

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

Queratina de plumas de pollo como bioproducto de valor agregado: Optimización del proceso y caracterización fisicoquímica

Chicken feather keratin as a value-added bioproduct: process optimization and physicochemical characterization

Authors/Autores: Espitia-Orozco, F.J., Bautista -Espinoza, P.I., Magdaleno-López, C., Ambrosio-Juarez, J.E., Manuel-Toledo, I., Ramos-Del Villar, I.N.

ID: e2088

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2088>

Received/Fecha de recepción: October 20th 2025

Accepted /Fecha de aceptación: June 25th 2026

Available online/Fecha de publicación: August 13, 2026

Please cite this article as/Como citar este artículo: Espitia-Orozco, F.J., Bautista -Espinoza, P.I., Magdaleno-López, C., Ambrosio-Juarez, J.E., Manuel-Toledo, I., Ramos-Del Villar, I.N. (2026). Chicken feather keratin as a value-added bioproduct: process optimization and physicochemical characterization. *Revista Bio Ciencias*, 13, e2088. <https://doi.org/10.15741/revbio.13.e2088>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Queratina de plumas de pollo como bioproducto de valor agregado:

Optimización del proceso y caracterización fisicoquímica

Chicken feather keratin as a value-added bioproduct: process optimization and physicochemical characterization

Extracción y caracterización de queratina de plumas de pollo /

Chicken feather keratin extraction and characterization

Espitia-Orozco, F.J.² [0000-0001-7593-2847](#) () , Bautista -Espinoza, P.I.^{1,2} [0009-0000-4258-7100](#) () , Magdaleno-López, C.⁴ [0000-0002-9756-5766](#) () , Ambrosio-Juarez, J.E.² [0009-0006-8565-9171](#) () , Manuel-Toledo, I.⁵ [0000-0001-9498-5506](#) () , Ramos-Del Villar, I.N.^{2*} [0000-0003-1101-200X](#) ()

¹Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. C.U. Cerro de las Campanas s/n, C.P. 76010, Querétaro, Querétaro, México ²Ingeniería Ambiental.

³Ingeniería en Industrias Alimentarias. ⁴Ingeniería Energías Renovables ⁵Ingeniería en Sistemas Automotrices. Tecnológico Nacional de México: ITS de Abasolo. Blv. Cuitzeo de los Naranjos, 401, Colonia Peña de Guisa. C.P. 36976, Abasolo, Guanajuato, México.

*Corresponding Author:

Iván Noé Ramos del Villar. Ingeniería en Industrias Alimentarias. Tecnológico Nacional de México: ITS de Abasolo. Blv. Cuitzeo de los Naranjos, 401, Colonia Peña de Guisa. C.P. 36976, Abasolo, Guanajuato, México. Teléfono: 4624197093. E-mail: noe.rv@abasolo.tecnm.mx

RESUMEN

La industria avícola representa una de las actividades pecuarias más relevantes económicamente en México, sin embargo, genera grandes volúmenes de residuos, entre ellos las plumas. Debido a su alto contenido de queratina, representan una excelente alternativa para su valorización. Este estudio tuvo como objetivo extraer y caracterizar queratina de plumas de pollo mediante un proceso optimizado de hidrólisis alcalina asistida por ultrasonido. Se empleó un diseño de superficie de respuesta con tres factores: temperatura (30, 52.5 y 75 °C), tiempo de sonicación (60, 105 y 150 min) y concentración de NaOH (1, 3.5 y 6 %). Las condiciones óptimas fueron 75 °C, 150 min y 3.5 % de NaOH, alcanzando 3.28 mg de proteína hidrolizada/mL. La temperatura fue el factor más influyente en la extracción. El análisis por SDS-PAGE mostró fragmentos de 5–25 kDa, característicos de queratina hidrolizada, mientras que el análisis por HPLC identificó 16 aminoácidos, siendo glicina, serina y alanina los más abundantes. El análisis in silico reveló péptidos con potencial actividad biológica como inhibidores de la Dipeptidil Peptidasa IV y de la Enzima Convertidora de la Angiotensina. En conjunto, estos resultados demuestran el potencial de los métodos alternativos de extracción para la revalorización sostenible de los desechos avícolas.

PALABRAS CLAVE:

Pluma, Pollo, Queratina, Aminoácidos, Revalorización, Desechos avícolas.

ABSTRACT

The poultry industry represents one of the most economically relevant livestock activities in Mexico; however, it generates large volumes of waste, including feathers. Due to their high keratin content, these residues represent an excellent alternative for valorization. This study aimed to extract and characterize keratin from chicken feathers through an optimized ultrasound-assisted alkaline hydrolysis process. A response surface design was applied using three factors: temperature (30, 52.5, and 75 °C), sonication time (60, 105, and 150 min), and NaOH concentration (1, 3.5, and 6 %). The optimal conditions were 75 °C, 150 min, and 3.5 % NaOH, achieving 3.28 mg of hydrolyzed protein/mL. Temperature was the most influential factor in the extraction process. SDS-PAGE analysis showed fragments of 5-25 kDa, characteristic of hydrolyzed keratin, while HPLC analysis identified 16 amino acids, with glycine, serine, and alanine being the most abundant. *In silico* analysis revealed peptides with potential biological activity, such as inhibitors of Dipeptidyl Peptidase IV and Angiotensin-Converting Enzyme. Overall, these results demonstrate the potential of alternative extraction methods for the sustainable valorization of poultry waste.

KEY WORDS:

Feather, Chicken, Keratin, Amino acids, Revaluation, Poultry waste.

Introducción

Las plumas de pollo son el principal desecho de la industria avícola; su generación a nivel mundial alcanza aproximadamente 4×10^{10} kg anuales. El mal manejo de este residuo representa un problema principalmente para el medio ambiente y a la salud de las personas; sin embargo, debido a que están compuestas en su mayoría entre un 80-90 % de proteína, principalmente de queratina, este tipo de desecho se ha estudiado para su aprovechamiento en diferentes aplicaciones (Tesfaye et al., 2017; Khan et al., 2021).

La queratina es una proteína fibrosa estructural con un alto contenido de cisteína y enlaces disulfuro, lo que le confiere gran estabilidad y versatilidad, pero también representa un reto para su extracción y solubilización. A pesar de estas propiedades, la queratina ha tenido numerosas aplicaciones en diversas industrias, principalmente en la cosmética, la biomedicina y la agroindustria. Por ejemplo, debido a su alto contenido de nitrógeno y azufres orgánicos junto con su capacidad de formar polímeros, se ha utilizado para la obtención de bioplásticos, los cuales pueden sustituir a los plásticos sintéticos que generan problemas de contaminación, y al mismo tiempo favorecen la valorización de residuos, especialmente aquellos provenientes de la industria agrícola (Tesfaye et al., 2017).

La industria cosmética es otra de las áreas de aplicación de relevancia que puede tener la queratina, en el caso particular de sus hidrolizados tiene un gran potencial para la fabricación de productos como los shampoos y acondicionadores, debido principalmente a propiedades como su peso molecular, su capacidad formadora de recubrimientos y su hidrofobicidad (Mokrejš et al., 2017; Burnett et al., 2021).

