



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DARLINNE AMANDA SOARES LIMA

**COLÁGENO DE PÉ DE FRANGO COMO SUBSTITUTO DE GORDURA EM
SALSICHA DE FRANGO TIPO FRANKFURT: EFEITO DO TEMPO DE
ARMAZENAMENTO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS**

JOÃO PESSOA
2016

DARLINNE AMANDA SOARES LIMA

**COLÁGENO DE PÉ DE FRANGO COMO SUBSTITUTO DE GORDURA EM
SALSICHA DE FRANGO TIPO FRANKFURT: EFEITO DO TEMPO DE
ARMAZENAMENTO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso que apresento à Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadora: Dra. Marta Suely Madruga

Co-orientadora: MSc. Íris Braz da Silva Araújo

JOÃO PESSOA
2016

DARLINNE AMANDA SOARES LIMA

**QUALIDADE DE SALSICHA DE FRANGO COM SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DE
GORDURA POR COLÁGENO**

Trabalho de Conclusão de Curso que apresenta à Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Data:

Resultado:

Banca Examinadora

Prof. Dra. Marta Suely Madruga
Orientadora (DEA/CT/UFPB)

Prof. MSc. Íris Braz da Silva Araújo
Co-orientadora (DGTA/CCHSA/UFPB)

Prof. Dr. Fábio Anderson Pereira da Silva
Examinador externo (UAG/UFRPE)

Prof. MSc. Estefânia Fernandes Garcia
Examinadora externa (CTDR/UFPB)

JOÃO PESSOA
2016

Dedico essa conquista, ao meu Pai Duarte Luiz de Lima, que também poderia ser chamando de confiança, paciência, força, fé, amor, liberdade, mas prefiro chamar de Paizinho

Te amo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre esteve ao meu lado, proporcionando-me bons momentos e fazendo-me suportar e superar as adversidades ao longo desta jornada.

Agradeço também ao meu pai, Duarte Luiz de Lima, por toda sua paciência e confiança depositada em mim. Seus conselhos e ensinamentos foram fundamentais em momentos onde escolher era difícil.

Agradeço a, Dayara Anny Soares Lima, minha irmã, que suportou meu estresse em casa e fez muito frango para mim, quando eu não tinha tempo.

Agradeço a UFPB, em especial ao departamento de engenharia de alimentos, pela estrutura disponibilizada para realização do trabalho.

Agradeço minha orientadora Prof. Dra. Marta Madruga por ter sido minha orientadora de iniciação e ter aceitado me orientar no meu TCC. Além disso, lhe agradeço pela oportunidade de estar inserida num grupo de pesquisa tão bom e por todo o conhecimento passado.

Agradeço também a minha co-orientadora Prof. MS. Íris Braz por sempre estar tão solícita a ajudar a colaborar, com o bom humor característico, e por todo o conhecimento ensinado.

Agradeço a todos do LAQA que me acolheram tão bem, sempre estarem dispostos a ajudar, como Taliana, e pelas risadas entre uma análise e outra.

Agradeço também a todos professores da graduação, pelo conhecimento passado, compreensão e disponibilidade. Com certeza, vejo a maioria de vocês como exemplo.

Agradeço a Empresa Júnior de Engenharia de Alimentos (ENGAJA) e a todos os membros por terem me proporcionado experiências profissionais e conhecer pessoas ótimas que se tornaram amigas como, Tammyrys, Érika e Danielle.

Agradeço ao Prof. Dr. José Rodrigues por ter sido meu primeiro orientador de iniciação científica e ter junto a Andréa Suame me proporcionado primeiro contato com o dia-a-dia de um laboratório.

Agradeço aos “kiridinhos” que a engenharia me deu, Fernanda, Maísa, Sérgio, Ana Maria, Vinícius. Já passamos por tanta coisa, que nem de longe somos os mesmos de quando começamos o curso, mas isso só me faz gostar mais ainda de vocês e espero leva-los para o resto da vida. Para terminar, agradeço a todos os que passaram e estiveram presentes em minha vida nessa caminhada acadêmica.

“A imaginação é mais importante que o conhecimento. Conhecimento auxilia por fora, mas só o amor socorre por dentro. Conhecimento vem, mas a sabedoria tarda”

Albert Einstein

RESUMO

O Brasil é o maior exportador e segundo maior produtor mundial de carne de frango, e conseqüentemente, muitos subprodutos, ricos em colágeno, são gerados, sendo muitas vezes subutilizados. Para a indústria frigorífica, a aplicação de colágeno em produtos cárneos, como a salsicha, pode constituir uma alternativa para a diminuição do teor de gordura destes emulsionados, além de introduzir o consumo de produtos cárneos funcionais e incrementar a ingestão de colágeno. Assim, objetivou-se com este trabalho elaborar salsichas de frango tipo Frankfurt substituindo-se parcialmente a gordura por colágeno extraído de pés de frango e comercial, verificando-se a qualidade físico-química das salsichas de frango ao longo de seu armazenamento refrigerado a 4 °C por até 28 dias. A extração do colágeno de pés de frango foi realizada utilizando-se tratamento ácido e enzimático. As salsichas foram processadas em três formulações: SS - salsicha controle, sem adição de colágeno e contendo 15 % de gordura; SCP – salsicha adicionada de 7,5% de colágeno extraído de pés de frango e contendo 7,5 % de gordura; SCH - salsicha adicionada de 7,5% de colágeno comercial e contendo 7,5 % de gordura. Foi determinada a composição química dos pés de frango, do colágeno extraído e das salsichas, além dos parâmetros de cor, pH, atividade de água, capacidade de retenção de água, estabilidade da emulsão e oxidação lipídica das salsichas pelo número de TBARS. Nos pés de frango foi observado que o teor de colágeno, correspondeu a 97,8% do total de proteínas obtido e 79,8% da massa seca dos mesmos. A adição de colágeno nas salsichas como substitutos de gordura proporcionou melhorias nutricionais, e as propriedades tecnológicas dos produtos. A salsicha com adição de colágeno de pés de frango apresentou maior estabilidade da CRA, maiores valores dos parâmetros de cor a* e b*, maior estabilidade de emulsão, menor perda de fluidos e menores valores de TBARS, sendo uma alternativa a ser melhor apreciada pelas empresas industrializadoras de carne de frango. Com relação ao armazenamento, todas as salsichas apresentaram resultados melhores nos primeiros 14 dias de armazenamento, sendo portanto o tempo ideal para que as mesmas sejam mantidas em refrigeração a 4°C.

Palavras chaves: Subprodutos agroindustriais, Alimentos “low fat”.

ABSTRACT

Brazil is the largest exporter and second largest producer of chicken meat, and consequently, many by-products are generated, often underused, such as collagen. For meat industry, collagen application in meat products, such as sausages, can be an alternative for a reduction of the fat content of these emulsions, as well as introducing the consumption of functional meat products and increasing the intake of collagen. Thus, this work aimed to elaborate chicken sausages by partially fat replacement by collagen extracted from chicken feet and other animal sources, and verified a physical-chemical quality of the chicken sausages throughout their refrigeration for 28 days. An extraction of collagen from chicken feet was found using acid and enzymatic treatment. As sausages were processed in three formulations: SS – standard sausage, without addition of collagen and containing 15% fat; SCP - added sausage of collagen extracted from chicken feet and containing 7.5% fat; SCH - Sausage added of commercial collagen and containing 7.5% fat. The chemical composition of chicken feet, extracted collagen and sausages was determined, besides the physical composition as color, pH, water activity, water holding capacity (WHC), emulsion stability and lipid oxidation of the sausages by TBARS. In the chicken feet, it was observed that the collagen content corresponded to 97.8% of the total protein obtained and 79.8% of the dry mass of the same. The addition of collagen in sausages as fat substitutes and nutritional improvements, and as technological properties of products. The sausage with the addition of chicken leg collagen presented higher stability of CRA, higher values of a * and b * color measurement, higher emulsion stability, lower fluid loss and lower TBARS values, being an alternative to be better appreciated by Companies Chicken meat industrializers. Regarding the market, all the sausages presented better results in the 14 days of storage, being the ideal time for them to be kept in refrigeration at 4 ° C.

Key words: Collagen, Sausages, Byproducts, Low-fat foods.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Arranjo de fibrilas em fibras de colágeno. A: Sequência de aminoácidos de um polipeptídeo; B: Polipeptídeo de colágeno; C: Tropocolágeno; D: Colágeno

Figura 2 - Teoria das emulsões óleo/água e água/óleo

Figura 3 - Fluxograma básico do processamento de salsichas

Figura 4 - Etapas de condução do estudo de extração de colágeno e sua utilização em salsichas de frango com substituto de gordura

Figura 5 - Esquema de extração de colágeno de pés de frango

Figura 6 - Fluxograma de processamento das salsichas de frango SS, SCP e SCH

Figura 7 - Teor de umidade das salsichas de frango ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração

Figura 8 - Capacidade de retenção de água das salsichas ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração

Figura 9 - Índice de ácido tiobarbitúrico das salsichas ao longo de 28 dias de armazenamento a temperatura de refrigeração

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação salsicha de frango adicionada de colágeno extraído de pé de frango e colágeno comercial

Tabela 2 - Composição química de pés de frango desossados para a extração de colágeno e valores obtidos da literatura

Tabela 3 - Composição química do colágeno extraído de pés de frango desossados e do colágeno comercial hidrolisado

Tabela 4 - Composição química em base seca das salsichas ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração

Tabela 5 - Valores de pH das salsichas ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração

Tabela 6 - Parâmetros de cor das salsichas com e sem adição de colágeno ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração

Tabela 7 - Estabilidade da emulsão das salsichas com substituição parcial de gordura por colágeno

LISTA DE ABREVIACÕES

Aa- Atividade de água

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal

CMS- Carne Mecanicamente Separada

CRA- Capacidade de Retenção de Água

EE- Estabilidade de Emulsão

pH- Potencial Hidrogeniônico

TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

MDA - Malonaldeído

UBABEF - União Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
3.1 CADEIA PRODUTIVA DO FRANGO.....	16
3.2 ESTRUTURA E PROPRIEDADES DA MOLÉCULA DE COLÁGENO.....	17
3.2.1 Métodos de extração de colágeno.....	19
3.3 PRODUTOS CÁRNEOS EMBUTIDOS E EMULSIONADOS.....	21
3.4 REDUÇÃO DE GORDURA EM PRODUTOS CÁRNEOS.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	26
4.2 MATÉRIA-PRIMA, INSUMOS E LOCAL DO EXPERIMENTO.....	26
4.3 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO COLÁGENO EM PÉS DE FRANGO....	27
4.4 PROCESSAMENTO DAS SALSICHAS.....	28
4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	30
4.6 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS).....	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	32
5.1 RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO DO COLÁGENO HIDROLISADO.....	32
5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA DE SALSICHAS DE FRANGO TIPO FRANKFURT COM TEOR DE GORDURA REDUZIDO.....	33
5.3 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUALIDADE DAS SALSICHAS DE FRANGO.....	36
5.4 EFEITO DO ARMAZENAMENTO NA OXIDAÇÃO LIPÍDICA DE SALSICHAS.....	40
6 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

1. INTRODUÇÃO

Embora esteja enfrentando uma crise econômica, segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2016), o Brasil mantém a posição de segundo maior produtor de carne de frango do mundo. De acordo com a União Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (UBABEF, 2014), o Brasil ocupa a posição de maior exportador de carne de frango desde 2004. Concomitantemente com estes dados de produção e exportação, são geradas grandes quantidades de subprodutos, que em sua maioria são subutilizados, a exemplo os pés de frango.

Os pés de frango apresentam em sua constituição elevada quantidade de biomoléculas, as quais quando recuperadas, podem ser aplicadas na indústria de alimentos, farmacêutica, de cosméticos entre outras (FERRARO et al., 2016). Estes resíduos são conhecidos por conterem apreciável quantidade de proteínas, destacando-se os altos teores de colágeno (OCKERMAN; HANSEN, 2000; RAJU et al., 1997; SANTOS, 2010).

