

**UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PRODUÇÃO**

**ANÁLISE DA VIABILIDADES DA OBTENÇÃO DE UM BIOFILME A PARTIR DO  
COLÁGENO DE FRANGO**

**ROBERTA BEZERRA GARDIM**

**SÃO PAULO, 2018**

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO  
PROJETO PARA MESTRADO EM ENGENHARIA DE PRODUÇÃO

**ANÁLISE DA VIABILIDADES DA OBTENÇÃO DE UM BIOFILME A PARTIR DO  
COLÁGENO DE FRANGO**

ROBERTA BEZERRA GARDIM

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Engenharia de Produção da Universidade Nove de Julho, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Produção.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Curvelo Santana  
Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Giovanna Bonfante Borini

São Paulo, 27 de setembro de 2018

Gardim, Roberta Bezerra.

Análise das viabilidades da obtenção de um biofilme a partir do colágeno de frango. / Roberta Bezerra Gardim. 2018.  
85 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2018.

Orientador (a): Prof. Dr. José Carlos Curvelo Santana.

1. Pés de frango. 2. Colágeno de frango. 3. Biofilme. 4. Gelatina.
5. Extração de colágeno. 6. Extração de colágeno de frango

I. Santana, José Carlos Curvelo. II. Título

CDU 658.5



PARECER DA COMISSÃO EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

DE

Roberta Bezerra Gardim

Titulo da Dissertação: Análise da Viabilidades da Obtenção de um Biofilme à Partir do Colágeno de Frango.

A Comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, considera o(a) candidato(a) Roberta Bezerra Gardim APROVADA

São Paulo, 27 de setembro de 2018.

Prof(a). Dr(a). José Carlos Curvelo Santana (PPGEP/UNINOVE)

Prof(a). Dr(a). Roberto Rodrigues de Souza (UFS/PEQ)

Prof(a). Dr(a). Fernando Tobal Berssaneti (PPGEP/UNINOVE)

*Dedico este trabalho à memória de meu pai, Francisco Roberto Gardim, que sempre lutou e se dedicou para que um dia, meus sonhos tornassem realidade. À minha mãe, que mesmo do seu jeito peculiar de ser, esteve presente em minha caminhada. Ao meu marido que me apoiou em todas as horas, principalmente as mais difíceis, que estendeu sua mão amiga nos momentos em que pensei em desistir de lutar e que, por muitas vezes, entendeu meu silêncio. Às minhas irmãs, que sofreram com minha ausência, principalmente em ocasiões que deveria estar presente e que me reclusei devido aos estudos. Às minhas avós que, por muitas vezes, mesmo que nos bastidores, estenderam a mão em meu auxílio. Essa conquista não poderia se tornar tão grandiosa se não fossem por vocês atrás nos bastidores me motivando sempre a seguir em frente, por mais árduo que fosse o caminho. Não poderia faltar os meus companheiros de madrugadas em claro: Lotus, Dara, Junior e Lua, que sempre vinham ronronando quando o estudo estava difícil, o sono e o cansaço tentavam tomar a cena e me vencer. Amo vocês!*

## AGRADECIMENTO

Primeiramente agradeço a Deus, por sempre estar presente em todos momentos de minha vida principalmente nos mais difíceis e tortuosos.

Quero agradecer, ao meu querido amigo e professor Dr. José Carlos Curvelo Santana, que compartilhou seus conhecimentos, orientou-me nas pesquisas e ideias, pela confiança, dedicação paciência e carinho.

Agradeço, ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção da Universidade Nove de Julho que possibilitou a realização da pesquisa. A todos os docentes do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção pela dedicação em que, compartilharam seus conhecimentos para que fosse possível a construção de mais um degrau da minha escada do conhecimento.

Em especial, quero agradecer aos amigos: Amanda Miranda e Rogério Bonette, que com humildade e carinho tornaram essa conquista uma realidade. Gratidão pela amizade que foi construída, a confiança que me foi dada e pelo maior presente que que ninguém mais poderia oferecer.

Aos amigos conquistados ao longo do programa minha gratidão, em especial Roberto, João, Jefferson, Jane e Cláudio, que tiveram paciência e carinho quando muitas vezes me encontrei em dificuldades.

A todos vocês, minha gratidão!

*“Eu tentei 99 vezes e falhei. Mas na centésima vez eu consegui. Nunca desista de seus objetivos, mesmo que eles pareçam impossíveis. A próxima tentativa pode ser vitoriosa. ”*

*(Albert Einstein)*

## RESUMO

O presente trabalho visa analisar as viabilidades da obtenção de um biofilme a partir da extração do colágeno dos pés de frango. Neste sentido, um planejamento fatorial variando a concentração do ácido acético, tempo e temperatura de extração do colágeno foi utilizado. A otimização do sistema foi feita por análise de superfície de resposta com grau de confiança de 95% pela metodologia ANOVA. Após a obtenção do colágeno, as películas foram feitas a partir de uma solução de colágeno de frango com glicerina ou propilenoglicol. Nos biofilmes foram realizados testes de intumescimento e transmissão de vapor d'água para garantir a qualidade e avaliar as perspectivas de degradação e o grau de hidratação. Também foi avaliado o valor de custos das matérias-primas para produção de uma embalagem com 12 unidades desses biofilmes. Verificou-se que o material seco e pulverizado apresentou uma coloração amarela e uma composição com mais de 78% de proteínas. O rendimento da extração variou de 1,7 até 8,5% de colágeno sobre a massa inicial dos pés de frango e a otimização mostrou que é possível obter rendimentos acima dos 8,0% quando se utiliza a concentração do ácido acético entre 3,000 e 3,682 %, o tempo de operação entre 1 e 3h e a temperatura entre 70 e 76,82°C. Os resultados dos testes de intumescimento e transmissão de vapor d'água garantiram a qualidade dos produtos com relação à degradação e grau de hidratação. A análise de custos mostrou que para se produzir um pacote com 12 unidades de biofilme o custo de matéria-prima envolvida ficou em R\$ 0,04 (US\$0,01) e que o metilparabeno foi responsável por 75% dos custos, seguido pelo plastificante (glicerina e/ou propilenoglicol) com aproximadamente 20% do custo total da formulação. Assim, este trabalho demonstrou que os biofilmes produzidos a partir do colágeno de frango são viáveis tecnicamente e economicamente.

**Palavras-chave:** pés de frango, colágeno de frango, biofilme, gelatina, extração de colágeno, extração de colágeno de frango, colágeno de frango pés.



## ABSTRACT

The present work aims to analyze the feasibility of obtaining a biofilm from the extraction of collagen from the feet of chicken. In this sense, a factorial design varying the acetic acid concentration, time and temperature of the collagen extraction was used. The optimization of the system was done by response surface analysis with a confidence level of 95% using the ANOVA methodology. After obtaining the collagen, the films were made from a solution of chicken collagen with glycerin or propylene glycol. Biofilms were tested for swelling and water vapor transmission to assure quality and evaluate the prospects for degradation and degree of hydration. It was also evaluated the cost value of raw materials for the production of a pack with 12 units of these biofilms. The dried and pulverized material was found to have a yellow coloration and a composition of more than 78% protein. The extraction yield varied from 1.7 to 8.5% of collagen on the initial mass of the chicken feet and the optimization showed that it is possible to obtain yields above 8.0% when using the acetic acid concentration between 3,000 and 3.682%, the operating time between 1 and 3h and the temperature between 70 and 76.82 ° C. The results of swelling and water vapor transmission tests ensured the quality of products with respect to degradation and degree of hydration. The cost analysis showed that in order to produce a package with 12 biofilm units, the cost of raw material involved was R \$ 0.04 (US \$ 0.01) and that methylparaben accounted for 75% of the costs, followed by plasticizer (glycerine and / or propylene glycol) with approximately 20% of the total cost of the formulation. Thus, this work demonstrated that biofilms produced from chicken collagen are technically and economically viable.

**Keywords:** chicken feet, chicken collagen, biofilm, gelatin, collagen extraction, collagen extraction from chicken, chicken collagen feet.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Aplicações de curativos biológicos e colágeno comercial.....	19
<b>Figura 2:</b> Sugestões para aplicações do colágeno dos pés de frango.....	19
<b>Figura 3:</b> Posicionamento do Brasil e demais países em relação a exportação da carne de frango em 2017.....	23
<b>Figura 4:</b> Posicionamento do Brasil e demais países referentes a produção da carne de frango.....	23
<b>Figura 5:</b> Conformação de um filamento único de tríplice hélice da molécula de colágeno.....	25
Figura 6. Design fatorial completo de um planejamento do tipo $2^2$ .....	36
Figura 7: Design rotacional de um planejamento fatorial completo do tipo $2^2$ , ou design estrela.....	37
<b>Figura 8:</b> Fluxograma da metodologia a ser utilizado no projeto de pesquisa.....	45
<b>Figura 9:</b> Fluxograma da extração do colágeno dos tarsos de frango.....	48
<b>Figura 10:</b> Esquemática do procedimento da preparação dos biofilmes de colágeno de frango em secador de infravermelho e estufa convencional.....	50
<b>Figura 11:</b> Esquemática do procedimento do teste de intumescimento nos biofilmes .....	52
<b>Figura 12:</b> Kit para teste de transmissão de vapor de água nos biofilmes .....	53
<b>Figura 13:</b> Esquemática do teste de TVA.....	54
<b>Figura 14:</b> Cristais de colágeno obtidos a partir da extração dos pés de frango.....	57
<b>Figura 15:</b> Superfície de resposta que mostra a influência mútua do tempo e da concentração do ácido acético sobre o rendimento da extração.....	59
<b>Figura 16:</b> Superfície de resposta que mostra a influência mútua da temperatura e da concentração do ácido acético sobre o rendimento da extração.....	59
<b>Figura 17:</b> Superfície de resposta que mostra a influência mútua do tempo e da temperatura sobre o rendimento da extração.....	60
<b>Figura 18:</b> Foto dos biofilmes obtidos a partir do colágeno de frango.....	62
<b>Figura 19:</b> Foto dos biofilmes obtidos a partir do colágeno suíno.....	63
<b>Figura 20:</b> Demonstração gráfica do índice de intumescimento dos biofilmes de colágeno dos pés de frango, com uso de glicerina e propilenoglicol.....	64

<b>Figura 21:</b> Demonstração gráfica do índice de intumescimento dos biofilmes de colágeno suíno, com uso de glicerina e propilenoglicol.....	64
<b>Figura 22:</b> Demonstração gráfica do dos resultados do teste de TVA dos biofilmes de colágeno dos pés de frango, com uso de glicerina e propilenoglicol.....	65
<b>Figura 23:</b> Demonstração gráfica do dos resultados do teste de TVA dos biofilmes de colágeno dos pés de frango, com uso de glicerina e propilenoglicol.....	66
<b>Figura 24:</b> Demonstração gráfica da comparação de custos dos biofilmes a base de colágeno dos pés de frango.....	68

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Matriz de planejamento para um planejamento fatorial do tipo $2^2$ .....	37
<b>Tabela 2:</b> Matriz de planejamento para um planejamento fatorial completo e rotacional do tipo $2^2$ .....	38
<b>Tabela 3:</b> análise da variância de um modelo.....	40
<b>Tabela 4.</b> Matriz de planejamento e resultados da extração do colágeno.....	56
<b>Tabela 5.</b> Resultado da avaliação dos ajustes do modelo pela metodologia ANOVA.....	58

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Tipos de colágenos e distribuição tecidual.....	28
<b>Quadro 2:</b> Formulação dos biofilme com colágeno de frango, onde I refere-se ao uso da glicerina e II, ao propilenoglicol.....	49
<b>Quadro 3:</b> Formulação dos biofilmes controle com colágeno de frango, onde III refere-se como plastificante glicerina e IV ao propilenoglicol.....	51
<b>Quadro 4:</b> Comparação das características organolélicas dos biofilmes a base de colágeno dos pés de frango em glicerina e propilenoglicol.....	61
<b>Quadro 5:</b> Resultados organolélicos do biofilme controle a base de colágeno comercial.....	62
<b>Quadro 6:</b> Custo de insumos para Formulação I dos biofilmes de colágeno de frango, com glicerina em 12 unidades do biofilme.....	67
<b>Quadro 7:</b> Custos de insumos para Formulação II dos biofilmes de colágeno de frango, com propilenoglicol e em 12 unidades.....	67

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I

<b>1.INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 Justificativa .....</b>	<b>18</b>
<b>1.2 Objetivos.....</b>	<b>20</b>
<b>a) Objetivo Geral .....</b>	<b>20</b>
<b>b) Objetivos específicos .....</b>	<b>20</b>

### CAPÍTULO II

<b>2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1. Importância econômica no setor Avícola .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2. Geração de produtos na Indústria Avícola .....</b>	<b>24</b>
<b>2.3 Colágeno .....</b>	<b>25</b>
<b>2.4. Extração do colágeno.....</b>	<b>29</b>
<b>2.5. Biofilmes .....</b>	<b>33</b>
<b>2.6. Planejamento fatorial e otimização de experimentos .....</b>	<b>35</b>
<b>2.7. Viabilidade econômica do processo produtivo do colágeno.....</b>	<b>42</b>

### CAPÍTULO III

<b>3.MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
<b>3.1. Extração e otimização do colágeno dos pés de frango.....</b>	<b>46</b>
<b>3.2. Obtenção dos biofilmes .....</b>	<b>48</b>
<b>3.3. Obtenção do controle.....</b>	<b>50</b>
<b>3.4. Determinação do índice de intumescimento (Ii%) .....</b>	<b>51</b>
<b>3.5. Determinação de transmissão de vapor de água (TVA) .....</b>	<b>53</b>
<b>3.6. Composição dos custos .....</b>	<b>54</b>

### CAPÍTULO IV

<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>56</b>
<b>4.1. Extração e otimização de processos do colágeno de frango.....</b>	<b>56</b>
<b>4.1. Avaliação dos biofilmes .....</b>	<b>60</b>
<b>4.2. Teste de Intumescimento (Ii%) .....</b>	<b>63</b>
<b>4.3. Teste de Transmissão de Vapor d'água (TAV).....</b>	<b>65</b>
<b>4.4. Avaliação de custos .....</b>	<b>66</b>

### CAPÍTULO V

<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>70</b>
<b>5.1 Sugestões para trabalhos futuros .....</b>	<b>71</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>73</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>84</b>

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUÇÃO**

## 1. INTRODUÇÃO

Os hábitos alimentares da população brasileira do século XXI sofreram alterações significativas e com isso, acompanharam o progresso tecnológico das Indústrias da Carne que, constantemente lançavam novos produtos no mercado (CENTENARO *et al.*, 2009).