Existen diversos métodos para el aprovechamiento de la queratina; uno de los más eficaces es el uso de agentes reductores, como el 2-mercaptoetanol y el DTT. No obstante, estos pueden resultar tóxicos y costosos para estos fines. Por otro lado, la hidrólisis alcalina es una alternativa para la extracción y aprovechamiento de la queratina, ya que permite la ruptura de los enlaces peptídicos, generando así péptidos de menor tamaño y aminoácidos libres (Kamarudin et al., 2017; Dąbrowska et al., 2022). Este método emplea bases fuertes, como el hidróxido de sodio, debido a su actividad como agente hidrolítico, el cual puede resultar menos tóxico y más económico en comparación con los agentes reductores.

La hidrólisis con NaOH puede complementarse con otros métodos que favorezcan el rompimiento de enlaces peptídicos, como el uso de altas temperaturas y ultrasonido, los cuales

contribuyen a la ruptura de los puentes disulfuro entre las moléculas de cisteína, dando lugar a una proteína soluble (Rahman & Lamsal, 2021).

El uso de este tipo de metodologías representa una opción más sustentable y ecológicamente responsable en comparación con los métodos basados en agentes reductores. Por ello, en este estudio se evaluó la extracción de queratina hidrolizada utilizando NaOH como agente alcalino, complementada con altas temperaturas y ultrasonido.

Material y Métodos

Materiales biológicos

Se recolectaron 4 kg de plumas de pollo de engorde de raza Ross en una pollería local ubicada en el municipio de Abasolo, Guanajuato, México. Las plumas fueron lavadas con agua y posteriormente desinfectadas en una solución de peróxido de hidrógeno al 30 % durante 30 minutos. Luego de un enjuague final, se secaron a temperatura ambiente. La materia seca fue cortada (~1 cm) y desengrasada en éter de petróleo (1 L por 100 g de plumas) bajo agitación durante 24 h. Posteriormente, se secaron y almacenaron en bolsas de polietileno.

Optimización del proceso de extracción

Diseño experimental

Se empleó un diseño de superficie de respuesta (RSD) tipo Box-Behnken con tres variables independientes: tiempo de sonicación, temperatura y concentración de NaOH. La variable de respuesta fue la concentración de queratina extraída (mg/mL). El diseño experimental se generó con el software Statgraphics Centurion XVI, incluyendo 15 corridas experimentales (Tabla 1), siguiendo la metodología reportada por Rouse y Van Dyke, (2010) y Sinkiewicz et al. (2017).

Tabla 1. Tratamientos experimentales para el diseño de superficie de respuesta.

Tratamiento	Tiempo de sonicación (min)	Temperatura (°C)	Concentración NaOH (%)
1	105	52.5	3.5
2	150	75	3.5
3	60	52.5	1
4	105	75	1
5	150	52.5	6
6	150	30	3.5
7	60	52.5	6
8	105	30	6
9	105	30	1
10	105	75	6
11	105	52.5	3.5
12	60	75	3.5
13	150	52.5	1
14	60	30	3.5
15	105	52.5	3.5

Extracción de queratina

La extracción se realizó mediante hidrólisis alcalina asistida por ultrasonido utilizando un sonicador ultrasónico digital marca Sonics & Materials modelo VCX-130PB, con base en el protocolo de Sinkiewicz et al. (2017), con modificaciones. En vasos de precipitados (250 mL) se colocaron 5 g

de plumas y 50 mL de NaOH (1–6 %). Las mezclas se sometieron a baño María y sonicación directa (130 W, 20 kHz) de acuerdo con las condiciones mencionadas en la tabla 1. Posteriormente, las muestras fueron filtradas, centrifugadas (6,000 rpm, 20 min) y almacenadas a -20 °C.

Cuantificación de proteínas

La concentración de queratina se determinó mediante el método de Bradford (Bio-Rad, Hercules, CA, USA), utilizando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar y lectura espectrofotométrica a 595 nm en un espectrofotómetro UV/VIS marca HINOTEK modelo 752. Se elaboró una curva de calibración (0–1.2 mg/mL) y se preparó el reactivo de trabajo a partir de una solución concentrada (5x) de azul de Coomassie G-250. Las muestras se analizaron por triplicado y los datos se utilizaron para alimentar el modelo de superficie de respuesta.

Caracterización fisicoquímica de la queratina

Electroforesis SDS-PAGE

El perfil electroforético de la queratina se determinó mediante SDS-PAGE (Mini-PROTEAN Tetra Vertical Electrophoresis Cell). Las muestras se mezclaron con buffer de carga 2x (1:1), se desnaturalizaron a 100 °C por 5 min y se cargaron (10 µL) en los pozos del gel. La corrida se realizó a 80 V durante 20 min y luego a 120 V por 2 h. Posteriormente, las proteínas se fijaron con ácido tricloroacético al 10 % y se tiñeron con azul Coomassie R-250 para su fotodocumentación.

Perfil de aminoácidos por HPLC

El perfil de aminoácidos se determinó mediante HPLC con detección UV/VIS ($\lambda = 338$ nm) en los laboratorios Roy H. Anderson S.A. de C.V., utilizando un sistema ULTIMATE y derivatización en columna AdvanceBio. Se inyectaron 10 µL por corrida, con un tiempo de análisis de 18 min. La cuantificación se realizó comparando los cromatogramas con estándares de calibración, evaluando el área bajo la curva, la altura relativa y la simetría de los picos (Gałęzowska et al., 2021).

Análisis *in silico* de péptidos bioactivos derivados de hidrolizados de queratina

Para predecir *in silico* la bioactividad de los péptidos que se generan durante la hidrólisis alcalina, se consultó la base de datos de proteínas del National Center for Biotechnology Information (NCBI) y se seleccionaron todas las secuencias de aminoácidos correspondientes a queratina de plumas de pollo. Las secuencias obtenidas fueron analizadas para determinar, el perfil potencial de péptidos bioactivos, utilizando la base de datos en línea de BIOPEP (Minkiewicz et al., 2019).

Resultados y Discusión

Optimización del proceso de extracción de queratina

Se evaluaron 15 tratamientos, generados de acuerdo con un diseño de superficie de respuesta bajo las condiciones preestablecidas. Las concentraciones de queratina obtenidas a partir de las plumas de pollo raza Ross variaron de 0.5604 mg/mL a 3.28 mg/mL, siendo el tratamiento más eficiente el número 2 (150 min, 75 °C, 3.5 % NaOH). En contraste, el tratamiento 6 (150 min, 20 °C, 3.5 % NaOH), mostró la menor extracción (1.315 mg/mL), destacando la temperatura como el factor más determinante (Figura 1).