O colágeno é uma proteína que está presente em quase todos os tecidos como ossos, cartilagem, tendões, ligamentos e em todos os tecidos moles (SADER, 2010). O colágeno extraído de pés de frango tem aplicação em áreas de alta prioridade como emulsificantes, filmes alimentícios ou na fabricação de gelatinas (FERRARO et al., 2016; ALMEIDA et al., 2012).

Na indústria de emulsionados, o colágeno pode ser uma alternativa para solucionar um de seus maiores problemas, a necessidade de redução da alta concentração de gordura em seus produtos cárneos processados. Nos últimos trinta anos observou-se intenso crescimento da indústria alimentícia, como resultado do baixo custo e da praticidade que seus produtos cárneos processados oferecem. Atualmente observa-se uma forte demanda pelo consumo de alimentos mais saudáveis, como alimentos funcionais, alimentos orgânicos, alimentos com reduzidos teores de gordura, de açúcar, etc., tendo em vista a conscientização dos consumidores (DAMIAN et al., 2005).

Para a indústria frigorífica, a aplicação de colágeno em produtos cárneos, como a salsicha, pode constituir uma alternativa para a diminuição do teor de gordura destes emulsionados, além de introduzir o consumo de produtos cárneos funcionais e incrementar a ingestão de colágeno (FERREIRA, 2013). Do ponto de vista tecnológico essa substituição também é viável, pois devido a sua capacidade texturizante, emulsificante e estabilizante, o colágeno hidrolisado poderia provavelmente auxiliar na melhoria da qualidade do alimento

reduzindo o teor de gordura, sem que ocorra perdas nas suas características físicas e sensoriais (DIAMANTINO, 2011).

Portanto, considerando-se a demanda de desenvolvimento de novos produtos cárneos emulsionados com reduzidos teores de gordura, associado a necessidade de que novas alternativas sejam apresentadas para o melhor aproveitamento dos subprodutos do abate de frango, o presente trabalho objetivou produzir salsichas de frango com reduzido teor de gordura, através da substituição da gordura por colágeno extraído de pés de frango e comercial, visando aliar ao produto um baixo custo, a praticidade de consumo e qualidade nutricional para seus potenciais consumidores.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Extrair colágeno dos pés de frango e elaborar salsichas de frango tipo Frankfurt substituindo parcialmente a gordura por colágeno extraído de pés de frango e comercial, verificando os parâmetros físico-químicos de qualidade das salsichas de frango ao longo de seu armazenamento refrigerado.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o colágeno dos pés de frango mediante processo ácido e enzimático;
- Elaborar as salsichas de frango com reduzido teor de gordura, tendo em suas formulações a adição de colágeno extraído dos pés de frango ou colágeno comercial;
- Realizar de análises físico-químicas das salsichas de frango nos tempos de 0, 14, e 28 dias de armazenamento;
- Realizar estudo de oxidação lipídica durante os 28 dias de armazenamento das salsichas de frango.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CADEIA PRODUTIVA DO FRANGO

Países que se destacam na produção de carne de aves como Estados Unidos, China e Brasil, são os principais responsáveis por atender à crescente demanda deste produto no mercado mundial. Apesar da crise econômica que vem sendo enfrentada pelo Brasil o setor de produção avícola não parece sofrer interferências, uma vez que a produção, exportação e o consumo interno de produtos avícolas tiveram significativo aumento nos últimos anos (ABPA, 2016).

Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2016) a produção brasileira de carne de frango totalizou no ano passado 13,146 milhões de toneladas, volume 3,58% maior do que o registrado no ano de 2014 e estima-se ainda um crescimento de 3 a 5% para o ano de 2016. Com este resultado, o Brasil se consolidou como segundo maior produtor de carne de frango do mundo, superando a China – que produziu no ano passado 13,025 milhões de toneladas.

Além disso, segundo a União Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (UBABEF, 2014), o Brasil ocupa a posição de maior exportador de carne de frango desde 2004. E o consumo per capita de carne de frango atingiu em 2015, um índice de crescimento de 1,1% em relação ao obtido no ano anterior, o que corresponde a 43,25 quilogramas (ABPA, 2016).

Com o desenvolvimento da indústria avícola e as novas tendências de consumo de alimentos, os produtos “semiprontos” tendem a se sobressair devido a necessidade dos consumidores por alimentos mais práticos e de maior valor agregado. Para atender essa demanda, a avicultura brasileira oferece aos consumidores uma grande diversidade de produtos que atendem às necessidades de praticidade e conveniência, visto que o consumo de cortes e produtos elaborados vêm crescendo em detrimento do consumo do frango inteiro (MARTINS *et al*, 2006).

Concomitantemente, são gerados como subprodutos grandes quantidades de partes menos nobres como produtos lesionados, dorsos, peles, pescoços, ossos da coxa, caixa torácica e pés, cujos valores alimentar e comercial são menores (MARTINS; MIGUEL; ZANIN, 2009). Muitas vezes esses subprodutos são subutilizados, em geral para a elaboração de farinhas e subsequente produção de rações, ou a exemplo dos pés de frango acabam sendo exportados a preços pouco competitivos. Os maiores importadores de pés de frango são os países asiáticos, em especial China e Hong Kong.

Segundo Martins et al. (2009) a maior parcela dos subprodutos de frigoríficos é tradicionalmente transformada em produtos de baixo valor comercial, como farinha para fabricação de rações, caracterizando um desperdício ainda maior que a exportação. Assim, na cadeia produtiva mundial os subprodutos tornaram-se uma questão ambiental e econômica a ser resolvida.

O aproveitamento de subprodutos agroindustriais consolida-se como uma preocupação crescente das empresas, pois as questões ambientais estão diretamente relacionadas com a competitividade entre as empresas e o lucro (PADILHA et al., 2005). Além disso, a busca por ganho de competitividade e redução de desperdícios tem se tornado uma constante para as empresas (MELO; ALCÂNTARA, 2009).

Em nível molecular, o aproveitamento de subprodutos de origem animal pode ser uma alternativa viável e lucrativa, pois as biomoléculas que constituem estes subprodutos podem ser recuperadas e aplicadas na indústria de alimentos, indústria de cosméticos, indústria farmacêutica, entre outros (FERRARO et al., 2016). Diferentes subprodutos de frango são conhecidos por conterem apreciável quantidade de biomoléculas, como proteínas, enzimas e lipídeos (OCKERMAN; HANSEN, 2000; RAJU et al., 1997).

Dentre os subprodutos do abate do frango, os pés do frango apresentam em sua constituição muitos tendões e ligamentos, sendo elevada quantidade de proteínas e lipídeos, destacando-se os altos teores de colágeno dentre as proteínas (SANTOS, 2010; TANAKA; SHIMOKOMAKI, 1996; LIU et al., 2001; LIN; LIU, 2006).

3.2 ESTRUTURA E PROPRIEDADES DA MOLÉCULA DE COLÁGENO

O colágeno é constituído por proteínas fibrosas encontradas nos animais multicelulares. Este representa a principal proteína estrutural encontrada na matriz extracelular e nos tecidos conectivos, sendo responsável pela sua integridade e propriedades mecânicas (FERREIRA, 2013). O colágeno está presente em diferentes tecidos a exemplo dos ossos, cartilagem, tendões, ligamentos, e em todos os tecidos moles, como pele, músculos e outros órgãos (SADER, 2010).

Devido à localização e o teor de colágeno em diversos tecidos animais, atualmente o mercado é abastecido essencialmente por colágeno proveniente de mamíferos, especialmente das espécies bovina e suína. Tais fontes são inadequadas a algumas comunidades, devido a questões étnicas e religiosas. O colágeno bovino e o suíno também podem vir a apresentar inconvenientes como contaminantes biológicos, tais como a encefalopatia bovina

encefalopatia (BSE), encefalopatia espongiforme transmissível (TSE) e da febre aftosa (FMD) (ABEROUMAND, 2013). Neste cenário os pés de frango aparecem como potencial fonte alternativa de colágeno.

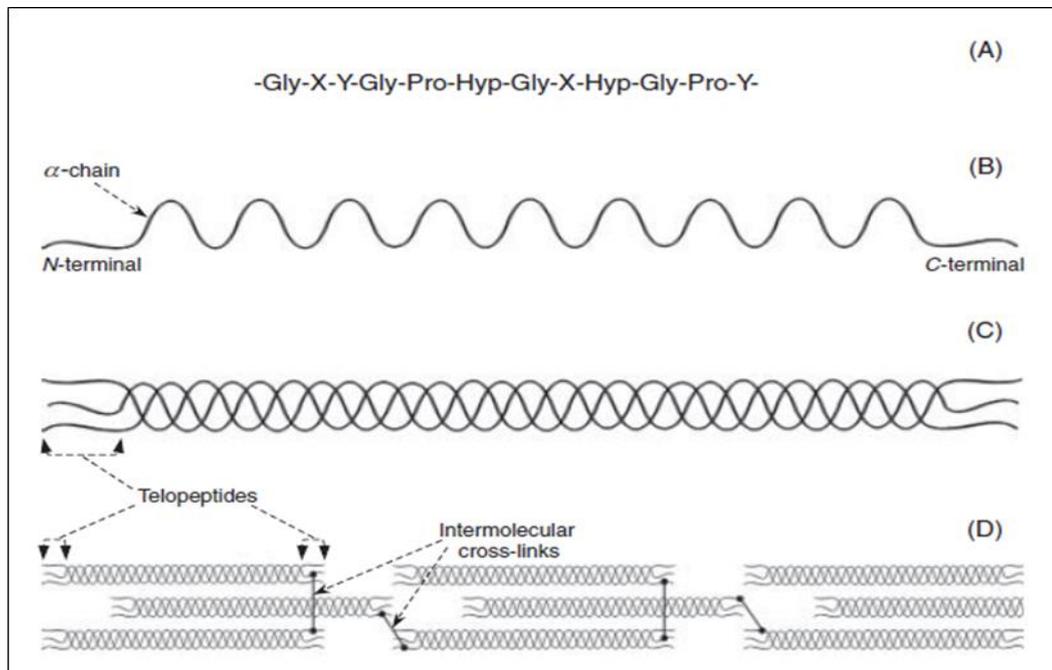
O colágeno é um subproduto cárneo, acessível, cujo principal produto é uma gelatina, usada amplamente como aditivo para melhorar a textura, a capacidade de retenção de água e a estabilidade de alimentos processados, possui baixa alergenicidade, odor neutro, incolor, transparência, propriedades emulsificantes e estabilizantes, formação de espuma e filmes, solubilidade, dispersibilidade, molhabilidade e compressibilidade (LI *et al.*, 2009; PRESTES, 2012).

A gelatina obtida a partir do colágeno é rica em glicina e prolina, mas pobre em triptofano e metionina. Tem boa capacidade de formação de gel, que faz com que seja de interesse na indústria de alimentos para uma grande variedade de aplicações, como sobremesas, doces, produtos cárneos, sorvetes e laticínios (TOLDRÁ *et al.*, 2012). O colágeno e a gelatina apresentam diferentes formas da mesma macromolécula, sendo possível descrever a gelatina como sendo uma forma de colágeno hidrolisado (BUENO, 2008).

O colágeno aparece em diversas formas, principalmente no tecido conjuntivo. (KOOLMAN; RÖHM, 2005). É um polímero composto da agregação repetitiva de monômeros chamados de tropocolágeno, os quais são formados pela sequência glicina (Gly), prolina (Pro), hidroxiprolina (Hyp), sendo suas extremidades ligadas a outros aminoácidos. As moléculas de tropocolágeno são transitórias que se agregam através de ligações cruzadas intramolecular e intermolecular para sintetizar a fibrila de colágeno (BANNISTER; BURNS, 1972; PEREZ-TAMAYO, 1978).

Cada cadeia polipeptídica possui aproximadamente 1038 resíduos de aminoácidos, com um peso molecular de aproximadamente 100 kDa. Devido ao elevado teor de glicina, aminoácido de baixo peso molecular, que corresponde a cerca de 30% do total de aminoácidos do colágeno, o peso do colágeno é inferior a muitas outras proteínas com o mesmo número de resíduos de aminoácidos (BRINCKMANN *et al.*, 2005; FERRARO *et al.*, 2016; SENA, 2004). Na Figura 1 está ilustrada a molécula de colágeno e suas fibrilas, polipeptídeos e sequência de aminoácidos da cadeia.

