

# Colágeno e Seus Derivados: Características e Aplicações em Produtos Cárneos

## Collagen and Its Derivatives: Characteristics and Applications in Meat Products

Rosa Cristina Prestes\*\*

<sup>a</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, RS, Brasil

\*E-mail: rosacristinaprestes@hotmail.com

Recebido: 27 de março de 2012; Aceito: 30 de maio de 2012

### Resumo

Há um crescente interesse pelo processo de extração do colágeno e seus derivados industriais devido à tendência de utilização desta proteína em substituição aos agentes sintéticos nos mais diversos processos industriais, permitindo uma maior valorização dos subprodutos do colágeno. A partir do colágeno nativo podem ser obtidos a fibra de colágeno, o colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) e o colágeno hidrolisado. Cada um destes derivados apresenta características próprias que são dependentes da matéria-prima, processo de extração (químico ou enzimático) e do tempo e temperatura de obtenção. Devido ao elevado teor protéico, capacidade de absorção de água e por ser uma proteína presente na própria carne, o emprego de colágeno e seus derivados é uma alternativa interessante para indústria de carnes, principalmente em produtos isentos ou com teor reduzido de gordura ou ainda como substituto de proteínas vegetais. Mesmo com a utilização de colágeno em baixos níveis a maioria dos estudos relata uma melhoria nas características dos produtos cárneos, principalmente textura e capacidade de retenção de água. No entanto, poucos trabalhos exploram as diferenças no processo de obtenção de colágeno e seus derivados e a influência destes nas características dos produtos cárneos. O foco desta revisão é abordar os principais aspectos do colágeno e seus derivados, as diferenças no processo de extração e características do produto final e as aplicações destes em produtos cárneos.

**Palavras-chave:** Colágeno. Gelatina. Indústria Alimentícia. Produtos da Carne.

### Abstract

*There is growing interest in the process of extraction of collagen and its derivatives due to the industrial trend of using this protein as a substitute for synthetic agents in various industrial processes, allowing a greater appreciation of byproducts of collagen. Some products such as collagen fiber, partially hydrolyzed collagen (gelatin) and hydrolyzed collagen can be obtained from the native collagen. Each of these derivatives has characteristics that are dependent on raw material extraction process (chemical or enzymatic) and the temperature and time of production. Due to the high protein content, water absorption capacity and because it is a protein present in the meat, the use of collagen and its derivatives is an interesting alternative to the meat industry, especially in fat-free and reduced-fat products or as replacement of plant proteins. Even using low levels of collagen the majority of studies have reported an improvement in the characteristics of meat products, especially texture and water holding capacity. However, few studies explore the differences in the process of obtaining collagen and its derivatives and the influence of these characteristics in meat products. The focus of this review is to address the main aspects of collagen and its derivatives, the differences in the extraction process and the final product characteristics and applications in meat products.*

**Keywords:** Collagen. Gelatin. Food Industry. Meat Products.

### 1 Introdução

O colágeno é a proteína dominante no tecido conjuntivo sendo encontrado sob várias formas em tecidos de todas as espécies de organismos multicelulares, exercendo funções diversas dependendo de sua localização<sup>1,2</sup>. Além disso, é o maior responsável pela textura da carne e dos produtos cárneos<sup>3</sup>.

O termo colágeno deriva das palavras gregas *Kolla* (cola) e *Genno* (produção) e literalmente tem sido empregado como matéria-prima na produção de cola animal<sup>4</sup>. O colágeno constitui cerca de 30% de toda a matéria-prima orgânica do corpo dos animais e 60% das proteínas totais do corpo<sup>5</sup>. O termo “colágeno” é atualmente utilizado para denominar uma família de pelo menos 27 isoformas de

proteínas encontradas em tecidos conjuntivos ao longo do corpo, como nos ossos, tendões, cartilagem, veias, pele, dentes e músculos<sup>2,6</sup>.

O colágeno é classificado em estriado (fibroso), não fibroso (formador de rede), microfibrilar (filamentoso) e associado às fibrilas. A unidade básica do colágeno é o tropocolágeno que é formado por três cadeias de polipeptídeos que se entrelaçam em formato helicoidal formando uma molécula linear com 180nm de comprimento, 1,4 a 1,5nm de largura e massa molar de 360.000Da<sup>6</sup>. As moléculas de tropocolágeno são estabilizadas pelas interações hidrofóbicas e eletrostáticas<sup>2</sup>.

O colágeno tipo I é o mais abundante e pode ser encontrados na pele, tendões, ligamentos e ossos. Este colágeno é uma proteína macromolecular constituída de três

cadeias polipeptídicas (duas  $\alpha_1$  e uma  $\alpha_2$ ) que estão sob a forma helicoidal em sua porção central e nas extremidades amínica e carboxilica permanecem na forma globular<sup>7</sup>. Nas porções globulares localizam-se as pontes cruzadas intermoleculares que estabilizam a estrutura das fibrilas colagenosas o que, como consequência, resulta em alteração da textura (enrijecimento) da carne na medida em que o animal envelhece<sup>8</sup>.

Segundo Junqueira e Carneiro<sup>9</sup>, nos colágenos I e II as moléculas de tropocolágeno se juntam através de pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas e ligações covalentes para formar as fibrilas. Nos colágenos tipos I e III as fibrilas se associam para formar fibras. Para o colágeno tipo I, a formação de fibras ocorre em pH 7,0, quando ocorre a máxima interação eletrostática entre as moléculas de tropocolágeno fazendo com que a resultante de cargas na molécula seja zero (colágeno nativo)<sup>10</sup>.

No tipo II (presente na cartilagem) há formação de fibrilas, mas não de fibras. O colágeno IV presente na membrana basal não forma fibras nem fibrilas. Neste colágeno ocorre uma associação peculiar formando uma trama complexa<sup>9</sup> e sua estrutura é composta por uma tripla hélice de duas cadeias polipeptídicas  $\alpha_1$  (Tipo IV) e uma  $\alpha_2$  (Tipo IV). O tamanho da cadeia é de 340nm, sendo altamente reticulada por pontes dissulfeto.

A tripla hélice contém 100 resíduos de aminoácidos de composição variada. Esta diversidade de composição de aminoácidos das cadeias  $\alpha$  leva à classificação de pelo menos quatro tipos de colágeno principais, porém em cada um dos tecidos pode haver mais de um tipo de colágeno<sup>11</sup>. No colágeno tipo I, uma cadeia de polipeptídeos comum apresenta aproximadamente 1.014 resíduos de aminoácidos com uma sequência repetida ao longo da cadeia de  $(\text{Gly-X-Y})_n$ . Gly é o aminoácido glicina, X quase sempre é prolina e o Y, hidroxiprolina ou hidroxilisina. Podem ocorrer aproximadamente 334 repetições desta sequência e a estrutura primária pode chegar a aproximadamente 100.000 Da<sup>12,13</sup>. Os outros aminoácidos são formados por hidroxilação pós-translacional de prolina e lisina pela prolil hidroxilase e pela lisil hidroxilase, respectivamente<sup>2,6</sup>.

Segundo Wong<sup>11</sup> a sequência de aminoácidos do colágeno mostra que a maior parte da cadeia polipeptídica está formada por 44% (Gly-X-X), 20% (Gly-X-I), 27% (Gly-I-X) e (Gly-I-I). Onde I é prolina ou hidroxiprolina e X é outro aminoácido que pode estar presente. Em geral o colágeno contém cerca de 30% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina, 10% de hidroxiprolina, 1% de hidroxilisina e pequenas quantidades de aminoácidos polares e carregados. A glicina, prolina e alanina são aminoácidos alifáticos e a lisina é um aminoácido com características básicas<sup>2</sup>.