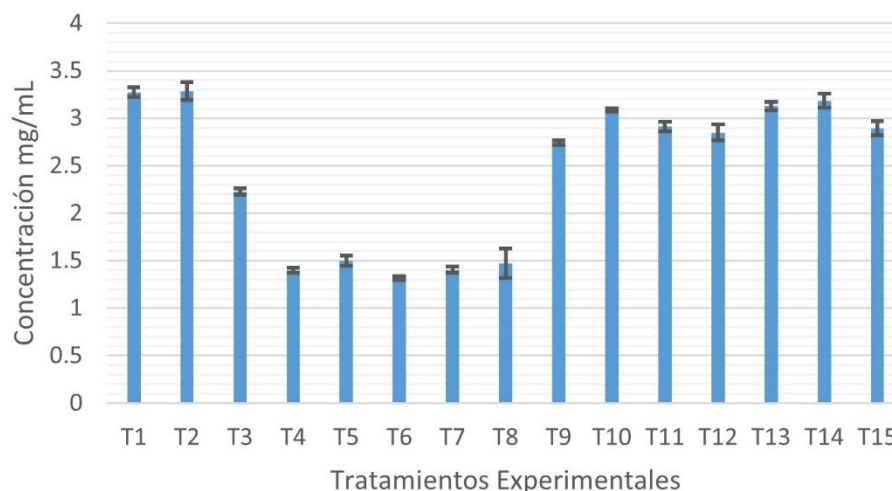


Figura 1. Queratina extraída de los diferentes tratamientos para la superficie de respuesta.

El análisis de efectos mostró que las interacciones entre la temperatura y la concentración de NaOH tuvieron una mayor influencia en el rendimiento de extracción que los factores individuales. Resultados similares han sido reportados por Kamarudin et al. (2017), quienes obtuvieron rendimientos de hasta 4.38 mg/mL. Por otra parte, Sharma et al. (2016) observaron rendimientos menores, de hasta 1.6 mg/mL de queratina, utilizando sulfuro de sodio como agente hidrolítico; ambas metodologías basadas en hidrólisis alcalina.

Con respecto a la optimización de la respuesta, el modelo sugiere que las condiciones óptimas para alcanzar una concentración de queratina de hasta 3.6 mg/mL corresponden a un tiempo de sonicación de 174.8 min, una temperatura de 75 °C y una concentración de NaOH del 4 %, como se observa en la Figura 2. Estas condiciones se utilizaron para evaluar el perfil de aminoácidos.

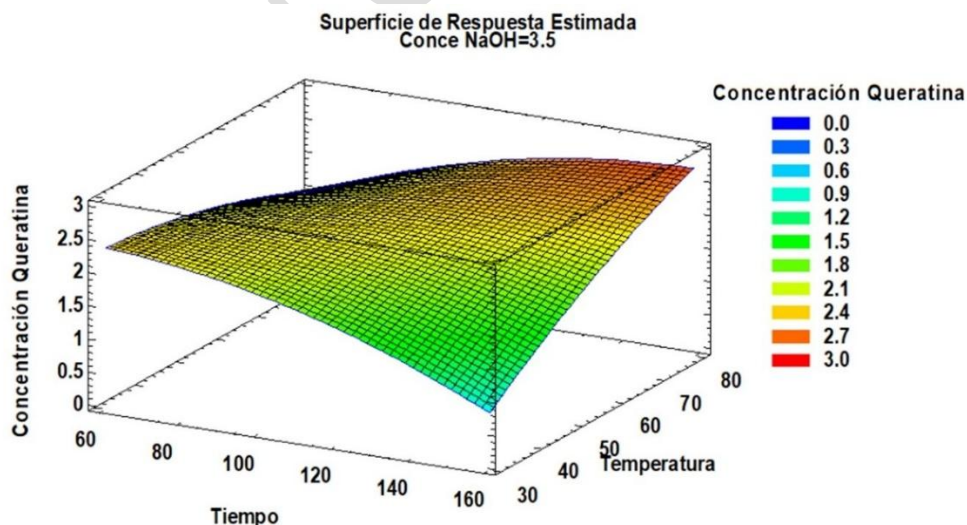


Figura 2. Gráfico 3-D del diseño de superficie de respuesta.

Por otra parte, Sinkiewicz et al. (2017) y Khumalo et al. (2020) reportaron rendimientos superiores (hasta 82.4 %), utilizando agentes reductores como bisulfito de sodio y 2-mercaptoetanol, con las implicaciones técnicas y ecológicas que estos conllevan. No obstante, el presente estudio

ofrece una alternativa más económica y sustentable, al emplear únicamente NaOH, con un rendimiento aceptable y una metodología reproducible.

Caracterización electroforética (SDS-PAGE)

La Figura 3 muestra el perfil electroforético obtenido mediante SDS-PAGE; se pueden observar las bandas proteicas con pesos moleculares entre 5 y 25 kDa, consistentes con proteínas fragmentadas por hidrólisis alcalina. Estos resultados indican una ruptura efectiva de enlaces disulfuro sin una degradación total de la proteína, lo que permite la generación de péptidos funcionales con potencial de aplicación biomédica o cosmética (Alahyaribeik & Ullah, 2020; Dąbrowska et al., 2022).

Estudios previos como los realizados por Pourjavaheri et al. (2019), han reportado patrones proteicos similares, con fracciones en rangos de 10–15 kDa o superiores. En este trabajo no se observaron bandas superiores a 70 kDa, lo que difiere de lo reportado por Khumalo et al. (2020), quienes identificaron proteínas de 130–250 kDa, lo que sugiere que una hidrólisis más agresiva podría generar proteínas de menor tamaño residual.