A economia de diversos países apresenta grande crescimento devido a comercialização da carne de frango, tendo o Brasil como um dos maiores produtores mundial. Dessa forma, o Brasil em 2017, conquistou o terceiro lugar no setor avícola, com 44,631 kg da produção per capita, ficando atrás dos EUA e a frente da Argentina com 47,691kg 43,093kg, respectivamente, enquanto a China e a Índia apresentaram um consumo per Capita de carne de frango abaixo da média mundial com 11,902 Kg. Tais resultados foram possíveis, devido ao preço da carne de frango estar mais acessível, em relação a carne bovina e suína, pela estabilidade promovida no plano real e a diversidade/praticidade dos produtos oferecidos, associadas ao conceito de um produto saudável (USDA, 2017).

A produção de frango de corte (destinadas ao abate e consumo humano) é a maneira mais eficiente, eficaz e barata para obtenção de proteína animal na nutrição dos seres humanos. Esse tipo de carne apresenta algumas vantagens econômicas, tais como: um rápido crescimento do animal para o abate, os frangos podem ser criados em pequenos espaços, os custos referentes ao consumo de água/energia são baixos e reaproveitamento do animal em sua totalidade. A crescente demanda na Indústria Avícola ampliou a preocupação com os resíduos que são descartados, muitas vezes, de maneira inadequada (MIRITZ *et al.*, 2015).

O destino inadequado dos resíduos da Indústria Avícola, contribuem para o agravamento de problemas ambientais como por exemplo, presença de vetores, doenças, contaminação de solo e água (SOUZA *et al.*, 2016). Os produtos que não podem ser reaproveitados (por exemplo, o sangue, vísceras, penas) para produção de um subproduto são descartados de maneiras indevidas levando à contaminação e poluição do meio ambiente. Desta forma, para que esses índices diminuam, torna-se necessário a utilização de práticas economicamente vantajosas, que possam oferecer um controle ambiental e proporcionar lucros financeiros (CENTENARO *et al.* 2009).

Atualmente, uma aplicação vantajosa utilizada para descarte dos resíduos da Indústria Avícola é a transformação em farinha e óleo, para posterior produção de ração animal. Outra forma de reaproveitamento está no setor de graxaria, que reutilizam as vísceras, penas, sangue, cabeças entre outros resíduos e os reaproveitam em um novo produto sustentável (MIRITZ *et*



*al.*, 2015). Almeida e Santana (2010) encontraram por meio de pesquisas, através da extração do colágeno dos pés de frango, um produto desidratado, com alto teor de colágeno com rendimento de até 16%, com ampla facilidade e habilidade de transformação em um gel estável e reversível, com capacidade para formação de filme.

A extração do colágeno pode ocorrer através de várias fontes ricas dessa proteína, como por exemplo, pele e osso de bacalhau, tubarão, peixe pulmão e tilápia (CHO *et al.*, 2006), os ossos do jacaré (WOOD *et al.*, 2008), *Dosidicus gigas* (lula gigante) encontrada no Oceano Pacífico (GIMÉNEZ *et al.*, 2009), *Cyanea lamarchi* (medusa água-viva) (SONG *et al.*, 2009), frango por processos químicos ou enzimáticos (ALMEIDA, 2012), pele e o osso da cavala espanhola (*Scomberomorous niphonius*) (LI *et al.*, 2013).

O colágeno é uma proteína composta por aminoácidos, com importância funcional na construção de tecidos intercelulares e de suporte. Sendo o principal constituinte proteico do corpo dos mamíferos, podendo ser utilizado com a estrutura original do tecido de onde foi extraído para uso em suturas, válvulas cardíacas ou próteses ligamentares; ou como biomateriais em associação ou não com outras macromoléculas, podendo ser preparado em diferentes formatos (como esponjas, géis, tubos, esferas, membranas, filmes, biocurativos, entre outros), dependendo da aplicação desejada (DU e BETTI, 2017).

Os biofilmes à base de colágeno estão sendo estudados há muitos anos, principalmente em aplicação no tratamento de lesões teciduais, tais como pele, nervos, tendões e cartilagem. Os materiais à base dessa proteína devem reproduzir as mesmas estruturas e propriedades do tecido humano para auxiliar no direcionamento do processo de cicatrização e formação de um novo tecido (NOZAKI *et al.*, 2012).

A avaliação do biofilme envolve diversos ensaios e estudos clínicos, para que seja possível avaliar as interações dos materiais com ambientes biológicos e os possíveis riscos relacionados à sua aplicação. Os testes de intumescimento e transmissão de vapor de água permitem verificar por antecipação a perspectiva de degradação que está relacionada ao grau de hidratação do sistema. Esses testes são produtos das análises de estabilidade estrutural durante o período necessário para formação do novo tecido regenerado (LI *et al.*, 2017).

A demanda pela busca de novos biocurativos cresce progressivamente, fato esse, que justifica o destaque na reavaliação do tratamento de pacientes com feridas crônicas. O Brasil apresenta outros produtos com as mesmas características, porém, o custo é elevado tornando assim, inviável sua utilização nos tratamentos de regeneração tecidual (COTRIM *et al.*, 2013).

Os biocurativos interagem com a pele criando condições semelhantes ao processo de cicatrização, sendo o processo natural comandado pelo sangue, transportando hormônios e moléculas sinalizadoras permitindo que novas células somáticas se formem e recomponham a superfície da pele. A vantagem que esses novos curativos bioativos apresentam é a cicatrização pós-regeneração tecidual e como resultados, a flexibilidade e pigmentação na pele (NOGUEIRA, 2010).

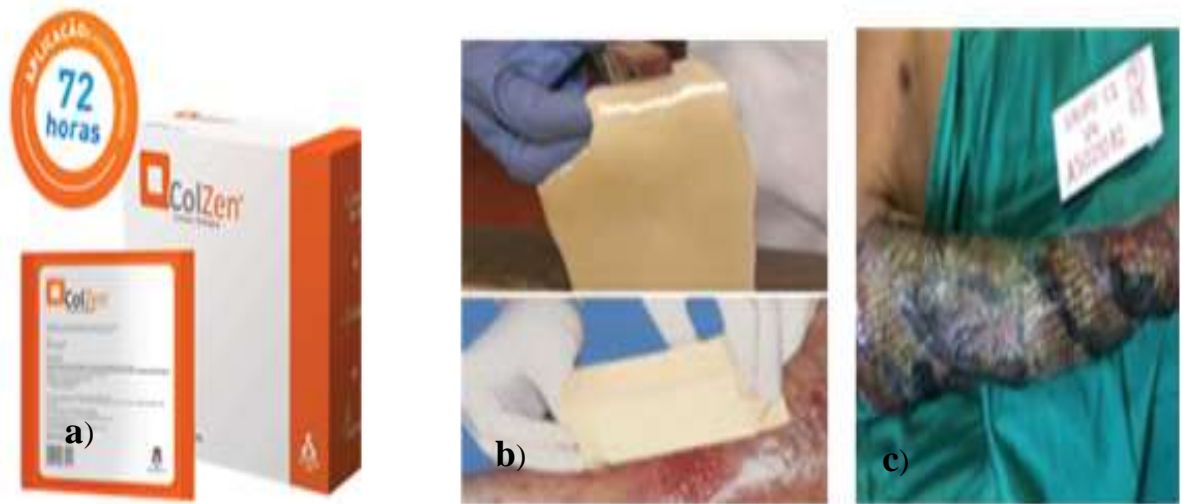
Na última década, estudos referentes aos tratamentos de lesões teciduais têm sido impulsionados pelos biocurativos, devido a apresentarem condição asséptica favorável no processo de cicatrização. Com isso, a Engenharia de Tecidos, investem em pesquisas que permitam inovações em tratamentos, que visam substâncias proteicas e químicas responsáveis nos fatores de crescimento tecidual (ABRUCZE *et al.*, 2014).

## **1.1 Justificativa**

A crescente demanda na Indústria Avícola, ampliou a preocupação com os rejeitos que são descartados de maneira inadequada no meio ambiente (MIRITZ *et al.*, 2015). No Brasil, descartam muitos cortes de frango que não visam grandes valores comerciais, como por exemplo, os pés. Devido a esta preocupação, se propôs um estudo de reutilização desses rejeitos, preparando biofilmes a partir da extração do colágeno dos pés de frango para utilização em tratamentos de lesões teciduais.

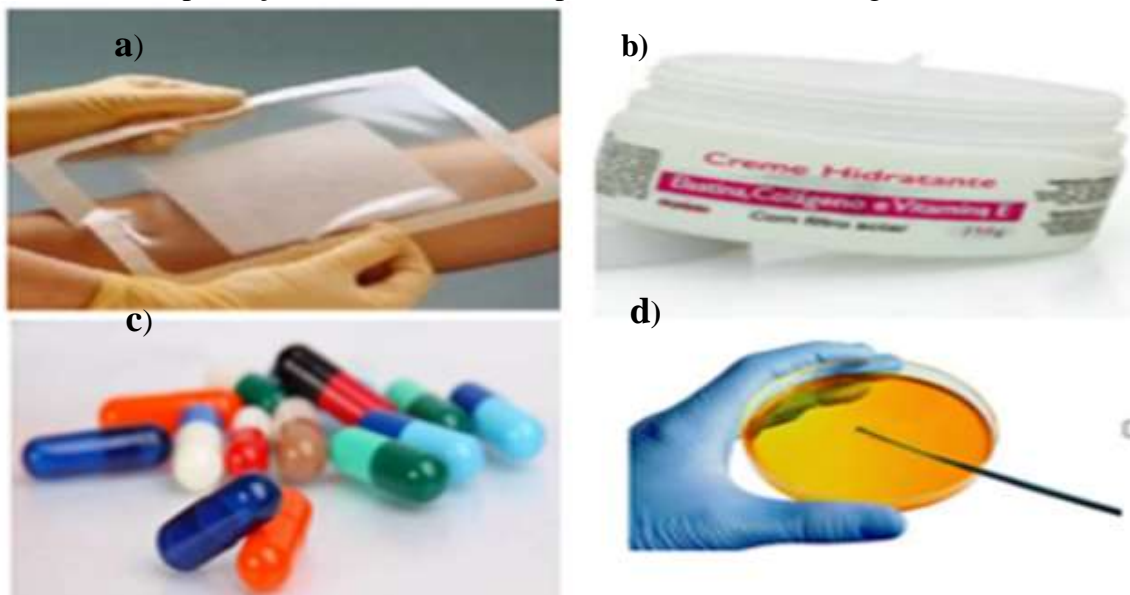
O presente trabalho realizou uma pesquisa bibliográfica a respeito do colágeno extraído dos pés de frango para aplicações em produtos médicos-farmacêuticos e não encontrou citações referente ao assunto. Almeida *et al.* (2013) comprovaram em seus estudos que, os custos para produção de produtos obtidos a partir do colágeno dos pés de frango são mais baratos e com qualidade semelhante ou melhor do que os produtos obtidos a partir do colágeno comercial ou de outros animais (Figura 1). Sendo assim, esses produtos à base de colágeno dos pés de frango abrem as portas para o mercado médico-farmacêutico, como por exemplo, aplicações como pele artificial, biocurativos, invólucros de cápsulas, cápsulas de colágeno nutracêuticos, creme anti-idade e meio de cultura para análises microbiológicas (Figura 2). Além de obtenções de novos produtos, esse estudo visa obter uma eficiência relevante na extração do colágeno e obtenção de novos produtos, tendendo ser tão relevantes e eficientes quanto os resultados encontrados por Almeida (2012).

Figura 1: Aplicações de curativos biológicos; a) biocurativo a partir do colágeno comercial; b) pele de porco estudada como biocurativo (pele artificial) em processo de lesões de contato; c) tratamento de ferida crônica com pele de tilápia;



(Fonte: Google)

Figura 2: Sugestões para aplicações do colágeno dos pés de frango; a) aplicação como biocurativos em tratamentos de lesões teciduais; b) princípio ativo em creme anti-idade; c) produção de invólucros de cápsulas duras ou cápsulas nutracêuticas a base de colágeno; d) produção de meio de cultura para análises microbiológicas.



(Fonte: Google)

## **1.2 Objetivos**

### **a) Objetivo Geral**

O presente trabalho visa analisar e avaliar as viabilidades de obtenção de biofilmes livres a partir do colágeno extraído dos pés de frango.

### **b) Objetivos específicos**

- Determinar a melhor condição de extração do colágeno dos pés de frango, através do planejamento fatorial, usando como variáveis: concentração do ácido acético, variação de temperatura e tempo de extração;
- Preparar os biofilmes, variando os componentes da formulação: glicerina, propilenoglicol, colágeno de pés de frango;
- Fazer uma análise comparativa dos biofilmes obtidos a partir dos diferentes tipos de plastificantes para determinar qual a melhor condição de obtenção;
- Avaliar as características organolépticas dos biofilmes
- Realizar os Testes de Intumescimento (Ii) para analisar seu grau de hidratação
- Realizar o Teste de Transmissão de Vapor d'água (TVA) para analisar a transferência de água através do biofilme;
- Realizar a análise de custos das matérias-primas envolvidas na formulação do biofilme.

### **c) Organização do Texto**

O trabalho está organizado a partir da Introdução que apresenta o problema e o que se pretende resolver. A Revisão Bibliográfica inicia a partir de uma abordagem sobre a Indústria Avícola, seguindo com seus produtos e subprodutos, dentre os quais se abordou especificamente o colágeno. Este último introduz a inovação tecnológica que está abordada nesta pesquisa: a produção de biofilmes a partir do colágeno de pé de frango. Na sequência, aborda-se a viabilidade econômica dos materiais envolvidos na produção dos biofilmes e, por fim, a otimização usando planejamento fatorial. Os métodos usados neste trabalho são então citados no item Material e Métodos. Na sequência, os Resultados e Discussões que são apresentados a partir da extração do colágeno, seguido pela produção, análises e análise de custo dos biofilmes. Por fim são apresentadas as conclusões e referencia utilizadas neste trabalho.