Figura 1 - Arranjo de fibrilas em fibras de colágeno. A: Sequência de aminoácidos de um polipeptídeo; B: Polipeptídeo de colágeno; C: Tropocolágeno; D: Colágeno.



Fonte: Simpson et al. (2012).

Cada cadeia de aminoácidos forma uma α -hélice para o lado esquerdo, e as três cadeias entrelaçam entre si para o lado direito, gerando a estrutura em tripla hélice, mais longa, rígida e estável que cada cadeia individual (DUCONSEILLE et al, 2015; USHIKI, 2002).

3.2.1 Métodos de extração de colágeno

Em consequência de sua estrutura em tripla hélice, quando almeja-se a extração do colágeno de tecidos animais, os métodos ácidos seguidos de hidrólise enzimática são os mais utilizados, sendo o ácido acético e a pepsina os experimentos com melhores rendimentos de extração. Na técnica de extração de colágeno por hidrólise enzimática faz-se a utilização de uma enzima protease, geralmente empregada para obter colágeno solúvel quando combinada a uma temperatura elevada. O tratamento com pepsina a 4°C é utilizado para a produção de colágeno nativo, que é insolúvel em água e mais difícil de digerir (LIN et al., 2010; SELVAKUMAR et al., 2012).

Nos estudos mais recentes, tem sido comum o emprego de ácidos orgânicos combinados com enzimas. Dentre os ácidos orgânicos já estudados, o ácido acético é

considerado como o solvente mais promissor na extração de colágeno a partir de diferentes fontes. A solubilidade de colágeno em solução ácida desempenha um papel fundamental na eficiência da extração, pois o aumento dos íons H^+ melhora o acesso de água para as fibras de colágeno (HASHIM; RIDZWAN; BAKAR, 2014; KIEW; MAT DON, 2013).

O colágeno hidrolisado trata-se de uma proteína natural derivada do colágeno nativo, sua diferença em relação ao colágeno nativo é que estas proteínas são solúveis em salmouras ou em água e apresentam um elevado conteúdo proteico (84 a 90%) (PRESTES, 2013; SOUSA, 2015). Devido a suas propriedades gelificantes, boa capacidade de retenção de água e alto teor proteico, a aplicação de colágeno hidrolisado em produtos cárneos pode constituir uma alternativa para introduzir produtos funcionais e incrementar a ingestão de colágeno pelo consumidor moderno (FRANCISCHETTI, 2007).

Diversos estudos com extração de colágeno em diferentes fontes e condições foram realizados, seja para obtenção das moléculas nativas ou hidrolisadas. Liu; Lin; Chen, (2001), ao extrair colágeno em pés de frango, verificaram que a melhor condição de extração ocorreu com 5% de ácido láctico no tempo de 36 horas. Saiga et al. (2008) extraíram o colágeno de pés de frango através da fervura, centrifugação e tratamento do sobrenadante com uma protease específica oriunda do *Aspergillus oryzae* e verificaram que o material extraído pode ser facilmente incorporado na dieta humana. Lin; Liu, (2006), ao comparar as propriedades de colágeno do tipo I de diferentes espécies, extraiu o colágeno de pés de frango na temperatura de 4°C, sendo estes previamente desengordurado, centrifugado e tratado com 5% de pepsina. Foi verificado que nas condições citadas o colágeno obtido apresentou alta estabilidade térmica, sendo adequado para a preparação de biomateriais estáveis, biocompatível com colágeno.

Simões et al. (2014), ao extrair colágeno de túnica albugínea suína, verificaram que o isolado obtido com maior teor de colágeno ocorreu nas seguintes condições: 0,83 mol/L de ácido acético, 0,24% de pepsina e 28 horas de hidrólise. Além disso, foi observado que o colágeno isolado apresentou um perfil de aminoácidos e propriedades químicas e funcionais adequados para uso em produtos à base de carne emulsionada.

3.3 PRODUTOS CÁRNEOS EMBUTIDOS E EMULSIONADOS

No Brasil, o volume vendido de embutidos representa 81,6% dos produtos cárneos, sendo destes produtos processados linguiça, salsicha, salsichão e mortadela os principais. Entre 2000 e 2008 o volume de frios e embutidos vendidos aumentou 67,6%, devido aos preços estáveis e expansão da massa salarial real (KUO HUE, 2011).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os embutidos são denominados como todo produto elaborado com carne, vísceras comestíveis e condimentos, podendo ou não ser cozido, maturado, curado, dessecado, contido em envoltório natural ou artificial (BRASIL, 1952). De acordo com Fontana (2002), podem ser utilizados para fabricação do embutido ingredientes opcionais, como gelo, gordura animal e/ou vegetal, como aditivos intencionais, agentes de liga, possibilitando a produção de uma variedade de produtos.

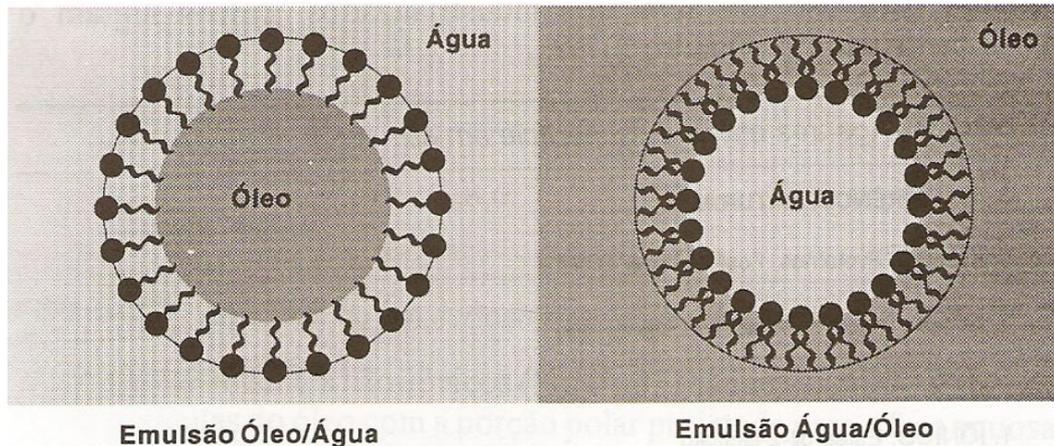
Segundo Andrade (2012), o elevado grau de divisão dos seus constituintes e o emulsionamento da gordura caracterizam os produtos embutidos emulsionado. Isto confere ao produto final melhoramento do sabor e da textura. A estabilidade física sólida desses produtos, mesmo quando o produto volta a ser aquecido, se deve ao tratamento térmico a que são submetidos durante seu processamento. Esta emulsão é possível graças a utilização de substâncias chamadas de emulsificantes.

Os produtos cárneos emulsionados são assim chamados por serem resultantes de uma mistura de água e gordura, aparentemente homogênea, chamada de emulsão cárnea. A mistura é assegurada pela presença de substâncias com caráter anfipático, chamadas de agentes emulsificantes. Estes são capazes de reduzir a tensão superficial na interface de fases imiscíveis de uma solução, possibilitando a formação de emulsões. Em sua estrutura química, apresentam um grupo terminal polar que age mutuamente com as moléculas de água e um grupo hidrofóbico que interage com a fase lipídica. A porção hidrofóbica da molécula é geralmente uma cadeia alquila longa, enquanto a hidrofílica consiste em um grupo dissociável ou grupos hidroxilados (SANTOS, 2008).

Quando um emulsificante é adicionado à mistura, uma emulsão alimentícia contendo água e óleo é formada na interface dos dois componentes, ou seja, um filme pelas moléculas do emulsificante orientadas de acordo com a sua polaridade. Este filme irá reduzir a tensão interfacial entre os líquidos, permitindo que através da agitação e formação de micelas, líquidos imiscíveis constituam uma solução de fase única (SANTOS, 2008).

Uma vez realizada a emulsão, a teoria clássica da estabilidade coloidal das emulsões aponta que as forças de Van der Waals e as forças de repulsão eletrostática são responsáveis por manter a estabilidade da emulsão, como exposto na Figura 2.

Figura 2 – Teoria das emulsões óleo/água e água/óleo



Fonte: ARAÚJO, (1995).

A formação e estabilização de emulsões de substâncias imiscíveis entre si facilita o processo industrial e melhora aspectos sensoriais de alimentos, pois permitem a obtenção de produtos com homogeneização estável. Além disso, modificam das propriedades físicas do alimento, com textura e sabor. As emulsões cárneas são uma dispersão finamente cominuída de partículas de carne magra e gordura em um sistema bifásico que consiste de uma fase dispersa (gotas de gordura) e uma fase contínua complexa composta de água, proteínas solubilizadas, componentes celulares, condimentos e especiarias (ROMANS et al., 2001).

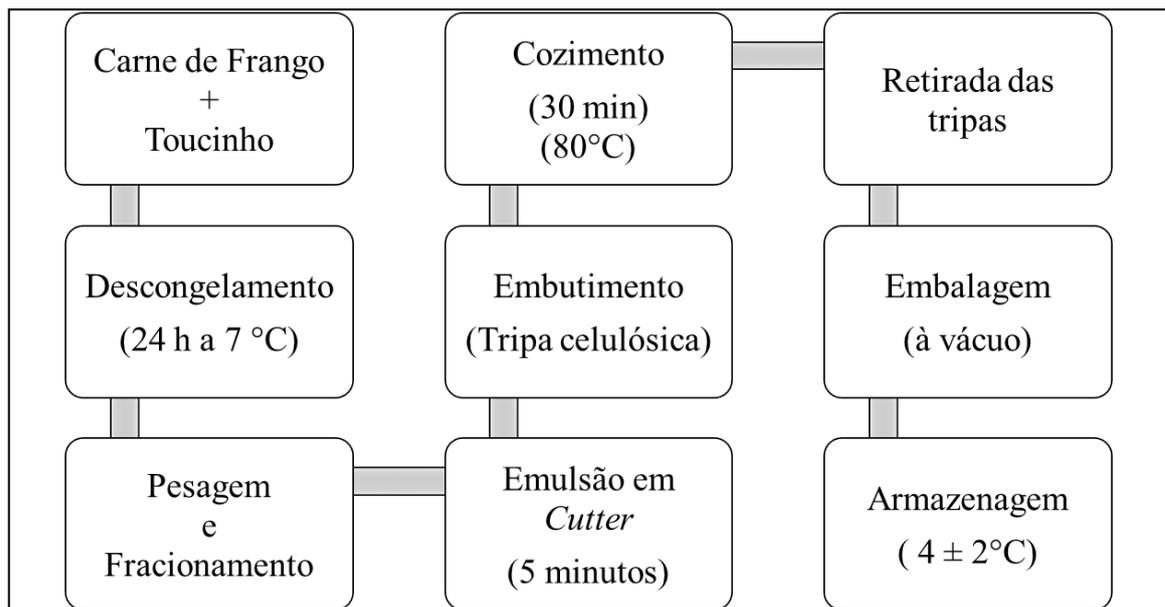
Alguns fatores, tais como temperatura, o grau de divisão da gordura, uso de cloreto de sódio e os polifosfatos, requerem maior atenção durante o processamento, pois a proteína atua como estabilizante somente enquanto solúvel. Durante o processamento recomenda-se que a temperatura de trabalho não ultrapasse os 12 °C (TERRA, 2003).

Ainda segundo Terra (2003), no “*cutter*”, equipamento dotado de lâminas onde será formada a emulsão cárnea, o tempo de trabalho deve ser o suficiente para a obtenção de uma massa “sedosa”, através da divisão da gordura em pequenas gotículas. Contudo, o excessivo trabalho, dividirá exageradamente a gordura aumentando sua superfície e por isso exigindo maior quantidade de proteína solúvel para recobri-la, além de submeter a massa ao risco de

aquecimento, provocando a desnaturação proteica com a consequente instabilização da emulsão.