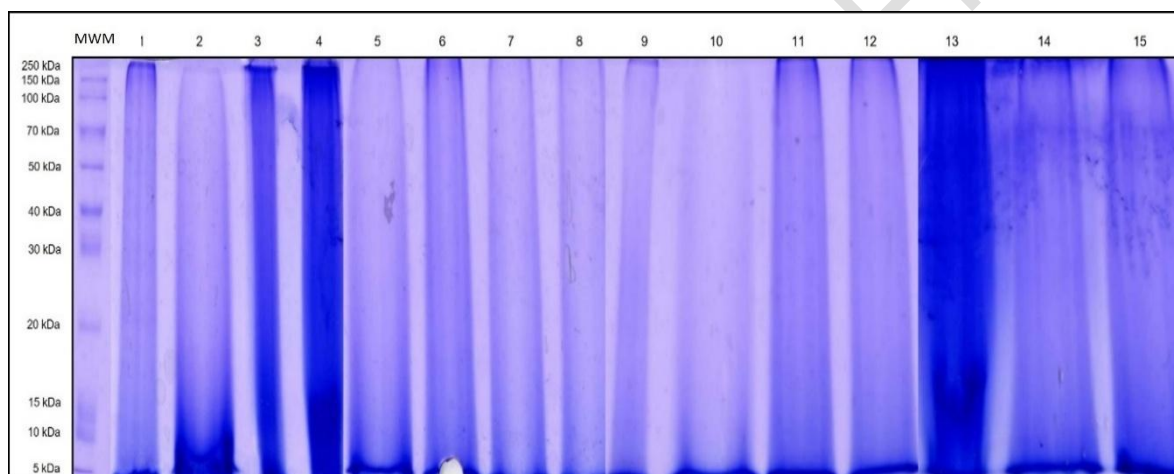


Figura 3. Perfil electroforético de la queratina hidrolizada mediante los 15 tratamientos evaluados. MWM: Thermo Scientific PageRuler Broad Range Unstained Protein Ladder, Carril 1-15: T1(105 min-52.5 °C-3.5 %), T2(150 min-75 °C-3.5 %), T3(60 min-52.5 °C-1 %), T4(105 min-75 °C-1 %), T5(150 min-52.5 °C-6 %), T6(150 min-30 °C-3.5 %), T7(60 min-52.5 °C-6 %), T8(105 min-30 °C-6 %), T9(105 min, 30 °C-1 %), T10(105 min-75 °C-6 %), T11(105 min-52.5 °C-3.5 %), T12(60 min-75 °C-3.5 %), T13(150 min-52.5 °C-1 %), T14(60 min-30 °C-3.5 %), T15(105 min-52.5 °C-3.5 %).

Perfil de aminoácidos por HPLC

El perfil de aminoácidos del hidrolizado de queratina de plumas de pollo raza Ross (muestra óptima TOQ), fue consistente con el de proteínas del tipo fibroso. Como podemos observar en la figura 4, los aminoácidos mayoritarios fueron glicina (27–28 %), serina (≈13 %) y alanina (≈11–12 %), lo que concuerda con la función estructural de la queratina y con su alto grado de repetitividad en secuencias ricas en residuos pequeños y polares. Estos aminoácidos favorecen la compactación de la matriz proteica y explican su resistencia natural a la hidrólisis enzimática.

En menor proporción se identificaron ácido glutámico (≈6 %) y ácido aspártico (≈5 %), los cuales aportan grupos carboxilo capaces de establecer interacciones iónicas y puentes de hidrógeno. Los aminoácidos azufrados, cisteína (≈ 7-8 %) y metionina (≈ 0.7 %), resultan particularmente relevantes, ya que la cisteína participa en la formación de puentes disulfuro responsables de la elevada estabilidad mecánica e insolubilidad característica de la queratina.

Asimismo, se detectaron aminoácidos esenciales como lisina ($\approx 9\%$), valina e isoleucina ($\approx 2.5\%$ cada uno), así como leucina ($\approx 1.5\%$), lo que sugiere un potencial aprovechamiento del hidrolizado como fuente de compuestos nitrogenados en aplicaciones biotecnológicas, más que como suplemento nutricional directo, debido a la limitada disponibilidad de azufrados.

En general, la proporción de aminoácidos observada es consistente con lo reportado por Onifade et al. (1998) y Tesfaye et al. (2017) con excepción de la glicina y la alanina, cuyos valores fueron superiores en el presente. Estos resultados confirman que la optimización de las condiciones de hidrólisis es fundamental para maximizar la liberación de aminoácidos estructuralmente relevantes, en especial aquellos que aportan valor agregado al bioproducto.

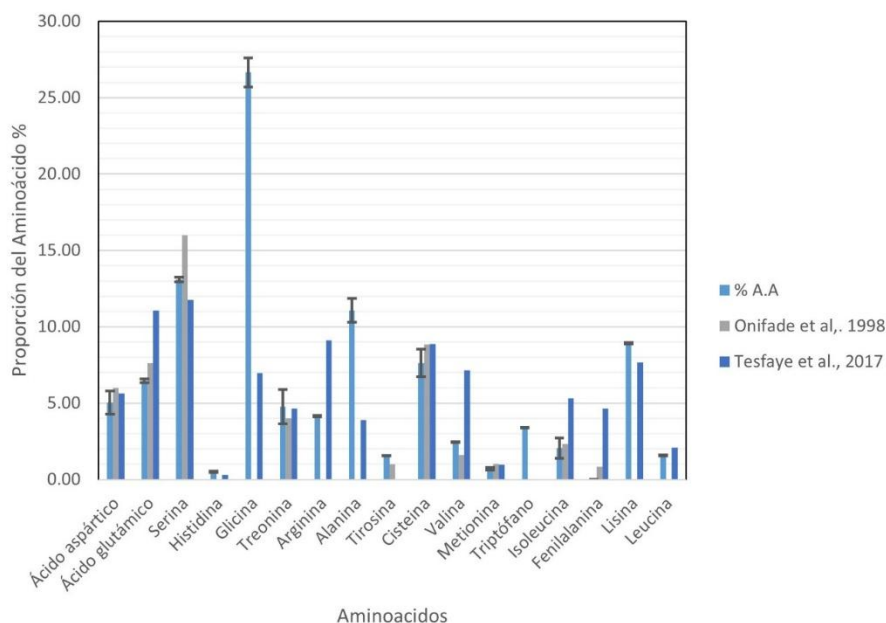


Figura 4. Proporción de aminoácidos obtenidos de hidrolizados de queratina de plumas de pollo, mediante HPLC.

Análisis *in silico* de péptidos bioactivos derivados de hidrolizados de queratina

La queratina es una proteína estructural ampliamente reconocida por su papel en funciones de protección, soporte y defensa (Bilge et al., 2025). Sin embargo, tras su hidrólisis, la desnaturalización de su estructura terciaria genera una amplia variedad de péptidos que pueden exhibir actividades biológicas con potencial benéfico.

Con la finalidad de predecir dichas bioactividades, se seleccionaron 16 secuencias correspondientes a isoformas de queratina de plumas de pollo, previamente caracterizadas a nivel genómico y transcriptómico. Estas proteínas presentan una longitud característica de 97 aminoácidos y comparten una significativa conservación en las regiones codificantes, así como en segmentos del extremo 5' no codificante, lo que está estrechamente relacionado con la expresión de tejidos específicos, como lo son las plumas. Estas características moleculares, además de asegurar la estabilidad estructural de la proteína, también condicionan los péptidos que pueden liberarse tras su hidrólisis.

La organización en clústeres y la repetitividad génica, sugieren que los productos de la hidrólisis tendrán patrones recurrentes de fragmentación, generando así péptidos con secuencias homólogas entre las diferentes isoformas (Carre et al., 2006; Burge et al., 2012; Greenwold & Sawyer, 2010; Molloy et al., 1982; Presland et al., 1989; Tang et al., 2019).