O teor de hidroxiprolina é usado como parâmetro para

estabelecer a quantidade de colágeno na carne e produtos cárneos<sup>3</sup>. A prolina e hidroxiprolina são responsáveis pela estrutura secundária do colágeno e pela estabilidade da tripla hélice. Uma menor quantidade ou a falta de hidroxiprolina faz com que o colágeno perca a conformação de tripla hélice quando submetido à elevação da temperatura<sup>13</sup>. O teor de hidroxiprolina é importante para a propriedade de gelificação. Também estão presentes no colágeno, hidrocarbonetos como galactose e glicose ligada nos resíduos de hidroxilisina via grupo funcional do aminoácido hidroxil<sup>12</sup>.

Estudos da estrutura indicam que a cadeia lateral de cada resíduo de glicina, composta por um átomo de hidrogênio, é direcionada para o centro da espiral da hélice. Devido ao tamanho reduzido do átomo de hidrogênio em comparação a outros aminoácidos, a glicina é o único aminoácido cuja cadeia é levemente torcida em relação à outra, o que permite uma ponte de hidrogênio entre a amida polipeptídica do hidrogênio de um resíduo de glicina com o oxigênio carbonila do resíduo X adjacente, em outra cadeia. A presença de prolina e de hidroxiprolina em intervalos frequentes ao longo da sequência impede que a cadeia adote a forma clássica de  $\alpha$ -hélice por causa das limitações possíveis dos ângulos dos resíduos<sup>2</sup>.

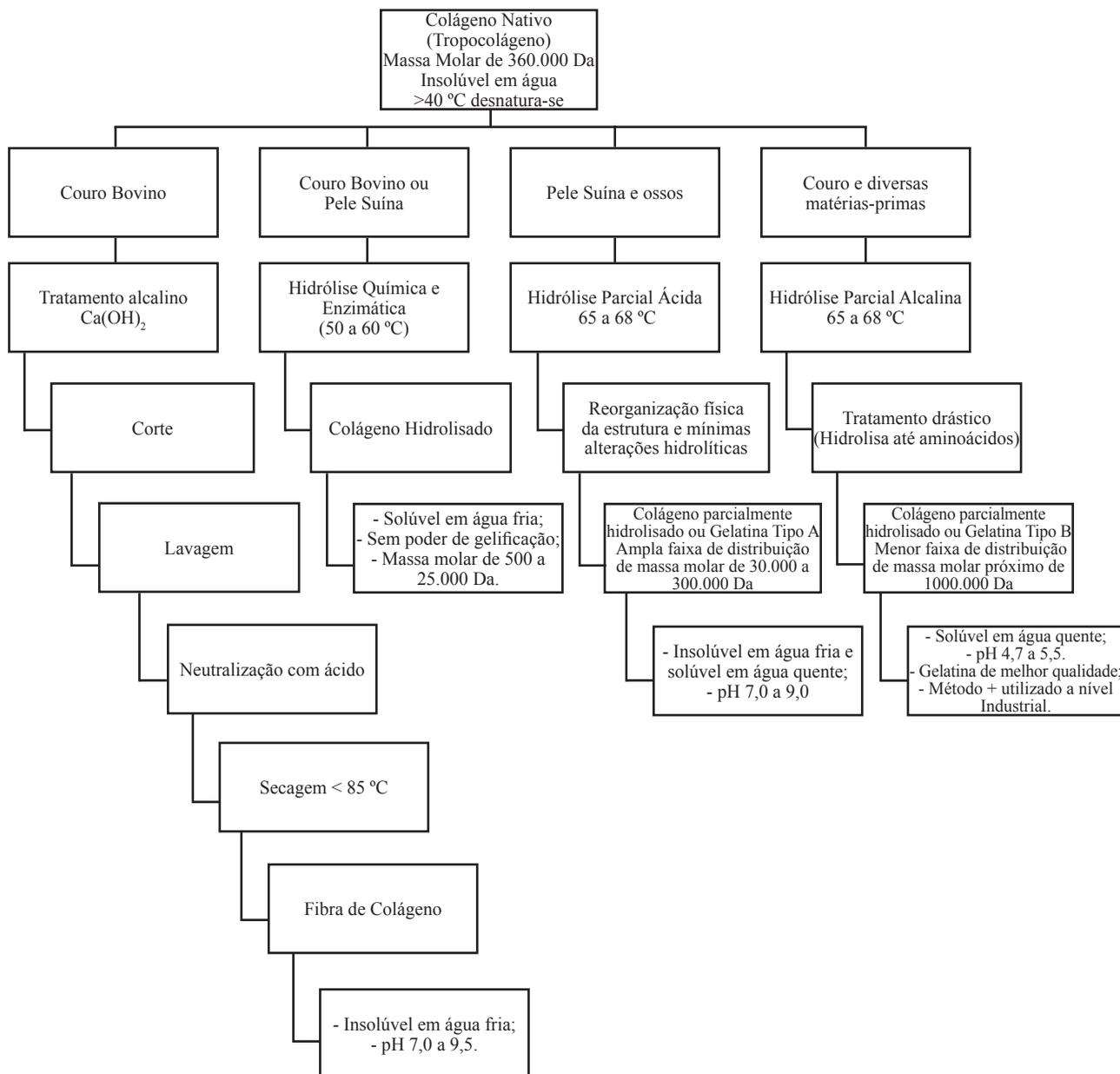
A predominância dos aminoácidos glicina, prolina, alanina, hidroxiprolina e hidroxilisina e ausência da maioria dos aminoácidos essenciais (não há triptofano e as concentrações de metionina, cistina e tirosina são muito baixas) fazem com que o colágeno seja considerado pobre para a dieta humana<sup>5,14</sup>. Entretanto, segundo Ziegler<sup>15</sup>, o valor nutricional da gelatina, bem como do colágeno hidrolisado só é estabelecido quando consumido em combinação com outra proteína ou misturas de proteínas, usados com a finalidade de suplemento proteico, aumentando assim seu valor nutritivo.

O objetivo desta revisão foi abordar os principais aspectos do colágeno e seus derivados, as diferenças no processo de extração e características do produto final e as aplicações em produtos cárneos.

## 2 Desenvolvimento

### 2.1 Derivados de colágeno nativo

A partir do colágeno nativo (tropocolágeno) podem ser obtidos: fibra de colágeno, colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina) e colágeno hidrolisado, como pode ser observado na Figura 1. Do ponto de vista químico, o colágeno e a gelatina (colágeno parcialmente hidrolisado) são compostos por grandes cadeias de aminoácidos ligados por ligações peptídicas e que contêm grupos funcionais ácidos e básicos<sup>5</sup>. Para fins de produção industrial, a gelatina é obtida a partir da matéria-prima por hidrólise parcial via ácida e alcalina e o colágeno hidrolisado é obtido por hidrólise química e enzimática sob condições controladas<sup>12,16</sup>.