## **CAPÍTULO II**

# **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Importância econômica no setor Avícola

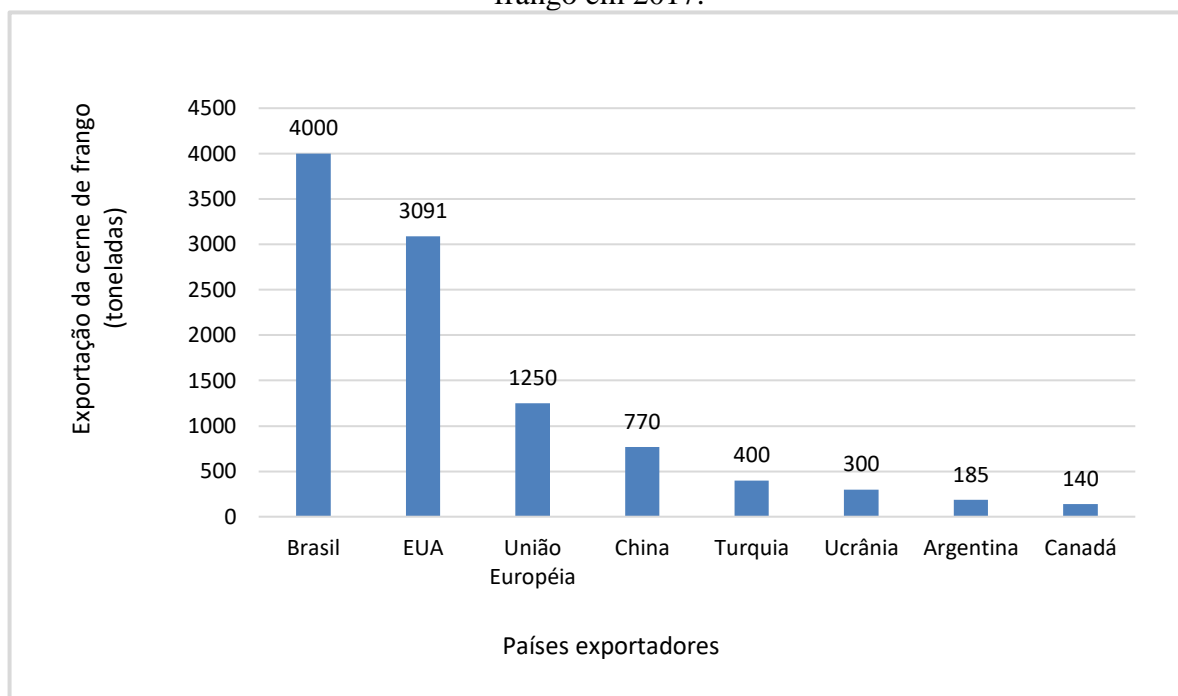
A partir do período pós-segunda Guerra Mundial, a economia e urbanização começaram a desenvolver atividades agropecuárias que tomaram um novo cenário atraindo a modernização, expansão e especialização. O setor que era voltado apenas para subsistência e inicia a expansão no mercado do agronegócio, modernizando seus parques industriais (processamento, industrialização e distribuição), além de importantes parcerias com alguns países: Arábia Saudita, Japão, Rússia e Hong Kong, alguns países da União Europeia e Ásia Oriental (ABEF, 2017).

As Indústrias Brasileiras de Avicultura passaram a vigorar a partir de 1970, motivadas pelo poder político, com início da exportação de carnes do setor. A partir do ano de 2000, o Brasil passou a crescer economicamente, tornando-se um dos maiores exportadores mundiais de carne de frango (GUIMARÃES *et al.*, 2015).

Com o aumento no consumo da carne de frango, a produção de aves estimulou melhorias no processo produtivo e com isso, a Indústria Avícola, iniciou o processo de modernização, expansão de mercado e abriu portas para o comércio mundial. Contudo, a aceitação da carne do frango elevou a produção nacional e mundial, apresentando um rápido crescimento, melhorias nos produtos fornecidos e no padrão de qualidade (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

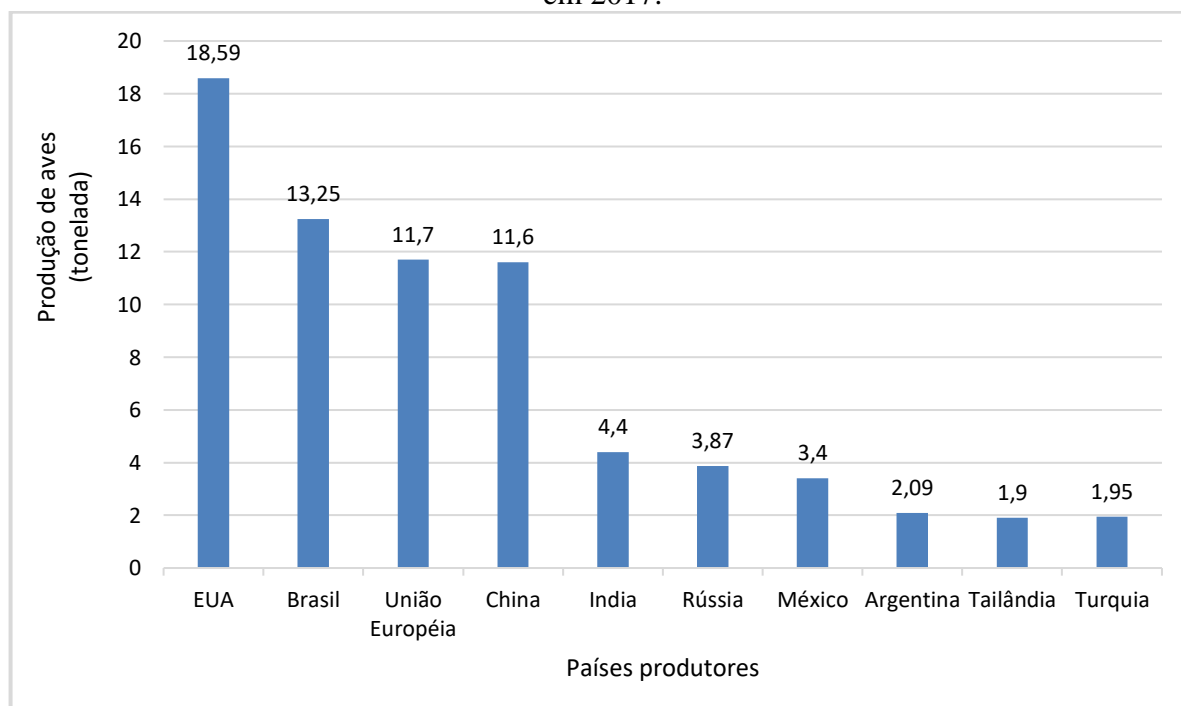
Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA (2017), o Brasil possui mais de 150 mercados importadores revertendo-se em aproximadamente 4 milhões de toneladas de carne de frango exportadas anualmente, alcançando o primeiro lugar na categoria de exportador (Figura 3) e em relação a produção de aves, alcançou o segundo lugar apresentando um amplo favorecimento na produção e custos de grãos (Figura 4), que são utilizados na alimentação das aves, além, de obter mão de obra de baixo custo. Tais fatores contribuíram para o crescente desenvolvimento do mercado mundial, indicando grande vantagens competitivas ao setor (USDA, 2017).

Figura 3: Posicionamento do Brasil e demais países em relação a exportação da carne de frango em 2017.



(Fonte: adaptado de FAEMA, 2017)

Figura 4: Posicionamento do Brasil e demais países referentes a produção da carne de frango em 2017.



(Fonte: adaptado de FAEMA, 2017)

Com o lento restabelecimento da economia, após a crise econômica, a venda da carne de frango aumentou de forma significativa, principalmente o consumo das classes de baixa renda, que trocaram a carne bovina pela carne de frango em sua dieta devido às condições aquisitivas (GOMES, 2016). No mercado internacional, a produção da China e da União Europeia tornaram-se fortes concorrentes do Brasil, demonstrando um cenário satisfatório e positivo, porém, com uma oferta mais controlada e conservadora (ZEN *et al.*, 2017),

Com o aumento da comercialização da carne de frango, a cadeia produtiva atua de forma relevante na atividade econômica do país, mantendo 3,5 milhões de empregos diretos ou indiretos, dando destaque para região do país com 400 mil empregados ativos em seus frigoríficos (ABPA, 2017). A região Oeste de Santa Catarina e Paraná destacam-se pela geração de empregos no setor produtivo de frango, correspondendo a 26,4% de todos empregos nacional. Em relação ao emprego formal, o Oeste do Paraná apresenta 42,7% dos postos de trabalho no setor, com 7.546 postos na cidade de Toledo (HECK, 2017).

## **2.2. Geração de produtos na Indústria Avícola**

A produção da carne de frango tornou-se relevante, tendo como justificativa o menor custo e maior aceitação por parte da população. Devido a essa expansão da Indústria Avícola, alguns cortes menos nobres (osso da coxa, pé, pele, pescoço, caixa torácica, produtos lesionados) tornaram-se subprodutos, pois seus valores nutricionais e comerciais são menores (MIRITZ *et al.*, 2015). Atualmente, os produtos alternativos ou diferenciados, que são representados pelo frango caipira (animais livres de hormônios e outras substâncias que favoreçam seu crescimento antes do tempo previsto), também se destacam no setor industrial (ROCHA *et al.*, 2016).

O processo de corte e desossa dos frangos são considerados rejeitos ou subprodutos, pois muitas carcaças são descartadas logo após avaliação *post mortem* que por sua vez, necessitam de destino adequado, regulamentado por legislação de descarte dos resíduos, a fim de prevenir a contaminação do meio ambiente por apresentarem carga potencialmente impactante para o meio ambiente (SOUZA *et al.*, 2016). Estes resíduos podem ser reaproveitados e transformados em produtos de baixo valor comercial, como por exemplo, farinha para fabricação de rações que apresentam concentrações de sais minerais e vitaminas do complexo B. Os pés, conjuntamente



com os ossos limpos, podem ser utilizados para a fabricação de gelatinas, geleias e chocolate, ou ainda, produtos como: pastas, molhos e patês (ALMEIDA e LANNES, 2017).

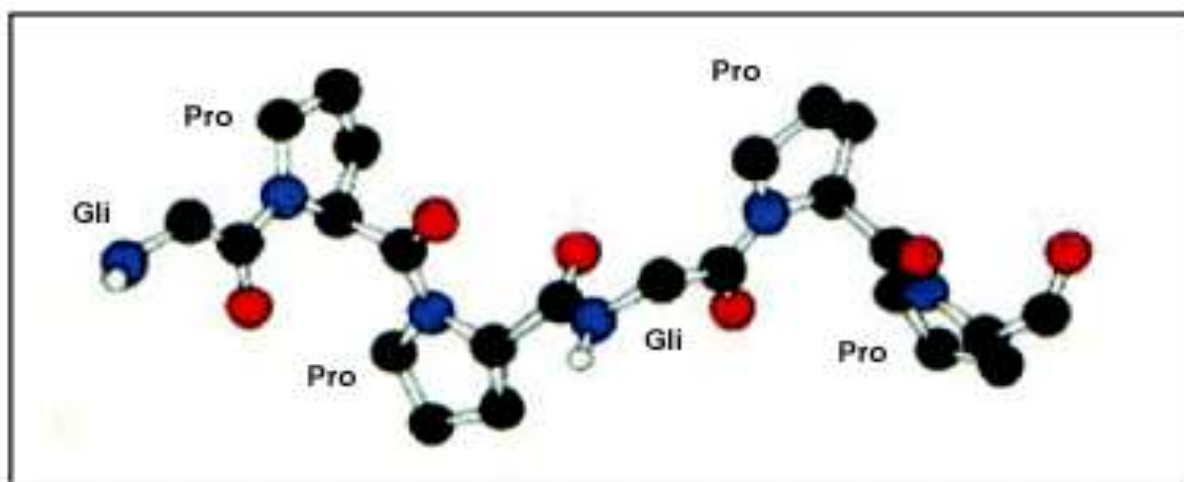
A gelatina produzida a partir da extração do colágeno dos pés de frango, apresenta um valor comercial favorável podendo ser utilizada em vários setores comerciais, tais como: revestimentos em cartas de baralho e adesivos para restaurações de livros, na Indústria Farmacêutica como meio de cultura para análises de microrganismos, desenvolvimento de novos cosméticos anti-idade, biocurativos, produção de embalagens, entre outros (GARDIM *et al.*, 2018).

## 2.3 Colágeno

O termo colágeno origina-se da palavra grega *kolla* (cola) e *geno* (produção), o que significa “produção de cola animal”. Esse, é constituído de um terço de proteínas totais, o que corresponde de 20% a 30% de toda matéria orgânica dos seres vivos (BORDIGON, 2010). Está presente desde os invertebrados, como as esponjas, até no homem. Apresenta-se em forma de fibras insolúveis, com alta força elástica, capacidade de hidratação e reabsorção. (GONÇALVES *et al.*, 2015).

O colágeno é uma proteína organizada em fibras resistentes. Cada molécula é formada por três cadeias polipeptídicas, formadas por 100 aminoácidos em forma de hélice “ $\infty$ ” (alfa), torcidas e semelhantes a uma tríplice hélice (Figura 5). A estabilidade da tripla hélice é mantida por pontes de hidrogênio entre suas prolinas e hidroxiprolinas (GONÇALVES *et al.*, 2015).

Figura 5: conformação de um filamento único de tríplice hélice da molécula de colágeno.



(Fonte: GONÇALVES *et al.*, 2015)

Os aminoácidos que constituem o colágeno são representados por, aproximadamente, 30% de glicina, 12% de prolina, 11% de alanina, 10% de hidroxiprolina, 1% de hidroxilisina e pequenas quantidades de aminoácidos polares e carregados (PRESTES, 2013). A temperatura de dissociação é diferente em cada espécie, sendo pouco acima da corpórea; as fibrilas de colágeno são formadas por tropocolágeno<sup>1</sup> que se constituem em três subunidades: cadeias polipeptídicas, arranjadas em tríplice hélice e unidas por pontes de hidrogênio (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

O colágeno constitui diversas estruturas do corpo, como o tecido conjuntivo encontrado nos ossos e tendões, cartilagens, veias, pele, dentes, músculos e nas córneas dos olhos (SILVA e PENNA, 2012). Costa *et al.* (2017), classificam o colágeno como estriado ou fibroso, não fibroso ou formador de rede micro fibrilar ou filamentosos, Oliveira *et al.* (2017) classificam o colágeno em vinte e um tipos de acordo com a distribuição tecidual (Quadro 1).

As moléculas de colágeno são encontradas em todo organismo, porém seus tipos e funções são determinados pela forma estrutural que desempenha em cada órgão específico. A função do colágeno vai desde sustentação de órgãos e tecidos até o armazenamento de energia nos tendões de algumas espécies de animais, enquanto suas possíveis utilizações comerciais são voltadas para o uso em cosméticos, produtos alimentícios, matéria-prima na Indústria Alimentícia e Farmacêutica entre outras aplicações (OECHSLEA *et al.*, 2016).

Devido apresentarem propriedades físico-químicas distintas (uniformidade, resistência, flexibilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade) o colágeno é utilizado em diversas situações, como por exemplo, produção de biocurativos em cirurgias, matriz de cápsulas, agente aglutinante em formulações farmacêuticas na produção de cosméticos e biocurativos, na indústria alimentícia na produção de gelatinas entre outros (MAHBOOB, 2015).