Ao fim da emulsificação os produtos são embutidos, cozidos e resfriados. Entre essas etapas podem-se adicionar corantes aos produtos. Após resfriados os produtos poderão ser comercializados. Segue na figura 3 um fluxograma básico do processamento de salsichas.

Figura 3 – Fluxograma básico do processamento de salsichas



Um dos principais produtos emulsionados comercializados no Brasil são as salsichas. Segundo a legislação brasileira, entende-se por salsicha o produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado. As salsichas poderão ainda ter como processo alternativo o tingimento, depelação, defumação e a utilização de recheios e molhos (BRASIL, 2000).

A salsicha é de um produto cozido, sendo classificada de acordo com a composição da matéria-prima e das técnicas de fabricação. A salsicha de carne de ave pode conter carne de ave e carne mecanicamente separada de ave, no máximo de 40%, miúdos comestíveis de ave, até 10% e gorduras, porém o teor de gordura total do produto não deve ultrapassar 30% de sua composição. Existe o limite máximo de 4% para adição de proteínas não cárnicas, como proteína agregada. Não sendo permitida a adição de proteínas não cárnicas nas salsichas

Viena e Frankfurt, exceto as proteínas lácteas. (BRASIL, 2000). Na figura 4 pode-se observar características de diversos tipos de salsichas.

Ao longo dos anos a indústria alimentícia e seus produtos industrializados vêm apresentando crescimento. Produtos emulsionados, como salsichas, destacam-se devido ao baixo custo e praticidade que oferecem. A salsicha atualmente é o produto cárneo emulsionado mais consumido no Brasil (KUO HUE, 2011). Todavia, paralelo a este progresso, observa-se também nos últimos trinta anos o crescimento acentuado de doenças oriundas de uma dieta falha, rica em excessos, como a obesidade que tem sido reconhecida como um problema de saúde pública.

3.4 REDUÇÃO DE GORDURA EM PRODUTOS CÁRNEOS

Nas nações industrializadas e emergentes, como o Brasil, percebe-se que o aumento drástico da população de obesos acarreta grandes prejuízos à saúde, uma vez que a obesidade colabora para o desenvolvimento de problemas respiratórios, do aparelho locomotor, além de enfermidades potencialmente letais, como doenças cardiovasculares, diabetes e câncer. Além dessas enfermidades, o consumo exagerado de gorduras é um dos principais fatores que contribuem para o surgimento de doenças como a obesidade e esteatose (DAMIAN et al., 2005; MERMEL et al., 2004).

Apesar de acarretar problemas de saúde se consumida em excesso, a gordura está para a maioria dos produtos cárneos como o principal componente responsável pelo sabor, textura e suculência (KEETON, 1994). Mediante este impasse torna-se necessário reduzir o teor de gordura dos produtos cárneos mantendo suas características físicas e sensoriais.

A aplicação de colágeno hidrolisado (gelatina) em produtos cárneos, como a salsicha, pode constituir uma alternativa para incrementar a ingestão de colágeno pelo consumidor moderno, criando uma oportunidade para a indústria frigorífica introduzir produtos cárneos funcionais (FERREIRA, 2013). A adição de colágeno a salsicha, além de acrescentar as propriedades funcionais do colágeno a esse produto, devido a suas propriedades tecnológicas torna possível reduzir o teor de gordura da salsicha.

Pereira et al., (2016) ao estudar a composição proximal, teor de colágeno e aceitação sensorial de salsichas elaboradas com carne mecanicamente separada de frango e fibra de colágeno (FC) notou que, além do teor de colágeno, a adição de CMS e de FC aumentou significativamente a relação Colágeno/Proteína, confirmando a utilidade deste índice para a

classificação de produtos cárneos. A adição de FC de até 1% do peso não afetou significativamente nas notas de nenhum dos atributos sensoriais avaliados.

Waszkowiak e Dolata (2007) utilizaram, separadamente, colágeno hidrolisado e fibra de colágeno de suíno na imobilização de extrato de rosas como antioxidante, aplicando em salsichas numa concentração máxima de 2%. Além de apresentar diferenças entre umidade e proteína, com menores valores de umidade e maiores de proteína para fibra de colágeno, o produto final a fibra de colágeno apresentou melhor comportamento que o hidrolisado quando testada para imobilizar antioxidante extrato de rosas para aplicação em salsichas.

Sousa et al. (2015) elaboraram salsichas mistas com substituição parcial da gordura por colágeno hidrolisado. Observou que a substituição parcial da gordura na formulação de salsichas foi tecnologicamente viável, tendo em vista que em todas as formulações foi mantida, de modo geral, a qualidade físico-química, os parâmetros sensoriais e físicos das salsichas. Além disso a amostra elaborada com a menor quantidade de gordura, foi que obteve a melhor aceitação em relação à aparência, aroma, sabor, aceitação global e intenção de compra.

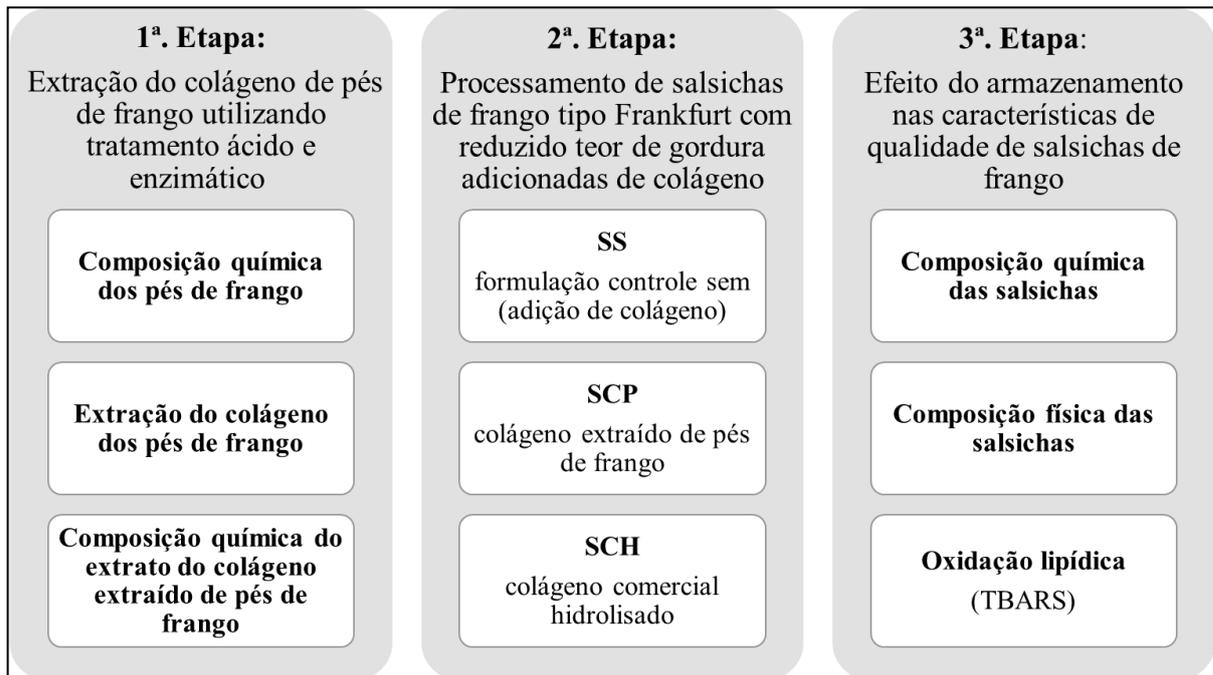
Tendo em vista os estudos citados acima, pode-se afirmar que a adição de colágeno em produtos cárneos tem gerado melhoras nas características tecnológicas desses produtos. Portanto, é interessante estudar o efeito da adição de colágeno extraído de pés de frango em salsichas de frango durante o armazenamento.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

A realização do presente estudo constou de três etapas, conforme apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Etapas de condução do estudo de extração de colágeno e sua utilização em salsichas de frango com substituto de gordura



4.2 MATÉRIA-PRIMA, INSUMOS E LOCAL DO EXPERIMENTO

Os pés de frango foram adquiridos em frigoríficos do município de João Pessoa, proveniente de frangos da linhagem Cobb, com idade entre 42 e 47 dias. Para a fabricação das salsichas, foram utilizados carne de peito e coxa de frango, doadas pela empresa Mauricéa Alimentos (Nazaré da Mata/PE). Os reagentes utilizados na pesquisa foram de grau analítico. Foi utilizada água ultrapura para o preparo das soluções. O colágeno hidrolisado (Germina[®], Parnamirim/RN, Brasil) utilizado foi adquirido no comércio local.

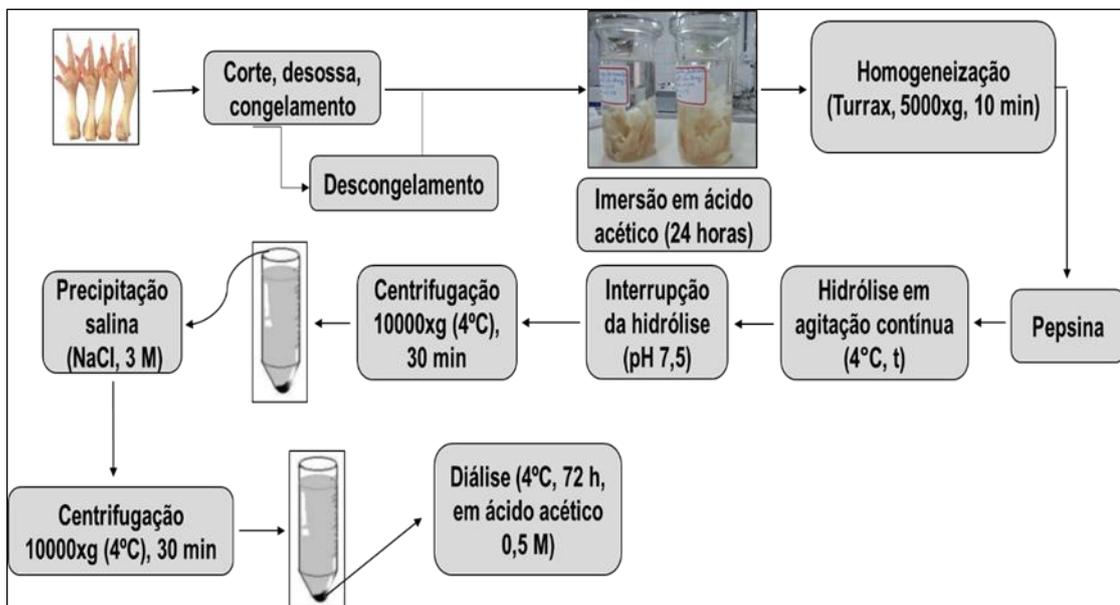
A produção das salsichas foi realizada no Laboratório de Produtos Cárneos, do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – Campus III. A extração do colágeno e as análises foram realizadas no Laboratório de Análise Química de

alimentos (LAQA), do Departamento de Engenharia de Alimentos, pertencente ao Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba – Campus I.

4.3 EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO COLÁGENO EM PÉS DE FRANGO

Os pés de frango foram desossados, cortados em cubos de aproximadamente 1,5 cm de aresta, e submetidos á extração do colágeno através de um processo de extração ácida e hidrólise enzimática (Figura 5), conforme metodologia adaptada de Shimokomaki et al. (1981) e Simões et al. (2014).

Figura 5 - Esquema de extração de colágeno de pés de frango



No processo de extração, inicialmente os cubos de pés de frango foram imersos em ácido acético a 0,3 mol/L por 24 horas, na proporção de 1:10 (p/v), para o desprendimento do colágeno dos tecidos. Após esse tempo, homogeneizou-se o material em Turrax (IKA, modelo T25) por 10 minutos a 5000 g. À mistura obtida, foi adicionada 1%, de pepsina suína para realização da hidrólise, mantendo-se a temperatura de 4°C por 12 horas.