Fonte: Adaptado de Damoradan *et al.*<sup>2</sup>, Ockerman e Hansen<sup>5</sup>, Deman<sup>6</sup>, Schrieber e Gareis<sup>12</sup>, Novaprom<sup>17</sup>

**Figura 1:** Diagrama de fluxo de obtenção de fibra de colágeno, colágeno hidrolisado e colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina)

Conforme Stainsby *apud* Gómez-Guillén *et al.*<sup>18</sup>, o colágeno nativo insolúvel é convertido na forma adequada para a extração através do aquecimento acima de 45 °C. Um pré-tratamento químico é utilizado para quebrar as ligações não-covalentes e desorganizar a estrutura da proteína para produzir um adequado inchamento e solubilização do colágeno. O tratamento de aquecimento subsequente quebra as ligações de hidrogênio e ligações covalentes, desestabilizando a tripla-hélice e resultando em um estado de transição entre colágeno e gelatina. O grau de conversão de colágeno depende do pré-tratamento realizado e do processo de extração (pH, tempo e temperatura). A presença de prolina e hidroxiprolina em adequadas proporções no produto final é importante, pois estabilizarão a tripla hélice através de pontes de hidrogênio<sup>19</sup>.

Gómez-Estaca *et al.*<sup>20</sup> mencionaram que uma proporção

de aproximadamente 33% de glicina e 22% de prolina é característica da presença de colágeno tipo I e que a provável disposição das cadeias  $\alpha$  é Gly-X-Y (onde X é prolina e Y é hidroxiprolina). Entretanto, Olivo e Shimokomaki<sup>4</sup> encontraram uma proporção de apenas 18,13%  $\pm$  2,10 de glicina para fibra de colágeno bovino onde foi identificada a presença de colágeno tipo I. Segundo estes mesmos autores a presença de glicina em menor proporção indica que existem outras proteínas presentes no colágeno.

Segundo estudos<sup>13,18</sup> a sequência glicina-prolina-hidroxiprolina é um dos fatores que afeta a termoestabilidade do colágeno porque a hidroxiprolina e prolina são responsáveis pela estabilidade da tripla hélice através de ponte de hidrogênio<sup>19</sup>. Uma vez que o processo de produção de colágeno e gelatina envolve a destruição da estrutura terciária,

secundária (tripla hélice) e, em alguns casos, da estrutura primária (cadeia  $\alpha$ ) da macromolécula do colágeno<sup>21</sup> ocorre fragmentação e formação de pequenas cadeias<sup>22</sup>.

Schrieber e Garreis<sup>12</sup> mencionam que, além da composição de aminoácidos, a presença de cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  e os respectivos fragmentos de maior e menor massa molar são responsáveis pelas características da gelatina. Segundo Karim e Bhat<sup>22</sup> no processo de resfriamento as cadeias podem retroceder e formar novas estruturas em tripla hélice embora não necessariamente com as mesmas características da tripla hélice do colágeno nativo. Essa re-formação de nova triplas hélices é necessária para o processo de geleificação.

## 2.2 Fibra de colágeno

Segundo Santana *et al.*<sup>23</sup> e Máximo e Cunha<sup>24</sup>, a fibra de colágeno é um novo ingrediente obtido do colágeno nativo através das camadas internas do couro bovino provenientes do fibroblasto (célula que origina o colágeno que está presente no tecido conjuntivo). A fibra passa por processo químico (tratamento alcalino com hidróxido de cálcio), posterior desengorduramento e secagem a baixas temperaturas. A fibra tem tamanho de partícula entre 1,80 a 1,92mm e por isso não pode ser injetada.

## 2.3 Colágeno hidrolisado

O colágeno hidrolisado é extraído da pele ou de ossos de animais devidamente inspecionados, em água de 50 a 60 °C ou utilizando-se enzimas<sup>24</sup>. Trata-se de uma proteína natural derivada do colágeno nativo, encontrado na pele e ossos (particularmente de bovinos, suínos, aves e peixes)<sup>16</sup>. A diferença em relação ao colágeno nativo é que estas proteínas são solúveis em água ou em salmoura e apresentam elevado conteúdo proteico (84 a 90%). Sua utilização deve-se pela capacidade de retenção de água e alto teor proteico<sup>25</sup>.

Em função do método de extração utilizado, as frações obtidas podem apresentar propriedades de gelificação distintas, entretanto, segundo Damoradan *et al.*<sup>2</sup>, preparações com colágeno com massas molares menores que 20.000Da não podem formar géis. A distribuição de massa molar, estrutura, composição e subsequente características e propriedades funcionais dependem das condições de processamento, matéria-prima e especificidade da enzima utilizada na obtenção de colágeno hidrolisado. O controle da distribuição da massa molar do colágeno hidrolisado é um meio de assegurar o controle do processo de fabricação.

## 2.4 Colágeno parcialmente hidrolisado (gelatina)

A gelatina é uma proteína solúvel em água obtida pela hidrólise controlada (65 °C a 68 °C) do colágeno (tecido conectivo branco fibroso) que inicialmente é insolúvel em água<sup>2,5,6,26</sup>. Existem três tipos de gelatina:  $\alpha$ , com uma massa molar de 80.000 a 125.000 Da;  $\beta$ , com massa molar de 160.000 para 250.000 Da; e  $\gamma$ , com massa molar de 240.000 a 375.000 Da<sup>27</sup>. Comercialmente se misturam as gelatinas

para obtenção de produtos com determinadas aplicações industriais<sup>5</sup>.

Gelatina é um ingrediente barato, comumente utilizado para reter água e como agente de gelificação com mínimo valor nutricional. O objetivo na elaboração de gelatina é controlar a hidrólise do colágeno e converter o produto resultante em um material solúvel com propriedades físicas e químicas desejáveis, entre elas a consistência do gel, aderência, cor e transparência<sup>5</sup>. A gelatina forma geis reversíveis induzidos por frio que são estabilizados por ligações de hidrogênio. No entanto, a dissociação e a agregação do colágeno em gelatina solúvel necessitam de umidade e calor prolongados<sup>2</sup>. Os geis formados pela gelatina podem ser considerados como um retorno parcial das moléculas para um estado ordenado<sup>28</sup>.

A conversão de tropocolágeno em gelatina requer a quebra das ligações de hidrogênio que estabilizam a tripla hélice, transformando-a em uma configuração ao acaso que é característica da gelatina. O produto hidrolisado depende das ligações cruzadas entre as cadeias peptídicas e os grupos reativos livres amino ou carboxílicos terminais que se formam.

Dado que as três cadeias não são idênticas, depois da degradação resultam três tipos novos de cadeias: a cadeia  $\alpha$  (composta de apenas uma cadeia peptídica), as cadeias  $\beta$  (formadas por duas cadeias peptídicas entrelaçadas) e as cadeias  $\gamma$  (formadas por três cadeias interconectadas). A gelatina conterà, portanto várias massas molares<sup>5</sup>. A distribuição das massas molares da gelatina determinará características como dispersabilidade em água, viscosidade, aderência e resistência do gel.

Quanto maior a concentração de moléculas de baixa massa molar, menor a viscosidade e a resistência do gel. Este efeito se deve à exposição do colágeno e da gelatina a temperaturas elevadas ou a uma acidez ou alcalinidade elevadas; também pode ser influenciado pela qualidade da matéria-prima e tempo de maceração em álcali<sup>12</sup>.

O processo de transformação de colágeno em gelatina envolve as três seguintes alterações: ruptura de um número limitado de peptídeos, ruptura ou desorganização das ligações entre as cadeias laterais e mudança na configuração da cadeia. A última delas é a única mudança fundamental para conversão de colágeno em gelatina<sup>6,21</sup>.