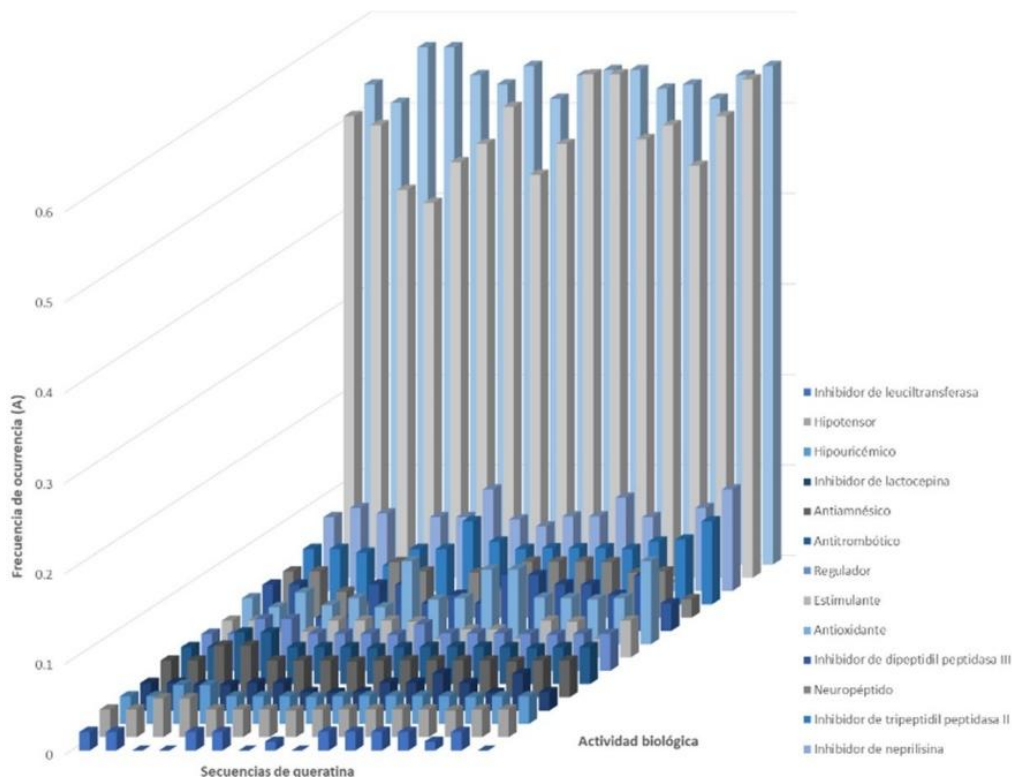


Figura 5. Predicción de péptidos con potencial actividad biológica en isoformas de queratinas de plumas de pollo. Sequences of keratin (NCBI reference sequence): 1. NP_001075171.3, 2. NP_001095201.2, 3. NP_001264702.1, 4. NP_001264700.1, 5. NP_001095202.2, 6. NP_001264730.1, 7. NP_001264689.2, 8. NP_001264699.1, 9. NP_001264724.2, 10. NP_001264858.2, 11. NP_001264736.2, 12. NP_001264860.1, 13. NP_001264727.1, 14. NP_001264701.1, 15. NP_001264680.1 y 16. NP_001264692.1.

La hidrólisis *in silico* de las 16 isoformas de queratina analizadas generó más de 2200 péptidos, que conforman un perfil potencial de 41 tipos diferentes de actividades biológicas. En la figura 5 se presentan las 15 actividades biológicas con mayor frecuencia de ocurrencia, definida como el cociente entre el número de fragmentos identificados y el total de residuos proteicos (Minkiewicz et al., 2019).

Entre las bioactividades más frecuentes se identificaron los péptidos inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV), con una frecuencia de ocurrencia de 0.5714, y los péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), con una frecuencia de ocurrencia de 0.5567. En la tabla 2 se presentan los péptidos asociados a estas actividades, los cuales corresponden mayoritariamente a secuencias de 2 o 3 residuos de aminoácidos, así como aquellos correspondientes a las demás bioactividades incluidas dentro de las 15 con mayor frecuencia de ocurrencia, lo cual es consistente con lo reportado por Lorenzo-Hernando et al. (2019).

Tabla 2. Predicción de secuencias peptídicas con mayor frecuencia de ocurrencia (A) y sus diferentes bioactividades.

Bioactividad	Secuencias peptídicas	Frecuencia de ocurrencia (A)	Fuente
--------------	-----------------------	------------------------------	--------

Inhibidor de la Dipeptidil Peptidasa IV	AA, AE, AS, AV, DQ, EG, EP, EV, FN, FP, GF, GG, GI, GL, GP, GV, GW, IL, IQ, IQP, LA, LP, NE, NG, NP, NR, NT, PA, PG, PI, PL, PP, PQ, PS, PT, PV, PY, QA, QD, QE, QG, QN, QP, QV, RA, RP, RR, SF, SI, SL, SP, SV, TA, TE, TI, TL, TP, TS, TV, VA, VC, VG, VI, VP, VR, VT, VV, WR, WRA, YD, YL, YP, YS	0.5714	Hatanaka et al., 2012 Hikida et al., 2013 Nongonierma et al., 2013 Gallego et al., 2014 Lan et al., 2015 Mullally et al., 1996 Van Platerink et al., 2008 Balti et al., 2010
Inhibidor de la ACE	AA, AI, AR, ARY, AV, AVV, CF, DL, EA, EG, EV, FG, FGF, FGG, FP, GF, GG, GI, GL, GP, GR, GS, GV, GW, IE, IEP, IL, IQP, LA, LEE, LG, LP, LPG, NG, PA, PG, PL, PP, PQ, PT, QG, QP, RA, RF, RP, RR, RY, RYL, SF, SG, ST, TE, TP, VC, VG, VP, VR, VV, YL, YP, YS	0.5567	Nakahara et al., 2010 Kumagai et al., 2021 Dion et al., 1997
Inhibidor de neprilisina	AE, AR, EA, FG, GG, GP, RP, VV	0.1122	Moreno-Mariscal et al., 2025
Inhibidor de tripeptidil peptidasa II	AA, GF, GGF, GW, VA, VV	0.0918	Ganellin et al., 2000
Neuropéptido	EG, IL, PY, RP, RR, YL	0.0619	Goldberg et al., 1983 Cain et al., 1993 Kanegawa et al., 2010
Inhibidor de dipeptidil peptidasa III	GF, LA, RF, RR, RV, YL	0.0619	Lee & Snyder, 1982 Dhanda et al., 2008 Suetsuna et al., 2000
Antioxidante	EL, FGF, GC, GP, GW, LAN, LPGPILSSFPQ, PY, RY, RYL, VC, YL, YSQ	0.0918	Fontoura et al., 2019 Sonklin et al., 2021 Ma et al., 2022 Ai et al., 2024
Estimulante	EE, IL, IV, SE, SSS	0.0408	Ringseis et al., 2005 Morifuji et al., 2009
Regulador	GP, PG, PGP, SL	0.0571	Ashmarin et al., 1998 Luzarowski et al., 2021
Antitrombótico	GP, PG, PGP	0.0571	Ashmarin et al., 1998

Antiestamínico	GP, PG, PGP	0.0571	Ashmarin et al., 1998
Inhibidor de lactocepína	LGG, LP, PL	0.0408	Hebert et al., 2008
Hipouricémico	PT, TL, TP	0.0429	Murota et al., 2014
Hipotensor	AA, GP	0.0429	Ichimura et al., 2009
Inhibidor de leuciltransferasa	RF, RR	0.0206	Heres et al., 2021
			Soffer, 1973

Estos resultados adquieren especial importancia si se considera que la inhibición de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) y de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) constituye un mecanismo terapéutico clave frente a enfermedades metabólicas y cardiovasculares. En el caso de la DPP-IV, su inhibición evita la degradación de hormonas incretinas como GIP y GLP-1, lo que favorece el control de la glucosa. Por su parte, la inhibición de la ACE bloquea la conversión de angiotensina I en angiotensina II y preserva la acción vasodilatadora de la bradiquinina, contribuyendo al control de la presión arterial. La importancia de estas actividades aumenta si se considera que la diabetes mellitus tipo 2 y la hipertensión afectan a una gran proporción de la población adulta y suelen coexistir en hasta el 70 % de los pacientes diabéticos, incrementando el riesgo de complicaciones cardiovasculares (Arámburo-Gálvez et al., 2024; Jo et al., 2024).