Para interromper o processo de hidrólise, o pH da mistura foi elevado para 7,5, com NaOH 1 mol/L, e esta foi centrifugada por 30 minutos a 10.000 g, a 4°C. Após desprezar o precipitado, o sobrenadante obtido foi precipitado com NaCl até concentração de 3 mol/L e novamente centrifugou-se a mistura a 10.000 g por 30 minutos, à temperatura de 4°C. Depois de descartar o sobrenadante, o precipitado obtido foi dialisado por 72 horas em solução de

ácido acético 0,5 mol/L, com troca diária de solução. O teor de colágeno precipitado e dialisado foi obtido através da quantificação do colágeno pelo teor de hidroxiprolina (AOAC, 2006).

Além da determinação da hidroxiprolina, o colágeno obtido pela aplicação deste processo de extração foi submetido às análises de umidade, cinzas, proteínas (AOAC, 2006), além da determinação de lipídeos pelo método de Folch et al. (1957). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.4 PROCESSAMENTO DAS SALSICHAS

Para o presente estudo, três formulações de salsichas foram elaboradas, com variações da procedência do colágeno e na quantidade de gordura adicionada. As formulações de cada um dos tratamentos bem como o fluxograma das etapas do processamento das salsichas estão apresentados na Tabela 1 e Figura 6, respectivamente.

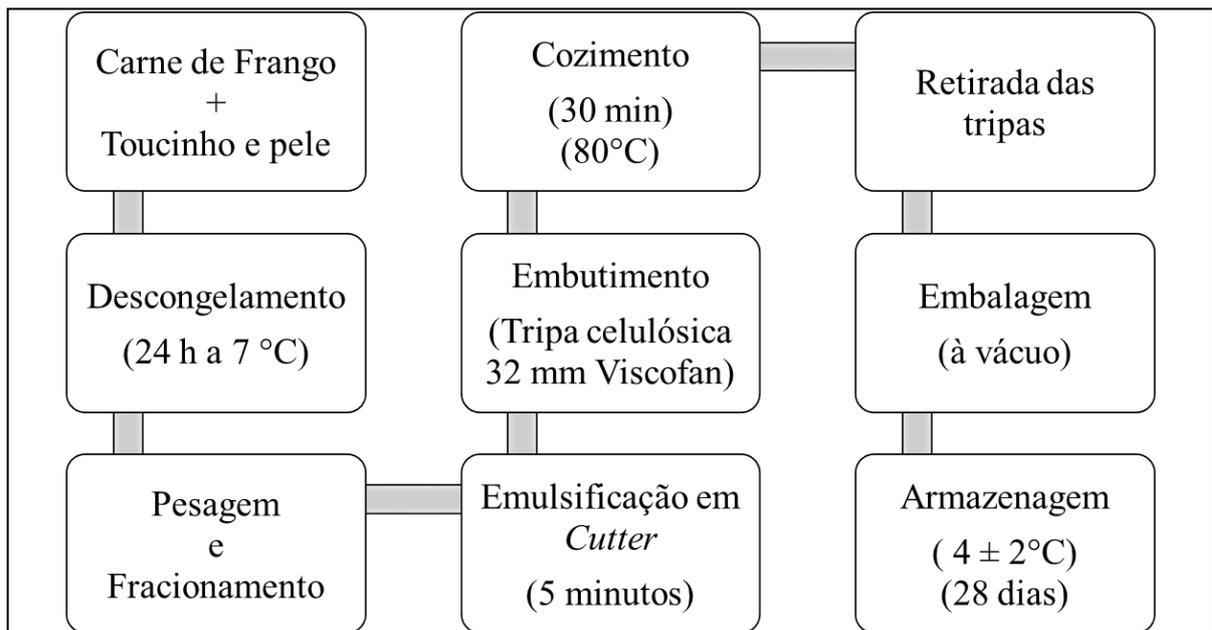
- Formulação SS - **salsicha controle**, sem adição de colágeno e sem redução do teor de gordura (adição de 100% gordura da pele e toucinho);
- Formulação SCP - salsicha com redução de 50% do teor de gordura, através da substituição por **colágeno extraído de pés de frango**, através de processo ácido e enzimático;
- Formulação SCH - salsicha com redução de 50% do teor de gordura, através da substituição por **colágeno comercial** (Germina[®], Parnamirim/RN, Brasil).

Tabela 1 - Formulação salsicha de frango adicionada de colágeno extraído de pé de frango e colágeno comercial.

Ingredientes	Quantidade (%)		
	Salsicha Padrão	SFCH	SFCP
Peito de frango	35	35	35
Coxa de frango	30	30	30
Pele de frango	7	7	7
Toucinho	8	4	4
Colágeno de pés de frango	-	-	4
Colágeno hidrolisado	-	4	-
Água gelada	15	15	15
Sal comum	1,5	1,5	1,5
Nitrito de sódio	0,02	0,02	0,02
Eritorbato de sódio	0,05	0,05	0,05
Tripolifosfato de sódio	0,23	0,23	0,23
Pimenta branca	0,2	0,2	0,2
Coentro em pó	0,1	0,1	0,1
Glutamato	0,4	0,4	0,4
Alho em pó	0,5	0,5	0,5
Noz moscada	0,1	0,1	0,1
Cebola em pó	0,5	0,5	0,5
Amido	1,4	1,4	1,4

¹ SS – formulação controle, sem adição de colágeno; SCP – colágeno extraído de pés de frango; SCH – colágeno comercial.

Figura 6 – Fluxograma de processamento das salsichas de frango SS, SCP e SCH



A carne de frango e o toucinho foram descongelados por 24 h em temperatura de 7°C, pesadas, cominuídas e emulsionadas em *cutter*, juntamente com os demais ingredientes por cinco minutos. Em seguida as emulsões foram embutidas com o auxílio de uma embutidora manual em tripa celulósica com diâmetro de 32 mm (Viscofan), amarradas manualmente e cozidas em banho-maria por 80 min, até a temperatura interna atingir 72°C, verificada com termômetro. Após o cozimento, houve a retirada manualmente das tripas e as salsichas foram resfriadas em água fria e embaladas a vácuo. As salsichas foram armazenadas sob refrigeração a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ por 28 dias, sendo submetidas a análises posteriores nos dias 0, 14 e 28. Todo o processamento foi realizado uma única vez.

4.5 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas das três formulações de salsichas de frango foram realizadas em intervalos de 14 dias intercalados até atingir o 28º dia de armazenamento sob refrigeração de $4 \pm 2^\circ\text{C}$. Foram realizadas análises de composição centesimal das salsichas (umidade, cinzas e proteínas) e quantificação do colágeno pelo teor de hidroxiprolina, onde o teor de colágeno é 8 vezes o teor de hidroxiprolina, de acordo com a metodologia pela AOAC (2006). Os lipídios foram dosados seguindo os procedimentos de Folch et al. (1957).

Durante o período de armazenamento, foram realizadas determinações de pH (método no 947.05, descrito pela AOAC, 2000) utilizando o pHmetro digital (QUIMIS, modelo Q-400, São Paulo, Brasil). As análises de cor pelo sistema CIELab, dos parâmetros a^* (intensidade de vermelho), b^* (intensidade de amarelo), L^* (intensidade de luminosidade), utilizando-se nas medições um colorímetro Minolta CR-400, com iluminante D65 e observador a 10° , foram realizadas 4 repetições. A atividade de água foi determinada por leitura direta através do aparelho AQUALAB 4TE (Decagon devices, USA).

A análise da capacidade de retenção de água (CRA) foi realizada segundo a metodologia de Huff-Lonergan; Lonergan (2005), onde aproximadamente 0,5g de amostras foram pesados, comprimidos por um peso de 5 kg por 5 minutos e após a compressão pesadas novamente. Além de tais parâmetros, foi também determinada a estabilidade da emulsão no final da elaboração das salsichas, segundo a metodologia de Horita et al. (2011), que quantificou a perda total de fluido, a perda de água e a perda de gordura da massa cárnea formada, uma vez submetida à cocção à 80°C .

4.6 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

A oxidação lipídica foi quantificada através da determinação do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A determinação do número de TBARS das salsichas foi realizada conforme método proposto por Rosmini et al. (1996), onde as amostras foram homogeneizadas em sulfanilamida 0,5%, ácido tricloroacético (TCA) 10% e água e em seguida, agitadas por 5 minutos para favorecer a extração das TBARS, sendo centrifugados e o sobrenadante filtrado e reagido com ácido tiobarbitúrico 0,02 M. A mistura foi aquecida em banho maria a 100 °C por 35 minutos, resfriada em água fria e a absorbância foi lida a 532 nm. O número de TBARS foi quantificado com o auxílio de uma curva padrão de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) e o resultado foi expresso em mg de malonaldeído (MDA)/kg de amostra.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO E COMPOSIÇÃO DO COLÁGENO HIDROLISADO

Os resultados da composição centesimal dos pés de frango desossados estão apresentados na Tabela 2. Em concordância com Hashim, Ridzwan e Bakar (2014) e Liu, Lin e Chen (2001) foi possível observar que os pés de frango são substratos proteicos, onde o colágeno é a proteína mais abundante, correspondendo a expressivos 97,8% do total de proteínas dos pés de frango, cuja concentração de proteína foi de 17,91 g/100g. O colágeno também corresponde a 79,8% da massa seca dos pés de frango. Enquanto a concentração dos demais componentes da massa seca representam menos de 4,5% do peso total dos pés de frango. O teor de cinzas foi inferior a Hashim et al. e Liu et al. (2001) provavelmente devido ao fato de que os pés de frango do presente estudo foram previamente desossados, o que implica na redução do teor de minerais da matéria-prima.

Tabela 2 - Composição química de pés de frango desossados para a extração de colágeno e valores obtidos da literatura

Componente	Média ± DP	Hashim et al. (2014)	Liu et al. (2001)
Umidade (g/100g)	77,80 ± 0,79	65,08 ± 0,90	62,05 ± 0,60
Cinzas (g/100g)	0,51 ± 0,02	8,16 ± 1,92	5,98 ± 0,37
Lipídeos (g/100g)	3,62 ± 0,63	3,90 ± 1,16	12,04 ± 0,44
Proteínas (g/100g)	18,31 ± 0,93	20,10 ± 0,98	17,42 ± 0,73
Hidroxiprolina (g/100g)	2,24 ± 0,08	Não determinado	Não determinado
Colágeno (g/100g)	17,91 ± 0,33	Não determinado	9,07 ± 0,18

A concentração lipídica apresentou variação entre os autores apresentados na tabela 2, observando-se que no presente estudo e no trabalho de Hashim, Ridzwan e Bakar (2014), ambos relataram baixo teor de lipídeos quando comparados a Liu et al. (2001). Segundo Zienkiewicz et al. (2014) os lipídeos contidos na matéria-prima podem interferir negativamente no rendimento da extração de proteínas, diminuindo o rendimento do colágeno a ser obtido. Além disso, o teor de lipídeos varia em função da alimentação dos frangos. Lara et al. (2006) em estudos com rações suplementadas com diferentes fontes lipídicas em frangos verificaram que a deposição de lipídios está relacionada à alimentação dos animais.

Na Tabela 3 está apresentada a composição centesimal e o teor de hidroxiprolina do colágeno extraído de pés de frango desossados, cujo rendimento da extração foi 37,5%, e do

colágeno comercial hidrolisado, materiais estes que foram utilizados nas formulações das salsichas de frango, isto é, na formulação “SCP” e “SPH” respectivamente. Observou-se elevada umidade e que o teor de proteínas foi superior em 2 vezes o teor de cinzas no colágeno extraído dos pés de frango. Não foi identificada a presença de lipídeos na composição do colágeno extraído, indicando que, uma vez submetida à secagem, o material pode ser considerado um isolado proteico e colagenoso. O colágeno é a proteína mais presente nesse extrato, correspondendo a 63% do total de proteínas e a 27% da massa seca do mesmo.