As condições empregadas durante a produção de gelatina determinam suas características. Se há uma ruptura extensa de peptídeos, muitos resíduos laterais podem permanecer intactos e fragmentos solúveis são produzidos. Se muitas ligações laterais são destruídas, as moléculas de gelatina podem ter comprimentos de cadeia relativamente longos. Assim, há uma grande variedade de gelatinas. O retorno a uma estrutura altamente organizada não é possível. Uma gelatina de alta qualidade tem uma massa molar de 60.000 a 80.000Da<sup>12</sup>.

Quando a gelatina é colocada em água fria absorve 5 a 10 vezes seu próprio peso em água e incha. Quando este material é aquecido acima do ponto de fusão, entre 27 °C e 34 °C, a gelatina dissolve-se inchando-se. Este estado de

transformação sol-gel é reversível. Imeson<sup>27</sup> descreveu que o mecanismo de formação de gel envolve a reversão de uma estrutura de bobina para hélice. Após o resfriamento, as regiões ricas em ácido imino de diferentes cadeias formam uma estrutura helicoidal, que é estabilizada por ligações de hidrogênio. Então ocorre a formação do gel tridimensional da matriz.

As principais matérias-primas da indústria de colágeno e gelatina são a pele suína, couro bovino e ossos. Nos EUA, a elaboração da gelatina comestível utiliza basicamente a pele suína. A matéria-prima é pré-tratada durante 8 a 12 semanas submersas a 15 °C a 20 °C em uma solução de 2 a 5% de hidróxido de cálcio, neutralização ou ação de ácido mineral diluído (< 5%, pH 3,5 - 4,5) durante 24 a 48 horas a temperatura ambiente, seguida de lavagem<sup>11,12</sup>. O processo alcalino é utilizado amplamente para o pré-tratamento do couro bovino e o processo ácido para o tratamento da pele suína. A gelatina obtida pelo método ácido é denominada Tipo A e pelo método básico é do Tipo B. O tratamento despolimeriza o colágeno, rompendo as ligações cruzadas inter e intramoleculares<sup>11</sup>. Os dois tipos de gelatina diferem em sua viscosidade e na capacidade de combinar com hidrocoloides carregados negativamente, como exemplo a carragena<sup>6</sup>. A gelatina Tipo B é considerada de melhor qualidade, pois apresenta uma distribuição de massa molar mais próxima de 100.000Da e cadeias ligeiramente ramificadas. Dependendo da aplicação tecnológica ou objetivo, a gelatina Tipo A ou Tipo B poderão apresentar melhor ou pior desempenho.

Em produção normal, as peles e ossos são extraídos em primeiro lugar, em condições relativamente suaves, seguidas por extrações sucessivas em condições mais severas. Essencialmente, o processo consiste em três etapas fundamentais: separação do colágeno do resto dos componentes da matéria-prima com a mínima alteração possível, hidrólise controlada do colágeno para sua conversão em gelatina, recozimento e dessecação do produto final. É necessária uma hidrólise controlada para converter o colágeno (cuja massa molar oscila entre 345.000 e 360.000Da) em gelatina (com uma margem de massa molar de 10.000Da a 65.000Da, e só em alguns casos chegando a 250.000Da).

Uma hidrólise prolongada provoca redução dos rendimentos e das propriedades desejáveis. A origem (ossos, peles, tendões, etc) e as condições da matéria-prima (pH, presença de gordura, etc) podem influenciar o produto final<sup>5</sup>. A extração a temperaturas elevadas segue rompendo as ligações cruzadas, no entanto, sobretudo, destrói as pontes de hidrogênio que são fundamentais na chave da estabilidade da estrutura do colágeno<sup>11</sup>.

## 2.5 Processos de extração de colágeno

Apesar de sua longa história de uso ao redor do mundo, o processo de produção da gelatina ainda é mal compreendido pois envolve a complexidade do sistema de conversão do colágeno em gelatina. A fabricação de gelatina promove a

destruição da estrutura terciária, secundária e, em algum grau, a estrutura primária da molécula de colágeno nativo. Esta degradação depende do processo (alcalino ou ácido) bem como da intensidade dos processos de extração e purificação. As gelatinas comerciais são misturas heterogêneas de peptídeos com uma distribuição de massa molar variando de milhares a milhões de Dalton<sup>21</sup>.

Geralmente a gelatina ou colágeno parcialmente hidrolisado é classificada conforme o processo de obtenção. A gelatina Tipo A é obtida por método ácido e a Tipo B é obtida por processo básico. As diferenças no processo levam a variações no valor de pH e propriedades e funcionalidade da gelatina obtida<sup>29</sup>. Na sequência serão detalhadas as etapas do processo e características dos produtos obtidos com base nos dados encontrados na literatura, sendo: pré-tratamento da matéria-prima, processo ácido ou básico, extração propriamente dita, purificação, concentração, esterilização e secagem.

## 2.6 Pré-tratamento da matéria-prima

Conforme a origem da matéria-prima (ossos, peles, etc) esta seguirá por processos diferentes para obtenção dos maiores rendimentos no processo. Todas as matérias-primas devem ser obtidas e mantidas em condições higiênicas e processadas rapidamente. Para os ossos, o processamento consiste na moagem (0,5cm) e posterior desengorduramento por lavagem com água a ~90 °C por 30 min com agitação mecânica para remoção dos resíduos de carne presentes. Posteriormente, o produto passa por secagem com ar quente em secadores contínuos, peneiramento e classificação. Seguem para a etapa de maceração ou desmineralização (tratamento com 4 a 6% de ácido clorídrico por 7 dias a ~20 °C), onde o cálcio é solubilizado e, posteriormente, separado por precipitação. O final da maceração resulta no material proteico chamado osseína. Esse processo pode ser realizado em autoclaves (140 °C por 20 min) para reduzir o tempo de processo<sup>12,27</sup>.

A pele suína é separada da gordura e posteriormente processada. Já para o couro bovino, o processo consiste em um tratamento alcalino para inchamento e separação das camadas internas do couro (ricas em colágeno) e, posteriormente, é realizada a etapa de corte.

A osseína, a pele suína e as camadas internas do couro seguem para o tratamento químico suave (ácidos e bases altamente diluídos) onde o colágeno é submetido a uma hidrólise parcial que mantém as cadeias de colágeno intactas. Este tratamento quebra as ligações cruzadas e evita a saponificação da gordura. Nesta etapa, podem ser adicionadas enzimas ou produtos químicos para obtenção de produtos com características diferenciadas. Ao final desta etapa, o colágeno pode seguir para o pré-tratamento por processo ácido ou alcalino e posteriormente para extração.

## 2.7 Processo ácido (Gelatina Tipo A)

Aplica-se principalmente para pele suína e ossos. No processo ácido, ocorre uma reorganização física da estrutura

do colágeno com um mínimo de alterações hidrolíticas. Como consequência, há um ligeiro aumento dos grupos amino primários e dos grupos carboxílicos livres<sup>5</sup>. O processo consiste em tratamento por 24 horas em ácido sulfúrico 2 a 4% a temperatura ambiente com ou sem auxílio da agitação mecânica. Após o tratamento ácido o pH é elevado pela adição de álcali<sup>12</sup>.

O método ácido é o menos eficaz, porém uma vez que a pele suína apresenta colágeno com menor grau de ligações inter cruzadas este método torna-se adequado<sup>11</sup>. A massa molar dos produtos obtidos é de 70.000 a 90.000Da. As gelatinas obtidas de pele suína apresentam géis mais transparentes e melhor cor do que as obtidas de couro bovino pelo processo alcalino. Segundo Ockermann e Hansen<sup>5</sup> a gelatina obtida no processo ácido mantém muitas ligações cruzadas do colágeno. Os autores sugerem que este tipo de produto seja chamado de colágeno hidrolisado solúvel.

