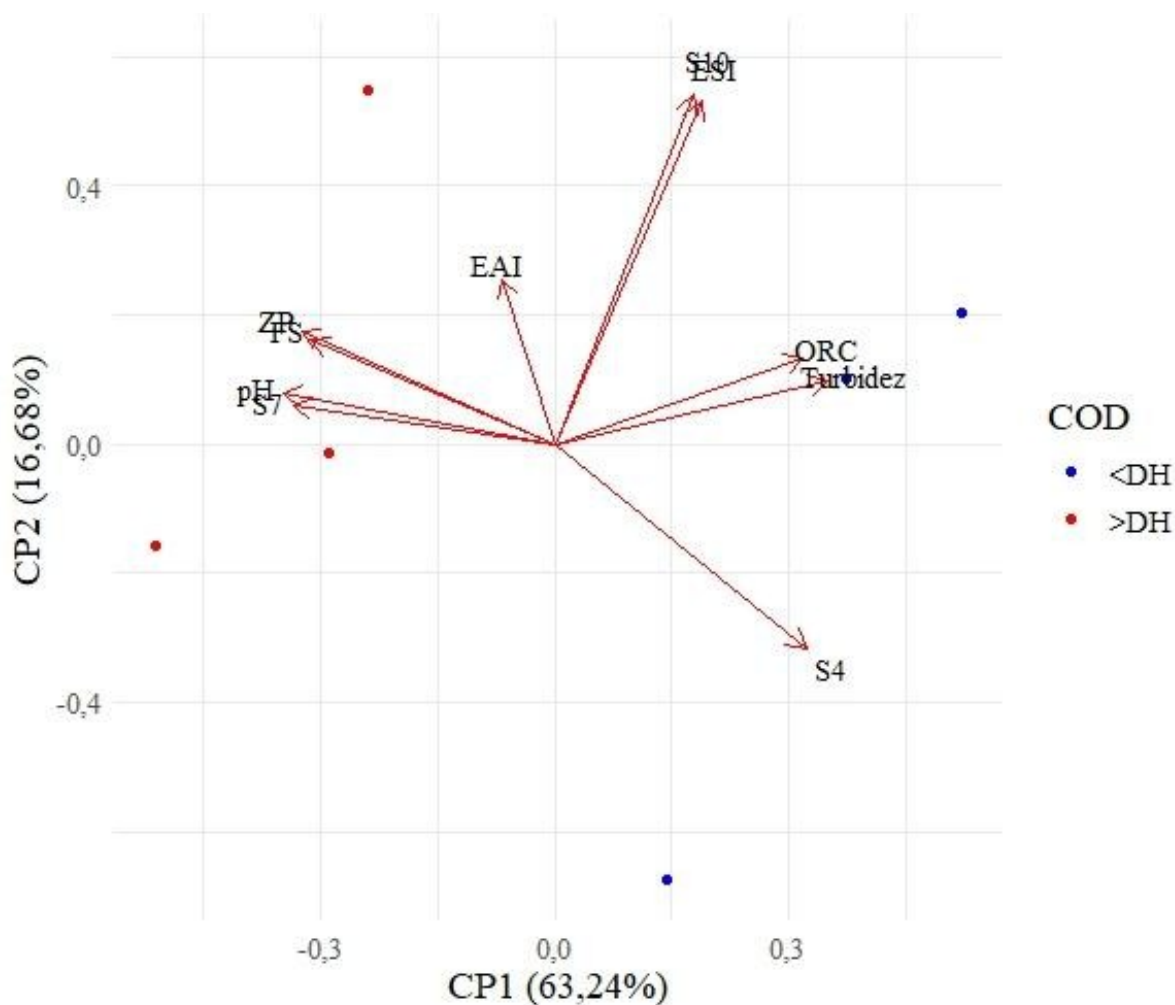
O aumento da solubilidade dos hidrolisados em condições alcalinas provavelmente se deve à presença de peptídeos de baixo peso molecular e à exposição de grupos polares gerados durante a hidrólise enzimática (Magalhães et al., 2022; Pacheco-Aguilar et al., 2008). A hidrofobicidade da superfície, que promove a formação de agregados, e a carga líquida, que aumenta à medida que o pH se afasta do ponto isoelétrico, afetam ainda mais a solubilidade dos hidrolisados (González-Serrano et al., 2022).

A alta solubilidade em uma ampla faixa de pH torna esses hidrolisados adequados para diversas aplicações alimentícias, particularmente em emulsões, espumas e géis. A capacidade de permanecerem solúveis garante uma dispersão uniforme em sistemas coloidais e melhora as propriedades interfaciais, aumentando a estabilidade e a textura (Ben Khaled et al., 2014; Lalthanmawii et al., 2024; Oliveira et al., 2021). O colágeno hidrolisado, por exemplo, tem sido incorporado com sucesso em produtos alimentícios para melhorar a funcionalidade, incluindo salsichas (como substituto de gordura) (Araújo et al., 2021), pão (para melhorar a textura) (Han, 2011), sucos (para enriquecimento proteico) (Bilek & Bayram, 2015) e produtos lácteos fermentados para aumentar a viscosidade e a estabilidade (León-López et al., 2020).

3.8 Análise de Componentes Principais (PCA)

A PCA (Figura 8) foi realizada para avaliar as relações entre as propriedades tecnológicas dos hidrolisados. A análise revelou que 79,91% da variância total foi explicada por dois componentes principais (CPs). O primeiro componente principal (PC1) representou 63,24% da variação total, enquanto o segundo (PC2) explicou 16,68%. A proximidade dos vetores no gráfico PCA indica fortes correlações, conforme confirmado pelo teste de correlação de Pearson com um nível de confiança de 95%.

Figura 8. Análise de Componentes Principais das propriedades tecnológicas dos hidrolisados¹ do revestimento interno da moela de frango.



¹ <DH (11.36%), >DH (21.19%). Abreviações: Capacidade de Retenção de Óleo (CRO), Índice de Atividade Emulsificante (IAE), Índice de Estabilidade da Emulsão (IEE), Estabilidade da Espuma (EE), Solubilidade em pH 4 (S4), Solubilidade em pH 7 (S7), Solubilidade em pH 10 (S10), Potencial Zeta (PZ).

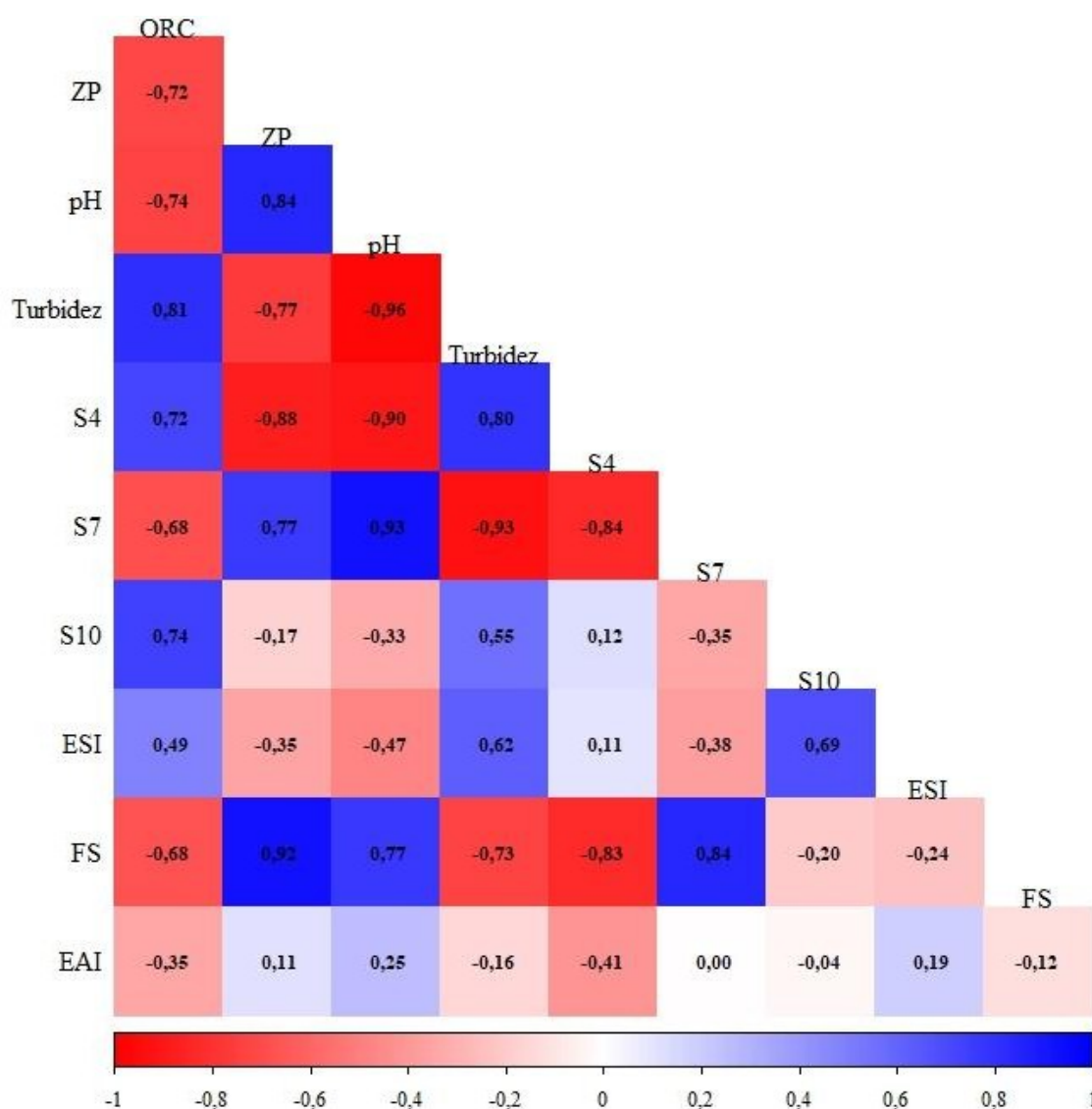
Os atributos capacidade de retenção de óleo (ORC), turbidez, solubilidade em pH 10 e estabilidade da emulsão foram fortemente associados ao eixo positivo do PC1. Esses parâmetros foram positivamente correlacionados e descreveram melhor os hidrolisados com menor grau de hidrólise proteica (<DH%). Isso indica que um menor grau de hidrólise proteica influencia positivamente a turbidez, a capacidade de retenção de óleo e a estabilidade da emulsão, que são propriedades desejáveis para produtos emulsionados com teor reduzido de gordura (Araújo et al., 2021).

Por outro lado, os parâmetros potencial zeta (ZP), pH, solubilidade em pH 7, estabilidade da espuma (FS) e índice de atividade emulsificante (EAI) foram mais fortemente associados ao PC2, descrevendo melhor os hidrolisados com maior grau de hidrólise (>DH%).

Correlações de Pearson significativas ($p < 0,05$) entre os parâmetros avaliados são ilustradas na Figura 9. O ORC correlacionou-se positivamente com a turbidez (0,81), a

solubilidade em pH 4 (0,72) e a solubilidade em pH 10 (0,74). A solubilidade em pH 7 correlacionou-se positivamente com a estabilidade da espuma (0,84), o pH (0,93) e o potencial zeta (0,77). A estabilidade da espuma (FS) apresentou correlação positiva com o potencial zeta (0,92) e correlação negativa com a solubilidade em pH 4 (0,83). A turbidez correlacionou-se negativamente com o pH (0,96) e a solubilidade em pH 7 (0,93).

Figura 9. Coeficientes de correlação de Pearson entre as propriedades tecnológicas dos hidrolisados¹ do revestimento interno da moela de frango.



¹Capacidade de Retenção de Óleo (CRO), Índice de Atividade Emulsificante (IAE), Índice de Estabilidade da Emulsão (IEE), Estabilidade da Espuma (EE), Solubilidade em pH 4 (S4), Solubilidade em pH 7 (S7), Solubilidade em pH 10 (S10), Potencial Zeta (PZ).

Esses resultados indicam que valores mais altos de potencial zeta melhoram a estabilidade da espuma, enquanto uma maior solubilidade em pH 7 contribui para uma melhor estabilidade da espuma. Da mesma forma, a turbidez influencia positivamente o ORC. Por outro lado, valores de ORC mais baixos foram associados a cadeias laterais polares hidrofílicas e a um DH% mais alto (Noman et al., 2018). Hidrolisados com um DH alto contêm uma grande proporção de pequenos peptídeos, o que reduz a capacidade de absorção de óleo, resultando em valores de ORC mais baixos (Noman et al., 2018).

4 Conclusões

A hidrólise enzimática com Alcalase® oferece um método sustentável e eficaz para valorizar o revestimento das moelas de frango – um subproduto do processamento de aves – por meio de sua biotransformação em hidrolisados proteicos funcionais com aplicações potenciais na indústria alimentícia.

Os resultados deste estudo destacam a relação enzima-substrato como um determinante chave da eficiência da hidrólise, bem como as características físico-químicas e tecnológicas dos hidrolisados resultantes. Os hidrolisados proteicos com diferentes percentagens de hidrólise (DH%) apresentaram propriedades distintas, tornando-os adequados para diversas aplicações na formulação de alimentos. Os hidrolisados com menor grau de hidrólise demonstraram maior capacidade de retenção de óleo e emulsões mais estáveis, tornando-os particularmente ideais para aplicações que exigem maior retenção de gordura e estabilidade da emulsão. Por outro lado, os hidrolisados com maior DH% apresentaram maior estabilidade da espuma e atividade emulsificante, tornando-os ideais para produtos onde essas propriedades são essenciais.

Essas descobertas enfatizam a importância de otimizar a proporção enzima-substrato durante a hidrólise para adequar as propriedades dos hidrolisados proteicos a aplicações funcionais específicas. Este estudo fornece uma base sólida para pesquisas futuras sobre hidrólise enzimática como uma estratégia sustentável para a utilização de subprodutos de frango na indústria alimentícia e em outros setores.