Na área médico-farmacêutica, quando bem empregado, o colágeno torna-se um coadjuvante em tratamentos de hipertensão, incontinência urinária, na Engenharia de Tecidos para implantes em humanos, tratamento da artrite e inibição da angiogênese como meio de

---

<sup>1</sup> Polimerização de unidades moleculares alongadas.

prevenção de metástase de câncer. Recentes pesquisas citam os benefícios do colágeno em tratamentos preventivos de osteoartrite e da osteoporose (FERNANDES *et al.*, 2017).

O colágeno, também pode ser utilizado como auxiliar na cicatrização e regeneração tecidual. Em unhas e cabelos, formam uma matriz ligada aos minerais para mantê-los fortes, com durabilidade e brilho. Na pele, oferece elasticidade, além de auxiliar em dietas hipocalóricas devido seu alto teor de proteína e ausência de gorduras e carboidratos (ALEMIDA *et al.*, 2013).

Oliveira *et al.* (2015) utilizaram a carcaça de frango para extração do colágeno hidrolisado. O processo extrativo ocorreu a partir de hidrólise enzimática, ao qual utilizaram as enzimas comerciais: Papaína<sup>®</sup>, Flavourzyme<sup>®</sup> e Protamex<sup>®</sup>. O melhor resultado apresentado pelo estudo foi com a enzima Protamex<sup>®</sup>. Nos estudos de Yasin *et al.* (2017), utilizaram o colágeno obtido a partir dos pés de frango para produzirem uma gelatina com extrato aquoso de manjerição (*Ocimum basilicum*) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*). A gelatina (obtida de colágeno de frango, manjerição e capim-limão) apresentou um aumento na estabilidade, com diminuição na viscosidade devido ao aumento da temperatura e não ao uso dos extratos vegetais de manjerição e capim-limão. Para tanto, a pesquisa sugere a utilização desses extratos realçar a formação do gel formado a partir do colágeno dos pés de frango.

O desenvolvimento das aplicações do colágeno, na área de Engenharia de Tecidos são muito bem requisitadas, devido sua excelência em biocompatibilidade e degradabilidade, além de apresentar baixa antigenicidade. Para tanto, as técnicas de extração de colágeno crescem cada vez mais para atender novos estudos de suas aplicações em produtos (como por exemplo, os biomateriais) na área médico-farmacêutica (PIEDRA *et al.*, 2015).

Quadro 1: Tipos de colágenos e distribuição tecidual

Tipo	Distribuição Tecidual
Colágeno formadores fibras ou fibrilas e microfibrilar	
I	Pele, tendão, osso, dentina.
II	Cartilagem
II	Pele, parede dos vasos, fibras reticulares da maioria dos tecidos
V	Pulmão, córnea, ossos, tecidos fetais
VI	Derme, cartilagem, placenta, pulmões, da parede do vaso, disco intervertebral
XI	Cartilagem, corpo vítreo
Colágeno de sustentação	
IV	Membranas basais (sustentação epitelial)
Fibras ou fibrilas de ancoragem	
VII	Pele, junções epidérmicas
Colágenos formadores de rede	
VIII	Células endoteliais (vasos e capilares)
X	Cartilagem hipertrófica
Colágenos FACIT	
IX	Cartilagem e córnea
XII	Ligamentos e tendões.
XIV	Derme, tendão, parede do vaso, placenta, pulmões, fígado.
XX	Epitélio da córnea, pele embrionária, cartilagem, tendão.
XXI	Parede de vasos sanguíneos.
Colágenos transmembranares	
XIII	Epiderme, endomísio, intestino, condrócitos, pulmões, fígado
XVII	Junções derme-epidérmicas
XVIII	Pulmões, fígado, timo, músculo, intestino, pele.

(Fonte: adaptado de Oliveira *et al*, 2017).

## 2.4. Extração do colágeno

Nas primeiras décadas do século XXI, cresceu o interesse por técnicas de extração do colágeno e suas fontes derivadas para substituição dos agentes sintéticos nos processos industriais, o que acarretou a valorização de subprodutos (PRESTES *et al.*, 2013). Os colágenos de uso comercial mais populares e utilizados são os de mamíferos (suínos e bovinos) que estão sujeitos a maiores restrições sociocultural (judias e islâmicas) entre os consumidores e de saúde (doença da vaca louca), fato que ocasionou busca incessante de novas fontes para substituição, como por exemplo, a pele de peixe, lulas, tilápia e outros peixes (ALMEIDA *et al.*, 2017).

O processo utilizado para retirada do colágeno nesses mamíferos ocorre através da raspagem do couro do animal, podendo levar a riscos de resíduos, como por exemplo, o cromo. Em vista disso, vários estudos estão sendo realizados para desenvolver novas técnicas animais no processo extrativo do colágeno (ALMEIDA *et al.*, 2012).

O colágeno extraído dos pés de frango, vem apresentando um rendimento considerável e significativo após desidratação do material, indicando assim, excelente alternativa para produção de novos produtos. Esse colágeno é rico em aminoácidos glicina, ácido glutâmico, prolina e hidroxiprolina. Alguns métodos de extração de colágeno foram desenvolvidos por diversos autores desde o século passado (HASHIM *et al.*, 2014).

A técnica de Cho *et al.* (2006) utilizou a pele de peixe que foram higienizadas em água, emergidas em soluções de hidróxido de cálcio em diversas (1 a 3%) concentrações e lavadas em seguidas em água corrente. Acrescentou-se água destilada em concentrações diferentes para extração, deixando-a em variados pH. O extrato foi centrifugado, retirou-se o sobrenadante e, filtrou-se o extrato em papel de filtro e carvão ativado, o qual foi liofilizado. O rendimento não foi mencionado, porém, relatou-se que o colágeno extraído do peixe apresentou baixa quantidade de prolina, hidroxiprolina e glicina.

Na pesquisa de Badii e Howell (2006), foi utilizado peixe de pequeno porte, conhecido como Carapau-do-norte (*Trachurus trachurus*). A pele foi higienizada e desengordurada, passou por um tratamento com solução de hidróxido de sódio 0,2% agitado lentamente por 5 horas, em temperatura de 48°C. A pele segregada foi lavada com água destilada e emergida em solução de ácido sulfúrico 0,2%, em leve agitação, por um período de 10 horas, a 48°C. Os pedaços de pele foram colocados em solução de ácido cítrico a 0,7%, sobre agitação lenta, por 18 horas e temperatura de 48°C. O colágeno extraído foi lavado em 48 banhos com água a 8°C

sem agitação. A solução foi filtrada e o pH corrigido para 6,0. A solução, após ter redução do volume de água e ficar mais concentrada, seguiu para liofilização. Como resultado, o colágeno e gelatina do carapau obtiveram índices semelhantes ao do produto comercial (BADII E HOWELL, 2006).

O processo extrativo realizado por Cheng *et al.* (2009) utilizou pés de frango, que foram cortados em pedaços pequenos e batidos no liquidificador com etanol a 20% para remoção de gordura. Após, o processo se repetiu por duas vezes, sofrendo agitação por 24 horas. A mistura seguiu para centrifuga por um período de 15 minutos, removendo ao final o sobrenadante. Os sedimentos foram umedecidos com uma solução de hidróxido de sódio a 0,2M, com agitação por 24 horas, a 4°C. A solução foi centrifugada novamente e após, lavada com água destilada. Os resíduos foram tratados com ácido acético, ácido cítrico, ácido clorídrico e ácido láctico a 0,5M, que ao final do processo, foi liofilizado. O melhor rendimento obtido foi a extração com ácido acético com 7,3% de colágeno desidratado (CHENG *et al.* 2009).

Nos estudos de Almeida *et al.* (2012), os pés de frango passaram por higienização, fazendo-se a retirada das unhas e sujidades, sendo levados a cocção a 120°C por um período de 20 minutos. Após esse tempo, a solução foi filtrada para retirada de resíduos e restos de ossos e pele. O filtrado foi encaminhado para o processo de secagem a temperatura de 50°C, por 13 horas. O rendimento obtido foi de 5,33% de colágeno.

Hashim *et al.* (2014), extraíram o colágeno dos pés de frango através do processo enzimático: enzimas de papaína e pepsina em solução de ácido acético em temperatura de 4°C por 24 horas. O rendimento do produto seco foi de 18,16% com a enzima de papaína e 22,94% com a pepsina. Entretanto este tipo de rendimento não é sobre a massa total dos pés de frango e sim, sobre o conteúdo de colágeno que existia neles.

O colágeno da pele da reineta (*Brama australis* ou *Brama chilenis*), um peixe endêmico do Sul do Chile. A extração procedeu pela imersão das peles em uma solução de NaOH a 0,1 M, na razão sólido/solvente de 1:10 (peso/líquido) por um período de 4 dias. A análise SDS-PAGE também foi utilizada para a caracterização das massas molares das proteínas. As massas moleculares dessas proteínas ficaram entre 112 a 121 kDa para as cadeias em  $\alpha$ -hélices e de 212 kDa para a única cadeia encontrada em  $\beta$ -hélices, outras proteínas com massas moleculares de 29 a 66 kDa também foram encontradas. Os autores citaram que este colágeno foi facilmente degradado a temperaturas superiores aos 24°C, talvez por isso as proteínas de massas molares menores estavam na amostra final. O rendimento da extração foi de 1,5% (SIONKOWSKA *et al.*, 2015).

O colágeno da pele de tilápia também foi extraído por Chen *et al.* (2016), via extração ácida. O processo se deu pelo corte da pele em pequenos pedaços, imersão em 10 volumes de uma solução de  $\text{NaHCO}_3$  a 0,1 M por 6 h para a remoção das proteínas não colagenosas e pigmentos da pele. Seguido por uma lavagem com água destilada até que o pH ficasse neutro, para então, o colágeno ser extraído em uma solução de 0,5 M (3%) de ácido acético por 24 h a temperatura ambiente. O rendimento de proteínas solúveis do colágeno (pepsina) foi de 27,2%, o que foi equivalente a 3,2% da massa total da pele bruta da tilápia. O produto final apresentou entre 197 a 207 aminoácido, demonstrando que o colágeno sofre uma degradação elevada (CHEN *et al.*, 2016).

O colágeno da pele de tilápia foi obtido por Huang *et al.* (2016) usando o processo de extrusão a quente. A pele da tilápia foi picada e misturada em uma solução de NaOH a 0,1 M para a remoção das proteínas não colagenosas e lavada com água destilada até que o seu pH ficasse neutro. Estas peles, foram secas à 50°C e o conteúdo que foi inferior à 10% da massa inicial foi pulverizada em um moinho. O pó foi posto em um meio a pH 2, contendo 1,26% de ácido cítrico e 9,37% de ácido acético de forma que a razão solvente/sólido foi de 4.7:1. Durante o processo de extrusão a temperatura foi mantida a 135°C, com diâmetros de saída de 3 e 4 mm e velocidade de rotação de 360 rpm. Ao final, o colágeno foi mantido em uma câmara de secagem a temperaturas de 25 e 50°C. Os maiores rendimentos de extração foram obtidos para o maior diâmetro de saída e maior temperatura de secagem e sob estas condições, pode-se alcançar um valor de 12,3% de rendimento de colágeno sobre o material seco (ou seja, menos de 1,23%). A quantidade de aminoácido ficou entre 61 e 73 resíduos, o que indica que o método é menos prejudicial que outras técnicas usadas na extração do colágeno (HUANG *et al.*, 2016).

A aplicação da enzima pepsina para a extração de colágeno da pele do peixe *Late calcarifer* (perca gigante) e *Lates calcarifer* (tilápia) foi testado por Liao *et al.* (2018). Os rendimentos da extração foram dados na forma do conteúdo de pepsina e foram de 47,3% para a perca gigante e 52,6% para a tilápia. Estes rendimentos não são passíveis de comparação com os rendimentos sobre a matéria prima inicial. A análise da composição dos aminoácidos dos colágenos, por cromatografia, mostrou que a composição dos colágenos apresentava mais de 200 aminoácidos, demonstrando uma alta degradação do colágeno (LIAO *et al.*, 2018).

A otimização por metodologia de superfície de resposta (RSM) da extração do colágeno de um resíduo da Indústria da Pesca Indiana foi feita por Arumugam *et al.* (2018). O colágeno foi extraído da pele do solea (*Aseraggodes umbratilis*), um tipo de peixe da família do linguado. Foram verificados os efeitos da concentração de ácido acético e do NaCl, na razão

solvente/sólido (ml/g) e tempo de extração (h) sob o rendimento da extração. O colágeno foi caracterizado via espectroscopia de infravermelho de Fourier (FTIR), por eletroforese em gel de poli-acrilamida (SDS-PAGE) e por escaneamento em microscópio eletrônico (SEM). Um rendimento de colágeno 1,927% foi obtido usando 0,54 M (3,24%) de ácido acético, 1,90 M (11,115 %) de NaCl, 8,97 mL/g de razão solvente/sólido e 32,32h de tempo de extração (ARUMUGAM *et al.*, 2018).

Usando os processos de extração ácida, extração por homogeneização assistida e extração usando a enzima pepsina, Tan e Chang (2018) obtiveram o colágeno da pele do peixe gato do canal (bagre do canal). Os autores, testaram os ácidos cítrico, láctico, acético e ácido clorídrico e a pepsina teve atividades enzimáticas entre 0,118 kU/g e 23,6 kU/g. Os autores determinaram a massa molecular das proteínas usando SD-PAGE. Entretanto, o rendimento da extração foi medido usando a porcentagem de extração da proteína prolina, diferente dos demais autores que calculam o rendimento medindo a porcentagem de colágeno extraído da massa total da matéria prima. Em todo caso, a melhor condição alcançou um rendimento de 64,19% de prolina, em um pH de 2,4 com ácido clorídrico e 23,6 kU/g de pepsina. As proteínas apresentaram massas moleculares entre 113 a 123 kDa para as cadeias em  $\alpha$ -hélices e de 226 a 338 kDa para as cadeias em  $\beta$ -hélices (TAN e CHANG, 2018).

Os estudos de Slimane e Sadok (2018), produziu o colágeno ácido solubilizado (ASC) e colágeno solubilizado de pepsina (PSC) a partir da pele de *Mustelus mustelus* (espécie de peixe cartilagenoso). O rendimento obtido para o colágeno ácido solubilizado foi de 23,07% e para o colágeno solubilizado de pepsina 35,27%. De acordo com o resultado obtido em PSC, o mesmo foi incorporado a quitosana para produção de biofilmes que apresentou menor resistência de tração e maior alongamento de ruptura quando comparado com os biofilmes somente com quitosana. Uma análise por espectrofotômetro de infravermelho foi realizada e demonstrou grande potencial de barreiras UV com atividade antioxidante, sendo sugerido para utilização como biofilmes de preservação a produtos nutracêuticos (SLIMANE E SADOK, 2018).