## 2.8 Processo alcalino (Gelatina Tipo B)

É o sistema mais empregado comercialmente. Qualquer material com colágeno (peles, nervos e osseína dos ossos) pode ser processado através desta técnica. A alcalinidade faz com que as substâncias distintas do colágeno como queratina, globulinas, mucopolissacarídeos, elastina, mucina e albuminas se modifiquem, tornando-se mais solúveis. Os lipídeos se convertem em produtos polares. Com isso, quando submetidos à lavagem, estes produtos são facilmente removidos<sup>12</sup>.

O processo alcalino consiste em tratamento do material com hidróxido de sódio em concentração variada, à temperatura de 20 °C, podendo levar de alguns dias a até quatro meses.

O processo promove alterações químicas (reações hidrolíticas) no colágeno e o processo térmico tem a função de romper as ligações que mantêm a estrutura fibrilar do colágeno. Este procedimento libera amônia que é proveniente dos grupos amino do colágeno. Depois deste processo, as fibras ficam inchadas e a coesão interna se reduz, possibilitando a ruptura de certas ligações peptídicas e a introdução de novos grupos iônicos nas moléculas.

Alguns grupos específicos se rompem, dando lugar à hidrólise das ligações cruzadas (despolimerização) que mantêm as unidades de tropocolágeno. Assim, as ligações intramoleculares são mantidas nas unidades básicas e o produto solubiliza-se facilmente em água. O processo alcalino pode gerar moléculas ligeiramente ramificadas com massas molares de 10.000 a 60.000Da<sup>5</sup>.

O tratamento alcalino hidrolisa também a glutamina e a asparagina, uma vez que o ponto isoelétrico da gelatina preparada por este processo é de aproximadamente pH 5,0, em contraste com a gelatina obtida pelo método ácido (pH ~ 9,0)<sup>11</sup>. A gelatina extraída pelos dois processos segue para as etapas de filtração, evaporação, esterilização e dessecação para obtenção de um produto final pulverulento<sup>12</sup>.

A estabilidade térmica do colágeno está relacionada com

seu conteúdo de aminoácidos (prolina e hidroxiprolina). Quanto mais elevado o conteúdo de aminoácidos maior é a estabilidade das hélices. O colágeno se desnatura a temperaturas superiores a 40 °C, gerando uma mescla de espécies com uma, duas ou três cadeias polipeptídicas enroladas ao acaso<sup>11</sup>. O resfriamento controlado (abaixo da temperatura de fusão) conduz a recuperação de uma estrutura helicoidal.

A gelificação da gelatina dissolvida permite um retorno da estrutura do colágeno por parte das moléculas desorganizadas da gelatina. No entanto, a gelatina comercial tem uma composição e uma estrutura heterogênea relacionada às condições do processo de obtenção e matéria-prima. A gelatina pode conter cadeias polipeptídicas de massas moleculares de aproximadamente 30.000 a 300.000Da. A obtenção pelo método alcalino contém mais grupos carboxílicos do que a obtida pelo tratamento ácido<sup>11,12</sup>. A nucleação que afeta as seções ricas em aminoácidos proporciona zonas de união para estabelecimento de uma rede tridimensional de gel. Durante o resfriamento posterior, se produz um ordenamento adicional via ligações intra e interquaternárias<sup>11</sup>.

Para Wong<sup>11</sup>, o enrolamento e repregueamento dão origem a um retorno da estrutura típica do colágeno e isto reforça a rigidez do gel. O resultado é, essencialmente, uma rede aberta formada através da associação de cadeias nas zonas de união, ricas em grupos amino, reforçadas por regiões nas quais se tem reconstituída a estrutura helicoidal do colágeno.

## 2.9 Extração

A extração pode ser contínua ou em batelada. O processo em batelada consiste em dissolver o colágeno em água entre 50 °C e 100 °C por períodos de 4 a 7 horas. O processo é realizado com agitação e, ao final do processo, obtém-se uma solução com 3 a 7% de gelatina. A hidrólise aumenta conforme o aumento da temperatura e as ligações peptídicas são quebradas. No processo contínuo, muito utilizado para couro bovino, a matéria-prima pré-tratada é continuamente alimentada com água em processo contracorrente, permitindo, portanto, matérias-primas em fases de extração diferentes. Este processo ocorre em pH baixo (2 a 3). Após a extração ocorre o processo de purificação<sup>12,27</sup>.

## 2.10 Purificação

Na etapa de purificação, são realizadas as etapas de filtração e clarificação com objetivo de separar a gordura da solução aquosa da gelatina e separar os sólidos. São utilizados filtros de terra diatomácea e filtros de celulose. Também são retirados os sais minerais para atender o teor de cinzas final de 2 a 3%. A técnica de ultrafiltração e nanofiltração são técnicas que podem ser empregadas nesta etapa<sup>12,27</sup>.

## 2.11 Concentração, esterilização e secagem

Após a purificação, a solução de gelatina, que apresenta cerca de 95% de água, é encaminhada para evaporadores para

redução da umidade. Filtros de membranas também podem ser utilizados com tamanhos de poro de 0,05 microns. Na sequência, o concentrado é esterilizado em trocador de calor ou através de vapor direto. No processo de secagem, a água residual é removida suavemente com ar (inicialmente a 30 °C e 15% UR e, no final, ~ 60 °C e alta UR). A umidade final é de 10 a 12%. Após a secagem, ocorre o processo de moagem e peneiramento para padronização do produto<sup>12,27</sup>.

## 2.12 Características da gelatina

A gelatina é praticamente insípida e inodora, sólida com aspecto vítreo, com densidade relativa de 1,3 a 1,4 kg.L<sup>-1</sup>. A umidade pode variar de 7 a 15%, de acordo com o grau de secagem e o conteúdo de cinzas deve ser inferior a 2%<sup>5</sup>.

A coloração da gelatina é alterada conforme o aumento da temperatura no processo de extração uma vez que ocorre reação de Maillard entre as proteínas e os carboidratos presentes no material. As gelatinas Tipo A tem ponto isoelétrico entre 7 e 9 e do Tipo B entre 4,7 a 5,5. Através de modificações no processo, podem ser obtidas gelatinas com ponto isoelétrico intermediário entre os tipos A e B. As diferenças de massa molar podem influenciar diretamente nas propriedades físicas<sup>12</sup>. Além disso, a gelatina pode ter caráter anfótero, ou seja, dependendo do pH pode apresentar características negativas ou positivas.

As propriedades funcionais da gelatina podem ser divididas em dois grupos. O primeiro grupo são as propriedades gelificantes (força de gel, viscosidade, espessamento, texturização e ligação de água) e o segundo grupo referem-se às propriedades de superfície, ou seja, estabilização e formação de emulsão, formação de espuma, formação de filme, coesão e adesão.

A formação do gel ocorre devido a pontes de hidrogênio que fazem com que as moléculas de gelatina se agrupem em micelas, formando um produto semi-sólido que se liga com a água. As gelatinas comerciais oscilam de 50 a 300g (*Bloom*)<sup>5,12</sup>.

A resistência do gel (*Força de Bloom*) é definida como uma medida de dureza, consistência, firmeza e compressibilidade de um gel a determinada temperatura, avaliada através da carga em g (gramas) requerida para produzir uma depressão no gel em condições normais. A resistência do gel também depende da concentração e da massa molar. Diferentes tipos de gelatina resultam em diferentes tipos de força de gel. O valor de *Bloom* está correlacionado com a massa molar do colágeno, portanto alto valor de *Bloom* resulta em géis mais firmes.