Embora o tratamento com ultrassom não tenha influenciado significativamente o grau de hidrólise proteica, recomenda-se a realização de pesquisas adicionais para explorar seus potenciais efeitos sobre as modificações estruturais de proteínas induzidas por cavitação, a extensão da hidrólise e as características do hidrolisado.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Frangos Morgana Ltda (Palhoça, SC, Brasil) e à LNF Latino Americana (Bento Gonçalves, RS, Brasil) pela doação de subprodutos de frango e Alcalase®, respectivamente; Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) (UFSC) para eletroforese; Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME, UFSC) pelo auxílio nas análises de microscopia eletrônica de varredura; Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas - LINDEN (UFSC) e Laboratório de Controle e Processos de Polimerização – LCP (UFSC) pela utilização do espectrofotômetro; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa ao primeiro autor [Processo número 88887.631066/2021-00].

Financiamento

Este estudo foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

References

- Abedinia, A., Mohammadi Nafchi, A., Sharifi, M., Ghalambor, P., Oladzadabbasabadi, N., Ariffin, F., & Huda, N. (2020). Poultry gelatin: Characteristics, developments, challenges, and future outlooks as a sustainable alternative for mammalian gelatin. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 104, p. 14–26). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.001>
- Adler-Nissen, J. (1986). *Enzymic Hydrolysis of Food Protein*.
<https://www.researchgate.net/publication/278668256>
- Akram, A. N., & Zhang, C. (2020a). Effect of ultrasonication on the yield, functional and physicochemical characteristics of collagen-II from chicken sternal cartilage. *Food Chemistry*, 307, 125544. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125544>
- Akram, A. N., & Zhang, C. (2020b). Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105053. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105053>
- Al Hajj, W., Salla, M., Krayem, M., Khaled, S., Hassan, H. F., & Khatib, S. El. (2024).

Hydrolyzed collagen: Exploring its applications in the food and beverage industries and assessing its impact on human health-A comprehensive review.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36433>

Alavi, F., Jamshidian, M., & Rezaei, K. (2019). Applying native proteases from melon to hydrolyze kilka fish proteins (*Clupeonella cultriventris caspia*) compared to commercial enzyme Alcalase. *Food Chemistry*, 277(August 2018), 314–322.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.122>

AOAC. Association of Official Chemists. (2000). *Official methods of analysis the os AOAC International* (17^o ed).

Araújo, Í. B. D. S., Bezerra, T. K. A., Nascimento, E. S. Do, Gadelha, C. A. D. A., Santi-Gadelha, T., & Madruga, M. S. (2018). Optimal conditions for obtaining collagen from chicken feet and its characterization. *Food Science and Technology (Brazil)*, 38, 167–173. <https://doi.org/10.1590/fst.27517>

Araújo, Í. B. S., Lima, D. A. S., Pereira, S. F., Paseto, R. P., & Madruga, M. S. (2021). Effect of storage time on the quality of chicken sausages produced with fat replacement by collagen gel extracted from chicken feet. *Poultry Science*, 100(2), 1262–1272.

<https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.10.029>

Ata, O., Kumcuoglu, S., & Tavman, S. (2022). Effects of sonication on the extraction of pepsin-soluble collagens from lamb feet and product characterization. *LWT*, 159, 113253. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113253>

Bell, D. J., & Freeman, B. M. (1971). *Physiology and biochemistry of the domestic fowl. Academic Press, Inc., 1–3.*

Ben Khaled, H., Ktari, N., Ghorbel-Bellaaj, O., Jridi, M., Lassoued, I., & Nasri, M. (2014). Composition, functional properties and in vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from sardinelle (*Sardinella aurita*) muscle. *Journal of Food Science and Technology*, 51(4), 622–633. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0544-4>

Bezerra, T., Estévez, M., Lacerda, J. T., Dias, M., Juliano, M., Mendes, M. A., Morgano, M., Pacheco, M. T., & Madruga, M. (2020). Chicken Combs and Wattles as Sources of Bioactive Peptides: Optimization of Hydrolysis, Identification by LC-ESI-MS2 and Bioactivity Assessment. *Molecules*, 25(7), 1698.

<https://doi.org/10.3390/molecules25071698>

Bilek, S. E., & Bayram, S. K. (2015). Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen. *Journal of Functional Foods*, 14, 562–569.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.02.024>

- Bryan, M. A., Brauner, J. W., Anderle, G., Flach, C. R., Brodsky, B., & Mendelsohn, R. (2007). *FTIR Studies of Collagen Model Peptides: Complementary Experimental and Simulation Approaches to Conformation and Unfolding*.
<https://doi.org/10.1021/ja071154i>
- Campos, L. D., Pereira, A. T. S. de A., & Cazarin, C. B. B. (2023). The collagen market and knowledge, attitudes, and practices of Brazilian consumers regarding collagen ingestion. *Food Research International*, 170. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112951>
- Cao, C., Xiao, Z., Tong, H., Tao, X., Gu, D., Wu, Y., Xu, Z., & Ge, C. (2021). Effect of ultrasound-assisted enzyme treatment on the quality of chicken breast meat. *Food and Bioproducts Processing*, 125, 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.11.005>
- Cao, L., Majura, J. J., Liu, L., Cao, W., Chen, Z., Zhu, G., Gao, J., Zheng, H., & Lin, H. (2023). The cryoprotective activity of tilapia skin collagen hydrolysate and the structure elucidation of its antifreeze peptide. *LWT*, 114670.
<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2023.114670>
- Correia De Souza Cunha, R., Moreira De Carvalho, L., Maria De Sousa Fontes, V., De Sousa Galvão, M., Souza Olegário, L., Lucena De Medeiros, L., Morgano, M. A., Teresa, M., Pacheco, B., Suely Madruga, M., Kênia, T., & Bezerra, A. (2023). Volatilomic evaluation of protein hydrolysates from free-range chicken bones treated with hot-pressure process. *LWT-Food Science and Technology*, 174, 114368.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114368>
- da Silva Araújo, Í. B., Pereira Da Silva, F. A., Moreira Fernandes Santos, M., & do Nascimento Alves, R. (2021). Recovery and application of bioactive proteins from poultry by-products. *Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products: Recent Trends, Innovations and Sustainability Challenges*, 497–514. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824044-1.00032-5>
- De Campos Vidal, B., & Mello, M. L. S. (2011). Collagen type I amide I band infrared spectroscopy. *Micron*, 42(3), 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2010.09.010>
- de Queiroz, A. L. M., de Araújo, A. R. R., Pacheco, M. T. B., & Madruga, M. S. (2017). Potential use of goat viscera to obtain protein hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 832–837. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.049>
- Dhakal, D., Koomsap, P., Lamichhane, A., Sadiq, M. B., & Anal, A. K. (2018). Optimization of collagen extraction from chicken feet by papain hydrolysis and synthesis of chicken feet collagen based biopolymeric fibres. *Food Bioscience*, 23, 23–30.
<https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2018.03.003>

- Di Filippo, G., Melchior, S., Plazzotta, S., Calligaris, S., & Innocente, N. (2024). Effect of enzymatic hydrolysis with Alcalase or Protamex on technological and antioxidant properties of whey protein hydrolysates. *Food Research International*, 188. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114499>
- dos Santos Aguilar, J. G., de Souza, A. K. S., & de Castro, R. J. S. (2020). Enzymatic Hydrolysis of Chicken Viscera to Obtain Added-Value Protein Hydrolysates with Antioxidant and Antihypertensive Properties. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26(2), 717–725. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09879-3>
- Fernández-López, J., Sendra-Nadal, E., Navarro, C., Sayas, E., Viuda-Martos, M., & Alvarez, J. A. P. (2009). Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(4), 748–756. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01892.x>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A SIMPLE METHOD FOR THE ISOLATION AND PURIFICATION OF TOTAL LIPIDES FROM ANIMAL TISSUES. *Journal Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.
- Fuentes, C., Verdú, S., Grau, R., Barat, J. M., & Fuentes, A. (2024). Impact of raw material and enzyme type on the physico-chemical and functional properties of fish by-products hydrolysates. *LWT*, 201, 116247. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2024.116247>
- Gao, H., Ma, L., Li, T., Sun, D., Hou, J., Li, A., & Jiang, Z. (2019). Impact of ultrasonic power on the structure and emulsifying properties of whey protein isolate under various pH conditions. *Process Biochemistry*, 81, 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.03.012>
- González-Serrano, D. J., Hadidi, M., Varcheh, M., Jelyani, A. Z., Moreno, A., & Lorenzo, J. M. (2022). Bioactive Peptide Fractions from Collagen Hydrolysate of Common Carp Fish Byproduct: Antioxidant and Functional Properties. *Antioxidants*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/antiox11030509>
- Gupta, V., & Trivedi, P. (2018). In vitro and in vivo characterization of pharmaceutical topical nanocarriers containing anticancer drugs for skin cancer treatment. In *Lipid Nanocarriers for Drug Targeting* (p. 563–627). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813687-4.00015-3>
- Habinshuti, I., Nsengumuremyi, D., Muhoza, B., Ebenezer, F., Yinka Aregbe, A., & Antoine Ndisanze, M. (2023). Recent and novel processing technologies coupled with enzymatic hydrolysis to enhance the production of antioxidant peptides from food proteins: A review. *Food Chemistry*, 423, 136313. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136313>

- Han, B. (2011). Effect of hydrolyzed collagen from Tilapia scale on bread quality. *Advanced Materials Research*, 183–185, 500–504.
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.183-185.500>
- Honary, S., & Zahir, F. (2013). Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems - A review (Part 2). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2), 265–273. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.20>
- Hou, Y., Chitrakar, B., Mao, K., Wang, K., Gu, X., Gao, J., Zhang, Q., El-Din, A., Bekhit, A., & Sang, Y. (2023). Bioactivity of collagen peptides derived from commercial animals: In silico investigation. *Science and Technology*, 187.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115381>
- Indriani, S., Sae-leaw, T., Benjakul, S., Hong Quan, T., Karnjanapratum, S., & Nalinanon, S. (2022). Impact of different ultrasound-assisted processes for preparation of collagen hydrolysates from Asian bullfrog skin on characteristics and antioxidative properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 89, 106163. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106163>
- Jayaprakash, S., Mohamad Abdul Razeen, Z., Naveen Kumar, R., He, J., Milky, M. G., Renuka, R., & Sanskrithi, M. V. (2024). Enriched characteristics of poultry collagen over other sources of collagen and its extraction methods: A review. In *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 273). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133004>
- Kaewbangkerd, K., Hamzeh, A., & Yongsawatdigul, J. (2023). Ultrasound-assisted extraction of collagen from broiler chicken trachea and its biochemical characterization. *Ultrasonics Sonochemistry*, 95, 106372. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106372>
- Karnjanapratum, S., Sinthusamran, S., Sae-leaw, T., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2017). Characteristics and Gel Properties of Gelatin from Skin of Asian Bullfrog (*Rana tigerina*). *Food Biophysics*, 12(3), 289–298. <https://doi.org/10.1007/s11483-017-9485-4>
- Kristoffersen, K. A., Afseth, N. K., Böcker, U., Dankel, K. R., Rønningen, M. A., Lislelid, A., Ofstad, R., Lindberg, D., & Wubshet, S. G. (2022). Post-enzymatic hydrolysis heat treatment as an essential unit operation for collagen solubilization from poultry by-products. *Food Chemistry*, 382. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.132201>
- Kristoffersen, K. A., Måge, I., Wubshet, S. G., Böcker, U., Riiser Dankel, K., Lislelid, A., Rønningen, M. A., & Afseth, N. K. (2023). FTIR-based prediction of collagen content in hydrolyzed protein samples. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 301. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122919>
- LAEMMLI, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head

- of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lalthanmawii, J., Banerjee, R., Maheswarappa, N. B., Biswas, S., Belore, B., Govindaiah, P. M., & Patra, G. (2024). Ultrasound-assisted extraction for green recovery of poultry skin collagen hydrolysates with antioxidant and antihypertensive activities. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05903-9>
- León-López, A., Morales-Peñaloza, A., Martínez-Juárez, V. M., Vargas-Torres, A., Zeugolis, D. I., & Aguirre-Álvarez, G. (2019). Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 4031, 24(22), 4031. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24224031>
- León-López, A., Pérez-Marroquín, X. A., Campos-Lozada, G., Campos-Montiel, R. G., & Aguirre-Álvarez, G. (2020). Characterization of whey-based fermented beverages supplemented with hydrolyzed collagen: Antioxidant activity and bioavailability. *Foods*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/foods9081106>
- Lima, J. L., Bezerra, T. K. A., Carvalho, L. M., Galvão, M. S., Lucena, L., Rocha, T. C., Estevez, M., & Madruga, M. S. (2022). Improving the poor texture and technological properties of chicken wooden breast by enzymatic hydrolysis and low-frequency ultrasound. *Journal of Food Science*, 87(6), 2364–2376. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16149>
- Lu, W. C., Chiu, C. S., Chan, Y. J., Mulio, A. T., & Li, P. H. (2023). Characterization and biological properties of marine by-product collagen through ultrasound-assisted extraction. *Aquaculture Reports*, 29. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2023.101514>
- Madadlou, A., Mousavi, M. E., Emam-Djomeh, Z., Ehsani, M., & Sheehan, D. (2009). Comparison of pH-dependent sonodisruption of re-assembled casein micelles by 35 and 130 kHz ultrasounds. *Journal of Food Engineering*, 95(3), 505–509. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.008>
- Magalhães, I. S., Guimarães, A. D. B., Tribst, A. A. L., Oliveira, E. B. de, & Leite Júnior, B. R. de C. (2022). Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of goat milk casein: Effects on hydrolysis kinetics and on the solubility and antioxidant activity of hydrolysates. *Food Research International*, 157, 111310. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.111310>
- Ni, C. H., Lee, C. S., Chuan, F. Y., Enomoto, H., Takeda, S., Lin, L. C., & Sakata, R. (2018). Investigation of the chemical composition and functional proteins of chicken gizzard inner lining. *Food Science and Technology Research*, 24(5), 893–901. <https://doi.org/10.3136/fstr.24.893>