A extração do colágeno de pés de frango foi realizada usando a hidrólise com papaína por DHAKAL *et al.*, 2018. Os autores variaram a temperatura e tempo de extração, na razão sólidos/solvente. Um rendimento de extração de 32,16% p/p (peso/peso) foi obtido quando usaram uma temperatura de 30°C, por 30h e uma razão de sólido/solvente 1:25. O rendimento encontrado foi superior a quaisquer dados de extração de colágeno apresentados na literatura atual (DHAKAL *et al.*, 2018).



Com amplas fontes alternativas de colágeno e seus aspectos físicos- químicos, os pés de frango apresentam-se como excelente material para reconstrução tecidual (biocompatibilidade e biodisponibilidade) na Engenharia de Tecidos e a Medicina Regenerativa. Entretanto, os estudos a respeito de biomateriais a partir de fontes de colágenos (aves, mamíferos, peixes) apresentam grande crescimento e viabilidade econômica (PIEDRA *et al.*, 2015).

## 2.5. Biofilmes

Biofilme é uma combinação de substâncias que podem ser utilizadas por um período, como um sistema que auxilie em tratamentos de regeneração tecidual, órgão ou função do corpo (KACZMAREK *et al.*, 2018). Para se verificar a qualidade dos biofilmes geralmente se faz alguns testes, como por exemplo, intumescimento e de transmissão de vapor d'água.

O teste de intumescimento (Ii) permite que sejam verificados e determinados por antecipação, a perspectiva de degradação que está relacionada ao grau de hidratação do sistema. Estes testes são importantes para verificar se o material estudado, apresenta estabilidade estrutural durante o período necessário à formação do novo tecido de regeneração (LI *t.al*, 2017). O teste de transmissão de vapor de água (TVA) é utilizado para verificar a permeabilização dos biofilmes, que indicará a facilidade com que a água migre de uma face a outra da película. O TVA é realizado de acordo com método B da American Society for Testing Materials/EUA (ASTM), designado E96-66, em triplicatas (SOARES *et al.*, 2014).

Os biofilmes a base de colágeno, vêm sendo estudados devido a sua aplicação em tratamentos de diversos tecidos lesionados, como, pele, nervos, tendões e cartilagem. A avaliação desse produto envolve ensaios “*in vitro*” e “*in vivo*” que avaliam os riscos relacionados a aplicação. Os materiais à base de colágeno para regeneração tecidual devem reproduzir a estrutura e as propriedades do tecido humano para direcionar o processo de formação de um novo tecido (NOZAKI *et al.*, 2012).

Esses materiais a base de colágeno devem apresentar (MOON *et al*, 2015):

- a) uma extensiva rede de poros interconectados para que as células possam migrar, se multiplicar e se fixar profundamente;
- b) canais através dos quais oxigênio e nutrientes são levados às células e resíduos possam ser retirados;

- c) biocompatibilidade com uma alta afinidade para as células aderirem e proliferarem;
- d) forma específica, como desejado pelo cirurgião;
- e) força mecânica apropriada;
- f) perfil biodegradável

Pesquisadores estudam a aplicação de novos produtos à base de colágeno, devido a sua relevância em tratamentos de feridas crônicas, que buscam a aceleração do processo de cicatrização, minimizando o sofrimento dos pacientes, facilitando o trabalho da equipe de atendimento, equipe multidisciplinar e diminuindo o tempo de internação (HEITZMANN *et al*, 2017). A proposta de tratamentos de lesões com biocurativos são favoráveis, devido ao processo de cicatrização em suas diversas etapas (FORIATO *et al*, 2015).

Os biofilmes produzidos a partir de colágeno de aves, mamíferos, peixes, entre outros são estudados, há anos, para aplicações em tecidos com lesão (pele, nervos e cartilagens). Suas principais aplicações são por via tópica, em tratamentos de pacientes com queimaduras, por tratar-se de um produto com limpeza (mecânica ou química), favorecendo um processo de cicatrização e cobertura das lesões. Esses biofilmes podem ser de diversos tipos de produtos, tais como: papaína, carvão ativado, filmes de poliuretano, quitosana, colágeno entre outros (ABRUCZEZE *et al.*, 2014).

Os biofilmes interagem com a pele, criando condições semelhantes ao processo de cicatrização fisiológico. O processo natural de cicatrização dos seres humanos é comandado pelo sangue. Por ele são transportados hormônios e moléculas sinalizadoras que permitem a formação de novas células epiteliais, para recompor a superfície da pele. Outra diferença entre os produtos tradicionais e a base de biomateriais é a cicatrização pós-regeneração, que tendem a ter uma coloração diferente em relação ao restante da pele e apresentar consistência mais rígida, o que favorece uma eventual ruptura. Já cicatrizes geradas pelos novos produtos são flexíveis e não apresentam diferenças significativas de pigmentação. (NOGUEIRA, 2010).

Lee *et al.* (2015) obtém filmes comestíveis utilizando o colágeno de pés de frango com sorbitol e glicerina. Com intuito de torna-lo antimicrobiana e antioxidante, incorporou em sua formulação a manjerona, coentro e óleo de cravo. O melhor filme obtido foi com cravo, que apresentou uma maior atividade antimicrobiana e antioxidante quando testado na embalagem de queijo *chedder*, retardando assim o crescimento de microrganismo. Dessa forma, deixou como sugestão a sua utilização em embalagens de produtos alimentícios.

Kaczmarek *et al.* (2018), produziram filmes a partir de colágeno, quitosana e glicosaminoglicanos de pele pelo processo de evaporação de solvente. As características existentes nos filmes foram analisadas através testes de intumescimento, rugosidade e medições térmicas/mecânicas. Foi observado que, ao adicionar o glicosaminoglicanos a hidrofiliabilidade de superfície aumentava e sua energia livre superficial diminuía, também, apresentou maior rugosidade favorecendo a inibição de biofilmes. O maior valor do teste de intumescimento foi após 2h que o filme permaneceu imerso em solução salina tamponada com fosfato, apresentando-se mais elásticos. Tal estudo, propôs a utilização desses filmes na aplicação biomédica.

## 2.6. Planejamento fatorial e otimização de experimentos

De acordo com Barro Neto *et al.* (2010) a atividade estatística mais importante não é a análise de dados e sim, o planejamento dos experimentos em que estes dados devem ser obtidos. Consiste em projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação que se procura.

Para Cunico *et al.* (2008), os planejamentos ou design de experimentos são normalmente representados por  $b^k$ , sendo “k” representando o número de fatores e “b” o número de níveis escolhidos. Se o planejamento for do tipo fatorial, o valor de “b” é sempre 2 e assim, eles são representados por  $2^k$ , ou seja, em um experimento com k fatores (ou variáveis) e dois níveis.

Assim, o planejamento fatorial é uma forma “otimizada” de se planejar um experimento, sem que haja perda na significância estatística das informações obtidas pelo modelo resultante (BOX *et al.*, 1978).

A otimização corresponde a tornar algo "tão perfeito, efetivo ou funcional quanto possível". A otimização pode ser definida como sendo um processo baseado em instruções que permitam obter os melhores resultados de uma dada situação. Otimizar é maximizar os rendimentos e/ou minimizar as perdas em determinado sistema em estudo (BARROS NETO *et al.*, 2010).

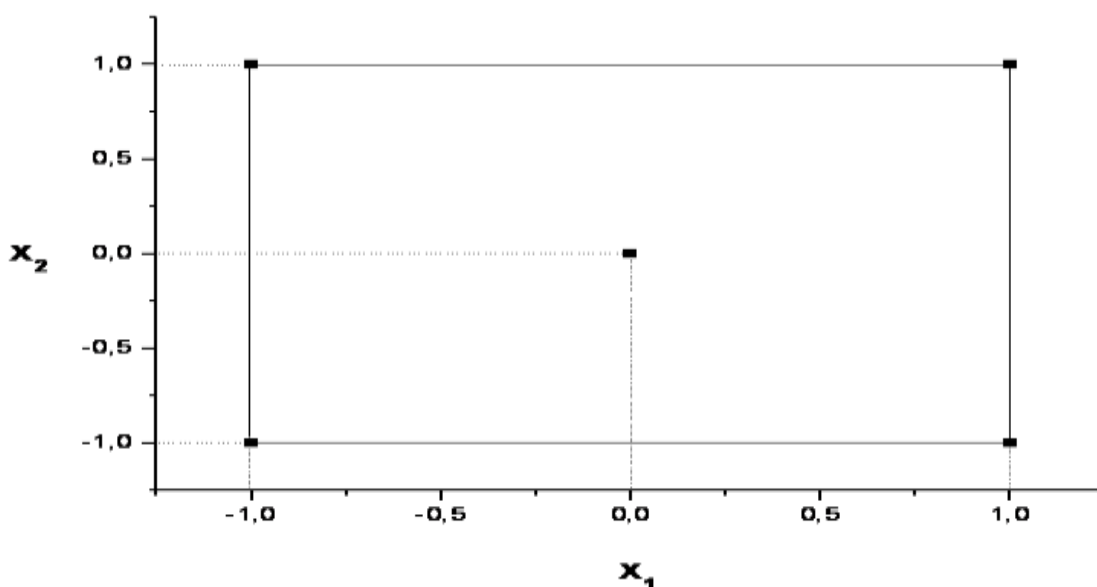
Neste tipo de otimização usando planejamentos fatoriais, as variáveis independentes são chamadas de fatores, suas variações são chamadas de níveis e o resultado obtido, ou a função objetivo, é denominada de resposta.

A metodologia de avaliação do ajuste dos modelos é baseada na análise de variância (ANOVA) e a otimização dos sistemas estudados é feita pela metodologia da avaliação da superfície de resposta (RSM). A otimização RSM é um método de otimização de sistemas que se baseia na análise das superfícies geradas pelo modelo (BARROS NETO *et al.*, 2010). A nomenclatura comum empregada nos planejamentos fatoriais é dada a seguir:

- Fator: cada variável do sistema em estudo;
- Nível: condições de operação dos fatores de controle investigadas nos experimentos (-1 e +1);
- Efeito: é a variação sofrida pela resposta ao se mudar o nível do fator;
- Ponto central (0, zero) é o valor intermediário entre os níveis e onde ocorrem as repetições que proporcionarão o cálculo do erro puro (desvio padrão);
- Níveis alfa ( $\alpha$ ) são os valores radiais ou pontos axiais de um design rotacional.

Um planejamento fatorial segue um design representado pela Figura 6, onde as arestas da figura correspondem à combinação entre os níveis e as réplicas do ponto central que combinam apenas entre si.

Figura 6. Design fatorial completo de um planejamento do tipo  $2^2$ .



(Fonte: Barros Neto et al, 2010)

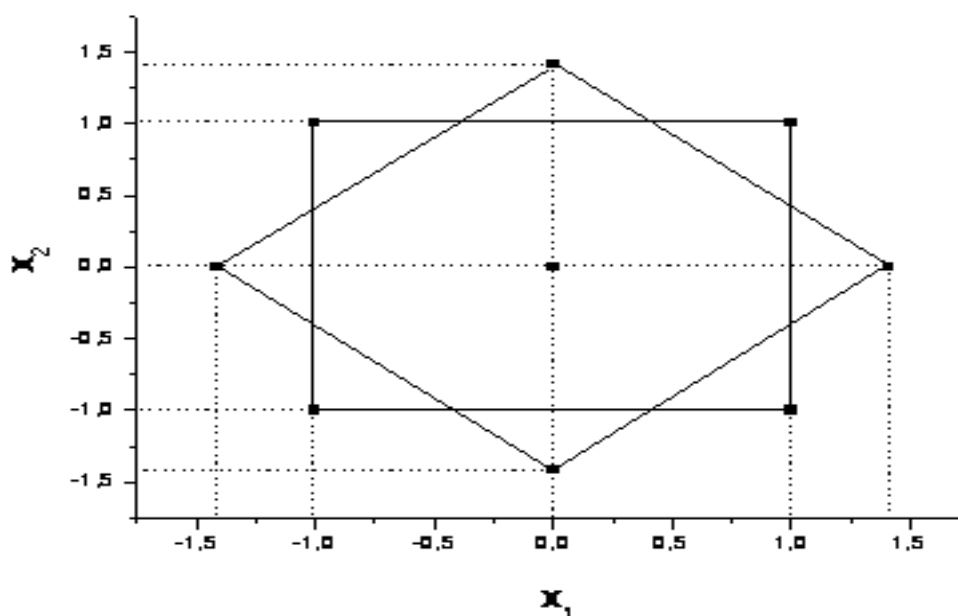
A Tabela 1, mostra a representação da Figura 6 na forma de uma matriz que organiza os experimentos de uma forma lógica, a qual é chamada de matriz de planejamento.

Tabela 1: Matriz de planejamento para um planejamento fatorial do tipo  $2^2$ .

<i>Ensaios</i>	$x_1$	$x_2$	$Y$
1	-1	-1	$y_1$
2	+1	-1	$y_2$
3	-1	+1	$y_3$
4	+1	+1	$y_4$
5	0	0	$y_5$
6	0	0	$y_6$
7	0	0	$y_7$

(Fonte: Próprio autor)

Devido às restrições do tipo de modelo a ser obtido pelo planejamento anterior, os designs rotacionais são os mais indicados, então, surgem os valores radiais ou pontos axiais, que nos planejamentos fatoriais são chamados de níveis alfa ( $\pm\alpha$ ). Para planejamentos rotacionais o valor do alfa depende da forma de “design” do planejamento, mas seguem a regra  $\alpha = \pm (2^k)^{1/4}$ . A Figura 7 representa o design de um planejamento fatorial rotacional (*desing* estrela) para dois fatores e a Tabela 2 apresenta a sequência de ensaios a serem realizados.

Figura 7: Design rotacional de um planejamento fatorial completo do tipo  $2^2$ 

(Fonte: Barros Neto et al, 2010)

Tabela 2: Matriz de planejamento para um planejamento fatorial completo e rotacional do tipo  $2^2$ .