Tabela 3 - Composição química do colágeno extraído de pés de frango desossados e do colágeno comercial hidrolisado

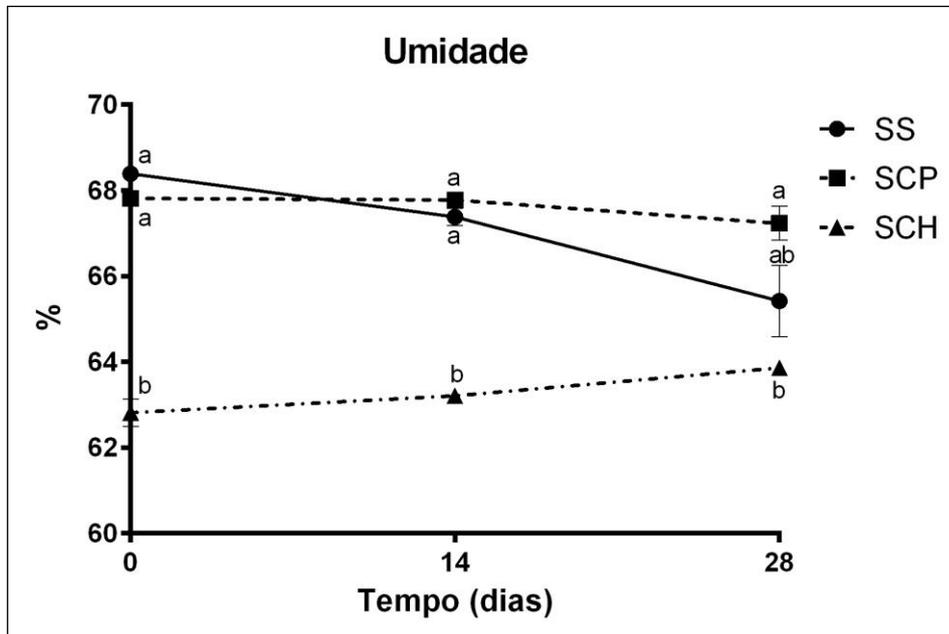
Componente	Média ± DP	
	Colágeno de pés de frango	Colágeno comercial
Umidade (g/100g)	94,73 ± 0,18	9,38 ± 0,09
Cinzas (g/100g)	0,93 ± 0,21	0,57 ± 0,16
Lipídeos (g/100g)	0,00 ± 0,0	0,25 ± 0,02
Proteínas (g/100g)	2,27 ± 0,13	89,41 ± 0,90
Hidroxiprolina (g/100g)	0,18 ± 0,26	6,54 ± 0,15
Colágeno (g/100g)	1,42 ± 0,26	52,32 ± 0,15

Com relação ao colágeno comercial o a umidade representou menos de 10% do peso total da farinha de colágeno. Comparando ao colágeno de pés de frango, apresentou teor de cinzas inferior, porém contém lipídeos, em baixa concentração. O teor de colágeno corresponde a 58,5% do total de proteínas e a 58% da massa seca do mesmo.

5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA DE SALSICHAS DE FRANGO TIPO FRANKFURT COM TEOR DE GORDURA REDUZIDO

Ao longo do armazenamento a umidade de todos os produtos não variaram em função do tempo, como exposto na Figura 7, exceto a perda de umidade da salsicha SS, a partir do dia 14, pois o colágeno é dotado de propriedades gelificantes, boa capacidade de retenção de água (FRANCISCHETTI, 2007). Além disso, a salsicha SCH apresentou o menor teor de umidade, uma vez que o colágeno utilizado em sua formulação era desidratado. Os valores de umidade foram próximos aos encontrados por Pereira et. al., (2011) ao estudar os efeitos da adição de carne de galinha de capoeira desengordurada mecanicamente e de fibras de colágeno nas características de qualidade de salsichas tipo Frankfurt.

Figura 7 - Teor de umidade das salsichas de frango ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração de 4 °C



SS: salsicha padrão; SCP: salsicha com substituição de gordura por colágeno de pés de frango; SCH: salsicha com substituição de gordura por colágeno comercial.

Na Tabela 4 está apresentada alguns dos valores da composição centesimal das salsichas de frango. Ao longo do armazenamento observa-se a redução da concentração do teor de gordura das três formulações. Essa tendência possivelmente está relacionada com o desprendimento de gordura da emulsão para a embalagem, observado visualmente, além da susceptibilidade de oxidação dos compostos lipídicos presentes nas salsichas, que segundo Baer e Dilger (2014) ocorre durante todo o armazenamento.

Tabela 4: Composição química (em base seca) das salsichas ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração 4 °C

Parâmetro (g/100g)	Salsicha ¹	Tempo de Armazenamento (Dias)		
		0	14	28
Gordura	SS	38,60 ± 0,87 aA	24,02 ± 0,10 aB	25,50 ± 2,91 aB
	SCH	25,32 ± 1,44 bA	20,65 ± 0,20 aB	19,06 ± 0,27 bB
	SCP	29,18 ± 1,12 bA	22,09 ± 0,38 aB	19,57 ± 1,28 bB
Cinzas	SS	5,05 ± 0,25 aB	6,70 ± 0,04 aB	9,39 ± 1,23 aA
	SCH	3,90 ± 0,09 bA	6,07 ± 0,01 aA	5,90 ± 0,14 bA
	SCP	6,11 ± 0,24 aA	6,70 ± 0,06 aA	6,34 ± 0,33 bA
Proteínas	SS	55,93 ± 1,21 cB	65,15 ± 0,57 cA	60,63 ± 0,93 cA
	SCH	70,56 ± 0,66 aA	72,73 ± 0,77 aA	73,92 ± 0,68aA
	SCP	63,15 ± 0,12 bB	70,42 ± 1,16 bA	71,25 ± 0,63 bA
Colágeno	SS	1,76 ± 0,04 bA	1,78 ± 0,05 cA	2,41 ± 0,05 aB
	SCH	4,37 ± 0,36 aB	5,93 ± 0,10 aA	2,81 ± 0,23 aC
	SCP	1,83 ± 0,04 bB	3,58 ± 0,08 bA	1,80 ± 0,04 bB

SS: salsicha padrão; SCP: salsicha com substituição de gordura por colágeno de pés de frango; SCH: salsicha com substituição de gordura por colágeno comercial. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

A concentração das cinzas entre as salsichas SCH e SCP, adicionadas de colágeno, diferiu apenas no primeiro tempo de análise. Além disso, conforme apresentado na Tabela 4, observa-se que o comportamento das cinzas foi antagônico ao da umidade, com a redução da umidade da salsicha SS, no tempo 28, houve um aumento do teor deste componente.

Com relação ao teor de proteínas, foi observado que ao longo armazenamento a salsicha SCH apresentou maior concentração de proteínas, seguida da SCP e SS. Quanto ao tempo observou-se o aumento das proteínas, nas salsichas SS e SCP, entre os primeiros 14 dias. Silva et al. (2014), relatou comportamento similar em estudos com chouriço caprino cozido. A redução da umidade provavelmente acarretou consequentemente um aumento na concentração de outros nutrientes, o que pode justificar o aumento do teor de cinzas e proteínas ao longo do armazenamento das salsichas analisadas.

Ainda na Tabela 4, foi observado que a salsicha SS não sofreu variação do teor de colágeno devido ao tempo de armazenamento. Pôde-se verificar que a salsicha SCH apresentou em todos os tempos analisados, a maior concentração dentre todas. Sua maior concentração de colágeno em relação a salsicha SCP pode estar relacionada com a alta umidade presente no colágeno extraído de pés de frango, pois o colágeno comercial foi adquirido na forma desidratada.

5.3 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUALIDADE DAS SALSICHAS DE FRANGO

Conforme exposto na Tabela 5, durante todo o período de armazenamento, a salsicha SCP apresentou pH inferior as demais. Esse fato pode estar relacionado ao uso de ácido acético durante o processo de extração do colágeno dos pés de frango, permitindo à incorporação de resíduos desse ácido a salsicha SCP. As salsichas SS e SCH apresentaram variações de pH entre si e em função do tempo de armazenamento. Além disso, na Tabela 5, é possível notar que inicialmente a salsicha SS, sem redução de gordura, apresenta pH maior que a salsicha SCH, pois a maior concentração de gordura reflete na elevação do pH (PEREIRA, 2011).

Tabela 5 - Valores de pH e de Atividade de Água (Aa) das salsichas ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração 4 °C

Parâmetro	Salsicha ¹	Tempo de Armazenamento (Dias)		
		0	14	28
pH	SS	6,62 ± 0,05 aA	6,43 ± 0,02 bB	6,30 ± 0,02 bC
	SCH	6,45 ± 0,06 bB	6,54 ± 0,02 aA	6,56 ± 0,03 aA
	SCP	5,36 ± 0,02 cA	5,43 ± 0,02 cA	5,18 ± 0,02 cB
Aa	SS	0,98 ± 0,00 aA	0,98 ± 0,01 aAB	0,97 ± 0,00 aB
	SCH	0,97 ± 0,00 bB	0,98 ± 0,00 aA	0,97 ± 0,01 aB
	SCP	0,97 ± 0,00 bA	0,96 ± 0,01 bB	0,96 ± 0,02 aAB

SS: salsicha padrão; SCP: salsicha com substituição de gordura por colágeno de pés de frango; SCH: salsicha com substituição de gordura por colágeno comercial. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Inicialmente as salsichas SCH e SCP apresentaram menores valores de atividade de água (Aa). O aumento da Aa foi diretamente proporcional ao tempo de armazenamento. Além disso, a salsicha SS apresenta maior atividade de água, divergindo dos resultados obtidos por Candogan e Kolsarici (2003) ao avaliar a estabilidade de salsichas de carne bovina de baixo teor de gordura formuladas com goma carragenina e goma carragenina com pectina durante seu armazenamento, onde salsichas com alto teor de gordura apresentaram menor atividade de água. Isto sugere a boa capacidade de formação de gel de compostos que podem ser gerados com a extração do colágeno, como a gelatina, e estarem presentes nas salsichas, diminuindo sua atividade de água (TOLDRÁ *et al.*, 2012).

Na Tabela 6 se encontram listados os parâmetros de cor das salsichas de frango. Ao analisar o parâmetro L*, foi observado que a luminosidade não apresentou relação direta com a substituição parcial da gordura, sendo este resultado similar ao encontrado por Sousa et al., (2016), ao elaborar e analisar salsicha com diferentes níveis de substituição de gordura por colágeno hidrolisado. Neste estudo, a luminosidade de uma das formulações com maior redução de gordura não diferiu da formulação sem a redução de gordura, enquanto o tratamento intermediário diferiu de ambos.

Semelhante ao comportamento observado por Figueiredo et. al (2002), ao estudar a influência de substitutos de gordura na qualidade da salsicha tipo viena, e aos trabalhos de Candogan e Kolsarici (2003), ao avaliar a estabilidade de salsichas de carne bovina de baixo teor de gordura formuladas com goma carragena e goma carragena com pectina durante seu armazenamento, a redução da gordura foi inversamente proporcional a intensidade da cor vermelha (a*), fato este semelhante aos dados de intensidade de vermelho (a*) das salsichas da presente pesquisa (Tabela 6). Além disso, durante o armazenamento observou-se que houve redução da intensidade de a*. O mesmo foi relatado por Amaral et al., (2015) ao estudar o desenvolvimento de uma linguiça frescal de baixo teor de gordura e adicionada com quitosana.