## 2.13 Aplicações de colágeno em produtos cárneos

Pesquisas com utilização de colágeno para melhorar Capacidade de Retenção de Água - CRA, mostraram que, mesmo em baixos níveis, este ingrediente é um efetivo estabilizante, contribuindo para melhoria do sabor e da suculência de produtos cárneos<sup>30</sup>. Embora alguns estudos não

sejam concordantes, a adição de colágeno geralmente aumenta a dureza e a suculência de salsichas<sup>31</sup>. Os estudos do colágeno iniciaram na década de 30, mas vêm se intensificando nos últimos trinta anos, especialmente no desenvolvimento de aplicações e na abordagem nutricional<sup>32</sup>. Sua utilização se deve à capacidade de retenção de água, propriedades geleificantes e alto teor proteico<sup>25</sup>. Segundo Daigle *et al.*<sup>33</sup> a utilização de colágeno pode aumentar o teor de umidade, gordura e proteínas de produtos cárneos.

No Brasil, os estudos de Olivo<sup>34</sup> revelaram que o colágeno participa beneficentemente em emulsões cárneas na faixa de 15% a 18% em relação à fração proteica ou aproximadamente 2% em relação ao peso total da massa. Acima desse teor, apesar de continuar auxiliando na textura, o colágeno passa a prejudicar a estabilidade da massa, principalmente em sistemas com alto teor de gordura.

Segundo Olivo e Shimokomaki<sup>4</sup>, devido às propriedades como extensor, umidificante, emulsificante, melhorador de textura e valor nutritivo, o colágeno tem grande potencial de aplicação na indústria de alimentos. Na indústria de carnes as potencialidades funcionais do colágeno poderiam ser mais bem aproveitadas em produtos reestruturados e emulsionados, conferindo melhor desempenho tecnológico e econômico. Segundo Della Torre<sup>35</sup>, são conhecidos poucos detalhes sobre o exato mecanismo de interação do colágeno com outros ingredientes em emulsões cárneas.

A aplicação de colágeno hidrolisado em produtos cárneos pode constituir uma alternativa para incrementar a ingestão de colágeno pelo consumidor moderno, criando uma oportunidade para a indústria frigorífica introduzir produtos cárneos funcionais<sup>25</sup>. Devido às suas características e propriedades tais como baixa viscosidade em solução aquosa, odor neutro, incolor, transparência, propriedades emulsificantes e estabilizantes, formação de espuma e filmes, solubilidade, dispersibilidade, molhabilidade, compressibilidade, transportador de substâncias e baixa alergenicidade, o colágeno apresenta numerosas aplicações industriais<sup>16</sup>.

As principais funcionalidades do colágeno hidrolisado em carnes são: aumento da retenção de água, melhoria de textura, melhoria da retenção de gordura, aumento do rendimento após cozimento, melhoria do fatiamento, nenhuma interferência na cor natural do produto ao qual é adicionado e diminuição da exsudação de líquidos em produtos frescos<sup>17,32</sup>. Geralmente os produtos cárneos adicionados de colágeno tornam-se mais macios<sup>14</sup>.

Michellini *et al.*<sup>32</sup> estudaram o uso de colágeno hidrolisado a uma concentração de 4,89%, como substituto de gordura em hambúguer bovino e observaram que o colágeno hidrolisado influenciou na cor, tornando-a mais clara e atribuindo certo amarelamento ao produto. O produto desenvolvido foi considerado macio, porém a avaliação sensorial foi negativa. As perdas observadas no cozimento chegaram a 36,80% e o mesmo estudo sugeriu a utilização de colágeno em pó em

associação com a fibra.

Segundo Almeida *et al.*<sup>30</sup>, as concentrações de proteína dos produtos cárneos adicionados de colágeno aumentam a partir da adição de 3,63%, demonstrando incorporação do colágeno no gel cárneo formado. Uma vez que o colágeno retém umidade no cozimento observa-se maior teor de umidade final nos produtos elaborados com este ingrediente<sup>3</sup>.

Li<sup>36</sup> avaliou o emprego de 6% de colágeno proveniente de galinhas de descarte em presunto cozido. A adição deste ingrediente conferiu maior dureza, sugerindo que as proteínas de pequeno tamanho, quando adicionadas, afetaram a textura dos presuntos, o que foi verificado pelo aumento da dureza de 11,96 para 16,91 N. As perdas durante o cozimento foram reduzidas de 21,3% para 19,75%. A adição deste extrato não provocou diferença nas propriedades de adesividade, elasticidade, coesividade e mastigabilidade.

Para Sams<sup>37</sup>, o colágeno adicionado em formulações pode ter efeito negativo, provocando encolhimento especialmente quando estes produtos são submetidos às altas temperaturas ou podendo interferir na liga dos pedaços de carne em produtos formados. Entretanto, Della Torre<sup>35</sup> relata que o uso de colágeno em carnes processadas é geralmente limitado, pois no aquecimento as moléculas de colágeno tendem a encolher-se e gelatinizar, o que resulta na liberação de gel e gordura do produto. Karim e Bhat<sup>22</sup> sugerem a mistura de colágeno com polissacarídeos como uma alternativa para melhorar a estabilidade ao aquecimento.

A indústria processadora tem utilizado colágeno em produtos *low fat* em substituição à gordura, pois ele tende a melhorar a textura excessivamente dura dos produtos com teor reduzido de gordura. A aceitação sensorial dos produtos adicionados de níveis elevados de colágeno diminui enquanto que a suculência do produto aumenta, sugerindo que o colágeno interage na matriz proteica ao invés de prejudicar.

Em emulsionados, o colágeno pode aumentar o rendimento e rigidez, entretanto, teores elevados podem reduzir a estabilidade da massa causando liberação de gordura e gelatina. Também ocorre redução da cor vermelha devido à diluição da mioglobina.

Fibras de colágeno foram adicionadas em produtos reestruturados de frango com baixo teor de gordura na proporção de 2% e 20% de água, proporcionando uma textura mais macia e permitindo adição de altos níveis de água<sup>38</sup>. Bueno<sup>31</sup> utilizou fibra natural de colágeno em concentrações de 0,1% a 0,3% em cortes bovinos. A fibra de colágeno atuou favoravelmente no aumento da capacidade de retenção de água, que sofreu decréscimo quando o nível de injeção foi alto (>20%). Teores maiores de 0,14% de fibra de colágeno na formulação injetada promoveram um aumento acentuado nos valores de força de cisalhamento observados no músculo Tríceps braquial. A adição de até 0,2% de fibra de colágeno em um processamento onde os níveis de injeção foram de 14% ou menores possibilitou um alto rendimento para o processamento de carne cozida congelada elaborado com o

músculo Tríceps braquial sem a utilização de tripolifosfato de sódio.

Prestes<sup>39</sup> estudou os efeitos da adição de amido modificado, colágeno hidrolisado e goma guar em presunto de peru. O colágeno continha frações superiores a 10.000Da e foi testado nas concentrações de 0 a 2%. Os resultados foram insatisfatórios para perdas e os presuntos tiveram baixa aceitação devido à formação de gel. Com base nos resultados encontrados, sugeriram-se novas pesquisas utilizando a associação de colágeno na forma de fibra e colágeno hidrolisado para melhorar o desempenho deste ingrediente. Neste mesmo trabalho, os resultados mostraram que a adição de colágeno hidrolisado alterou a composição, características físicas e qualidade do produto final. Menores concentrações de colágeno indicaram menores perdas por congelamento e reaquecimento e menor sinerese no produto durante armazenamento. Os produtos desenvolvidos foram considerados iguais ao produto comercial em relação à textura ( $p < 0,05$ ).