- Noman, A., Xu, Y., AL-Bukhaiti, W. Q., Abed, S. M., Ali, A. H., Ramadhan, A. H., & Xia, W. (2018). Influence of enzymatic hydrolysis conditions on the degree of hydrolysis and functional properties of protein hydrolysate obtained from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) by using papain enzyme. *Process Biochemistry*, 67, 19–28.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.01.009>
- Oechsle, A. M., Akgün, D., Krause, F., Maier, C., Gibis, M., Kohlus, R., & Weiss, J. (2016). Microstructure and physical–chemical properties of chicken collagen. *Food Structure*, 7, 29–37. <https://doi.org/10.1016/J.FOOSTR.2016.02.001>
- Oliveira, V. de M., Assis, C. R. D., Costa, B. de A. M., Neri, R. C. de A., Monte, F. T. D., Freitas, H. M. S. da C. V., França, R. C. P., Santos, J. F., Bezerra, R. de S., & Porto, A. L. F. (2021). Physical, biochemical, densitometric and spectroscopic techniques for characterization collagen from alternative sources: A review based on the sustainable valorization of aquatic by-products. *Journal of Molecular Structure*, 1224, 129023.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129023>
- Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M. A., & Ramírez-Suárez, J. C. (2008). Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting (*Merluccius productus*) muscle produced by a commercial protease. *Food Chemistry*, 109(4), 782–789.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.047>
- Pap, N., Mäkinen, S., Moilanen, U., Vahvaselkä, M., Maunuksela, J., Kymäläinen, M., & Pihlanto, A. (2022). Optimization of Valorization of Chicken MDCM to Produce Soluble Protein and Collagen Peptides. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(3).
<https://doi.org/10.3390/app12031327>
- Qi, L., Zhang, H., Guo, Y., Liu, H., & Zhang, C. (2024). Preparation, characterization and antioxidant activity analysis of three Maillard glycosylated bone collagen hydrolysates from chicken, porcine and bovine. *Food Science and Human Wellness*, 13(4), 2002–2013. <https://doi.org/10.26599/FSHW.2022.9250166>
- Rajabzadeh, M., Pourashouri, P., Shabanpour, B., & Alishahi, A. (2018). Amino acid composition, antioxidant and functional properties of protein hydrolysates from the roe of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 313–319. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13587>
- Santos, M. M. F., Grisi, C. V. B., de Souza, E. G. T., Lima, J. de M., Ferreira, V. C. da S., Kurozawa, L. E., Madruga, M. S., & da Silva, F. A. P. (2024). Biotransformation of free-range chicken feather into functional protein hydrolysates using microwave alkaline pretreatment. *Food Bioscience*, 59. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103897>

- Schägger, H., & von Jagow, G. (1987). Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*, 166(2), 368–379. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(87\)90587-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(87)90587-2)
- Sun, S., Gao, Y., Chen, J., & Liu, R. (2022). Identification and release kinetics of peptides from tilapia skin collagen during alcalase hydrolysis. *Food Chemistry*, 378, 132089. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132089>
- Tacias-Pascacio, V. G., Morellon-Sterling, R., Siar, E. H., Tavano, O., Berenguer-Murcia, Á., & Fernandez-Lafuente, R. (2020). Use of Alcalase in the production of bioactive peptides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 2143–2196. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.060>
- Tan, Y., Chang, S. K. C., & Meng, S. (2019). Comparing the kinetics of the hydrolysis of by-product from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillet processing by eight proteases. *LWT*, 111, 809–820. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.053>
- Tang, P., Zheng, T., Yang, C., & Li, G. (2022). Enhanced physicochemical and functional properties of collagen films cross-linked with laccase oxidized phenolic acids for active edible food packaging. *Food Chemistry*, 393, 133353. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.133353>
- Teshnizi, Z. M., Robatjazi, S. M., & Mosaabadi, J. M. (2020). Optimization of the enzymatic hydrolysis of poultry slaughterhouse wastes using alcalase enzyme for the preparation of protein hydrolysates. *Applied Food Biotechnology*, 7(3), 153–160. <https://doi.org/10.22037/afb.v7i3.28417>
- Vásquez, P., Sepúlveda, C. T., & Zapata, J. E. (2022). Functional properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera protein hydrolysates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39(December 2021). <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102268>
- Zamorano-Apodaca, J. C., García-Sifuentes, C. O., Carvajal-Millán, E., Vallejo-Galland, B., Scheuren-Acevedo, S. M., & Lugo-Sánchez, M. E. (2020). Biological and functional properties of peptide fractions obtained from collagen hydrolysate derived from mixed by-products of different fish species. *Food Chemistry*, 331(February), 127350. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127350>
- Zhang, Y., Chen, Z., Liu, X., Shi, J., Chen, H., & Gong, Y. (2021). SEM, FTIR and DSC Investigation of Collagen Hydrolysate Treated Degraded Leather. *Journal of Cultural Heritage*, 48, 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2020.11.007>

CAPÍTULO V

ARTIGO II

PROSPECÇÃO CIENTÍFICA DE COLÁGENO DE SUBPRODUTOS DE FRANGO: EXTRAÇÃO, PROPRIEDADES BIOATIVAS E FUNCIONAIS, E APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS

O texto e os dados discutidos neste capítulo serão submetidos na forma de artigo científico, de autoria de Juliana Lopes de Lima, Marta Suely Madruga e Maria Manuela Camino Feltes, a periódico de alto impacto na área de ciência dos alimentos.

**PROSPECÇÃO CIENTÍFICA DE COLÁGENO DE SUBPRODUTOS DE
FRANGO: EXTRAÇÃO, PROPRIEDADES BIOATIVAS E FUNCIONAIS, E
APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS**

Juliana Lopes de Lima^a, Marta Suely Madruga^b, Maria Manuela Camino Feltes^{ac}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Federal Universidade de Santa Catarina, Itacorubi, 88034-001, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

^b Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Alimentos Engenharia, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, Jardim Cidade Universitária, 58900-000, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

^c Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrícolas, Universidade Federal de Santa Catarina, Itacorubi, 88034-001 Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

E-mail para correspondência: manuela.feltes@ufsc.br

Resumo

O colágeno é uma proteína estrutural amplamente distribuída nos tecidos animais e reconhecida por suas propriedades funcionais e bioativas. Este estudo apresenta uma revisão científica e bibliométrica sobre a prospecção de colágeno a partir de subprodutos de frango, explorando fontes, métodos de pré-tratamento, processos enzimáticos e suas principais aplicações na indústria alimentícia. A busca bibliográfica foi realizada na base de dados Web of Science, identificando mais de 200 publicações relacionadas ao tema, destacando avanços recentes na extração e hidrólise enzimática, e o uso de tecnologias inovadoras, como ultrassom, que aumentam o rendimento e podem melhorar características funcionais do colágeno. Os resultados mostram que pés, pele, ossos, cartilagem e outros subprodutos do abate de frango são fontes ricas em colágeno e peptídeos bioativos, com potencial antioxidante e anti-inflamatório, e também com aplicações tecnológicas relevantes, como substituição de gordura em produtos cárneos, fortificação proteica em alimentos e desenvolvimento de biopolímeros. Além de agregar valor a subprodutos de baixo custo, o uso de colágeno de frango está alinhado com as tendências globais de inovação sustentável, bem-estar animal, economia circular e consumo responsável. Assim, este estudo reforça a importância da utilização de subprodutos de aves como uma estratégia para gerar ingredientes funcionais de alto valor agregado, impulsionando a inovação em sistemas alimentares sustentáveis.

Palavras-chave: Fontes de proteína; Aves; Colágeno; Sustentabilidade; Extração verde; Ingredientes funcionais.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a população mundial não vê a alimentação apenas como uma forma de satisfazer a fome ou nutrir o corpo, mas também confirma sua importância fundamental na promoção da saúde humana. Durante o processamento de alimentos, diversos subprodutos, coprodutos e resíduos são gerados, e maximizar o uso de matrizes alimentares é uma tendência global para reduzir perdas, minimizar impactos ambientais e agregar o máximo valor à cadeia produtiva.

A avicultura gera grandes volumes de subprodutos e coprodutos, como sangue, ossos, pele, órgãos, vísceras, pés, cabeças, penas, entre outros, durante o abate e o processamento da carne. Este material deve ser tratado e descartado de maneira ambientalmente correta, visto que aproximadamente 10 a 13% do peso vivo do animal é composto por pele, estômago, coração e outros subprodutos e coprodutos (Akimova et al., 2023).

O colágeno é uma proteína predominante em animais e outros organismos multicelulares, presente em tecidos conjuntivos como pele, ossos, cartilagem e tendões. Devido à sua abundância em diversas fontes, vários métodos de pré-tratamento e remoção foram desenvolvidos ao longo dos anos para obtê-lo. Com suas propriedades físicas e químicas únicas, o colágeno tem aplicações específicas nas indústrias farmacêutica, cosmética, biomédica e alimentícia (Jayaprakash et al., 2024).

O colágeno bovino e suíno são fontes tradicionais de colágeno. Entretanto, o colágeno de frango apresenta vantagens em aspectos estruturais, biológicos e socioeconômicos em comparação com outras fontes, além de não apresentar limitações religiosas quando comparado ao colágeno suíno, por exemplo (Chanmangkang et al., 2024; Jayaprakash et al., 2024).

Além de sua importância estrutural, o colágeno derivado de subprodutos de frango tem se destacado por suas propriedades bioativas e seu potencial de aplicação em formulações alimentares, especialmente no contexto de cadeias de produção sustentáveis. Já existem diversos estudos sobre colágeno e colágeno de frango hidrolisado, porém, as informações adicionais mais recentes provenientes de pesquisas existentes são cientificamente importantes.

Uma maneira de obter dados consistentes é realizar análises descritivas, como análises bibliométricas (análises estatísticas) para descrever as instituições, os pesquisadores e as fontes de interesse sobre o assunto. Apesar do aumento significativo nas pesquisas, ainda há fragmentação metodológica e falta de sínteses que integrem extração, bioatividade e aplicação tecnológica.

O objetivo deste estudo foi identificar artigos científicos que mapeiem tendências, métodos de obtenção, processos de biotransformação, propriedades funcionais e aplicações tecnológicas do colágeno de frango e seus derivados, por meio de uma abordagem combinada de bibliometria e revisão de literatura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para elaborar este estudo, foi utilizada uma metodologia mista que inclui uma análise bibliométrica seguida de revisão de literatura, de acordo com Melo et al. (2021).

A etapa de prospecção científica foi realizada em 12 de janeiro de 2026, utilizando a metodologia descrita por Melo et al. (2021). Para a coleta de dados, foi realizada uma busca na base de dados Web of Science® (WOS) Core Collection (para apresentar menos duplicatas) e no Scopus (que possui maior cobertura de periódicos técnicos). Os dados foram filtrados utilizando os termos “Collagen AND Chicken AND Functional” (Tabela 1 e Figura 1), nos tópicos que incluem título, resumo e palavras-chave do artigo; nenhum filtro de campo de busca ou ano foi adicionado para garantir que todos os estudos presentes na base de dados fossem obtidos.

Artigos de pesquisa originais escritos em inglês foram selecionados para a pesquisa. Duplicatas foram removidas. Os estudos foram avaliados quanto ao delineamento experimental, e principais resultados.

A busca resultou em 268 estudos, todos analisados quanto ao título e resumo, sendo 105 classificados como artigos de pesquisa originais. Após esta etapa inicial, informações sobre a distribuição dos artigos, com base no ano, área geográfica, idioma e área de publicação, foram extraídas diretamente da base de dados nos formatos TXT e CSV.

Os materiais coletados no banco de dados foram então processados no software VosViewer (versão 1.6.18) (Universidade de Leiden, Leiden, Holanda) com o objetivo de coletar informações sobre cooperação entre países, organizações e autores. Microsoft® Excel® (Microsoft 365 MSO Versão 2601 Build 16.0.19628.20132) foi utilizado para processar os dados e gerar gráficos para visualizar o ano de publicação e área de estudo.

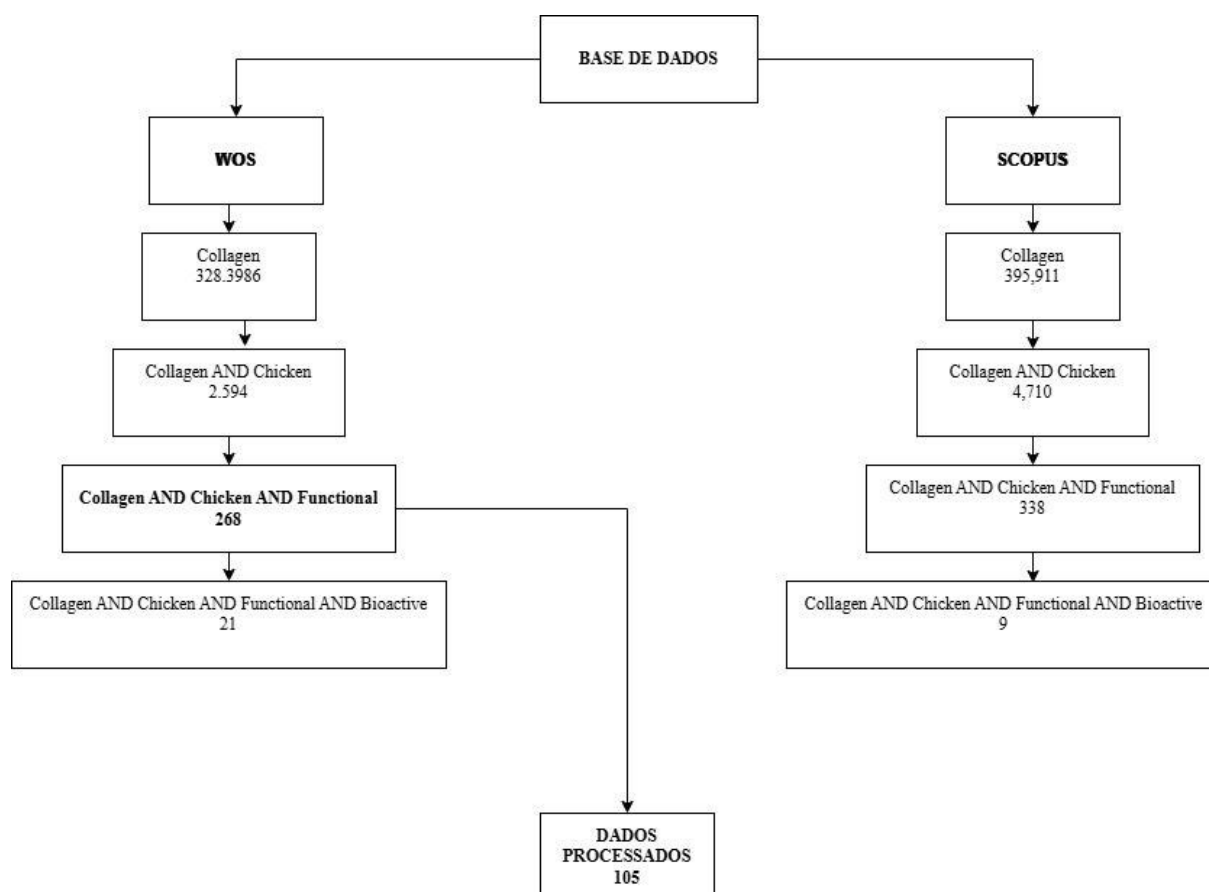
Tabela 1 - Combinação de termos de busca usados nas bases de dados.