Conclusiones

La presente investigación contribuye al posible uso de los residuos generados por la industria avícola, esto mediante la optimización del proceso de extracción de la queratina proveniente de plumas de pollo. Con el diseño experimental aplicado al proceso de extracción, y su posterior análisis se obtuvieron las condiciones óptimas, con las cuales se puede alcanzar una concentración de queratina de hasta 3.28 mg/mL, ratificando así que la hidrólisis alcalina puede considerarse viable para remplazar las técnicas convencionales, que requieren el uso de reactivos de mayor costo y con riesgos toxicológicos asociados. El perfil electroforético obtenido en todos los tratamientos fue consistente, se observó una hidrólisis completa solo con la presencia de bandas tenues por debajo de los 25 kDa, lo cual podría ser sugerente de generación de péptidos con actividad biológica, una aproximación de esto fue observado en el análisis *in silico* de queratinas reportadas destacando actividades de Inhibidor de la Dipeptidil Peptidasa IV y ACE entre otras de importancia tanto medica como industrial, haciendo de la extracción alcalina asistida con ultrasonidos una alternativa viable para el aprovechamiento de queratina de desechos avícolas.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo FJEO, PIBE, JEAJ, ITM, INRV y CML; desarrollo de la metodología FJEO, ITM, INRV; manejo de software FJEO; validación experimental FJEO, PIBE, JEAJ, ITM y INRV; análisis de resultados FJEO, PIBE, JEAJ, ITM y INRV; escritura y preparación del manuscrito FJEO, PIBE; redacción, revisión y edición FJEO, CML, INRV, PIBE; administrador de proyectos FJEO e INRV adquisición de fondos INRV. Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por el Tecnológico Nacional de México, mediante la Convocatoria 2024: PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA, DESARROLLO

TECNOLÓGICO E INNOVACIÓN, con el proyecto titulado “Extracción y caracterización de queratina de plumas de pollo: Una alternativa sostenible como agente anticorrosivo en envases metálicos de alimentos”.

Declaración de consentimiento informado

No aplica

Agradecimientos

Los autores agradecen al *Tecnológico Nacional de México: ITS de Abasco* por las facilidades proporcionadas para la realización de esta investigación.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Ai, L., Liu, L., Zheng, L., Liu, Y., Sun, B., Su, G., Xu, J., Chen, Y., & Zhao, M. (2024). An on-line stop-flow RPLC × SEC-MS/DPPH radical scavenging activity analysis system and its application in separation and identification of antioxidant peptides. *Food chemistry*, 436, 137670. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137670>
- Alahyaribeik, S., & Ullah, A. (2020). Methods of keratin extraction from poultry feathers and their effects on antioxidant activity of extracted keratin. *International journal of biological macromolecules*, 148, 449–456. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.144>
- Arámburo-Gálvez, J. G., Tinoco-Narez-Gil, R., Mora-Melgem, J. A., Sánchez-Cárdenas, C. A., Gracia-Valenzuela, M. H., Flores-Mendoza, L. K., Figueroa-Salcido, O. G., & Ontiveros, N. (2024). In Silico Hydrolysis of Lupin (*Lupinus angustifolius* L.) Conglutins with Plant Proteases Releases Antihypertensive and Antidiabetic Peptides That Are Bioavailable, Non-Toxic, and Gastrointestinal Digestion Stable. *International journal of molecular sciences*, 25(23), 12866. <https://doi.org/10.3390/ijms252312866>
- Ashmarin, I. P., Karazeeva, E. P., Lyapina, L. A., & Samonina, G. E. (1998). The simplest proline-containing peptides PG, GP, PGP, and GPGG: regulatory activity and possible sources of biosynthesis. *Biochemistry. Biokhimiia*, 63(2), 119–124. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9526102/>
- Balti, R., Nedjar-Arroume, N., Adjé, E. Y., Guillochon, D., & Nasri, M. (2010). Analysis of novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from enzymatic hydrolysates of cuttlefish (*Sepia officinalis*) muscle proteins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(6), 3840–3846. <https://doi.org/10.1021/jf904300q>
- Bilge S., Erkmen C., Yücel A. (2025). A review on keratin-based sensor platforms: Structural properties of keratin, their role in analytical sensing applications, and future perspectives. *International Journal of Biological Macromolecules*. 321(3):146469. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.146469>
- Burge, S., Kelly, E., Lonsdale, D., Mutowo-Mueller, P., McAnulla, C., Mitchell, A., Sangrador-Vegas, A., Yong, S. Y., Mulder, N., & Hunter, S. (2012). Manual GO annotation of predictive protein signatures: the InterPro approach to GO curation. *Database : the journal of biological databases and curation*, 2012, bar068. <https://doi.org/10.1093/database/bar068>
- Burnett, C. L., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., Marks, J. G., Jr, Shank, R. C., Slaga, T. J., Snyder, P. W., Gill, L. J., & Heldreth, B. (2021). Safety Assessment of Keratin and Keratin-Derived Ingredients as Used in Cosmetics. *International journal of toxicology*, 40(2_suppl), 36S–51S. <https://doi.org/10.1177/10915818211013019>
- Cain G. A., Christos T. E., Johnson A. L., Pottorf R. S., Tam S., & Schmidt W. K. (1993). Identification of simpler analogs of neurotensin(913) which retain antinociceptive activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.*, 3, 1767-1772. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(00\)80059-1](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(00)80059-1)
- Carre, W., Wang, X., Porter, T. E., Nys, Y., Tang, J., Bernberg, E., Morgan, R., Burnside, J., Aggrey, S. E., Simon, J., & Cogburn, L. A. (2006). Chicken genomics resource: sequencing and annotation of 35,407 ESTs from single and multiple tissue cDNA libraries and CAP3 assembly of a chicken gene index. *Physiological genomics*, 25(3), 514–524. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00207.2005>
- Dąbrowska, M., Sommer, A., Sinkiewicz, I., Taraszkiewicz, A., & Staroszczyk, H. (2022). An optimal designed experiment for the alkaline hydrolysis of feather keratin. *Environmental science and pollution research international*, 29(16), 24145–24154. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17649-2>
- Dhanda, S., Singh, J., & Singh, H. (2008). Hydrolysis of various bioactive peptides by goat brain dipeptidylpeptidase-III homologue. *Cell biochemistry and function*, 26(3), 339–345. <https://doi.org/10.1002/cbf.1448>
- Dion, N., Cohen, P., Crine, P., & Boileau, G. (1997). Characterisation of neprilysin (EC 3.4.24.11) S2' subsite. *FEBS letters*, 411(1), 140–144. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)00681-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)00681-9)