Tabela 6: Parâmetros de cor das salsichas com e sem adição de colágeno ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração 4 °C

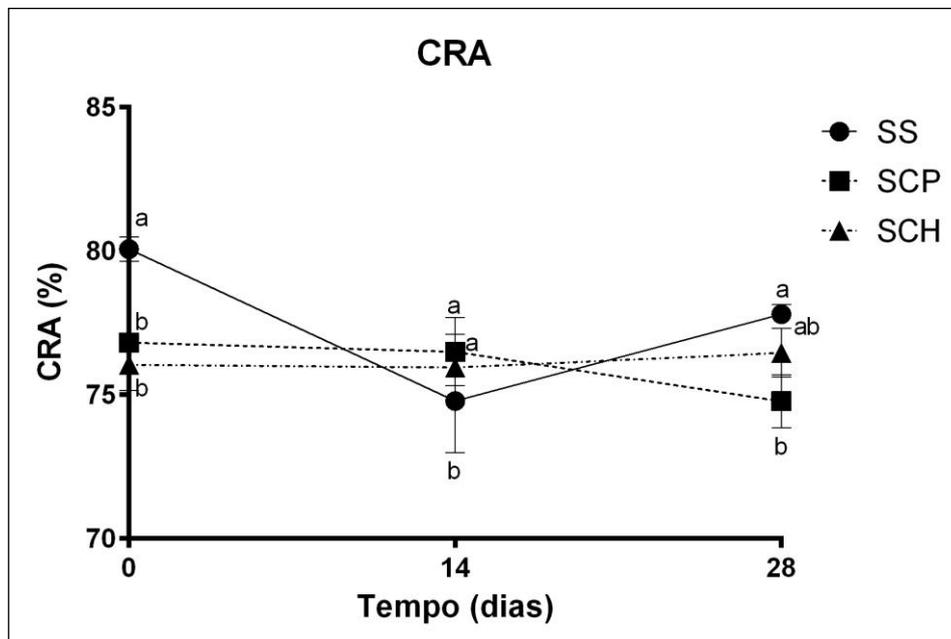
Parâmetro	Salsicha ¹	Tempo de Armazenamento (Dias)		
		0	14	28
L*	SS	74,82 ± 0,08 bB	76,10 ± 0,21 aA	73,71 ± 0,23 bC
	SCH	74,25 ± 0,02 cA	74,14 ± 0,24 bA	73,11 ± 0,09 cB
	SCP	76,45 ± 0,12 aA	74,04 ± 0,17 bB	76,28 ± 0,12 aA
a*	SS	5,72 ± 0,08 cB	6,18 ± 0,08 aA	4,85 ± 0,11 bC
	SCH	6,75 ± 0,02 aA	5,62 ± 0,22 bB	5,35 ± 0,20 aB
	SCP	6,10 ± 0,07 bA	4,77 ± 0,19 cC	5,20 ± 0,19aB
b*	SS	22,71 ± 0,01 bB	24,50 ± 0,17 aA	24,29 ± 0,20 bA
	SCH	23,68 ± 0,15 aB	24,37 ± 0,14 aB	25,43 ± 0,09 aA
	SCP	23,55 ± 0,20 aB	23,05 ± 0,81 bB	25,31 ± 0,56 aA

SS: salsicha padrão; SCP: salsicha com substituição de gordura por colágeno de pés de frango; SCH: salsicha com substituição de gordura por colágeno comercial. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Com relação ao parâmetro b^* (Tabela 6), foi possível notar o acréscimo da intensidade de amarelo em todas as salsichas ao longo do armazenamento. Provavelmente, este aumento resultou do processo de oxidação, que é comum em produtos cárneos, levando a formação de compostos responsáveis pelo ranço, os quais são de coloração amarelada e tendem a aumentar a intensidade de b^* (GARCÍA-ESTEBAN et al, 2004, FERNANDEZ-LOPEZ et al., 2000). Comparando-se as três formulações, observa-se que a salsicha SCP, adicionada de colágeno hidrolisado, apresentou maior intensidade da cor amarela ao longo de todo o armazenamento. Segundo Sousa (2015), isso ocorre provavelmente pela maior intensidade de cor amarela do colágeno hidrolisado, quando comparado ao toucinho.

A Figura 8 diz respeito aos valores de capacidade de retenção de água (CRA), onde houve decréscimo evidente ao decorrer dos primeiros 14 dias de armazenamento na salsicha padrão (SS), enquanto as salsichas SCP e SCH permaneceram estáveis. Amaral (2016) reportou comportamento semelhante em salsichas caprinas adicionadas de quitosana.

Figura 8 - Capacidade de retenção de água das salsichas ao longo de 28 dias de armazenamento sob refrigeração 4 °C



SS: salsicha padrão; SCP: salsicha com substituição de gordura por colágeno de pés de frango; SCH: salsicha com substituição de gordura por colágeno comercial.

Todavia, a salsicha SS (controle) apresentou maior CRA nos tempos inicial e final. Cavestany et al. (1994) relatou comportamento similar ao estudar a substituição parcial de gordura por quitosana em salsicha caprina. Isto ocorre, porque a gordura atua como a fase contínua da emulsão. Logo, concentrações de gordura elevadas e densas, favorecem a formação da estrutura com maior capacidade de retenção de água. Entretanto, no dia 14 o decréscimo da CRA leva a maiores e mais baixos que as salsichas com colágeno, que apresentam perdas mínimas neste intervalo.

Com relação à estabilidade das emulsões cárneas formadas relacionadas aos tratamentos SS, SCP e SCH (Tabela 7), observou-se que a adição de colágeno aumentou a quantidade de fluido liberado da massa após a cocção. Dentre elas, a salsicha SCP liberou menos fluido do que a SCH, sendo mais estável. Outra informação importante obtida foi que a salsicha SCH liberou mais água, enquanto a salsicha SCP liberou mais gordura que a salsicha padrão. Desta forma, a salsicha SS apresentou maior capacidade de reter gordura.

Tabela 7 - Estabilidade da emulsão das salsichas com substituição parcial de gordura por colágeno

Salsicha	Fluido total liberado (%)	Água liberada (%)	Gordura liberada (%)	EE (%)
SS	5,96 ± 3,32 b	5,29 ± 2,99 b	0,66 ± 0,33 b	94,04 ± 3,32 a
SCH	10,19 ± 4,30 a	9,12 ± 3,89 a	1,07 ± 0,41 ab	89,81 ± 4,30 b
SCP	8,15 ± 1,26 ab	6,61 ± 1,02 b	1,55 ± 0,24 a	91,85 ± 1,26 ab

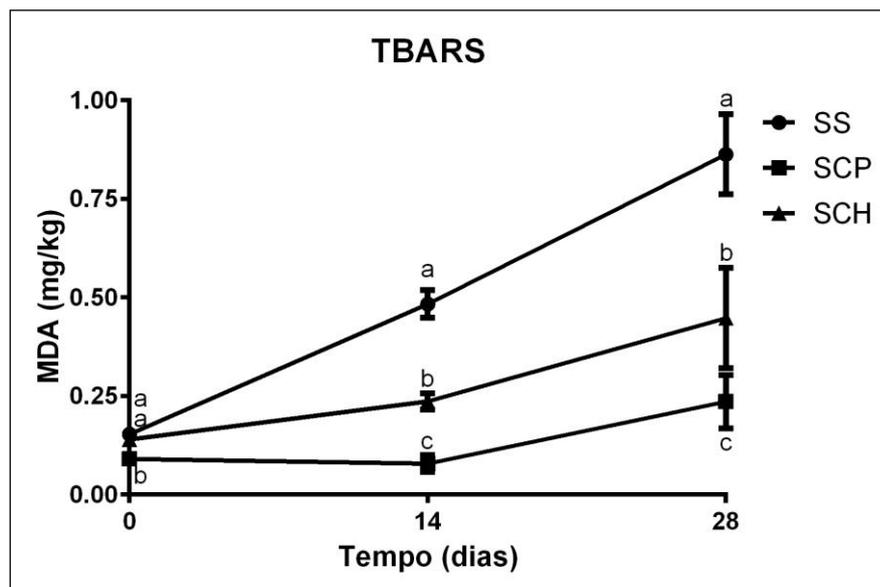
SS: salsicha padrão; SCP: salsicha com substituição de gordura por colágeno de pés de frango; SCH: salsicha com substituição de gordura por colágeno comercial. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Tukey.

Os resultados dos parâmetros de estabilidade da emulsão estão de acordo com os dados obtidos por Horita et al. (2011), os quais citam que maiores quantidades de fluidos liberados podem ser atribuídas à interação do tripolifosfato de sódio, utilizado para aumentar a retenção de água em emulsões, com os minerais presentes na massa, que na salsichas SCP está em maior quantidade (Tabela 4).

5.4 EFEITO DO ARMAZENAMENTO NA OXIDAÇÃO LIPÍDICA DE SALSICHAS

De acordo com a Figura 9, observou-se que a salsicha SCP mostrou-se como a mais estável quanto à oxidação lipídica, com valor de TBARS máximo de valor de $0,24 \pm 0,07$, ao longo do armazenamento sob refrigeração (28 dias). Além disso, devido ao maior conteúdo lipídico, a salsicha SS apresentou-se mais vulnerável á oxidação, a redução da gordura mostrou-se diretamente proporcional a maior estabilidade lipídica. Durante todo o período de armazenamento a salsicha SS apresentou níveis de TBARS maiores que as demais, obtendo no dia 28 valor de TBARS superior aos níveis aceitáveis de 0,5 mg MDA/kg, considerado limite para carnes (BAER E DILGER 2014; CHOI et al., 2010; SEVERINI et al., 2003).

Figura 9 - Número de ácido tiobarbitúrico das salsichas ao longo de 28 dias de armazenamento a temperatura de refrigeração 4 °C



SS: salsicha padrão; SCP: salsicha com substituição de gordura por colágeno de pés de frango; SCH: salsicha com substituição de gordura por colágeno comercial.

Dentre as salsichas com substituição de gordura por adição de colágeno, foi verificado que a salsicha SCH apresentou valores maiores de TBARS do que a salsicha SCP, a qual além de ter menores valores ainda se apresentou estável nos primeiros 14 dias de armazenamento. Esta diferença pode ser atribuída à natureza do colágeno adicionada na formulação. Provavelmente, o colágeno extraído a 4 °C apresenta moléculas em sua estrutura nativa, podendo desempenhar possível atividade antioxidante, assim como propriedades funcionais e tecnológicas (DI BERNARDINI et al, 2011).

6. CONCLUSÃO

A adição de colágeno nas salsichas como substitutos de gordura proporcionou a retirada da gordura e suplementação de proteínas, como também favoreceu as propriedades tecnológicas dos produtos, como menor perda de umidade, que implicou em estabilidade da capacidade de retenção de água, além de menores valores de TBARS.

O aproveitamento de colágeno de pés de frango apresentou-se como uma alternativa a ser melhor apreciada pelos abatedouros de frango, por promover o melhor aproveitamento dos subprodutos na extração de colágeno, utilizando-se assim a mesma linha de processamento.

Com relação ao armazenamento, as três formulações as salsichas apresentaram melhores resultados de qualidade dos parâmetros físico-químicos nos primeiros 14 dias de armazenamento, sendo portanto o tempo ideal para que as mesmas sejam mantidas em refrigeração a 4°C e consumidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEROUMAND, A. “Comparative Study between Different Methods of Collagen Extraction from Fish and Its Properties”, **World Applied Science Journal**, v. 16, p. 316–319, 2012.

AMARAL, D. S.; CARDELLE-COBAS, A.; NASCIMENTO, B. M. S.; MONTEIRO, M. J.; MADRUGA M. S.; PINTADO M. M. E. Development of a low fat fresh pork sausage based on chitosan with health claims: impact on the quality, functionality and shelf-life. **Food Function** v. 6, p. 2768–2778, 2015.

AMARAL, D. S.; CARDELLE-COBAS, A.; NASCIMENTO, B. M. S.; MADRUGA M. S.; PINTADO M. M. E. Goat sausages containing chitosan towards a healthier product: microbiological, physico-chemical textural evaluation. **Food & Function**, v. 7, p. 4020-4029, 2016.

ALMEIDA, P. F.; ARAÚJO, M. G. O.; SANTANA, J. C. C. Collagen extraction from chicken feet for jelly production. **Acta Scientiarum Technology**, 34, 345-351, 2012.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington: APHA. p. 676, 2001.

ANDRADE, J. C. Aspectos de qualidade para caracterização de salsichas comerciais. Dissertação de mestrado em Alimentos e Nutrição. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

AOAC. **Official methods of analysis**. Washington D C: Association of Official Analytical Chemists (1018 pp.), 2000.

ANVISA. Resolução-RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b>. Acesso em: 12 de setembro de 2016.

AOAC. **Official methods of analysis of association of official analytical chemists**. 18th ed. Maryland, United States: Association of Official Analytical Chemists, 2006.

ARAÚJO, J. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2ª ed. Viçosa: editora UFV, p.335, 1995.

BAER, A. A.; DILGER, A. C. Effect of fat quality on sausage processing, texture, and sensory characteristics. **Meat Science**, n. 96, p. 1242–1249, 2014.