COMBINAÇÃO	BASE DE DADOS	
	WOS	Scopus
Collagen	328,3986	395,911
Collagen AND Chicken	2,594	4,710
Collagen AND Chicken AND Functional*	268	338
Collagen AND Chicken AND Functional AND Bioactive	21	9

WOB= Web of Science.

* Combinação escolhida para avaliação posterior.

Figura 1. Fluxograma do processo de extração e processamento dos dados coletados.



WOS= Web Of Science.

* Combinação escolhida para avaliação posterior.

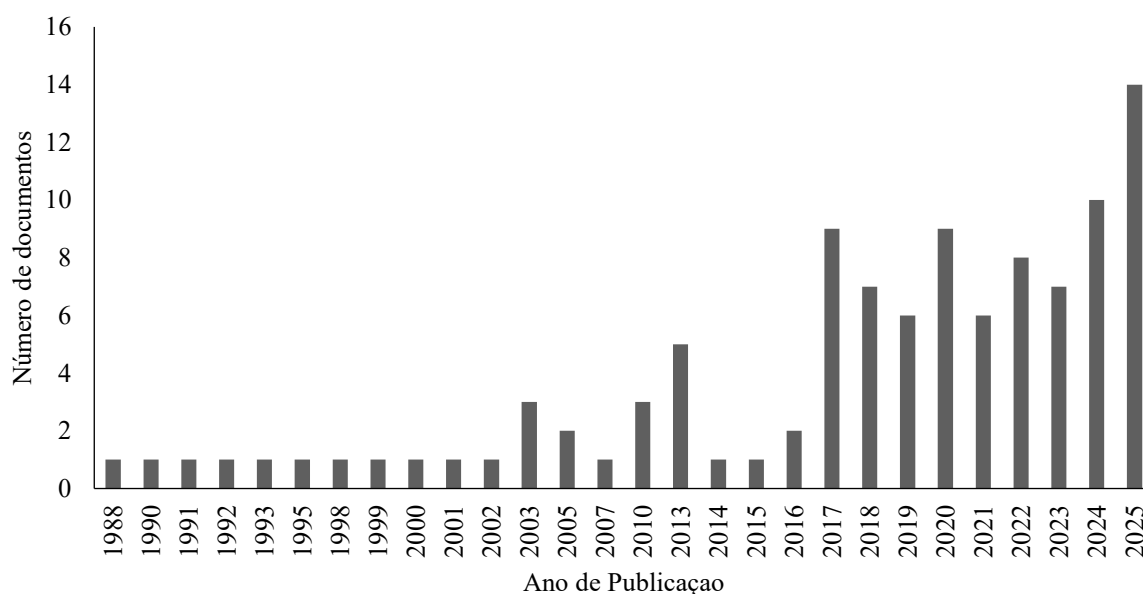
3. ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA

3.1 ESTUDO DE PUBLICAÇÕES E CITAÇÕES: ANO, ÁREA DE PUBLICAÇÃO, ORGANIZAÇÕES E COOPERAÇÃO ENTRE PAÍSES

No momento da coleta de dados para a elaboração desta revisão, 268 artigos escritos em inglês, russo, francês, alemão e espanhol estavam registrados na base de dados Web of Science®. Desse total, apenas 105 eram artigos de pesquisa originais sobre colágeno de frango, utilizando a combinação de palavras e o operador booleano AND (“Collagen AND Chicken AND Functional”) e haviam sido publicados com a estratégia de busca adotada no momento da coleta de dados para a elaboração deste documento.

O primeiro documento publicado foi disponibilizado em 1988 (Figura 2), e o número de publicações aumentou ao longo dos anos, especialmente após 2017. Desde 2023, observa-se uma tendência crescente, sendo 2025 o ano com o maior número de documentos publicados, com 14 estudos relacionados ao tema.

Figura 2 – Tendências de publicação por ano relacionadas à produção de colágeno de frango (busca realizada na base de dados Web of Science® em janeiro de 2026, utilizando os termos “Chicken AND Collagen AND Functional”).



Fonte: Dados da Web of Science®

Os artigos de interesse, envolvendo a extração de colágeno de subprodutos de frango, foram publicados em diversas áreas do conhecimento. As 10 áreas com o maior número de publicações (Tabela 2) possuem pelo menos três registros na base de dados. As outras áreas de publicação são representadas por 2 ou menos registros cada. Estas incluem Ciência e Tecnologia de Alimentos, Bioquímica e Biologia Molecular; Agricultura, Química; Nutrição e Dietética; Engenharia; Ciência dos Materiais; Ciências Multidisciplinares, Ciência e Tecnologia - Outros Tópicos; Ciência de Polímeros e Ciências Ambientais (em ordem decrescente).

A área de Ciência e Tecnologia de Alimentos representa 46 registros de publicação, tornando-se a maior área de estudo para colágeno, representando 43,81%. Além disso, observa-se claramente que as áreas de Bioquímica e Biologia Molecular, Agricultura, Química, Nutrição e Dietética e Engenharia lideram a pesquisa sobre colágeno em termos de número de artigos publicados. Isso pode estar associado às diversas formas como o colágeno é utilizado pela indústria alimentícia como ingrediente em formulações de substituição de gordura, com propriedades antioxidantes e crioprotetoras, entre outras funcionalidades.

1 Tabela 2 – Áreas de publicação, organizações e países que publicaram o maior número de artigos sobre colágeno em uma busca realizada na base
2 de dados Web of Science®.

Nº	Nome	ND	(%) *	
Áreas de Publicação				
1	Food Science & Technology	46	43.81	
2	Biochemistry & Molecular Biology	24	22.86	
3	Agriculture;	17	16.19	
4	Chemistry	15	14.29	
5	Nutrition & Dietetics	12	11.43	
6	Engineering	11	10.48	
7	Multidisciplinary Sciences / Science & Technology – Other Topics	9	8.57	
8	Materials Science		5.71	
9	Polymer Science	5	4.76	
10	Environmental Sciences	4	3.81	
Organizações				Países
1	Tomas Bata University in Zlin	12	11.43	Czech Republic
2	Chinese Academy of Agricultural Sciences	4	3.81	China
3	University of Alberta	4	3.81	Canadá
4	Federal University of Paraíba	4	3.81	Brasil
5	Centro di Riferimento Oncologico	3	2.86	Itália
6	University of Agriculture, Faisalabad	3	2.86	Pakistan

7	Cornell University	2	1.90	Estados Unidos
8	Dalhousie University	2	1.90	Canadá
9	Harvard University	2	1.90	Estados Unidos
10	Heriot-Watt University	2	1.90	United Kingdom
Países				
1	China	20	19.05	
2	United States	16	15.24	
3	Czech Republic	12	11.43	
4	India	10	9.52	
5	Canada	9	8.57	
6	Brazil	7	6.67	
7	Malaysia	5	4.76	
8	Italy	4	3.81	
9	Spain	4	3.81	
10	Japan	3	2.86	

ND: número de documentos.

* (%): porcentagem do total de 105 publicações.

3

4

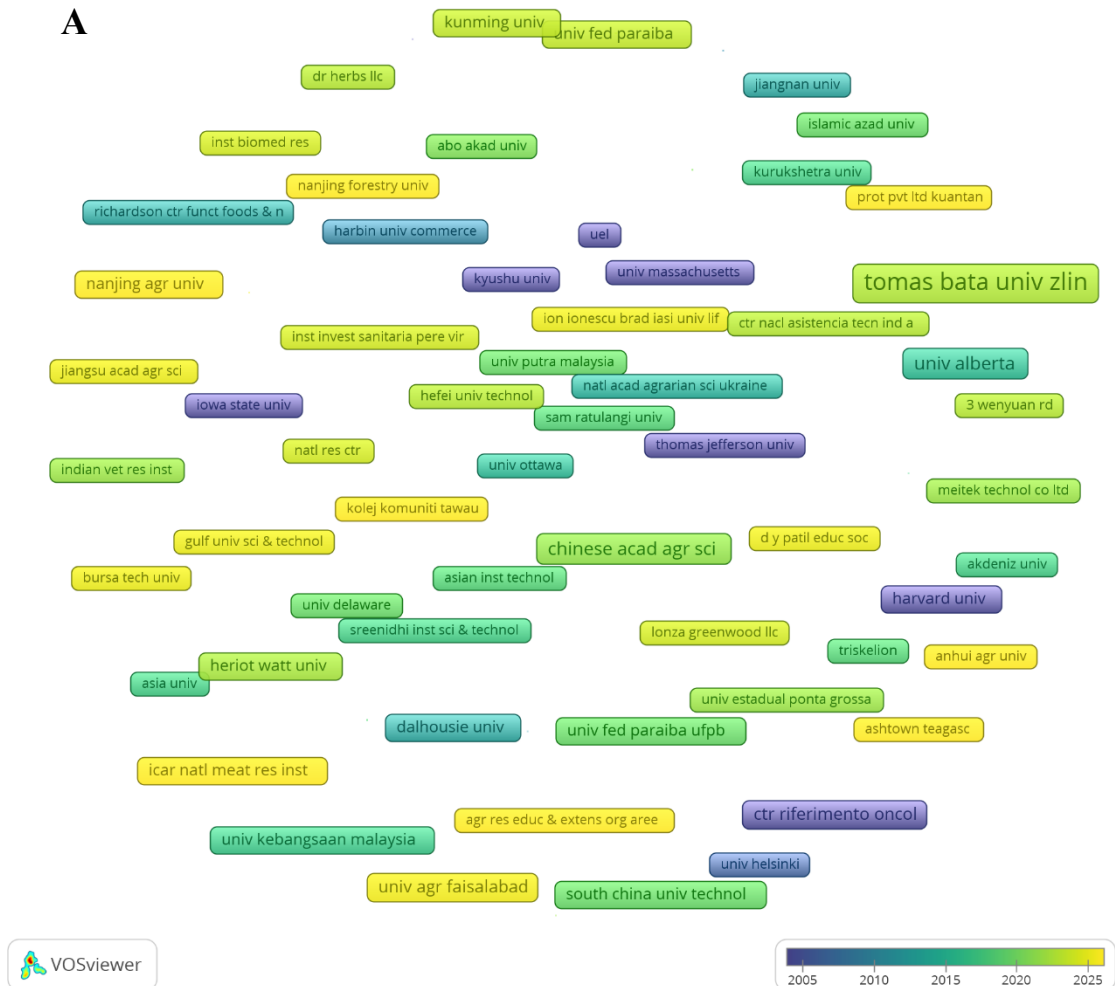
5 Entre as organizações que representam os autores e coautores dos artigos, 188
6 instituições publicaram pesquisas relacionadas ao colágeno, das quais 25 instituições
7 registraram pelo menos 2 documentos relacionados ao colágeno de frango. O ranking com
8 as 10 principais organizações (Tabela 2) representa mais de 35% dos documentos
9 recuperados nesta busca na base de dados Web of Science©. Destas, a instituição com o
10 maior número de publicações é a Universidade Tomas Bata em Zlín, na República
11 Tcheca, com doze registros. Organizações da China, Itália, Canadá e EUA aparecem em
12 sequência com pelo menos duas organizações. Isso se explica pelo crescente investimento
13 desses países em pesquisa em diversas áreas, entre elas, Ciência de Alimentos, e a
14 importância da avicultura na economia desses países.

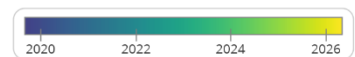
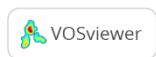
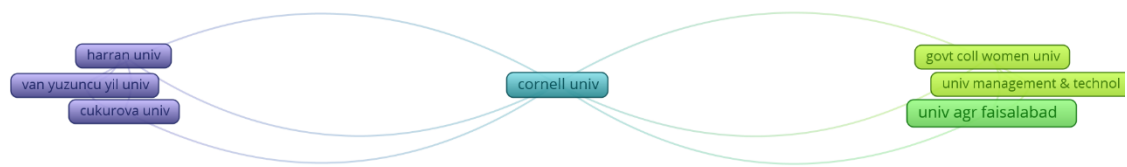
15 Embora o maior número de documentos esteja em uma única organização na
16 República Tcheca, a China é o país com o maior número de organizações, muitas com
17 apenas um documento, indicando cooperação entre instituições nesse país. A cooperação
18 com outros países aumenta o número de documentos publicados e contribui para a
19 disseminação do conhecimento entre instituições, tanto dentro do mesmo país quanto com
20 outros países, como pode ser visto na Tabela 2 e na Figura 3.

21 A China lidera o ranking com o maior registro de documentos, com 20
22 documentos, representando 19% dos documentos encontrados nesta busca. Estados
23 Unidos, República Tcheca, Índia e Canadá aparecem em seguida, com 16, 12, 10 e 9
24 registros de documentos, respectivamente, totalizando mais de 70% dos documentos
25 registrados recuperados.

26

Figura 3 – Mapa de visualização da rede de (A) – Número de documentos de organizações de acordo com a coautoria e (B) – Colaboração entre organizações de acordo com a coautoria; (C) – Colaboração entre países de acordo com a coautoria (Mapa de visualização da rede).



B

35
36
37
38

C

39
40

A colaboração entre países de acordo com a coautoria foi realizada com países com pelo menos 3 documentos. Trinta e sete países publicaram sobre colágeno, 12 dos quais tiveram pelo menos 3 documentos registrados no banco de dados, agrupados em dois clusters de interação entre países. A China aparece no centro, interagindo com a Índia e a Espanha. O Brasil aparece no canto esquerdo, demonstrando interação com a Espanha, que, por sua vez, também interage com a Itália. Os países do cluster 1 apresentam os documentos mais recentes escritos: China, Índia e Malásia, mostrando que o tema é de interesse para pesquisadores nesses países. Os países do cluster 2 — Brasil, Itália e Espanha — apresentam documentos mais antigos, com 12 documentos registrados no banco de dados.