- Fontoura, R., Daroit, D. J., Corrêa, A. P. F., Moresco, K. S., Santi, L., Beys-da-Silva, W. O., Yates, J. R., 3rd, Moreira, J. C. F., & Brandelli, A. (2019). Characterization of a novel antioxidant peptide from feather keratin hydrolysates. *New biotechnology*, 49, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.09.003>
- Gałęzowska, G., Ratajczyk, J., & Wolska, L. (2021). Determination of amino acids in human biological fluids by high-performance liquid chromatography: critical review. *Amino acids*, 53(7), 993–1009. <https://doi.org/10.1007/s00726-021-03002-x>
- Gallego, M., Aristoy, M. C., & Toldrá, F. (2014). Dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides generated in Spanish dry-cured ham. *Meat science*, 96(2 Pt A), 757–761. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.014>
- Ganellin, C. R., Bishop, P. B., Bambal, R. B., Chan, S. M., Law, J. K., Marabout, B., Luthra, P. M., Moore, A. N., Peschard, O., Bourgeat, P., Rose, C., Vargas, F., & Schwartz, J. C. (2000). Inhibitors of tripeptidyl peptidase II. 2. Generation of the first novel lead inhibitor of cholecystokinin-8-inactivating peptidase: a strategy for the design of peptidase inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, 43(4), 664–674. <https://doi.org/10.1021/jm990226g>
- Goldberg, O., Luini, A., & Teichberg, V. I. (1983). Bicyclic lactones derived from kainic acid as novel selective antagonists of neuroexcitatory amino acids. *Journal of medicinal chemistry*, 26(1), 39–42. <https://doi.org/10.1021/jm00355a009>
- Greenwold, M. J., & Sawyer, R. H. (2010). Genomic organization and molecular phylogenies of the beta (beta) keratin multigene family in the chicken (*Gallus gallus*) and zebra finch (*Taeniopygia guttata*): implications for feather evolution. *BMC evolutionary biology*, 10, 148. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-148>
- Hatanaka, T., Inoue, Y., Arima, J., Kumagai, Y., Usuki, H., Kawakami, K., Kimura, M., & Mukaiyama, T. (2012). Production of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides from defatted rice bran. *Food chemistry*, 134(2), 797–802. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.183>
- Hebert, E. M., Mamone, G., Picariello, G., Raya, R. R., Savoy, G., Ferranti, P., & Addeo, F. (2008). Characterization of the pattern of alphas1- and beta-casein breakdown and release of a bioactive peptide by a cell envelope proteinase from *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CRL 581. *Applied and environmental microbiology*, 74(12), 3682–3689. <https://doi.org/10.1128/AEM.00247-08>
- Heres A., Yokoyama I., Gallego M., Toldrá F., Arihara K., & Mora L. (2021). Antihypertensive potential of sweet Ala-Ala dipeptide and its quantitation in dry-cured ham at different processing conditions. *Journal of Functional Foods*, 87, 104818. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104818>
- Hikida, A., Ito, K., Motoyama, T., Kato, R., & Kawarasaki, Y. (2013). Systematic analysis of a dipeptide library for inhibitor development using human dipeptidyl peptidase IV produced by a *Saccharomyces cerevisiae* expression system. *Biochemical and biophysical research communications*, 430(4), 1217–1222. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.12.073>
- Ichimura, T., Yamanaka, A., Otsuka, T., Yamashita, E., & Maruyama, S. (2009). Antihypertensive effect of enzymatic hydrolysate of collagen and Gly-Pro in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 73(10), 2317–2319. <https://doi.org/10.1271/bbb.90197>
- Jo, D. M., Khan, F., Park, S. K., Ko, S. C., Kim, K. W., Yang, D., Kim, J. Y., Oh, G. W., Choi, G., Lee, D. S., & Kim, Y. M. (2024). From Sea to Lab: Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibition by Marine Peptides-Mechanisms and Applications. *Marine drugs*, 22(10), 449. <https://doi.org/10.3390/md22100449>
- Kamarudin, N. B., Sharma, S., Gupta, A., Kee, C. G., Chik, S. M. S. B. T., & Gupta, R. (2017). Statistical investigation of extraction parameters of keratin from chicken feather using Design-Expert. 3 *Biotech*, 7(2), 127. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0767-9>
- Kanegawa, N., Suzuki, C., & Ohinata, K. (2010). Dipeptide Tyr-Leu (YL) exhibits anxiolytic-like activity after oral administration via activating serotonin 5-HT1A, dopamine D1 and GABAA receptors in mice. *FEBS letters*, 584(3), 599–604. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.12.008>
- Khan, A. A., Parikh, H., & Qureshi, M. R. N. (2022). A review on chicken feather fiber (CFF) and its application in composites. *Journal of Natural Fibers*, 19(16), 12565–12585. <https://doi.org/10.1080/15440478.2022.2073495>
- Khumalo, M., Sithole, B., & Tesfaye, T. (2020). Valorisation of waste chicken feathers: Optimisation of keratin extraction from waste chicken feathers by sodium bisulphite, sodium dodecyl sulphate and urea. *Journal of environmental management*, 262, 110329. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110329>
- Kumagai, Y., Toji, K., Katsukura, S., Morikawa, R., Uji, T., Yasui, H., Shimizu, T., & Kishimura, H. (2021). Characterization of ACE Inhibitory Peptides Prepared from *Pyropia pseudolinearis* Protein. *Marine drugs*, 19(4), 200. <https://doi.org/10.3390/md19040200>
- Lan, V. T., Ito, K., Ohno, M., Motoyama, T., Ito, S., & Kawarasaki, Y. (2015). Analyzing a dipeptide library to identify human dipeptidyl peptidase IV inhibitor. *Food chemistry*, 175, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.131>
- Lee, C. M., & Snyder, S. H. (1982). Dipeptidyl-aminopeptidase III of rat brain. Selective affinity for enkephalin and angiotensin. *The Journal of biological chemistry*, 257(20), 12043–12050. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6749851/>
- Lorenzo-Hernando, A., Ruiz-Vegas, J., Vega-Alegre, M., & Bolado-Rodríguez, S. (2019). Recovery of proteins from biomass grown in pig manure microalgae-based treatment plants by alkaline hydrolysis and acidic precipitation. *Bioresource Technology*, 273, 599–607. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.068>
- Luzarowski, M., Vicente, R., Kiselev, A., Wagner, M., Schlossarek, D., Erban, A., de Souza, L. P., Childs, D., Wojciechowska, I., Luzarowska, U., Górka, M., Sokołowska, E. M., Kosmacz, M., Moreno, J. C., Brzezińska, A., Vegesna, B., Kopka, J., Fernie, A. R., Willmitzer, L., Ewald, J. C., ... Skrycz, A. (2021). Global mapping of protein-metabolite interactions in *Saccharomyces cerevisiae* reveals that Ser-Leu dipeptide regulates phosphoglycerate kinase activity. *Communications biology*, 4(1), 181. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01684-3>
- Ma R., Chen Q., Dai Y., Huang Y., Hou Q., Huang Y., Zhong K., Huang Y., Gao H., Bu Q. (2022). Identification of novel antioxidant peptides from sea squirt (*Halocynthia roretzi*) and its neuroprotective effect in 6-OHDA-induced neurotoxicity. *Food & Function*, 13, 6008–6021. <https://doi.org/10.1039/D2FO00729K>
- Minkiewicz, P., Iwaniak, A., & Darewicz, M. (2019). BIOPEP-UWM Database of Bioactive Peptides: Current Opportunities. *International journal of molecular sciences*, 20(23), 5978. <https://doi.org/10.3390/ijms20235978>
- Mokrejš, P., Hut'ta, M., Pavlačková, J., & Egner, P. (2017). Preparation of Keratin Hydrolysate from Chicken Feathers and Its Application in Cosmetics. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (129), 56254. <https://doi.org/10.3791/56254>