BANNISTER, D. W.; BURNS, A. B. Pepsin treatment of avian skin collagen. **Biochemical Journal**, v. 129, p. 677–681, 1972.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n. 30691, de 29 de março de 1952- Aprova o novo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal- **Diário Oficial da União**, Brasília, 07 de julho de 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 04 de 31 de março de 2000. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne mecanicamente

separada, de mortadela, de lingüiça, de salsicha. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, DF, 05 abr 2000, Seção 1, p. 6-10.

BRINCKMANN, J.; NOTBOHM, H.; & MÜLLER, P. K. Collagen. **Primer in structure, processing and assembly**. Berlin, Germany: Springer, ed. 1, cap. 2, 2005.

BUENO, Camila Moraes Marques. Extração e caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa. 2008. 133 f. **Dissertação (Mestre em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas**, Campinas, 2008.

CANDOGAN, K. KOLSARICI N. Storage stability of low-fat beef frankfurters formulated with carrageenan or carrageenan with pectin. **Meat Science** v. 64 p. 207–214, 2003.

CAVESTANY, M.; COLMENERO, F. J.; SOLAS M.; CARBALLO, T. J. Incorporation of sardine surimi in Bologna sausage containing different fat levels. **Meat Science**, v.38, p. 27–37, 1994.

CHOI, Y.; CHOI, J.; HAN, D.; KIM, H.; LEE, M.; JEONG, J.; CHUNG, H.; KIM, C. Effects of replacing pork back fat with vegetable oils and rice bran fiber on the quality of reduced-fat frankfurters. **Meat Science**, v. 84, p. 557–563, 2010.

DAMIAN, C.; BEIRÃO L. H.; FRANCISCO A.; ESPÍRITO SANTO, M. L. P.; TEIXEIRA, E. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alim. Nutr.** Araraquara v. 16, n. 2, p. 195-205, abr./jun. 2005.

DIAMANTINO, I.M. Efeito de substitutos de gordura na qualidade de queijo Prato com reduzido teor de gordura. **Dissertação (mestrado em Engenharia e Ciências de alimentos). Universidade Estadual Paulista, Inst. De Biociências, Letras e Ciências Exatas. São José do Rio Preto**, 2011.

DI BERNARDINI, R., HARNEDY, P., BOLTON, D., KERRY, J., O'NEILL, E., MULLEN, A. M. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1296-1307. 2011.

DUONSEILLE, A.; ASTRUC, T.; QUINTANA, N.; MEERSMAN, F.; SANTE-LHOUELIER, V. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: a review. **Food Hydrocolloids**. v. 43, p. 360-376, 2015.

FONTANA, E. B.; VAZ, A. C.; ZANOTELLI, C.; YAMAGUCHI, M. O estudo da carne mecanicamente separada de aves (CMS) na qualidade da salsicha. In: **Encontro Anual de Iniciação Científica Universidade Estadual de Maringá**, 11, 2002, Maringá. Anais... Maringá: PIBIC/CNPq, 2002. CD-ROM.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo; p. 371 1985.

FERRARO, V.; ANTON M.; SANTÉ-LHOUELIER, V. The “sisters” α -helices of collagen, elastin and keratin recovered from animal by-products: Functionality, bioactivity and trends of application. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 65-75, 2016.

FERREIRA, M. F. Extração e caracterização de gelatina proveniente de subprodutos do frango: pés. **Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, para a obtenção do título de Engenheiro de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Campo Mourão.** p. 3-4, 2013.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497, 1957.

FRANCISCHI, R.P.P.; PEREIRA, L.O.; FREITAS, C.S.; KLOPFER, M.; SANTOS, R.C.; VIEIRA, R.C.; LANCHÁ JÚNIOR, A.H. Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.13, n.1, p.17-28, jan/abr 2000.

HARTMAN, L., LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practice**, London, v.22, p.475-476, 1973.

HASHIM, P., RIDZWAN, M. S. M., BAKAR, J. Isolation and characterization of collagen from chicken feet. **International Journal of Biological, Agricultural, Biosystems, Life Science and Engineering**, v. 8, p. 231-235, 2014.

HORITA, C.N. MORGANOB, M. A.; CELEGHINIA, R. M. S.; POLLONIO, M. A. R. Physico-chemical and sensory properties of reduced-fat mortadella prepared with blends of calcium, magnesium and potassium chloride as partial substitutes for sodium chloride. **Meat Science**, v. 89, p. 426–433, 2011.

Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat Science**, 71(1), 194e204.

KEETON, J.T. Low-fat meat products –technological problems with processing. **Meat Science**, v.36, p.261- 276, 1994.

KOOLMAN, Jan; RÖHM, Klaus-Heinrich. **Bioquímica: texto e atlas.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KUO HUE, Chau. **O mercado de Frios no Brasil: Uma Estimção de Demanda a partir de um modelo em Três Estágios.** Dissertação de mestrado. Escola de Economia de São Paulo da Fundação Getúlio Vargas, São Paulo, 2011.

LARA, L. J. C.; BAIÃO, N. C.; AGUILAR, C. A. L.; CANÇADO, S. V.; FIUZA, M. A.; RIBEIRO, B. R. C. Rendimento, composição e teor de ácidos graxos da carcaça de frangos de corte alimentados com diferentes fontes lipídicas. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v.58, p.108-115, 2006.

LI, F.; JIA, D.; YAO, K. Amino acid composition and functional properties of collagen polypeptide from yak (*Bos grunniens*) bone. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 945–949, 2009.

LIN, Y. K., LIU, D. C. Effects of pepsin digestion at different temperatures and times on properties of telopeptide-poor collagen from bird feet. **Food Chemistry**, v. 94, p. 621-625, 2006.

- LIU, D. C., LIN, Y. K., CHEN, M. T. Optimum condition of extracting collagen from chicken feet and its characteristics. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.14, p. 1638-1644, 2001.
- MARTINS, Cleverson A. F.; MIGUEL, Marilis D.; ZANIN, Sandra M. W. Utilização de material colagenoso e gorduroso extraído de peles de frango na indústria alimentícia, cosmética e de sabão. **Visão Acadêmica.**, Curitiba, v.10, n.2, jul/dez, 2009.
- MARTINS, F. M. M.; TALAMINI, D. J. D.; NOVAES, M. Avicultura: situação e perspectivas brasileira e Mundial. **EMBRAPA**, 2006.
- MELO, D. de C.; ALCÂNTARA, R. L. C. Desafios identificados na Gestão da Demanda em cadeias de suprimentos agroalimentares. **In: XVI Simpósio de Engenharia de Produção, Botucatu, 2009. Anais. Botucatu, SP, 2009.**
- MERMEL, V. L. Old paths new directions: the use of functional foods in the treatment of obesity. **Food Sci. Technol.**, v. 15, p. 532-540, 2004.
- OCKERMAN, H.W., HANSEN, C.L. **ANIMAL By-Product Processing and Utilization, Technomic Pub. ed. 1 Co., Inc., Lancaster, PA. , 2000.**
- PADILHA, A. C. M.; LEAVY, S.; SAMPAIO, A.; JERÔNIMO, F. B. Gestão ambiental de resíduos da produção na Perdigão Agroindustrial S/A - Unidade Industrial de Serafina Corrêa – RS. **In: XLIII Congresso da Sober, Ribeirão Preto, 2005. Anais Ribeirão Preto, SP, 2005.**
- PARKS, L.L.; CARPENTER, J.A. Functionality of six nonmeat proteins in meat emulsion systems. **Journal of Food Science**, v.52, p.271-274, 278, 1987.
- PEREIRA, A. G. T. RAMOS, E. M. R.; TEIXEIRA, J. T.; CARDOSO, G. P.; RAMOS, A. L. S.; FONTES, P. R. Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. **Meat Science** n. 89, p. 519–525, 2011.
- PEREIRA, A. G. T.; CARDOSO, G. P.; TEIXEIRA, J. T.; RAMOS, E. M.; RAMOS, A. L. S. R.; FONTES, P. F. Composição proximal, teor de colágeno e aceitação sensorial de salsichas elaboradas com carne mecanicamente separada de frango e fibra de colágeno. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 7, n. 1, p. 131-148, 2016.
- PEREZ-TAMAYO, R. Pathology of Collagen Degradation. **American Journal of Pathology**, v. 92, p. 509–566, 1978.
- PRESTES, R.C. Colágeno e Seus Derivados: Características e Aplicações em Produtos Carneos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 15 p. 65-74, 2013.
- RAJU, A. A.; ROSE, C.; MURALIDHARA RAO, N. Enzymatic hydrolysis of tannery fleshings using chicken intestine proteases. **Animal Feed Science Technology**, v. 66, p. 139–147, 1997.

ROSMINI, M.R.; PERLO, F.; PÉREZ-ALVARES, A.; PAGÁN-MORENO, M.J.; GAGO-GAGO, A.; LÓPEZ-SANTOVEÑA; ARANDA-CATALÁ, V. TBA test by an extractive method applied to 'paté'. **Meat Science**, v.42, n.1, p.103-110, 1996.

SADER, Márcia Soares. Fosfato tricálcico substituído por magnésio e compósito magnésio – carbonato apatita – colágeno aniônico como potencial substituto ósseo. 2010. 73 f. **Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – Instituto Alberto Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2010.

SANTOS, L. V. Emulsificantes – modo de ação e utilização nos alimentos. Trabalho acadêmico (Curso de Bacharelado em Química de Alimentos) - **Universidade Federal de Pelotas**, Pelotas, 2008.

SANTOS, F. F. **Qualidade bacteriológica de pés de frangos de corte em diferentes etapas do processamento tecnológico**. 2010. 70 f. Dissertação (Mestre em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

SENA, Lídia Ágata. Produção e caracterização de compósitos hidroxiapatita-colágeno para aplicações biomédicas. 2004. Tese (Doutorado em Ciências em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – **Instituto Alberto Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa em Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, 2004.

SEVERINI, C.; DE PILLI, T.; BAIANO, A. Partial substitution of pork backfat with extra-virgin olive oil in 'salami' products: Effects on chemical, physical and sensorial quality. **Meat Science**, v. 64, p. 323–331, 2003.

SHIMOKOMAKI, M., DUANCE, V. C. BAILEY, A. J. Identification of two further collagenous fractions from cartilage. **Bioscience reports**, v. 1, p. 561-570, 1981.

SIMÕES, G. S. SILVEIRA, E. T. F., OLIVEIRA, S. R., POLEZE, E., ALLISON, J. R. D., IDA, E. I., SHIMOKOMAKI, M. Optimum conditions for extracting collagen from the tunica albuginea of immunologically castrated pig testes and the functional properties of the isolated collagen. **Meat Science**, v. 96, p. 1460-1468, 2014.

SILVA, F.A.P.; AMARAL, D.S.; Guerra, I.C.D.; ARCANJO, N.M.O.; BEZERRA, T.K.A.; FERREIRA, V.C.S.; ARAÚJO, I.B.S.; DALMÁS, P.S.; MADRUGA, M.S. Shelf life of cooked goat blood sausage prepared with the addition of heart and kidney. **Meat Science**, 97, 529–533, 2014.

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, I. B. S. Quality parameters of frankfurter-type sausages with partial replacement of fat by hydrolyzed collagen. **LWT - Food Science and Technology**. Article in press, p. 1-6, 2016.

TANAKA, M. C. Y., SHIMOKOMAKI, M. Collagen types in mechanically deboned chicken meat. **Journal of Food Biochemistry**, v. 20, p. 215-225, 1996.

TOLDRÁ, F.; FLORES, M. The use of muscle enzymes as predictors of pork meat quality. **Food Chemistry**, v. 69, p. 387–395, 2000.

USHIKI, T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. **Archives in Histological Cytology**. v. 65, p. 109-126, 2002.

WASZKOWIAK, K.; DOLATA, W. The application of collagen preparations as carriers of Rosemary extract in the production of processed meat. **Meat Science**, v. 75, p. 178-83, 2007.

ZIENKIEWICZ, A.; REJÓN, J. D.; DIOS ALCHE, J.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M. I.; CASTRO, A. J. A protocol for protein extraction from lipid-rich plant tissues suitable for electrophoresis. **Methods of Molecular Biology**. v. 1072, p. 85-91, 2014.