No Brasil, a Universidade Federal de Santa Maria, a Universidade Federal de Santa Catarina, a Universidade Federal de Campina Grande, a Universidade Federal de São Paulo e a Universidade Federal da Paraíba aparecem nos registros de instituições que publicam sobre o assunto no Brasil. Entre essas instituições brasileiras, a Universidade Federal da Paraíba tem o maior número de documentos (4) e colaboração com outras instituições de ensino brasileiras. Os estudos focam especialmente na extração de colágeno, com ênfase na combinação da hidrólise ácido-enzimática e na aplicação tecnológica dos produtos resultantes em produtos alimentares. A cooperação nacional e internacional entre instituições que envolvem universidades, institutos e empresas contribuíram para o estudo do colágeno. Outro ponto importante é que os países que lideram o ranking em número de documentos registrados são os países que têm a maior produção de carne de frango (ABPA, 2025).

Os dados apresentados na Tabela 2 indicam quais organizações têm o maior número de publicações sobre o assunto no banco de dados avaliado, o que também pode ser visto na Figura 3. A interação entre as instituições pode ser vista na Figura 3 (A e B), que mostra a relação entre as instituições da Figura 3 (C) e uma instituição dos EUA no centro. Com base nos resultados obtidos com esses dados, pode-se concluir que a extração de colágeno de subprodutos de frango é um tema de interesse para a sociedade, revelando, assim, que o estabelecimento de parcerias científicas entre instituições de pesquisa e a indústria já é uma realidade, que pode ser melhor explorada na pesquisa acadêmica.

3.2 ANÁLISE DE ARTIGOS, PERIÓDICOS E PALAVRAS-CHAVE DOS AUTORES

Além dos métodos de estudo descritos acima, foi utilizada uma análise de citações para identificar os periódicos e artigos mais citados na base de dados consultada (Tabela 3). Os resultados revelam que os três periódicos mais citados foram Poultry Science, Food Chemistry, Journal of Biological Chemistry, com 219, 172 e 132 citações, respectivamente. Observa-se também que os 10 periódicos mais citados representam 1130 (46,48%) do total de 2431 citações dos periódicos recuperados nesta busca, com fator de impacto superior a 2,5 (Tabela 3).

Tabela 3 – Classificação dos periódicos, autores e documentos mais citados sobre produção enzimática de colágeno hidrolisado de frango.

Número	Jornal	ND	NC	Fator de Impacto *
1	Poultry Science	6	219	4.2
2	Food Chemistry	4	172	9.8
3	Journal of Biological Chemistry	3	132	3.9
4	Food Research International	2	106	8.0
5	Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America	1	94	-
6	Journal of Agricultural and Food Chemistry	2	92	6.2
7	Food Bioscience	3	84	5.9
8	Ultrasonics Sonochemistry	2	80	9.7
9	Food & Function	1	79	5.4
10	Food Science and Technology	3	72	2.6
Autor		ND	NC	
1	Howard, Ashton	2	150	
2	Udenigwe, Chibuike C.	2	150	
3	Zhang, Chunhui	4	136	
4	Nishimura, I	2	126	
5	Olsen, Br	2	126	
6	Akram, Ayesha Noreen	2	117	
7	Betti, M.	2	114	
8	Ninomiya, Y	1	94	
9	Sugrue, Sp	1	94	

10	Svoboda, Kk	1	94
	Documentos	NC	Jornal
1	Svoboda (1988)	94	Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.
2	Cliche (2003)	79	Poultry Science
3	Howard (2013)	79	Food Research International
4	Dhakal (2018)	77	Food Bioscience
5	Udenigwe (2013)	71	Food Research International
6	Rose-Martel (2015)	69	Journal of Proteomics
7	Akram (2020a)	68	Ultrasonics Sonochemistry
8	Li (2020)	67	Research
9	Tumerkan (2019)	66	Food Chemistry
10	Brewton (1991)	66	Journal Of Biological Chemistry

ND: número de documentos; NC: número de citações.

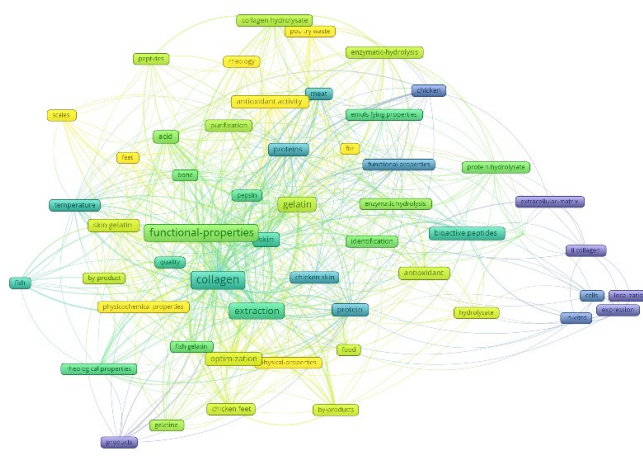
* Fator de impacto para o ano de 2025.

84
85
86

Por fim, foi realizada uma análise das tendências atuais na pesquisa sobre colágeno de frango, com o objetivo de identificar o número de ocorrências de palavras-chave nos estudos encontrados. As palavras-chave foram filtradas com pelo menos 3 ocorrências. Um total de 53 palavras-chave foram recuperadas (Figura 4), agrupadas em 5 clusters (cluster 1 = 13 palavras, cluster 2 = 12 palavras, cluster 3 = 12 palavras, cluster 4 = 11 palavras e cluster 5 = 5 palavras). A Figura 4 apresenta a análise de co-ocorrência com a taxa de publicação dos documentos e as palavras-chave.

Este estudo analisa todas as palavras-chave, incluindo aquelas registradas pelos autores e as palavras nos títulos dos artigos. Na análise bibliométrica, o papel crucial dos títulos (que são o primeiro contato do leitor com o artigo) e das palavras-chave dos autores reside em indicar as tendências mais significativas destacadas pelos autores durante sua pesquisa. De acordo com a literatura, o estudo de palavras-chave em análises bibliométricas é importante, pois elas desempenham um papel fundamental e facilitador em áreas como recuperação de informação e análise de co-ocorrência, atuando como um filtro para buscas arquivísticas (Melo et al., 2021; Rodríguez-Rojas et al., 2019).

Figura 4 – Análise de co-ocorrência de palavras-chave de documentos (Mapa de visualização sobreposto) referentes a estudos sobre a obtenção de colágeno de frango.



VOSviewer

Indicado pela cor verde-amarelada (Figura 4), o grupo central à esquerda reúne as pesquisas mais recentes sobre otimização, propriedades funcionais e físico-químicas, tecnologias como FTIR, possíveis bioatividades (antioxidantes e anti-inflamatórios), subprodutos e colágeno hidrolisado dos estudos recuperados com esta busca.

4. COLÁGENO

O colágeno é a proteína estrutural mais abundante em animais (representando 30% do teor proteico total). Em mamíferos, de 25% a 35% da massa proteica total corresponde ao colágeno (Sibilla et al., 2015), que desempenha um papel crucial na integridade e resistência dos tecidos corporais. Sua extração e uso têm sido amplamente explorados em diversas aplicações devido às suas propriedades funcionais e potenciais benefícios para a saúde (Campos et al., 2023; C. Tang et al., 2022).

Até o momento, aproximadamente 29 tipos diferentes de colágeno foram identificados, sendo o colágeno tipo I o mais comum (Jafari et al., 2020). Os tipos I, II e III correspondem a 80% a 90% do colágeno total encontrado no corpo humano, e o tipo I é o mais abundante na pele (80%) (Campos et al., 2023). Todos os tipos de colágeno são compostos por três cadeias α idênticas ou diferentes e possuem pelo menos um domínio de tripla hélice (P. Tang et al., 2022). No corpo humano, a proteína colágeno pode ser encontrada em ossos, tendões, ligamentos, cabelo, pele e músculos.

O termo coletivo "colágeno" engloba uma família de glicoproteínas que possuem três características distintas, de acordo com evidências científicas. A primeira característica é a presença da sequência repetitiva de aminoácidos [Gly-X-Y] $_n$, que pode ocorrer com ou sem interrupções. Essa sequência é uma marca registrada da família do colágeno (Sorushanova et al., 2019).

A segunda característica é a ocupação das posições X e Y na sequência [Gly-X-Y] $_n$ pela prolina e sua forma hidroxilada, a hidroxiprolina, respectivamente (Sorushanova et al., 2019). A prolina desempenha um papel essencial na estabilização da estrutura helicoidal do colágeno, enquanto a hidroxiprolina contribui para a estabilidade e a resistência da proteína devido à sua capacidade de formar ligações de hidrogênio (Campos et al., 2023).

Em terceiro lugar, o colágeno possui uma estrutura quaternária única, na qual uma tripla hélice dextrógira é formada por três cadeias α de poliprolina de comprimento idêntico. Essas cadeias α enrolam-se umas nas outras, formando a hélice tripla estável característica do colágeno (León-López et al., 2019).

Essas três características, a sequência repetitiva de aminoácidos [Gly-X-Y] $_n$, com ocupação de prolina e hidroxiprolina nas posições X e Y, e a estrutura quaternária com uma hélice tripla formada pelas cadeias α de poliprolina são fundamentais para as

propriedades estruturais e funcionais do colágeno. Essa proteína desempenha um papel essencial na integridade e resistência dos tecidos do corpo (Gomez-Guillen et al., 2011a).

Relatórios na literatura sobre os benefícios do consumo de colágeno estão diretamente associados à promoção da saúde. O objetivo final do produto influencia diretamente o método escolhido para o isolamento da proteína, uma vez que o processo de obtenção dessa proteína isolada é demorado e complexo, e diversos fatores interferem na qualidade dos peptídeos obtidos, como a matéria-prima, o método de extração e as condições do processo (P. Tang et al., 2022). O aumento no consumo de frango o torna uma excelente fonte de colágeno.

Como subprodutos do frango, como penas, pés, pele e ossos, são ricos em colágeno, o colágeno de frango é mais termicamente estável em comparação com o de origem bovina e marinha. Além disso, sua composição de aminoácidos é muito boa, tornando o frango uma ótima alternativa para a obtenção de colágeno (Jayaprakash et al., 2024). Os subprodutos de frango são relatados como ricos em teor proteico, como penas (85,92 g/100 g em base seca) (Santos et al., 2024), sangue (93,42%) (Alves et al., 2020), revestimento interno da moela (42,30 g/100 g) (Ni et al., 2018), quilha de frango (90,27% em base seca) (Cordeiro et al., 2020), crista (61,01 g/100 g em base seca), barbela (83,15 g/100 g em base seca) (Bezerra et al., 2020), entre outros.

Diversas estratégias podem ser utilizadas para melhor aproveitar esses subprodutos, além de seu uso na produção de ração animal e no desenvolvimento de produtos cárneos de valor agregado (J. L. Lima et al., 2021). A extração de colágeno favorece o descarte ecológico e aumenta o valor econômico dos subprodutos de frango (Dhakal et al., 2018).

Algumas pesquisas já foram realizadas com foco no colágeno de subprodutos de frango (Tabela 4).

Tabela 4 – Estudos sobre extração e/ou hidrólise de colágeno de subprodutos de frango.

Fonte/ Referência	Pré-tratamento	Enzima (Conc.)	Temp. (°C)	Tempo	Performance (%)	DH (%)	Bioatividade/ Funções	Métodos Analíticos
Revestimento interno da moela (Lima et al., 2025)	NaOH 0,1 mol/L (6h); ácido acético 0,5 mol/L (4h); Tratamento ultrassônico (10 - 30 min)	Alcalase® (1,0% a 5,0%)	60 °C	4 h	Não informado.	11,36% a 21,19 %	Propriedades funcionais: alta solubilidade (pH 4–10), capacidade de retenção de óleo, estabilidade da emulsão, atividade espumante; aplicação potencial em alimentos funcionais.	Grau de hidrólise (consumo de base – Adler-Nissen); FTIR; MEV; SDS-PAGE; Potencial zeta; Turbidez; Solubilidade; ORC; EAI; ESI; Estabilidade da espuma.
Resíduo de CMS de frango (Schmidt, da FONTOURA, et al., 2020)	NaOH 0,1 mol/L (48 h); EDTA 0,5 mol/L (5 dias); Butanol 10% (48 h).	Alcalase® 8% (v/m) ou Flavourzyme® 8% (v/m)	55 °C (Alc); 50 °C (Flav)	2 h	Não informado.	36,11% (Alc); 12,02% (Flav)	Alta atividade emulsificante; boa estabilidade da emulsão; redução da viscosidade.	FTIR, SDS-PAGE, DSC, Lowry (DH), atividade emulsificante, capacidade de formação de espuma.
Cartilagem esternal de frango – Colágeno tipo II (Akram &	Tratamento ultrassônico (0–36 min) + extração ácida.	Sem enzima	4 °C	0–36 min (ultrassom)	0,93% → 2,82% (base úmida); até 85% extraído após 36 min.	–	-	Composição centesimal; PI; rendimento; SDS-PAGE.

Zhang, 2020a).

Pés de frango (Í. B. D. S. Araújo et al., 2018).	Acido acetico 0,3–0,7 mol/L (24 h); precipitação com NaCl; diálise.	Pepsina 0,1–0,2% (ideal: 0,2%)	4 °C	12–36 h (excelente: 12 h)	Rendimento máximo com ácido acético 0,3 M + pepsina 0,2% + 12 h.	–	Alta solubilidade; alta retenção de água; boa atividade emulsificante.	Aminoácidos; SDS-PAGE; solubilidade; capacidade de retenção de água (CRA); emulsificação; HPLC para hidrofobicidade de peptídeos.
Cartilagem da quilha de frango (Cordeiro et al., 2020).	Extração ácida com ácido acético, láctico ou cítrico (0,5 mol/L, 24–72 h, 18 °C); melhor condição: ácido acético 0,5 mol/L / 24 h; precipitação com NaCl 3 M e diálise (72 h).	Pepsina (1%)	30 °C	24 h (ácido) + enzimático otimizado (≈12–24 h).	30,12	—	Colágeno tipo I; alta pureza e estabilidade; potencial biomédico e nutricional.	ANOVA + 2 ² fatorial; SDS-PAGE; HPLC; FTIR
Pés de frango (Dhakal et al., 2018).	NaCl 0,8 mol/L (20 min) → NaOH 0,1 mol/L (24 h) → hidrólise com papaína.	Papaína 1% (m/m)	30 °C (excelente).	28 h	32,16 (excelente).	—	Alta capacidade emulsificante e espumante; boa solubilidade; alta relação WHC/OHC; colágeno com 16,3% de glicina e 14,1% de hipona.	SDS-PAGE; FTIR; WHC/OHC; emulsão/espuma; aminoácidos (HPLC); MEV.