- Molloy, P. L., Powell, B. C., Gregg, K., Barone, E. D., & Rogers, G. E. (1982). Organisation of feather keratin genes in the chick genome. *Nucleic acids research*, 10(19), 6007–6021. <https://doi.org/10.1093/nar/10.19.6007>
- Moreno-Mariscal, C., Carrera-Alvarado, G., Mora, L., & Toldrá, F. (2025). Neprilysin (NEP) and Angiotensin Converting Enzyme-I (ACE-I) inhibitory dipeptides from chicken carcass hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, 221. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117591>
- Morifuji, M., Koga, J., Kawanaka, K., & Higuchi, M. (2009). Branched-chain amino acid-containing dipeptides, identified from whey protein hydrolysates, stimulate glucose uptake rate in L6 myotubes and isolated skeletal muscles. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 55(1), 81–86. <https://doi.org/10.3177/jnsv.55.81>
- Mullally, M. M., Meisel, H., & FitzGerald, R. J. (1996). Synthetic peptides corresponding to alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin sequences with angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity. *Biological chemistry Hoppe-Seyler*, 377(4), 259–260. <https://doi.org/10.1515/bchm3.1996.377.4.259>
- Murota, I., Taguchi, S., Sato, N., Park, E. Y., Nakamura, Y., & Sato, K. (2014). Identification of antihyperuricemic peptides in the proteolytic digest of shark cartilage water extract using in vivo activity-guided fractionation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(11), 2392–2397. <https://doi.org/10.1021/jf405504u>
- Nongonierma, A. B., Mooney, C., Shields, D. C., & Fitzgerald, R. J. (2013). Inhibition of dipeptidyl peptidase IV and xanthine oxidase by amino acids and dipeptides. *Food chemistry*, 141(1), 644–653. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.115>
- Onifade, A. A., Al-Sane, N. A., Ai-Musallam, A. A., & Al-Zarban, S. (1998). a review: potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. *Bioresource Technology* (Vol. 66). [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(98\)00033-9](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(98)00033-9)
- Pourjavaheri, F., Ostovar Pour, S., Jones, O. A. H., Smooker, P. M., Brkljača, R., Sherkat, F., Blanch, E. W., Gupta, A., & Shanks, R. A. (2019). Extraction of keratin from waste chicken feathers using sodium sulfide and L-cysteine. *Process Biochemistry*, 82, 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.04.010>
- Presland, R. B., Gregg, K., Molloy, P. L., Morris, C. P., Crocker, L. A., & Rogers, G. E. (1989). Avian keratin genes. I. A molecular analysis of the structure and expression of a group of feather keratin genes. *Journal of molecular biology*, 209(4), 549–559. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(89\)90593-7](https://doi.org/10.1016/0022-2836(89)90593-7)
- Rahman, M. M., & Lamsal, B. P. (2021). Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 20, Issue 2, pp. 1457–1480). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12709>
- Ringseis, R., Matthes, B., Lehmann, V., Becker, K., Schöps, R., Ulbrich-Hofmann, R., & Eder, K. (2005). Peptides and hydrolysates from casein and soy protein modulate the release of vasoactive substances from human aortic endothelial cells. *Biochimica et biophysica acta*, 1721(1-3), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2004.10.005>
- Rouse, J. G., & Van Dyke, M. E. (2010). A review of keratin-based biomaterials for biomedical applications. *Materials*, 3(2), 999–1014. <https://doi.org/10.3390/ma3020999>
- Sharma, S., Gupta, A., Chik, S. M. S. T., Gek, K. C., Podde, P. K., Thraisingam, J., & Subramaniam, M. (2016, December). Extraction and characterization of keratin from chicken feather waste biomass: a study. In *Proceedings of the national conference for postgraduate research (NCON-PGR 2016)*, Universiti Malaysia Pahang (UMP), Pekan (pp. 693-699). <https://www.researchgate.net/publication/311843895>
- Sinkiewicz, I., Śliwińska, A., Staroszczyk, H., & Kołodziejska, I. (2017). Alternative Methods of Preparation of Soluble Keratin from Chicken Feathers. *Waste and Biomass Valorization*, 8(4), 1043–1048. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9678-y>
- Soffer R. L. (1973). Peptide acceptors in the leucine, phenylalanine transfer reaction. *The Journal of biological chemistry*, 248(24), 8424–8428. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)43150-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)43150-5)
- Sonklin, C., Alashi, A. M., Laohakunjit, N., & Aluko, R. E. (2021). Functional Characterization of Mung Bean Meal Protein-Derived Antioxidant Peptides. *Molecules*, 26(6), 1515. <https://doi.org/10.3390/molecules26061515>
- Suetsuna, K., Ukeda, H., & Ochi, H. (2000). Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *The Journal of nutritional biochemistry*, 11(3), 128–131. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(99\)00083-2](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(99)00083-2)
- Tang, H., Finn, R. D., & Thomas, P. D. (2019). TreeGrafter: phylogenetic tree-based annotation of proteins with Gene Ontology terms and other annotations. *Bioinformatics* (Oxford, England), 35(3), 518–520. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty625>
- Tesfaye, T., Sithole, B., & Ramjugernath, D. (2017). Valorisation of chicken feathers: a review on recycling and recovery route—current status and future prospects. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 19(10), 2363-2378. <https://doi.org/10.1007/s10098-017-1443-9>
- Van Platerink, C. J., Janssen, H. G., & Haverkamp, J. (2008). Application of at-line two-dimensional liquid chromatography-mass spectrometry for identification of small hydrophilic angiotensin I-inhibiting peptides in milk hydrolysates. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 391(1), 299–307. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-1990-3>