Daigle *et al.*<sup>33</sup> estudaram a utilização de colágeno de peru em produto elaborado com peito de peru classificado como PSE. Foram testados 1,50% colágeno de peru e 1,50% de proteína de soja nas amostras trituradas em cubos de 2,5 x 2,5mm. Os produtos apresentaram sinerese de 3,01% após 48 h a 4 °C e umidade expressível (determinação que corresponde a CRA) de 18,3%. Para proteína de soja, a sinerese foi de 3,34% e umidade expressível de 20,2%. No que diz respeito à cor, a utilização de colágeno e soja reduziu a\* e aumentaram b\* e não houve diferença na aceitabilidade do produto pelos provadores. A utilização de colágeno e soja foi efetiva na redução da sinerese 22,2% para 18,3% e 20%, respectivamente.

A aplicação de colágeno nativo na proporção de 2% mostrou efeito benéfico em emulsões cárneas. No estudo feito por Prabhu e Doerscher<sup>8</sup>, a adição de 1% de colágeno em presuntos reduziu as perdas no cozimento e em níveis de 2 a 3%, reduziu a sinerese após quatro semanas de armazenamento. Não houve diferença na textura, porém houve leve alteração de cor e diferença sensorial quando o colágeno foi adicionado em quantidade acima de 2%. Neste mesmo estudo, a sinerese observada após quatro semanas de armazenamento foi de 3,57, 3,29 e 2,50% para adição de colágeno nas concentrações de 1, 2 e 3%, respectivamente.

Prabhu *et al.*<sup>40</sup> estudaram quatro tratamentos de presunto suíno com colágeno (0%, 1%, 2% e 3%) e avaliaram sinerese, cor, textura e sensorial. Foram encontrados no produto final umidade de 74,36% a 77,15% (o colágeno contribuiu para redução da umidade) e proteína de 16,30 a 16,90% (o colágeno contribuiu para aumento da proteína final). A avaliação de sinerese após duas semanas de produção indicou valores de 4,34, 3,44, 3,11 e 2,60% respectivamente. Para os parâmetros de cor, os valores encontrados para L\* foram de 65 a 63,10, para a\* de 12,09 a 12,51 e para b\* 9 a 10,49. A incorporação de colágeno reduziu L\* e aumentou a\* e b\*. Na avaliação

sensorial, a adição de colágeno acima de 2% foi percebida pelos consumidores no teste de diferença. De maneira geral, a utilização de 1,0, 2,0 ou 3,0% de colágeno foram efetivos na sinerese após 8 semanas.

Waszkowiak e Dolata<sup>41</sup> testaram colágeno hidrolisado e fibra de colágeno de suíno (separadamente) na imobilização de extrato de rosas como antioxidante, aplicando em salsichas numa concentração máxima de 2%. O produto final apresentou diferenças entre umidade e proteína, com menores valores de umidade e maiores de proteína para fibra de colágeno. De maneira geral, a fibra de colágeno apresentou melhor comportamento que o hidrolisado quando testada para imobilizar antioxidante extrato de rosas para aplicação em salsichas.

Segundo Pietrazik<sup>42</sup> quanto maior a porcentagem de proteínas adicionadas, menor é a liberação de líquido, pois ocorre maior número de ligações entre as cadeias polipeptídicas durante o cozimento (formação de uma matriz proteica mais densa). A redução do teor de proteínas adicionadas resulta na menor diluição da mioglobina, melhorando a cor do produto.

Válková *et al.*<sup>43</sup> avaliaram presuntos cozidos e encontraram 72,72 a 79,94% de umidade, 1,56 a 4,04% de lipídios, 0,420 a 0,970% de colágeno, 8,77 a 14,85% de proteína (sem colágeno) e 3,13 a 4,83% de cinzas. Para textura, foram obtidos valores entre 8,84 a 28,52 N. Nos parâmetros de cor, os presuntos apresentaram 61,57 a 68,79 para L\*, 8,14 a 13,95 para a\* (vermelho) e 6,60 a 9,70 para b\* (amarelo). O colágeno apresentou correlação negativa com b\* e a\*. Os produtos com menores valores de a\* foram mais aceitos pelos consumidores, provavelmente por serem mais claros. Além disso, foi observado que produtos com maior teor de proteína apresentaram maior aceitação por parte dos consumidores.

Schilling *et al.*<sup>3</sup> concluíram que colágeno suíno auxiliou na retenção da água livre e contribuiu para a estabilidade da estrutura final de presunto suíno elaborado com 0, 50 e 100% de carne PSE e adicionado de 0 a 3 % de colágeno. Quando adicionado em carne normal, o colágeno foi efetivo na redução da perda no cozimento, entretanto, para carnes PSE 50 e 100% não foi adequada. Foi observada tendência do colágeno em atuar em sinergia com as proteínas miofibrilares na retenção de água na estrutura cárnea. Para os parâmetros físicos, foram encontrados 18,39% de umidade expressível quando foram adicionados 3% de colágeno. Para textura, foi observado aumento da liga do produto, cujo resultado foi 1,45kgf para o produto com colágeno. Para cor, foi observado que a adição de colágeno gerou produtos mais amarelados.

Binsi *et al.*<sup>44</sup> e Vlierberghe *et al.*<sup>45</sup> relataram recentes aplicações de gelatina como colóide e estabilizante principalmente em géis. Os estudos mais recentes baseiam-se na caracterização e utilização de gelatina de peixe em hidrogéis<sup>11,22</sup>.

Santana *et al.*<sup>23</sup> e Máximo e Cunha<sup>24</sup> estudaram fibra de colágeno a 1% como estabilizante de emulsões, porém, antes da aplicação, a fibra foi tratada em diferentes valores de pH e

temperatura. Os resultados mostraram diferenças perceptíveis em análises de microscopia em relação à estrutura da emulsão.

### 3 Conclusão

A valorização dos subprodutos industriais é um assunto de grande interesse devido à busca por uma produção mais limpa e sustentável. Neste contexto, a extração de colágeno e seus derivados são de grande interesse, pois o colágeno é derivado de subprodutos do abate dos animais, tais como peles, ossos, tendões, cartilagens e couro. A partir do colágeno podem ser obtidas a fibra de colágeno, a gelatina (colágeno parcialmente hidrolisado) e o colágeno hidrolisado.

Nesta revisão, foram relatados os principais aspectos do colágeno e seus derivados, as diferenças no processo de extração e características do produto final, assim como as aplicações em produtos cárneos. Depois de analisar todos os tópicos, pode-se concluir que o colágeno e seus derivados apresentam grande potencial de uso como ingrediente funcional em produtos cárneos, porém ainda existem muitos aspectos que necessitam de uma pesquisa mais aprofundada, principalmente sobre as propriedades e interações que ocorrem em produtos cárneos.