Traqueia de galinha (Pramualkijja et al., 2021)	Lavagem, autoclavagem (121 °C, 30 min); Liofilização para produzir CTF – flocos de traqueia de frango.	Alcalase®, Flavourzyme®, Protamex®, Papaína (concentração não especificada; enzimas aplicadas nas condições de pH ideais do fabricante).	Temperatura ideal para cada enzima.	0–6 h de hidrólise (análises a cada hora).	DH final após 6 h: Alcalase > Papaína > Protamex > Flavourzyme (valores relativos, sem %).	-	Alta atividade antioxidante (Alcalase > Flavourzyme/Protamex > Papaína); Potencial atividade anti-hipertensiva (inibidor da ECA); Alta solubilidade de proteínas (principalmente em pH 4); Peptídeos < 6 kDa (SDS-PAGE).	SDS-PAGE; FTIR; DH; Solubilidade; Antioxidantes: DPPH, ABTS, FRAP; HPLC/MS.
Resíduos de carne de frango separados mecanicamente (Schmidt, Vidal, et al., 2020)	Desproteínização: NaOH 0,1 mol/L, 48 h (trocar a cada 12 h); Descalcificação: EDTA 0,5 mol/L, pH 7,5, 5 dias; Desengorduramento: butanol 10%, 48 h	Pepsina 1:2.5	4 °C	Ultrassom: 0, 15 ou 30 min; Enzimático: 24, 36 ou 48 h.	Aumento de 40% no rendimento quando o ultrassom é usado antes da extração; Extração máxima relatada: até 85% (dependendo do tempo e do pré-tratamento).	-	Colágeno tipo I; Alta estabilidade térmica (43,9–47,0 °C); Solubilidade dependente do pH (curvas de solubilidade).	SDS-PAGE; FTIR; DSC; Solubilidade versus pH; Determinação de hidroxiprolina.

A extração de colágeno de vários subprodutos de frango tem sido amplamente explorada para otimizar o rendimento, a funcionalidade e as características estruturais. Os estudos recuperados nesta pesquisa mostram que diferentes metodologias, incluindo hidrólise enzimática, extração ácida e o uso de ultrassom, têm efeitos significativos no rendimento e na qualidade do colágeno obtido por esses processos.

A extração de colágeno de pés de frango (Í. B. D. S. Araújo et al., 2018) usando hidrólise ácida e enzimática resultou em alta atividade emulsificante e melhor retenção de água a 60 °C. De forma semelhante, (Dhakal et al., 2018) demonstraram que a hidrólise com papaína pode melhorar as propriedades funcionais do colágeno extraído de pés de frango, tornando-o adequado para aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética. A presença de glicina (16,30%), hidroxiprolina (14,15%) e prolina (8,70%) no colágeno extraído indica seu potencial para diversas aplicações industriais, utilizando métodos bem estabelecidos, como a combinação de um ácido e uma enzima.

Por outro lado, o uso de ultrassom tem sido destacado como um método eficiente para melhorar a extração de colágeno. Akram & Zhang (2020b) mostraram que a extração de colágeno tipo II da cartilagem esternal de galinha, assistida por pepsina e ultrassom, melhorou a absorção de água e óleo, bem como as propriedades emulsificantes e espumantes.

Outro estudo de (Akram & Zhang, 2020a) constatou que a ultrassonicação por 36 minutos levou a um rendimento de colágeno de 84,14%, demonstrando uma melhoria significativa nas propriedades reológicas e funcionais em comparação com os métodos de extração tradicionais. Schmidt, Vidal, et al. (2020) reforçaram esses achados ao mostrar que o tratamento com ultrassom aumentou o rendimento de colágeno em 40% na carne mecanicamente separada, sem comprometer sua integridade estrutural.

Lima et al. (2025) investigaram a produção de hidrolisados de colágeno a partir do revestimento interno da moela de frango por meio de hidrólise enzimática assistida por ultrassom, avaliando a influência de variáveis do processo, como concentração de ácido acético, tempo de ultrassom e proporção enzima/substrato no grau de hidrólise. Usando a enzima Alcalase® em diferentes concentrações, sob condições controladas de pH e temperatura, os autores observaram graus de hidrólise variando de 11,36% a 21,19%, com impacto significativo nas propriedades funcionais dos hidrolisados, como solubilidade, capacidade de retenção de óleo, estabilidade da emulsão e atividade espumante. Contudo, não foi observada influência direta do ultrassom nas condições de

processo avaliadas, apenas a influência dos demais pré-tratamentos. A caracterização foi realizada utilizando técnicas como FTIR, microscopia eletrônica de varredura, SDS-PAGE e análises físico-químicas, demonstrando o potencial desse subproduto avícola como fonte sustentável de ingredientes proteicos funcionais para aplicação na indústria alimentícia.

Entretanto, é importante ressaltar que a enzima deve ser escolhida de acordo com o resultado esperado. Schmidt, da Fontoura et al. (2020) investigaram a hidrólise enzimática em carne mecanicamente separada e demonstraram que a hidrólise com Alcalase® resultou em um grau de hidrólise de 36,11%, significativamente maior do que com Flavorzyme® (12,02%), destacando a importância da escolha da enzima no processo de hidrólise. A análise por SDS-PAGE confirmou a hidrólise do colágeno, levando a uma redução na viscosidade e aumento das propriedades emulsificantes dos peptídeos liberados. Além disso, o colágeno obtido a partir de resíduos de carne mecanicamente separada apresentou alta estabilidade térmica (43,9–47,0 °C), reforçando sua aplicabilidade na indústria alimentícia. No entanto, atualmente, além das características tecnológicas desejáveis, as propriedades bioativas têm atraído crescente interesse da indústria alimentícia para aplicação como ingrediente funcional.

Pramualkijja et al. (2021) estudaram hidrolisados de traqueia de frango por suas propriedades bioativas. A hidrólise com Alcalase® produziu hidrolisados com a maior solubilidade e capacidade antioxidante, conforme indicado pelos ensaios DPPH e FRAP. Os hidrolisados também exibiram atividade inibitória da ECA I, demonstrando seu potencial como ingredientes funcionais.

Assim, fica claro que as etapas de pré-tratamento na extração de colágeno desempenham um papel crucial na eficiência do processo. O uso de ultrassom antes da hidrólise enzimática, como observado em estudos com cartilagem esternal de frango (Akram & Zhang, 2020b, 2020a) e resíduos de carne separados mecanicamente (Schmidt, Vidal, et al., 2020), aumentou significativamente o rendimento e as características funcionais. A autoclavagem como pré-tratamento para hidrolisados de traqueia de frango (Pramualkijja et al., 2021) melhorou a solubilidade e a bioatividade, confirmando a importância de otimizar as etapas iniciais de processamento.

Os estudos analisados destacam a importância da seleção do método de extração, tratamento enzimático e técnicas de pré-tratamento apropriados para otimizar o rendimento e a qualidade do colágeno. A ultrassonicação, a hidrólise enzimática e o

tratamento ácido demonstraram grande potencial para melhorar as propriedades funcionais e estruturais do colágeno extraído de subprodutos de frango. Essas descobertas apoiam o desenvolvimento de aplicações sustentáveis e de alto valor agregado para o colágeno nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

Em resumo, os melhores rendimentos nos estudos avaliados foram demonstrados por Dhakal et al. (2018) (32,16%) e Cordeiro et al. (2020) (30%), que utilizaram pés de frango e quilha de frango, respectivamente, como matéria-prima para a extração de colágeno. O rendimento de um produto é um fator importante no processo de tomada de decisão para a escolha de matérias-primas e processos. A maior estabilidade térmica foi observada por Akram & Zhang (2020a) a uma temperatura de 60,9 °C, obtendo colágeno da cartilagem esternal de frango. As melhores funcionalidades (emulsão/espuma) foram demonstradas por Dhakal et al. (2018) e Schmidt, da Fontoura, et al. (2020). A capacidade de formação de espuma do colágeno está relacionada à concentração de proteínas solúveis, pois ajuda a reduzir a tensão superficial e a interação resultante leva à formação de um filme multicamadas com maior flexibilidade interfacial (Dhakal et al., 2018). No entanto, a enzima utilizada no processo, seja convencional ou não, é fundamental para a eficiência de extrações suaves com alta recuperação. Os estudos mencionados anteriormente mostraram que a pepsina (Akram & Zhang, 2020b) e (Schmidt, Vidal, et al., 2020) é a enzima mais eficaz para extração moderada com alta recuperação.

4. APLICAÇÃO DO COLÁGENO NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

Peptídeos de baixo peso molecular podem ser usados em sistemas alimentares; por exemplo, bebidas, biscoitos, salgadinhos, carnes processadas, chocolate, barras de cereais, etc., com colágeno hidrolisado oferecendo um teor proteico mais elevado (Bilek & Bayram, 2015). O uso de colágeno hidrolisado na indústria alimentícia é importante porque ele tem suas propriedades funcionais que o tornam seguro para a maioria das pessoas, com baixa toxicidade.

Algumas bebidas de frutas, como laranja, maçã e uva, com colágeno hidrolisado têm potenciais benefícios para a saúde. Contêm vitamina C e antioxidantes, e a adição de colágeno aumenta o teor proteico das bebidas. As pequenas moléculas de colágeno (hidrolisado) também garantem alta disponibilidade dessas moléculas (Bilek & Bayram, 2015). O colágeno hidrolisado tem alto teor proteico (84 a 90%) e propriedades tecnológicas adequadas para aplicações específicas, como formação de espuma, estabilização coloidal, emulsificação e biodegradabilidade na formação de filmes (Gomez-Guillen et al., 2011b). Essas propriedades são altamente desejáveis na indústria alimentícia devido à sua ampla gama de aplicações.

Especialmente em sua forma hidrolisada ou como peptídeos, o colágeno vem ganhando destaque como ingrediente com potencial funcional em vários segmentos da indústria alimentícia. A Tabela 5 apresenta alguns estudos que aplicaram colágeno em produtos alimentícios.

281
282

Tabela 5. Estudos publicados em artigos científicos que avaliam o efeito da aplicação de colágeno hidrolisado nas características de produtos alimentícios.

Produto	Fonte de hidrolisado	Objetivo	Colágeno hidrolisado (% m/m)	Benefícios/Alterações	Principais conclusões	Referência
Macarrão instantâneo	Pés de frango	Obter colágeno de pés de galinha e aplicar em misturas para macarrão instantâneo.	10–30%	Aumento de proteína, textura aprimorada e cor alterada.	Misturas para macarrão instantâneo suplementadas com colágeno hidrolisado apresentaram alto teor proteico, variando de 20,13% a 34,95%. Em relação ao teor de aminoácidos, o colágeno de pé de galinha apresentou os níveis mais elevados de treonina, alanina, glicina, prolina e hidroxiprolina.	(Abd El-Salam & Kodous, 2020).

Chocolate ao leite	Pés de frango	Substituir a gelatina extraída de pés de galinha por gelatina comercial (de vaca) em diferentes concentrações (0, 3, 5 e 7%) com manteiga de cacau para atingir um alto ponto de fusão com o objetivo de evitar que o chocolate derreta em altas temperaturas em regiões tropicais.	0 – 7%	Aumento do ponto de fusão, redução da dureza e diminuição da atividade da água.	Em termos de parâmetros de cor (L, a e b), o maior valor de brilho foi encontrado na amostra contendo 7% de gelatina de pé de galinha. Do ponto de vista sensorial, observou-se uma diferença significativa entre as amostras, e todas apresentaram a aceitação necessária.	(Nabavi ET AL., 2025)
Filmes de colágeno	Pele de frango	Extrair colágeno de frango a partir de subprodutos da indústria de processamento de frangos de corte e explorar	-	A maior solubilidade do colágeno foi obtida em pH 2 e 2% de NaCl. As amostras homogeneizadas, não filtradas e condicionadas manualmente	Os resultados demonstram que o colágeno de frango extraído de subprodutos da avicultura possui a	(Munasinghe et al., 2014)

		a possibilidade de fabricação de filmes.		apresentaram a maior dureza (3,262 g) e a menor fragilidade (30,5 mm).	capacidade de formar filmes e pode ser considerado para a produção de tripas ou utilizado em diversas outras indústrias.
Salsicha	Pés de frango	Substituir a gordura em salsichas de frango cozidas por colágeno hidrolisado em pó comercial e gelatina de pé de galinha e avaliar as qualidades subjacentes usando parâmetros físico-químicos e sensoriais.	7,5%	Aumento dos valores de a*, b* e matiz. Maior estabilidade, menor adesividade, gomosidade e mastigabilidade.	A utilização de 50% de gelatina mostrou-se viável, pois promoveu maior estabilidade da emulsão e retenção de água, além de possibilitar o aproveitamento de subprodutos na preparação de linguiças mais saudáveis, principalmente devido à redução do teor de gordura. (Í. Araújo et al., 2019)

As aplicações do colágeno variam de produtos cárneos (os mais comuns) a filmes de biopolímeros e formulações doces, demonstrando a sua versatilidade como ingrediente funcional.

Abd El-Salam & Kodous (2020) investigaram a suplementação de macarrão instantâneo com 10 a 30% de colágeno hidrolisado de pés de galinha em macarrão feito com farinha de trigo ou milho. Os resultados mostraram um aumento significativo no teor final de proteína (de 20,13% para 34,95%), melhora na textura e alterações na cor do produto final. Além disso, o perfil enriquecido de aminoácidos, principalmente treonina, alanina, glicina, prolina e hidroxiprolina, indica potencial para o desenvolvimento de alimentos funcionais.

No entanto, a aplicação mais comum do colágeno é em produtos cárneos, principalmente como substituto de gordura. Araújo et al. (2019) demonstraram a viabilidade do uso de colágeno de pés de galinha como substituto parcial de gordura em linguiça de frango. A adição de 7,5% de colágeno melhorou a estabilidade da emulsão e proporcionou maior retenção de água, além de reduzir a adesividade e a gomosidade das amostras. Esses resultados confirmam o potencial do colágeno de frango como substituto tecnológico e nutricional de gordura em produtos cárneos processados.