<i>Ensaio</i>	$X_1$	$x_2$	$Y$
1	-1	-1	$y_1$
2	+1	-1	$y_2$
3	-1	+1	$y_3$
4	+1	+1	$y_4$
5	0	0	$y_5$
6	0	0	$y_6$
7	0	0	$y_7$
8	$-\sqrt{2}$	0	$y_8$
9	0	$-\sqrt{2}$	$y_9$
10	$+\sqrt{2}$	0	$y_{10}$
11	0	$+\sqrt{2}$	$y_{11}$

(Fonte: Próprio autor)

O modelo completo da superfície de resposta para este tipo de planejamento será do tipo quadrático, que é representado pela Equação 1. Nesta equação, também se pode notar uma parte linear do modelo ( $b_1x_1$ ,  $b_2x_2$ ) e o modelo hiperbólico ( $b_{12}x_1.x_2$ ):

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad (1)$$

Em que, “y” a resposta a ser avaliada, “b” os parâmetros do modelo (efeitos) e “x” os fatores

A análise de variância (ANOVA) é feita por parâmetros estatísticos baseados na distribuição Gaussiana para avaliar os erros dos coeficientes, o ajuste e a significância do modelo através da comparação entre os dados experimentais com os calculados. Os resultados são expressos na forma de fontes de variações quadráticas e médias, que facilitam o cálculo das porcentagens de variações explicáveis, do coeficiente de determinação e os testes F, os quais indicarão a significância e o ajuste do modelo (BARROS NETO *et al.*, 2010).

A medida da significância do modelo é feita pela relação entre variações médias devido à regressão e devido aos resíduos ( $MQ_R/MQ_r$ ). A primeira mede os desvios quadráticos médios dos valores preditos com relação aos experimentais, enquanto que a segunda representa os resíduos deixados por cada nível  $i$  deixados pelo modelo para cada resposta.

Já o ajuste dos dados ao modelo é feito pela relação entre as médias quadráticas da falta de ajuste e dos erros puros ( $MQ_{faj}/MQ_{ep}$ ). A primeira estima a adequação dos dados ao modelo, enquanto que a segunda estima a variância postulada para as observações.

Todos os dois seguem uma análise estatística segundo uma distribuição Gaussiana, logo suas comparações podem ser feitas à valores do teste F, em níveis previamente estabelecidos. Para o primeiro, quanto maior que F tabelado for o valor, mais significativo é o modelo, enquanto que, o segundo este deverá ser menor que o F tabelado, para poder indicar o ajuste de dados ao modelo (BARROS NETO *et al.*, 1995 e 2001).

O coeficiente de correlação múltipla ou coeficiente de determinação ( $R^2$ ), representado pela Equação 2, é tido como a medida da aproximação variação das observações e devido à regressão à variação total em torno da média. Quanto mais próximo de um for este valor, mais explicável e mais ajustado será o modelo

$$R^2 = \frac{SQ_R}{SQ_T} = \frac{\sum \left( \hat{y} - \bar{y} \right)^2}{\sum \left( y_i - \bar{y} \right)^2} \quad (2)$$

As somas quadráticas dos desvios podem ser relacionadas segundo as equações abaixo:

$$SQ_T = SQ_R + SQ_r \quad (2.1)$$

$$SQ_r = SQ_{ep} + SQ_{faj} \quad (2.2)$$

O cálculo dos erros padrões ( $\varepsilon_p$ ) das estimativas dos parâmetros do modelo é feito através obtenção da raiz quadrada da estimativa da variância ( $\hat{V}(b)$ ) dos elementos do vetor  $b$ , dados pela Equação 3:

$$\varepsilon_p = \sqrt{\hat{V}(b)} = \sqrt{(X^T X)^{-1} S^2} \quad (3)$$

Em que, “S” é o desvio padrão das repetições no ponto central. Se a metodologia empregada não for por ponto central, torna-se necessário fazer repetições em cada nível, assim obter um desvio padrão para cada nível e com isto seus erros padrões serão dados por seus desvios padrões quadrados utilizados na equação dos erros padrões. A Tabela 3 faz um resumo da avaliação dos modelos usando a ANOVA e é a forma mais comum de se apresentar este tipo de análise (BARROS NETO *et al.*, 2010).

Tabela 3: análise da variância de um modelo.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática
Regressão	$SQ_R = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_j - \bar{y})^2$	$p-1$	$MQ_R = SQ_R / (p-1)$
Resíduos	$SQ_r = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_i - \hat{y}_i)^2$	$n-p$	$MQ_r = SQ_r / (n-p)$
Falta de Ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	$m-p$	$MQ_{faj} = SQ_{faj} / (m-p)$
Erro Puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$n-m$	$MQ_{ep} = SQ_{ep} / (n-m)$
Total	$SQ_T = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y})^2$	$n-1$	

(Fonte: BARROS NETO *et al.*, 2010).

A aplicação do planejamento fatorial e a otimização por análise da superfície de resposta é amplamente usada em pesquisa, como mostrado pelas citações a seguir:

As qualidades sensoriais de um vinho obtido a partir da acerola foram avaliadas por otimização por análise de superfície de resposta e uma técnica metaheurística chamada de *Simulated Annealing*. Um planejamento fatorial variando a massa da polpa e o °Brix inicial (teor de açúcar) do mosto fermentativo. A melhor condição foi encontrada quando se usou as menores massa de polpa e os maiores valores de °Brix, na qual os atributos sensoriais obtiveram valores os seguintes pontos na escala hedônica de 6,9 para a cor, 6,8 para o aroma e 8,8 para o sabor, o que caracterizou o vinho como de boa qualidade.



A qualidade sensorial de formulações de gelatinas produzidas a partir de colágeno extraído de pés de frango foi realizada por Almeida *et al.* (2016) usando um planejamento fatorial que combinava a massa de açúcar com a massa de gelatina. Foram verificados como resposta as qualidades sensoriais aparência, o aroma, o sabor e a textura. Um modelo quadrático foi obtido e a superfície de resposta mostrou que a melhor condição foi aquela que usou as maiores massas de colágeno de pés de frango e açúcar, para a qual a maioria das qualidades sensoriais alcançou uma pontuação acima dos 6 pontos na escala hedônica.

A produção de álcool de amido de mandioca foi otimizada via análise da superfície de resposta, combina com a técnica metaheurística do algoritmo genético. Um planejamento fatorial variando a concentração do amido, o tempo e a temperatura de reação foi feito para verificar as suas influências sobre o rendimento de álcool o preço final do produto. A melhor condição foi aquela onde se usou 23,4 g/L de amido que foi hidrolisado a 61,9°C e 111 min de operação. Nestas condições o rendimento de álcool foi de 88% e os custos de produção variou entre 0,04 e 0,64 US\$/L (SANTANA *et al.*, 2018)

Santana *et al.* (2018) otimizaram o processo de conservação dos brócolis em uma câmara de resfriamento à vácuo. Os ensaios foram previamente planejados usando três níveis para os fatores de pressão, massa dos brócolis e o volume de água inserida no processo de resfriamento. Foram usados como respostas a temperatura final dos brócolis, a perda de massa do produto final e o custo do processo. Para a otimização usaram uma combinação do método de análise da superfície de resposta com a técnica metaheurística do algoritmo genético. Os resultados mostraram que a melhor condição foi encontrada usando 200 Pa, 3% de inserção água nos brócolis, 40 min de operação e um peso inicial de brócolis entre 273,5 e 278,0 g. Na melhor condição a temperatura final do produto foi de 2°C, com perda de peso de 0,34% e um lucro de 99,66% (SANTANA *et al.*, 2018).

A otimização por metodologia de superfície de resposta (RSM) da extração do colágeno de um resíduo da indústria de pesca Indiana foi feita por Arumugam *et al.* (2018). O colágeno foi extraído da pele do Solea (*Aseraggodes umbratilis*), um tipo de peixe da família do linguado. Foram verificados os efeitos de fatores como: concentração de ácido acético (M), concentração da NaCl (M), razão solvente/sólido (ml/g) e tempo de extração (h) sob o rendimento da extração, dado em mg/g. O método dos mínimos quadrados foi usado para obtenção do modelo e o ajuste foi verificado pela metodologia ANOVA. Os resultados da otimização mostraram que a melhor condição foi aquela que se usou 0,54 M (3,24%) de ácido acético, 1,90 M (11,115 %) de NaCl, 8,97 mL/g de razão solvente/sólido e 32,32 h de tempo de extração. Nestas

condições o rendimento máximo da extração do colágeno da pele do *Solea* foi de 19,27 mg/g (1,927%) (ARUMUGAM *et al.*, 2018).

Dhokal *et al.* (2018) fizeram a otimização RSM da extração do colágeno de pés de frango usando a técnica de hidrólise por enzimas papaína. Então, um planejamento fatorial do tipo  $2^3$  foi usado para verificar os efeitos do tempo (20, 24 e 28 h) e da temperatura de extração (4, 30 e 56°C) e da razão sólidos/solvente (1:15, 1:20 e 1:25) sob o rendimento da extração do colágeno. Os dados obtidos foram ajustados via métodos dos mínimos quadrados e seu ajuste verificado pela metodologia ANOVA. Os resultados mostraram que o modelo que mais se ajustou foi o modelo quadrático e a melhor condição foi aquela que o colágeno os pés de frango foram extraídos sob uma temperatura de 30°C, por 30 h de processo e usando uma razão de sólido solvente de 1:25. Sob estas condições foi possível encontrar um rendimento de extração de 32,16% (peso/peso), o que foi superior a quaisquer dados de extração de colágeno apresentados na literatura atual (DHAKAL *et al.*, 2018).

## **2.7. Viabilidade econômica do processo produtivo do colágeno**

Com base na demanda do processo produtivo, as empresas começam a avaliar suas posturas diante ao mercado, de forma a obterem desempenhos compatíveis aos padrões de competitividade. Para tanto, deve-se lançar produtos novos, atualizando suas tecnologias com desempenho, custo e distribuição compatíveis com o nível de exigências (CABRAL, 2004).

A concorrência tem protagonizado o cenário do mercado nacional e mundial, pontuando a qualidade e custo de seus produtos/serviços, mas para isso, tornou-se necessária a evolução da empresa, para manter-se competitiva no mercado. Para tanto, é necessário conhecer os custos industriais, para facilitar um planejamento eficiente nas tomadas de decisão (ALMEIDA, 2012).

A elaboração de um projeto de viabilidade é uma montagem de um conjunto de informações sistemáticas que consiste em analisar as vantagens e desvantagens socioeconômica dos recursos de bens e serviços. Sendo assim, o projeto de viabilização torna-se um recurso técnico, com modelos variados nas simulações de resultados esperados a partir de um investimento econômico (CANDIDO e SANTOS, 2012).

A decisão de investimentos deve ser a última etapa a ser estudada. Os investimentos fixos, tratam-se de uma análise do montante do recurso necessário para implementação de

infraestrutura física (ponto, maquinário, equipamento, instalações, móveis, entre outros) para seguir com projeto (ALMEIDA, 2012).

A análise de viabilidade econômica de uma planta de produção de colágeno dos pés de frango foi realizada por Almeida *et al* (2013). Um projeto de uma planta industrial foi elaborado para a região do Mato Grosso, nas proximidades de diversas plantas de produção de carne de frango, para facilitar o transporte e aquisição da matéria-prima. O preço de venda do colágeno ficou em 4,80 a 6,74 US\$/kg de colágeno ou de US\$ 95,9 a 134,78 para os sacos de vinte quilogramas.

O processo produtivo de novos produtos, a partir do colágeno de frango apresentam custos baixos, devido a serem derivados de subprodutos rejeitados pela indústria avícola. Entretanto, o agronegócio brasileiro favorece o desenvolvimento desses produtos, devido à grande demanda do processo produtivo de carne de frango no país (GIRON *et al.*, 2013).

# **CAPÍTULO III**

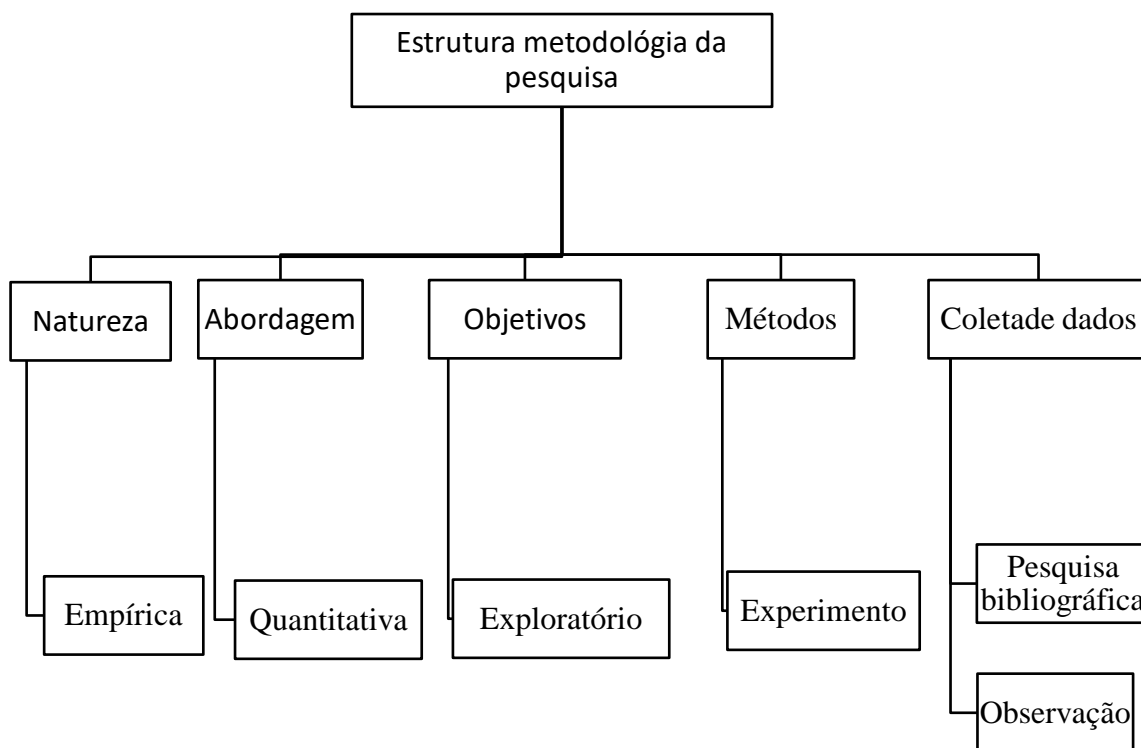
## **MATERIAL E MÉTODOS**

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Partindo do princípio em que as Indústrias Avícolas descartam resíduos e que, na maioria dos casos, não agregam valores comerciais, as preocupações com o meio ambiente aumentam e para que tais subprodutos não tenham o descarte inadequado e corra o risco de poluir o meio ambiente. Com essa preocupação, os estudos para transformar esses resíduos em novos produtos com grande aceitabilidade e valores comerciais agregados crescem a cada dia.