### Referências

1. Shimokomaki M, Olivo R, Terra NN, Franco BDGM. Atualidades em ciência e tecnologia de carnes. São Paulo: Varela; 2006.
2. Damodaran S, Parkin K, Fennema OR. Química de alimentos de fennema. São Paulo: Artmed; 2010.
3. Schilling MW, Mink LE, Gochenour PS, Marriott NG, Alvarado CZ. Utilization of pork collagen for functionality improvement of boneless cured ham manufactured from pale, soft, and exudative pork. *Meat Sci* 2003;65:547-53.
4. Olivo R, Shimokomaki M. Carnes: no caminho da pesquisa. Cocal do Sul: Imprint; 2001.
5. Ockerman HW, Hansen CL. Industrialización de subproductos de origen animal. Zaragoza: Acribia; 1994.
6. Deman JM. Principles of food Chemistry. Aspen: Maryland; 1999.
7. Torley PJ, D'Arcy BR, Trout GR. The effect of ionic strength, polyphosphates type, pH, cooking temperature and blending on the functional properties of normal and pale, soft, exudative (PSE) pork. *Meat Sci* 2000;55:451-62
8. Prabhu G, Doerscher D. Utilizing pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat products. In: Anais do 49º International Congress of Meat Science and Technology e 2º Brazilian Congress of Meat Science and Technology, 2003. Campinas: CTC-ITAL; 2003. p.413-4.
9. Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. São Paulo: Guanabara Koogan; 2008.
10. Pedrosa MG. Estudo comparativo de colágeno hidrolisado e comercial com adição de PVA. Dissertação [Mestrado em Química Analítica] – Universidade Federal de São Carlos; 2009.
11. Wong DWS. Química de los alimentos: mecanismos y teoría. Zaragoza: Zaragoza; 1995.
12. Schrieber R, Gareis H. Gelatine handbook: theory and industry practice. Hardcover; 2007.
13. Gómez-Guillén MC, Fernández-Díaz MD, Ulmo N, Lizarbe

- MA, Montero P. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids* 2002;16:25-34.
14. Pearson AM, Gillet TA. *Processed meats*. Aspen: Maryland; 1999.
  15. Ziegler FLF. Desenvolvimento de um produto dietético funcional pra idosos. Dissertação [Mestrado em Alimentos e Nutrição] – Universidade Estadual de Campinas; 2006.
  16. Denis A, Brambati N, Dessauvages B, Guedji S, Ridoux C, Meffre N, *et al.* Molecular weight determination of hydrolyzed collagens. *Food Hydrocolloids* 2008;22:989-94.
  17. Novaprom Food Ingredients Ltda. Informe Técnico. São Paulo: Lins; 2006.
  18. Gómez-Guillén MC, Giménez B, López-Caballero ME, Montero MP. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. *Food Hydrocolloids* 2011;25(80):1813-27.
  19. Segtnan V, Isaksson T. Temperature, sample and time dependent structural characteristics of gelatine gels studied by near infrared spectroscopy. *Food Hydrocolloids* 2004;18:1-11.
  20. Gómez-Estaca J, Montero P, Fernández-Martín F, Gómez-Guillén. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: A comparative study. *J Food Engineering* 2009;90:480-6.
  21. Bosch EVD, Gielens C. Gelatin degradation at elevated temperature. *Biol Macromol* 2003;32:129-38.
  22. Karim AA, Bhat R. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Food Sci Technol* 2008;19:644-56.
  23. Santana RC, Sato ACK, Cunha RS. Emulsions stabilized by heat-treated collagen fibers. *Food Hydrocolloids* 2012;26:73-81.
  24. Maximo GJ, Cunha RL. Mechanical properties of collagen fiber and powder gels. *J Textures Stud* 2010;41(6):842-62.
  25. Francischetti G, Ortelan CB, Contreras-Castillo CJC, Gallo CR, Cavenaghi A, Montenegro LC, *et al.* Caracterização e vida-útil do músculo *biceps femoris* (coxão duro) submetidos à marinação com pó de colágeno, fibra de trigo e proteína isolada de soja. Anais do 4º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes. Campinas; 2007. p.378-80.
  26. Barbut S, Mittal GS. Effect of heat processing delay on the stability of poultry meat emulsions containing 1,5 and 2,5 % salt. *Poultry Sci* 1991;70:2538-43.
  27. Imeson A. *Gelatin: in thickening and gelling agents for food*. London: Blackie Academic and Professional; 1997.
  28. Girard JP. *Tecnología de la carne y de los productos cárnicos*. Zaragoza: Acirbia; 1991.
  29. Ratanavaraporn J, Rangkupan R, Jeeratawatchai H, Kanakpanont S, Damrongsakkul S. Influences of physical and chemical crosslinking techniques on electrospun type A and B gelatin fiber mats. *Int J Biol Macromol* 2010;47:431-8.
  30. Almeida RB, Beserra FJ, Azeredo HMC, Ferreira JCG, Bitu LA, Monte FBR. Uso de colágeno solubilizado como substituto de gordura em emulsão cárnea. Anais do 20º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2006, Curitiba;2006.
  31. Bueno RVCC. Efeito da fibra de colágeno na qualidade funcional de “Cooked frozen beef”. 2008, Dissertação [Mestrado em Tecnologia de Alimentos] – Universidade Estadual de Campinas; 2008.
  32. Micheline RP, Nadai AC, Kamei CAK, Santana J, Yamada EA, Andrade JC, *et al.* Elaboração de hambúrguer bovino com baixo teor de gordura adicionado de colágeno. Anais do 4º Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes. 2007, Campinas; 2007. p.378-80.
  33. Daigle SP, Schilling MW, Marriott NG, Wang H, Barbeau WE, Williams RC. PSE-like turkey breast enhancement through adjunct incorporation in a chunked and formed deli roll. *Meat Sci* 2005;69:319-24.
  34. Olivo R. Uso do colágeno em emulsões cárneas. Dissertação [Mestrado em Ciência de Alimentos] - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 1995.
  35. Della Torre JCM. Proteínas de soja e colágeno: validação das metodologias de quantificação e avaliação tecnológica do uso em produtos cárneos. Tese [Doutorado em Tecnologia de Alimentos] – Universidade Estadual de Campinas; 2004.
  36. Li C-T. Myofibrillar protein extracts from spent hen meat to improve whole muscle processed meat. *Meat Sci* 2006;72:581-3.
  37. Sams AR. *Poultry meat processing*. Florida: CRC; 2001.
  38. Pearson AM, Dutson TR. *Advances in meat research*. London and New York: Blackie Academic & Professional; 1997.
  39. Prestes RC. Avaliação da adição de colágeno hidrolisado, amido modificado e goma guar em presunto cozido de peru. Dissertação [Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos] – Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2008.
  40. Prabhu GA, Doerscher DR, Hull DH. Utilization of pork collagen protein in emulsified and whole muscle meat products. *J Food Sci* 2004;69:388-92.
  41. Waszkowiak K, Dolata W. The application of collagen preparations as carriers of Rosemary extract in the production of processed meat. *Meat Sci* 2007;75:178-83.
  42. Pietrasik Z. Effect of content of protein, fat and modified starch on binding textural characteristics, and colour of comminuted salded sausages. *Meat Sci* 1999;51:17-25.
  43. Válková V, Saláková A, Buchtová H, Tremlová B. Chemical, instrumental and sensory characteristics of cooked pork ham. *Meat Sci* 2007;77:608-15.
  44. Binsi PK, Shamasundar BA, Dillep AO, Badii F, Howell NK. Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. *Food Hydrocolloids* 2009;23:132-45.
  45. Vlierberghe SV, Schacht E, Dubruel P. Reversible gelatin-based hydrogels: Finetuning of material properties. *Euro Polymer J* 2012;47(5):1039-47.