Munasinghe et al. (2015) exploraram o uso de colágeno extraído da pele de frango na produção de biopolímeros. Embora a porcentagem de aplicação não tenha sido especificada, os autores relataram que a maior dureza (3,262 g) e a menor fragilidade (30,5 mm) foram obtidas em filmes preparados com colágeno extraído em pH 2 e na presença de 2% de NaCl. Esses resultados indicam o potencial do colágeno como um material alternativo para invólucros de alimentos ou embalagens biodegradáveis.

Uma das aplicações mais diversas do colágeno de frango foi proposta no estudo de Nabavi, Seyedeh Atefeh; Raftani Amiri, Zeynab; Gorjian (2025), que utilizaram pés de frango para obter colágeno para uso na produção de chocolate ao leite.

Os autores investigaram colágeno de frango e bovino em concentrações (m/m) entre 0 e 7%. A aplicação resultou em um aumento no ponto de fusão, o que contribui para uma maior resistência ao derretimento, uma característica desejável em regiões tropicais. Além disso, as amostras apresentaram menor atividade de água e valores sensoriais satisfatórios, com destaque para a formulação com 7% de colágeno de frango, que obteve maior brilho e aceitabilidade.

Em resumo, o uso de colágeno derivado de aves pode resultar em alguma melhoria nos aspectos físico-químicos (emulsificação, textura, solubilidade), sensoriais (cor, aceitabilidade), tecnológicos (estabilidade térmica, estrutura) e nutricionais (perfil proteico), além de contribuir para a sustentabilidade, agregando valor a resíduos industriais.

Esses estudos demonstram o potencial do colágeno (especialmente o colágeno hidrolisado e os peptídeos de colágeno) como um ingrediente funcional e tecnológico versátil. Suas aplicações variam desde a melhoria do valor nutricional até a qualidade tecnológica dos alimentos, possibilitando a criação de produtos com apelo para a saúde e o consumo consciente, com potenciais propriedades bioativas. O colágeno, portanto, demonstra ser um ingrediente estratégico para a inovação em alimentos funcionais e a reformulação de produtos voltados para a saúde e o bem-estar do consumidor moderno.

5. TENDÊNCIAS PARA PESQUISAS FUTURAS NA ÁREA DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Os resultados deste estudo indicam tendências promissoras para o processamento, aplicação e comercialização do colágeno de frango e seus derivados, particularmente em um contexto voltado para a sustentabilidade. O colágeno de frango demonstrou ampla aplicabilidade na indústria alimentícia, incluindo produtos cárneos, alimentos instantâneos, confeitaria, e filmes biodegradáveis, destacando seu potencial tecnológico e funcional.

Uma tendência fundamental é a valorização de subprodutos de aves com baixo valor comercial como pele, pés, ossos e cartilagem—como fontes alternativas e sustentáveis de colágeno e compostos bioativos. Nesse contexto, tecnologias emergentes de extração e hidrólise, incluindo tratamentos de alta temperatura e alta pressão e ultrassom de alta intensidade, têm ganhado destaque por reduzirem o uso de insumos químicos e melhorarem a eficiência do processo.

344 As perspectivas futuras enfatizam a necessidade de otimizar as técnicas de
345 processamento para aumentar o rendimento, a bioatividade e a escalabilidade,
346 minimizando o impacto ambiental. Avanços na hidrólise enzimática, a padronização de
347 processos e métodos de extração sustentáveis deverão desempenhar um papel central na
348 expansão das aplicações industriais. Além disso, a conformidade regulatória, a segurança
349 alimentar e a rastreabilidade da matéria-prima continuarão sendo essenciais para garantir
350 a aceitação no mercado.

351 Pesquisas adicionais focadas na biodisponibilidade, bioacessibilidade e
352 desempenho funcional de ingredientes à base de colágeno são cruciais para explorar
353 plenamente seu potencial em formulações alimentares, fomentando a inovação e a
354 agregação de valor na cadeia de processamento de aves.

355

6. CONCLUSÃO

Com base na literatura consultada, é evidente que os subprodutos de frango representam uma fonte estratégica e amplamente disponível de colágeno, cujas propriedades nutricionais, funcionais e bioativas reforçam seu potencial de aplicação na indústria alimentícia. Estudos destacam a presença de aminoácidos essenciais para o desempenho tecnológico, como glicina, prolina e hidroxiprolina, além de evidências consistentes do potencial de atividades antioxidantes e anti-hipertensivas de peptídeos derivados de seu hidrolisado. Esses resultados consolidam o colágeno de frango como um ingrediente promissor na formulação de alimentos funcionais, especialmente em um contexto de valorização da bioeconomia circular e de práticas de processamento sustentáveis.

Além disso, as abordagens de remoção de proteínas não colegenosas e pré-tratamento estão se diversificando e melhorando, trazendo avanços que aumentam o rendimento, a pureza e a bioatividade dos produtos obtidos. No entanto, persistem desafios relacionados à padronização de métodos analíticos, às condições ideais para hidrólise enzimática e à avaliação do impacto sensorial da incorporação de ingredientes derivados de colágeno em matrizes alimentares.

O conjunto de dados revisado destaca tanto o crescimento significativo da pesquisa na área quanto as oportunidades de inovação para agregar valor aos estudos sobre resíduos da cadeia de suprimentos avícolas. Assim, este trabalho contribui para sintetizar descobertas, lacunas e oportunidades, tendências, e possibilidades emergentes, reforçando que o uso de subprodutos de aves para obtenção de colágeno e peptídeos bioativos não só reduz os impactos ambientais, mas também expande o desenvolvimento de alimentos de maior valor agregado, alinhados às demandas de saúde, funcionalidade e sustentabilidade na cadeia de suprimentos.

7. AGRADECIMENTO

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES), Código de Financiamento 001. O primeiro autor recebeu uma bolsa de doutorado da CAPES, Brasil (Processo 88887.631066/2021-00).

8. REFERÊNCIAS

- ABD EL-SALAM, Amira; KODOUS, M. Supplementation of Instant Noodles By Collagen Hydrolysate As a Functional Food. **Egyptian Journal of Agricultural Sciences**, [s. l.], v. 71, n. 4, p. 317–329, 2020.
- AKIMOVA, Dinara *et al.* Effect of chicken by-products on the physicochemical properties of forcemeat formulations. **Future Foods**, [s. l.], p. 100238, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666833523000242>.
- AKRAM, Ayesha Noreen; ZHANG, Chunhui. Effect of ultrasonication on the yield, functional and physicochemical characteristics of collagen-II from chicken sternal cartilage. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 307, p. 125544, 2020. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31654948>. Acesso em: 18 abr. 2023.
- AKRAM, Ayesha Noreen; ZHANG, Chunhui. Extraction of collagen-II with pepsin and ultrasound treatment from chicken sternal cartilage; physicochemical and functional properties. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 64, p. 105053, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417719314294>. Acesso em: 19 abr. 2023.
- ALVES, Fillemon Edillyn da Silva Bambirra *et al.* Functional and antioxidant properties of a chicken blood meal hydrolysate. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 21149–21162, 2020. Disponível em: <http://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/9205/7783>.
- ARAÚJO, Íris Braz Da Silva *et al.* Optimal conditions for obtaining collagen from chicken feet and its characterization. **Food Science and Technology (Brazil)**, [s. l.], v. 38, p. 167–173, 2018.
- ARAÚJO, Íris B.S. *et al.* Quality of low-fat chicken sausages with added chicken feet collagen. **Poultry Science**, [s. l.], v. 98, n. 2, p. 1064–1074, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119305838>.
- BEZERRA, Taliana *et al.* Chicken Combs and Wattles as Sources of Bioactive Peptides: Optimization of Hydrolysis, Identification by LC-ESI-MS2 and Bioactivity

- 418 Assessment. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 7, p. 1698, 2020. Disponível em:
419 <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/7/1698>.
- 420 BONALDO, Paolo *et al.* Structural and Functional Features of the $\alpha 3$ Chain Indicate a
421 Bridging Role for Chicken Collagen VI in Connective Tissues. **Biochemistry**, [s. l.], v.
422 29, n. 5, p. 1245–1254, 1990.
- 423 CAMPOS, Luana Dias; PEREIRA, Anna Thereza Santiago de Almeida; CAZARIN,
424 Cinthia Baú Betim. The collagen market and knowledge, attitudes, and practices of
425 Brazilian consumers regarding collagen ingestion. **Food Research International**, [s. l.],
426 v. 170, 2023.
- 427 CHANMANGKANG, Sagun *et al.* Physicochemical and biological properties of
428 collagens obtained from tuna tendon by using the ultrasound-assisted extraction.
429 **Journal of Agriculture and Food Research**, [s. l.], v. 15, p. 100984, 2024. Disponível
430 em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666154324000218>.
- 431 CORDEIRO, Ana Rita Ribeiro de Araújo *et al.* Collagen production from chicken keel
432 bone using acid and enzymatic treatment at a temperature of 30 ° C. [s. l.], v. 2061, n.
433 June, p. 491–497, 2020.
- 434 DA SILVA ARAÚJO, Íris Braz *et al.* Recovery and application of bioactive proteins
435 from poultry by-products. **Valorization of Agri-Food Wastes and By-Products:
436 Recent Trends, Innovations and Sustainability Challenges**, [s. l.], p. 497–514, 2021.
- 437 DHAKAL, Damodar *et al.* Optimization of collagen extraction from chicken feet by
438 papain hydrolysis and synthesis of chicken feet collagen based biopolymeric fibres.
439 **Food Bioscience**, [s. l.], v. 23, p. 23–30, 2018.
- 440 DIXELIUS, Johan *et al.* Endostatin-induced tyrosine kinase signaling through the Shb
441 adaptor protein regulates endothelial cell apoptosis. **Blood**, [s. l.], v. 95, n. 11, p. 3403–
442 3411, 2000.
- 443 DREESMANN, Lars; AHLERS, Michael; SCHLOSSHAUER, Burkhard. The pro-
444 angiogenic characteristics of a cross-linked gelatin matrix. **Biomaterials**, [s. l.], v. 28, n.
445 36, p. 5536–5543, 2007.

- 446 FLINT, M. H. *et al.* Collagen fibril diameters and glycosaminoglycan content of skins -
 447 indices of tissue maturity and function. **Connective Tissue Research**, [s. l.], v. 13, n. 1,
 448 p. 69–81, 1984.
- 449 GOMEZ-GUILLEN, M. C. *et al.* Functional and bioactive properties of collagen and
 450 gelatin from alternative sources: A review. **Food Hydrocolloids**, [s. l.], v. 25, n. 8, p.
 451 1813–1827, 2011.
- 452 INAI, Kei *et al.* BMP-2 induces cell migration and periostin expression during
 453 atrioventricular valvulogenesis. **Developmental Biology**, [s. l.], v. 315, n. 2, p. 383–
 454 396, 2008.
- 455 JAFARI, Hafez *et al.* Fish collagen: Extraction, characterization, and applications for
 456 biomaterials engineering. **Polymers**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 1–37, 2020.
- 457 JAYAPRAKASH, Sakthidasan *et al.* **Enriched characteristics of poultry collagen**
 458 **over other sources of collagen and its extraction methods: A review.** [S. l.]: Elsevier
 459 B.V., 2024.
- 460 KERN, Andreas *et al.* The role of the I domain in ligand binding of the human integrin
 461 $\alpha 1 \beta 1$. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 269, n. 36, p. 22811–22816, 1994.
- 462 LEÓN-LÓPEZ, Arely *et al.* Hydrolyzed Collagen—Sources and Applications.
 463 **Molecules** **2019**, Vol. **24**, Page **4031**, [s. l.], v. 24, n. 22, p. 4031, 2019. Disponível em:
 464 <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/22/4031/htm>. Acesso em: 14 abr. 2023.
- 465 LIMA, Juliana L. *et al.* Effect of adding byproducts of chicken slaughter on the quality
 466 of sausage over storage. **Poultry Science**, [s. l.], v. 100, n. 8, 2021.
- 467 LUGO, James P.; SAIYED, Zainulabedin M.; LANE, Nancy E. Efficacy and
 468 tolerability of an undenatured type II collagen supplement in modulating knee
 469 osteoarthritis symptoms: A multicenter randomized, double-blind, placebo-controlled
 470 study. **Nutrition Journal**, [s. l.], v. 15, n. 1, 2016. Disponível em:
 471 <http://dx.doi.org/10.1186/s12937-016-0130-8>.
- 472 MELO, Anely Maciel de *et al.* Garcinia brasiliensis fruits and its by-products:
 473 Antioxidant activity, health effects and future food industry trends – A bibliometric

- 474 review. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 112, p. 325–335, 2021.
- 475 MUNASINGHE, Kumudini A.; SCHWARZ, Jurgen G.; NYAME, Anthony K. Chicken
476 Collagen from Low Market Value By-Products as an Alternate Source. **Journal of**
477 **Food Processing**, [s. l.], v. 2014, 2014.
- 478 NABAVI, SEYEDEH ATEFEH; RAFTANI AMIRI, ZEYNAB; GORJIAN, Hayede.
479 Investigating the Independent Effect of Different Levels of Chicken Feet Gelatin and
480 Commercial Gelatin (Cow) with Cocoa Butter on the Physicochemical and Sensory
481 Properties of Milk Chocolate. **Journal of food science and technology**, [s. l.], v. 22, n.
482 158, p. 31–48, 2025.
- 483 NI, Chien Hsiang *et al.* Investigation of the chemical composition and functional
484 proteins of chicken gizzard inner lining. **Food Science and Technology Research**, [s.
485 l.], v. 24, n. 5, p. 893–901, 2018.
- 486 PRAMUALKIJA, Teeda; PIRAK, Tantawan; EUSTON, Stephen R. Valorization of
487 chicken slaughterhouse by-products: Production and properties of chicken trachea
488 hydrolysates using commercial proteases. **International Journal of Food Properties**,
489 [s. l.], v. 24, n. 1, p. 1642–1657, 2021. Disponível em:
490 <https://doi.org/10.1080/10942912.2021.1986522>.
- 491 RODRÍGUEZ-ROJAS, Adriana *et al.* ¿What is the new about food packaging material?
492 A bibliometric review during 1996–2016. **Trends in Food Science and Technology**,
493 [s. l.], v. 85, n. January, p. 252–261, 2019. Disponível em:
494 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.016>.
- 495 SANTOS, Miriane Moreira Fernandes *et al.* Biotransformation of free-range chicken
496 feather into functional protein hydrolysates using microwave alkaline pretreatment.
497 **Food Bioscience**, [s. l.], v. 59, 2024.
- 498 SCHIPPERT, Ruth *et al.* Relative axial myopia in Egr-1 (ZENK) knockout mice.
499 **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 11–17, 2007.
- 500 SCHMIDT, Michele Mantelli *et al.* Characterization of hydrolysates of collagen from
501 mechanically separated chicken meat residue. **Food Science and Technology (Brazil)**,