Para tanto, o presente trabalho possui um estudo exploratório de natureza empírica, com abordagem quantitativa por meio de objetivos explanatórios, onde serão utilizados métodos experimentais para coleta de dados, além de revisões bibliográficas e observações e análise de dados (Figura 8).

Figura 8: fluxograma da metodologia a ser utilizado no presente projeto de pesquisa



(Fonte: Próprio autor)

Os reagentes e equipamentos utilizados na preparação dos biocurativos foram fornecidos pela Universidade Nove de Julho, adquiridos de fornecedores credenciados e qualificados, enquanto os tarsos de frango foram adquiridos no CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo) ao longo do ano de 2017.

A revisão bibliográfica foi realizada nas bases de dados: Web of Science, Science Direct, Scielo e Portal Capes. As palavras chaves utilizadas para pesquisa foram: indústria avícola, colágeno, biofilmes, extração de colágeno, chicken collagen extraction, collagen, biofilm, feet chicken collagen. Para tanto, foi realizada uma análise bibliométrica, como por exemplo, na busca na Base de dados: Science Direct utilizando a palavra-chave “*collagen extration*” resultou em 53.459 artigos, refinando a pesquisa para “*Chicken collagen extraction*” 5348 artigos e para “*Feet chicken collagen*” 1113 artigos, dos quais apenas 3 se referiam especificamente a colágeno de pés de frango, tratando um deles da obtenção de gelatinas de pés de frango com manjerição e capim limão, o segundo tratava da obtenção de colágenos solúveis a partir da pele do pés de frango e o último usando enzimas papaína para extrair o colágeno dos pés de frango.

### **3.1. Extração e otimização do colágeno dos pés de frango**

Os pés de frango foram adquiridos na Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) e armazenados em refrigeradores até o momento do uso. Seguindo os princípios das boas práticas de manipulação, inicialmente, os pés de frango foram lavados com água corrente, as unhas foram removidas e, em seguida, foram lavados com água clorada para a remoção de quaisquer sujeiras ou outras fontes de contaminação (ALMEIDA *et al.*, 2013.a; 2013.b). Por fim, os pés de frango foram picados, pesados e postos em contato com a solução de ácido acético nas condições usadas no planejamento fatorial  $2^3$ . Os ensaios seguiram um planejamento fatorial de design  $2^3$ , usando a concentração do ácido acético, [Ac] (% massa/massa), o tempo, t (h) e a temperatura de extração, T (°C), como fatores que influenciam no rendimento da extração ( $y_{exp}$ ). Os valores da temperatura de extração foram baseados na temperatura de degradação da proteína que não devem exceder 70°C e também, não devem ser inferiores a 40°C, com isso, foi calculado seu ponto central e seus alfas. O tempo e concentração do ácido acético foram estipulados com base no trabalho de Almeida (2012) que extraiu colágeno dos pés de frango para produção de gelatina e com isso, também foram calculados seus pontos centrais e alfas. A codificação das variáveis seguiu as Equações 4.a, 4.b e 4.c.

$$x_1 = [Ad] - 2 \quad (4.a)$$

$$x_2 = \frac{t - 5}{2} \quad (4.b)$$

$$x_3 = \frac{T - 60}{10} \quad (4.c)$$

Os sistemas de extração foram compostos por béqueres, com volume total de 1,0L, mantidos sob agitação constante (agitação magnética) e na temperatura do planejamento. Usou-se 100,0g de pés de frango, em cada ensaio, sendo realizados em triplicatas.

O rendimento da extração foi calculado com base na massa inicial dos pés de frango e o valor final da massa de colágeno (obtido através das variações do ácido, tempo e temperatura de extração). A Equação 5 foi adaptada dos estudos de Bueno (2008) que extraiu colágeno da pele da tilápia,

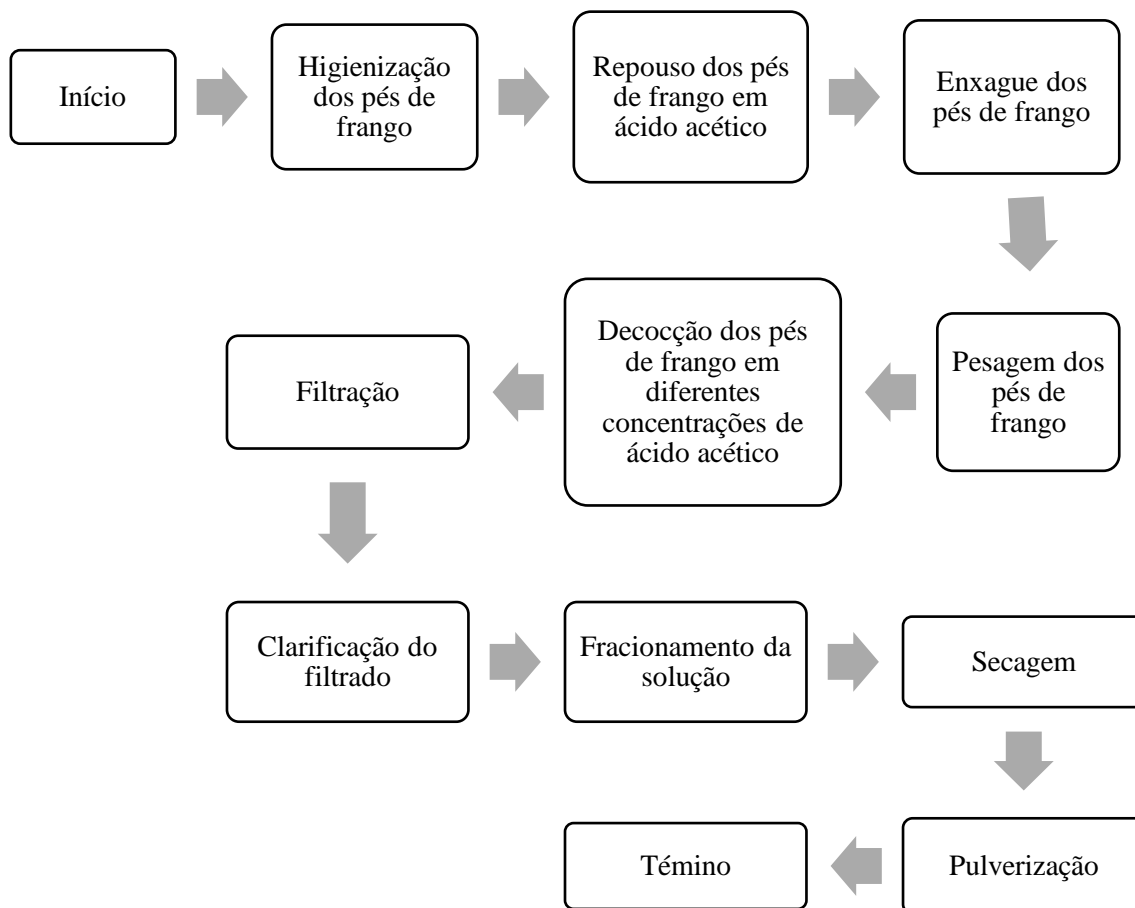
$$y_{\text{exp}} = 100 * \frac{M_{\text{colágeno}}}{M_{\text{PésFrango}}} \quad (5)$$

Em que, “M” é a massa dos pés de frango ou colágeno em pó e “Y<sub>exp</sub>” o rendimento da extração do colágeno.

Após a execução dos ensaios, um modelo foi obtido pelo método dos mínimos quadrados e o seu ajuste verificado pela metodologia da análise de variância (ANOVA) com nível de confiança de 95%. A otimização foi realizada pela metodologia da superfície de resposta (RSM) no *Software Statistica 6.0 for Windows*<sup>®</sup>, baseado nos conceitos de Barros Neto *et al.* (2010). O material, extraído foi distribuído em placas de Petri, levados a uma estufa a vácuo à 55°C, por 12h. Então, o material seco foi triturado para a obtenção do pó e foi

caracterizado de acordo com as normas apresentadas na AOAC (2000). A Figura 9 representa o fluxograma do processo da extração do colágeno a partir dos pés de frango.

Figura 9: Fluxograma da extração do colágeno dos tarsos de frango.



(Fonte: Próprio autor)

### 3.2. Obtenção dos biofilmes

A produção dos biofilmes à base de colágeno de frango, baseou-se nos estudos de Foriato *et al.* (2015). Para tanto, foram produzidos em diferentes tipos de plastificantes (propilenoglicol e glicerina), conforme formulação no Quadro 2, para análises comparativas.



Quadro 2: Formulação dos biocurativos com colágeno de frango, onde I refere-se ao uso da glicerina e II, ao propilenoglicol.

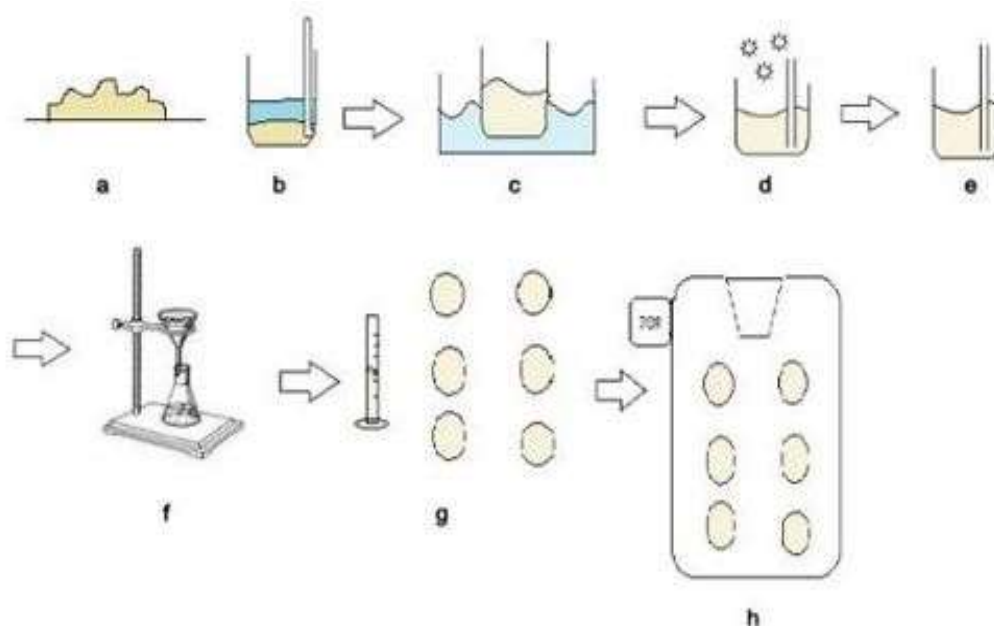
<b>Formulação I</b>	<b>Formulação II</b>
Colágeno de frango 10%	Colágeno de frango 10%
Glicerina 5%	Propilenoglicol 5%
Metilparabeno 0,1%	Metilparabeno 0,1%
Água destilada qsp <sup>2</sup> 100 ml	Água destilada qsp 100 ml

(Fonte: Próprio autor)

Pesou-se 10g de colágeno de frango e reservou. Em seguida, pesou-se 0,1g de metilparabeno, 5g glicerina (Formulação I) ou propilenoglicol (Formulação II), que foram transferidos para um béquer de vidro, acrescido de aproximadamente 70ml de água destilada, homogeneizou-se e seguiu-se ao banho-maria até total solubilização do metilparabeno. Em seguida, acrescentou-se o colágeno de frango para homogeneizar até total solubilização. A solução foi filtrada para retirada de impurezas presentes. A faixa de pH verificado deveria estar entre 5 a 6. O volume da solução foi completado com água destilada até o volume de 100ml e fracionado 16ml em placas de Petri de acrílico, que seguiram ao secador de infravermelho a temperatura de 70°C. O procedimento segue representado conforme Figura 10.

<sup>2</sup> QSP: quantidade para completar um volume.

Figura 10: Esquemática do procedimento da preparação dos filmes de colágeno de frango em



#### Legenda

- a – cristais de colágeno extraídos dos pés de frango
- b – solução de nipagim com plastificante (propilenoglicol ou glicerina)
- c – solução do item “b” em aquecimento no banho-maria a temperatura de 60°C
- d – solução “b” aquecida sendo acrescentado o colágeno de frango (“a”)
- e – verificação do pH
- f – filtração, em gaze dobrada, solução
- g – fracionamento em placas de Petri
- h – secagem em secador por infravermelho

(Fonte: Próprio autor)

### 3.3. Obtenção do controle

Para o controle foi produzido um biofilme a partir do colágeno comercial de pele suína, usando a metodologia apresentada por Foriato *et al.* (2015). Para tanto, foi utilizado a gelatina 150 bloom<sup>3</sup>, em diferentes tipos de plastificantes conforme Quadro 3.

<sup>3</sup> Bloom: capacidade de formação de gel.

Quadro 3: Formulação dos biofilmes controle com colágeno de frango, onde III refere-se como plastificante glicerina e IV ao propilenoglicol.

<b>Formulação III</b>	<b>Formulação IV</b>
Gelatina suína 10%	Gelatina suína 10%
Glicerina 5%	Propilenoglicol 5%
Metilparabeno 0,1%	Metilparabeno 0,1%
Água destilada qsp 100 ml	Água destilada qsp 100 ml

(Fonte: Próprio autor)

Pesou-se 10g do colágeno comercial e reservou. Em seguida, pesou 0,1g de metilparabeno e 5g glicerina (Formulação III) ou a propilenoglicol (Formulação VI), que foram transferidos para um béquer de vidro, acrescido de, aproximadamente, 70ml de água destilada, homogeneizou-se e seguiu ao banho-maria até total solubilização do metilparabeno. Em seguida, acrescentou-se o colágeno comercial e homogeneizou até total solubilização. A solução foi filtrada para retirada de impurezas presentes. A faixa de pH foi verificada a qual sugere estar entre 5 a 6. O volume da solução foi completado com água destilada até 100ml e fracionado 16ml em placas de Petri de acrílico que seguiram ao secador de infravermelho a temperatura de 70° C.

### **3.4. Determinação do índice de intumescimento (Ii%)**

A determinação do Ii foi realizada em triplicatas em amostras de biofilmes de colágeno de frango e colágeno suíno (controle), ambas com plastificantes: propilenoglicol e glicerina.

Para o teste, foi preparado três amostras de cada biofilme, no qual foram recortados em pedaços retangulares do mesmo tamanho (2,5 x 2cm). Essas amostras foram inseridas em placas de Petri de vidro e deixadas no dessecador com sílica gel (desidratada) por 24 horas. Após esse período, foram retiradas do dessecador, pesadas e registrados seus valores no tempo inicial zero.