- 502 [s. l.], v. 40, p. 355–362, 2020.
- 503 SCHMIDT, Michele M. *et al.* Ultrasound as an alternative method to increase the
504 extraction yield from chicken mechanically separated meat residue collagen. **Journal of**
505 **Food Science and Technology**, [s. l.], v. 58, n. 7, p. 2487–2496, 2021.
- 506 SIBILLA, Sara *et al.* Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.ae An
507 Overview of the Beneficial Effects of Hydrolyzed Collagen as a Nutraceutical on
508 Skin Properties: Scientific Background and Clinical Studies. **The Open Nutraceuticals**
509 **Journal**, [s. l.], v. 8, p. 29–42, 2015.
- 510 SIRRI, F. *et al.* Effect of fast-, medium- and slow-growing strains on meat quality of
511 chickens reared under the organic farming method. **Animal**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 312–
512 319, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1017/S175173111000176X>.
- 513 SOGLIA, Francesca *et al.* Functional property issues in broiler breast meat related to
514 emerging muscle abnormalities. **Food Research International**, [s. l.], v. 89, p. 1071–
515 1076, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.042>.
- 516 SORUSHANOVA, Anna *et al.* The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to
517 Advanced Biomaterial Development. **Advanced Materials**, [s. l.], v. 31, n. 1, p.
518 1801651, 2019. Disponível em:
519 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.201801651>.
- 520 SUN, Yanfa *et al.* The identification of 14 new genes for meat quality traits in chicken
521 using a genome-wide association study. **BMC Genomics**, [s. l.], v. 14, n. 1, 2013.
- 522 SVOBODA, K. K. *et al.* Embryonic chicken cornea and cartilage synthesize type IX
523 collagen molecules with different amino-terminal domains. **Proceedings of the**
524 **National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 85, n. 20, p.
525 7496–7500, 1988.
- 526 TANG, Cheng *et al.* **Collagen and its derivatives: From structure and properties to**
527 **their applications in food industry**. [S. l.]: Elsevier B.V., 2022.
- 528 TANG, Pingping *et al.* Enhanced physicochemical and functional properties of collagen
529 films cross-linked with laccase oxidized phenolic acids for active edible food

- 530 packaging. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 393, p. 133353, 2022.
- 531 TOLDRÁ, Fidel; REIG, Milagro; MORA, Leticia. Management of meat by-and co-
532 products for an improved meat processing sustainability. **Meat Science**, [s. l.], v. 181, p.
533 108608, 2021. Disponível em: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. Acesso em:
534 10 abr. 2024.
- 535 WUTHIER, Roy E. Department of Chemistry and Biochemistry, University of South
536 Carolina, Columbia, SC 29208. [s. l.], p. 2812–2902, 2011.
- 537 YOUNG, Blanche B.; GORDON, Marion K.; BIRK, David E. Expression of type XIV
538 collagen in developing chicken tendons: Association with assembly and growth of
539 collagen fibrils. **Developmental Dynamics**, [s. l.], v. 217, n. 4, p. 430–439, 2000.
540 Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0177(200004)217:4%3C430::AID-DVDY10%3E3.0.CO;2-5)
541 [0177\(200004\)217:4%3C430::AID-DVDY10%3E3.0.CO;2-5](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0177(200004)217:4%3C430::AID-DVDY10%3E3.0.CO;2-5).
- 542 ZIMMERMANN, Wolfram Hubertus; MELNYCHENKO, Ivan; ESCHENHAGEN,
543 Thomas. Engineered heart tissue for regeneration of diseased hearts. **Biomaterials**, [s.
544 l.], v. 25, n. 9, p. 1639–1647, 2004.
- 545

CAPÍTULO VI
CONSIDERAÇÕES FINAIS

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta pesquisa demonstrou que a aplicação do ultrassom como pré-tratamento na hidrólise enzimática de proteínas provenientes de subproduto de frango constitui uma estratégia viável e eficiente para a obtenção de hidrolisados de colágeno com propriedades tecnológicas e bioativas aprimoradas, mas com pouca influência sobre os resultados dos hidrolisados, sendo mais uma tecnologia auxiliar à aplicação de enzimas. Os resultados obtidos confirmaram a hipótese inicial de que as modificações estruturais induzidas pelo ultrassom favorecem a ação enzimática, aumentam o grau de hidrólise, e influenciam positivamente o perfil peptídico e a atividade antioxidante.

O ultrassom promove alterações conformacionais importantes, como maior exposição de grupos reativos e mudanças na organização estrutural das proteínas, o que impacta diretamente na funcionalidade e na bioatividade dos peptídeos gerados. Dessa forma, a tecnologia mostrou-se não apenas um método de intensificação de processo, mas também uma ferramenta capaz de direcionar características funcionais do produto final.

Como perspectivas futuras de estudos, identifica-se a oportunidade de avançar para testes em escala piloto e industrial, visando avaliar a viabilidade econômica e a reprodutibilidade do processo em maior escala. Também se mostram necessários estudos *in vitro* e *in vivo* para confirmação da biodisponibilidade e dos efeitos biológicos dos peptídeos identificados. Investigações sobre atividades bioativas, como potencial anti-hipertensivo e anti-inflamatório, bem como testes de aplicação em matrizes alimentares reais, poderão ampliar as possibilidades de uso desses hidrolisados como ingredientes funcionais.

Por fim, esta pesquisa contribui de forma significativa para a valorização sustentável de subprodutos avícolas, oferecendo bases científicas sólidas para o desenvolvimento de novos ingredientes de alto valor agregado e alinhados às demandas contemporâneas por inovação e sustentabilidade na indústria de alimentos.

PUBLICAÇÕES E PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS







April 10th, 2024

Dear MARIA MANUELA CAMINO FELTES,

Congratulations!

On behalf of the international scientific committee, I am pleased to communicate that the abstract titled "**ANTIOXIDANT CAPACITY OF CHICKEN GIZZARD ENZYMATIC PROTEIN HYDROLYSATE**", submitted for the **22nd World Congress of Food Science and Technology**, has been **ACCEPTED AS POSTER PRESENTATION**.

On this regard, we kindly remind you that **all presenters must register** to the Congress.

Each author is allowed to present up to **2 abstracts** with a single paid registration.

Failure to register will lead to the **cancellation** of the abstract from the Scientific Programme and the Abstract Book.

Presenters can take advantage of the **early bird registration fee** until the deadline, which will be **postponed to May 16**.

Please reply to this email, indicating the abs ID **140207**, to confirm the presentation and the Presenting Author's name: **CAMINO FELTES MARIA MANUELA**

If you are the Presenting Author, **use your account** to register to the Congress (if not already done), at the link: <https://services.aimgroup.eu/ASPClient/loginindividual.asp?eventoid=5200>

Login with your credentials and click on "Registration for the event" to access the registration form.

User: 857

Password: 32898CM

If the Presenting is another Author, they must register with their account, if they already have one, or create one, by clicking on "Register your data" if they don't.

Detailed information about the presentation will be communicated within next weeks.

Do not hesitate to contact us for any further assistance you may need.

With my personal regards,

Sebastiano Porretta
Chairman IUFOST 2024 World Congress on Food Science and Technology
Organizing Secretariat
 AIM GROUP INTERNATIONAL – AIM Italy S.r.l.
 Via Flaminia, 1068
 00189 Rome (Italy)



AIM Italy - Rome Office
 Via Flaminia, 1068 - 00189 Roma
 Tel. +39 06 330531
iufost2024@aimgroup.eu
www.iufost2024-italy.com

Verifique o código de autenticidade 27121026bb5f6a91bde4 em <https://www.submissao.agronfoodacademy.com/valida>



AGRON FOOD
ACADEMY

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado **ESTUDO PROSPECTIVO: HIDROLISADO PROTEICO ENZIMÁTICO DE OLEAGINOSAS COM POTENCIAL BIOATIVO**, de autoria de Juliana Lopes de Lima, Gustavo da Silva Fortunato, Itaciara Larroza Nunes, Maria Manuela Camino Feltes, foi Apresentado e Publicado com êxito no evento VIII Encontro Nacional da Agroindústria, realizado em 24/10/2022 a 26/10/2022, de forma online, promovido pela Agron Food Academy.

Jaelyson Max Pereira de Medeiros
Diretor Administrativo

Editora Agron Food Academy - 38.296.675/0001-01



Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos e Nutrição
A Revolução da Ciência de Alimentos e Nutrição: Alimentando o
Mundo de Forma Sustentável
12 a 14 de novembro
Campinas/SP

CERTIFICADO

Certificamos que o resumo intitulado:

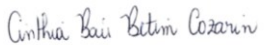
**"VALORIZATION OF CHICKEN GIZZARD FOR OBTAINING PROTEIN HYDROLYSATE USING A
 COMMERCIAL PROTEASE"**

de autoria de

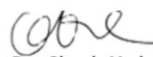
**"Juliana Lopes Lima, Fabyan Lais Guedes, Leila Moreira De Carvalho, Marta Suely Madruga, Maria
 Manuela Camino Feltes"**

foi apresentado na categoria Pôster no **15º SLACAN - Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos e
 Nutrição: "A Revolução da Ciência de Alimentos e Nutrição: Alimentando o Mundo de Forma Sustentável"**,
 realizado de 12 a 14 de novembro de 2023, Campinas - São Paulo - Brasil.


Prof. Dr. Juliano Lemos Bicas
 Coordenador do Comitê Científico


Profa. Dra. Cinthia Baú Betim Cazarin
 Coordenadora do Comitê Científico


Prof. Dr. Mario Roberto Maróstica Junior
 Coordenador do Comitê de Programação


Profa. Dra. Glaucia Maria Pastore
 Presidente do evento

Certification by Galoá



10/02/2022 21:33

SEI/UFPe - 1585291 - Atestado



Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

ATESTADO

Atesto para os devidos fins, que o trabalho intitulado " QUALIDADE MICROBIOLOGICA DE APRESUNTADO DE FRANGO CAIPRA UTILIZANDO AMIDO DE MILHO E FÉCULA DE MANDIOCA "de autoria de GILMANA FERNANDES BARBOSA ARAUJO e JULIANA LOPES DE LIMA, foi aprovado e apresentado na modalidade de Resumo Simples por GILMANA FERNANDES BARBOSA ARAUJO, e foi publicado nos anais (ISBN 978-65-00-39000-1) do evento 1º Congresso de Inovação em Alimentos (CIA) - Ampliando Horizontes promovido pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (DCTA/PPGCTA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPe), ocorrido no período de 27 a 30 de setembro de 2021. Os anais e demais informações estão disponíveis no site oficial do evento (<https://wp.ufpel.edu.br/cia/>).

ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE
COORDENADORA DO 1º CIA - AMPLIANDO HORIZONTES
COORDENADORA DO PPGCTA



Documento assinado eletronicamente por **ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE, Coordenadora de Curso de Pós-Graduação, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de**, em 10/02/2022, às 21:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º, § 3º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1585291** e o código CRC **BB86ACE9**.

Referência: Processo nº 23110.000103/2022-41

SEI nº 1585291

Verifique o código de autenticidade 45516506.283858.6.5.885689623138368 em <https://www.event3.com.br/documentos>

III CONAAG - Congresso Nacional de Alimentos e Agropecuária

Consumo e produção Sustentável

Certificado

Certificamos que **Juliana Lopes de Lima, Maria Paula Lopes dos Anjos**; participaram do III CONAAG - Congresso Nacional de Alimentos e Agropecuária: Consumo e produção sustentável, evento realizado de forma online, no período de 08/11/2023 a 10/11/2023, na qualidade de autores do trabalho: **MARINAÇÃO EM CARNE DE FRANGO: UMA ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA DE TENDÊNCIAS E IMPACTO NA PESQUISA CIENTÍFICA**, publicados nos anais do evento, promovido pelo Instituto Federal de Pernambuco, campus Barreiros.

Barreiros, 16 de novembro de 2023.

Documento assinado digitalmente
TONNY CLEY CAMPOS LEITE
Data: 14/11/2023 20:52:00-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Tonny Cley Campos Leite
Coordenador de Pesquisa e Extensão

Documento assinado digitalmente
FRANCINALVA CORDEIRO DE SOUSA
Data: 14/11/2023 19:53:42-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Francinalva Cordeiro de Sousa
Coordenadora da comissão do III CONAAG

 **INSTITUTO FEDERAL**
Pernambuco
Campus Barreiros



Verifique o código de autenticidade 36614634.3048581.4.6.8856896916424568 em <https://www.even3.com.br/documentos>

III CONAAG - Congresso Nacional de Alimentos e Agropecuária

Consumo e produção Sustentável

Certificado

Certificamos que **Maria Paula Lopes dos Anjos, Juliana Lopes de Lima**; participaram do **III CONAAG - Congresso Nacional de Alimentos e Agropecuária: Consumo e produção sustentável**, evento realizado de forma online, no período de **08/11/2023 a 10/11/2023**, na qualidade de autores do trabalho: **PEPTÍDEOS BIOATIVOS DE SUBPRODUTOS DA CARNE: UMA PROSPECÇÃO BIBLIOMÉTRICA**, publicados nos anais do evento, promovido pelo Instituto Federal de Pernambuco, campus Barreiros.

Barreiros, 16 de novembro de 2023.

Documento assinado digitalmente
TONNY CLEY CAMPOS LEITE
Data: 14/11/2023 20:52:00-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Tonny Cley Campos Leite
Coordenador de Pesquisa e Extensão

Documento assinado digitalmente
FRANCINALVA CORDEIRO DE SOUSA
Data: 14/11/2023 20:53:42-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Francinalva Cordeiro de Sousa
Coordenadora da comissão do III CONAAG



INSTITUTO FEDERAL
Pernambuco
Campus Barreiros