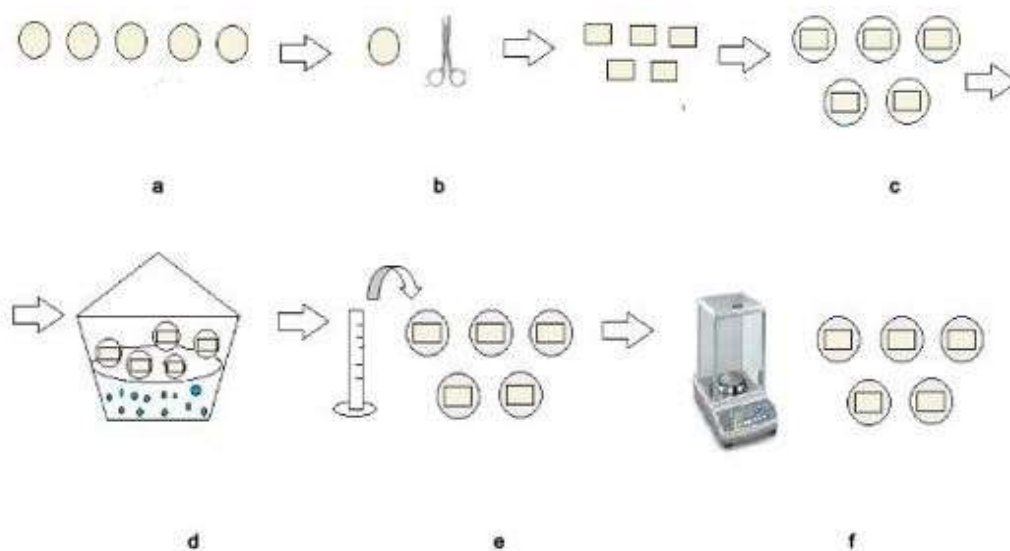
Nas placas, devidamente identificadas com a amostra pertinente, foi colocado 20ml de solução de NaCl 0,9% e permaneceram em repouso, de acordo com os tempos estabelecidos (1, 10, 30 e 60 minutos). Ao final de cada tempo estipulado, os biofilmes foram pesados e registrados (Figura 11). A base de cálculo para determinação do índice de intumescimento baseou-se na Equação 6 (GABAS e CAVALCANTI, 2003):

$$I_i = 100 \cdot \left( \frac{W_i - W_s}{W_s} \right) \quad (6)$$

Em que, “ $W_i$ ” representa a massa da membrana após intumescimento nos tempos 1, 10, 30 e 60 minutos; “ $W_s$ ” representa a massa da membrana seca no tempo zero.

Referente aos dados coletados no teste de intumescimento ( $I_i\%$ ), gerou-se um gráfico comparativo para cada amostra de biofilme (colágeno de frango e suíno).

Figura 11: Esquemática do procedimento do teste de intumescimento; os tempos de repouso estabelecido foram: 1, 10, 30 e 60 minutos.



#### Legenda

- a – Amostras dos biofilmes
- b – Recorte dos biofilmes com 2,5 x 2cm
- c – Biofilmes dispostos na placa de Petri
- d – Biofilmes dispostos no dessecador com sílica gel em descanso por 24hs
- e – Biofilmes imersos em solução de NaCl 0,9%
- f – Pesagem dos biofilmes nos tempos determinados

(Fonte: Próprio autor)

### 3.5. Determinação de transmissão de vapor de água (TVA)

Os biofilmes, foram dispostos em placas de Petri de vidro, no dessecador com solução saturada de NaCl 40% por 72 horas, após o tempo estabelecido foram preparados adequadamente para o teste de TVA. Em cada cúpula (pesa-se o filme com área de 10 cm) adiciona-se 10 ml de água destilada. Em seguida, as películas a serem investigadas, foram fixadas individualmente na borda das cúpulas com para-filme. Os kits (cúpula + água destilada + película, representado na Figura 12) foram pesados no tempo zero e colocados em um dessecador com sílica gel desidratada. As amostras foram pesadas nos tempos: 24, 48, 72 e 96 horas. Para cada intervalo, os valores foram registrados para se calcular a taxa de transmissão de vapor de água dos biofilmes (Figura 13). Além das amostras, foi preparado um kit controle, que serviu de base comparativa (cúpula + água destilada + parafilme). O TVA foi calculado utilizando a Equação 7 (GABAS e CAVALCANTI, 2003):

$$TVA \left( \frac{g}{h.cm^2} \right) = \frac{24 \cdot PM}{t \cdot A} \quad (7.)$$

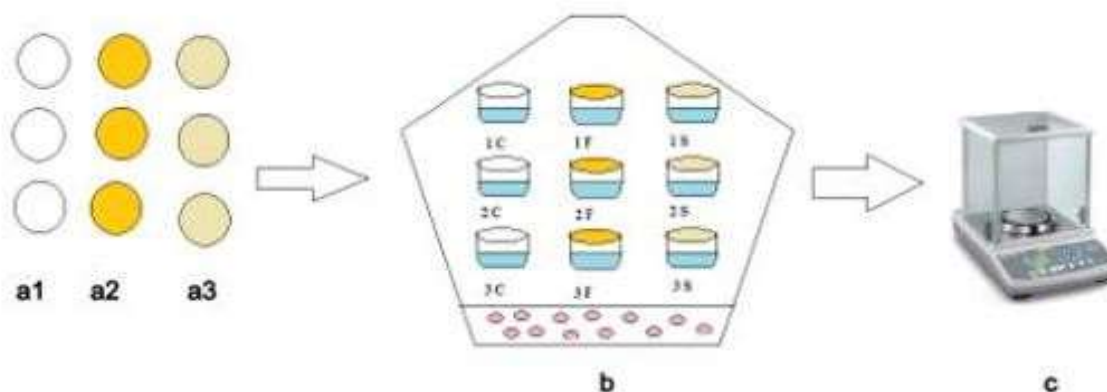
Em que, “PM” é perda de massa (g); “t” representa o tempo (h); “A” representa a área do filme (10 cm<sup>2</sup>). As anotações referentes ao teste de TVA foram registradas e comparadas em representação gráfica.

Figura 12: Kit para o teste de TVA: amostra controle, biofilme de colágeno de frango e biofilme de colágeno suíno (Fonte: próprio autor).



(Fonte: Próprio autor)

Figura 13: esquemática do procedimento do teste de TVA. As amostras serão pesadas nos tempos: 0, 24, 48, 72 e 96 horas.



#### Legenda

a1 – amostras controle

a2 – amostras de biofilmes a base de colágeno de frango

a3 – amostras de biofilmes a base de colágeno comercial

b – cápsulas em repouso no dessecador

c – pesagem das cápsulas nos tempos determinados

(Fonte: Próprio autor)

### 3.6. Composição dos custos

O processo de planejamento e elaboração de um novo projeto de viabilidade econômica, baseia-se na estruturação de um conjunto de informações relevantes, que permitem avaliar suas vantagens e desvantagens de acordo com a produção de bens ou serviços. Assim, é considerado uma ferramenta técnica, que simula os resultados esperados sobre investimentos econômicos (SILVA *et al.*, 2017).

Para análise da composição de custos dos biofilmes à base de colágeno de pés de frango, realizou-se um levantamento de informações referente aos valores das matérias-primas que compõem sua formulação para o preparo 12 unidades.

Os valores das matérias-primas foram cotados em fornecedores de insumos farmacêuticos (glicerina, propilenoglicol, metilparabeno) e fornecedores de resíduos de frango (pés de frango) no ano de 2017. Com os dados coletados, foi realizada uma análise comparativa dos biocurativos a base glicerina em relação ao propilenoglicol.

# **CAPÍTULO IV**

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Extração e otimização de processos do colágeno de frango

A Tabela 4 mostra o planejamento fatorial usado na realização deste experimento e os resultados das extrações do colágeno ( $Y$ ), nas formas experimental ( $Y_{exp}$ ) e calculada pelo modelo ( $Y_{calc}$ ), de acordo com cada ensaio realizado. Nota-se que a extração variou de 1,7 até 8,5% de colágeno em pó, sobre a massa inicial dos pés de frango, como demonstrado nos ensaios 3 e 6 respectivamente.

Tabela 4. Matriz de planejamento e resultados da extração do colágeno

Ensaio	$x_1$	$x_2$	$x_3$	[Ac] (%)	t (h)	T (°C)	$Y_{exp}$ (%)	$Y_{calc}$ (%)
1	-1	-1	-1	1	3	50	4,4384	4,2493
2	1	-1	-1	3	3	50	5,1980	5,1505
3	-1	1	-1	1	7	50	1,6962	1,8785
4	1	1	-1	3	7	50	5,1659	5,4897
5	-1	-1	1	1	3	70	8,5713	8,3821
6	1	-1	1	3	3	70	8,1620	8,1145
7	-1	1	1	1	7	70	2,8835	3,0657
8	1	1	1	3	7	70	6,1218	6,4457
9	0	0	0	2	5	60	6,2332	6,0421
10	0	0	0	2	5	60	6,2700	6,0421
11	0	0	0	2	5	60	5,5907	6,0421
12	1,682	0	0	3,682	5	60	7,6714	7,4079
13	-1,682	0	0	0,318	5	60	4,1287	4,2016
14	0	1,682	0	2	8,364	60	2,5070	1,9702
15	0	-1,682	0	2	1,034	60	5,4152	5,7617
16	0	0	1,682	2	5	76,82	6,1483	6,0530
17	0	0	-1,682	2	5	43,18	7,0203	6,9252

(Fonte: Próprio autor)



A Figura 14 demonstra o resultado final da extração do colágeno extraído dos pés de frango, apresentando-se em formas de cristais com coloração amarelo ouro e um leve odor característico.

Figura 14: Cristais de colágeno obtidos a partir dos pés de frango.



(Fonte: Próprio autor)

Comparando os melhores resultados obtidos neste trabalho (Tabela 4) com os apresentados pela literatura, os rendimentos de extração alcançados por esta pesquisa foram superiores a todos os resultados apresentados pelos autores anteriores. Entretanto, foi inferior ao rendimento obtido por Dhakal *et al.* (2018) que extraiu os colágenos da carcaça do frango usando a extração enzimática obtendo um rendimento superior aos 30% de colágeno extraído.

Arumugam *et al.* (2018) obtiveram um rendimento de extração de colágeno do peixe Solea (*Aseraggodesum bratilis*) de 1,927%, usando 3,24% de ácido acético em uma mistura com uma solução a 11,115 % de NaCl. Resultados semelhantes foram obtidos por Sionkowska *et al.* (2015) que extraíram o colágeno do peixe reineta (*Brama australis* ou *Bramachilenis*) usando uma solução de NaOH a 0,1 M (0,4%) e alcançou um rendimento de extração de colágeno de 1,5% e por Huang *et al.* (2016) que chegaram a um rendimento de 1,23% de colágeno extraído da tilápia usando extrusão. Já Chen *et al.* (2016) ao extrair o colágeno da pele de tilápia usando 3% de ácido acético alcançou um rendimento de extração de 3,2%.

Os melhores rendimentos, pesquisados na literatura, foram observados por Almeida *et al.* (2012) que obtiveram 5,33% de colágeno através da extração utilizando uma solução de ácido acético aquecido a 50°C por 8h. Enquanto Cheng *et al.* (2009), obtiveram um rendimento de 7,3% de colágeno seco, usando ácido acético no processo extrativo de colágeno a partir dos pés de frango.

Na análise de variância (ANOVA) observou-se que o modelo representado pela Equação 5 foi o que mais se ajustou aos dados experimentais presentes na Tabela 4. O valor calculado para o teste  $F_1$  foi 22,947, sendo 4,5 vezes maior do que o  $F_1$  tabelado (4,070), enquanto o  $F_2$  calculado foi de 1,950, sendo 10 vezes menor que o  $F_2$  tabelado (19,160), isto indica que o modelo é estatisticamente significativo e está ajustado aos dados experimentais.

Em adicional, outro parâmetro que corroborou para a análise foi o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) que foi igual a 0,9806 e está próximo de 1,0, como indicado por Barros Neto *et al.* (2010). Desta forma, pode-se afirmar que o modelo está ajustado e pode ser utilizado para prever o valor do rendimento da extração do colágeno de pés de frango para as condições apresentadas neste trabalho.

$$y = 6,0421 + 0,9531 \cdot x_1 - 1,1271 \cdot x_2 + 1,9282 \cdot x_3 - 0,0839 \cdot x_1^2 - 0,7692 \cdot x_2^2 + 0,1580 \cdot x_3^2 \dots + \dots - 0,7732 \cdot x_3^3 + 0,7947 \cdot x_1 \cdot x_2 - 0,1750 \cdot x_1 \cdot x_3 - 0,6192 \cdot x_2 \cdot x_3 + 0,1172 \cdot x_1 \cdot x_2 \cdot x_3 \quad (6)$$

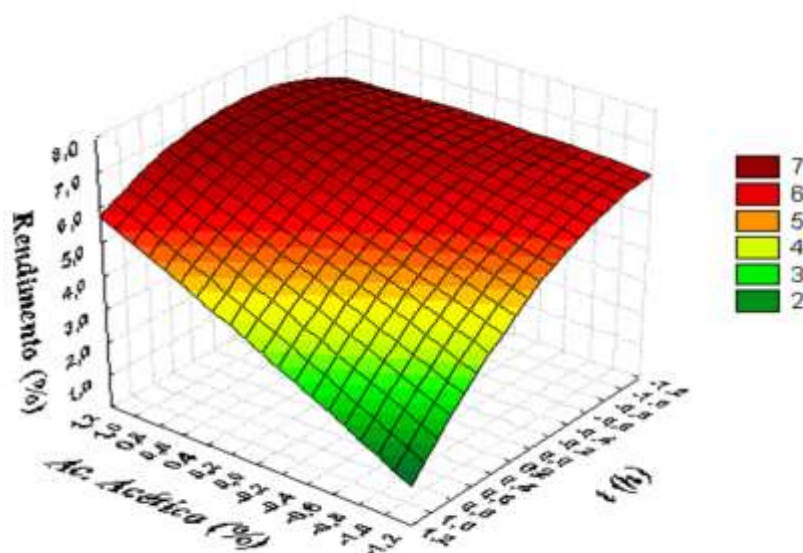
Tabela 5. Resultado da avaliação dos ajustes do modelo pela metodologia ANOVA com grau de confiança 95%.

Fonte de	Soma	Graus de	Média		
Varição	Quadrática	Liberdade	Quadrática	F <sub>tab</sub>	Teste F
Regressão	57,832	11	5,257		
Resíduos	1,146	5	0,229	4,070	22,947
Falta de Ajuste	0,854	3	0,285		
Erro Puro	0,292	2	0,146	19,160	1,950
Total	58,977	16			
% de variância explicada =				98,059	
% máxima variância explicável =				99,505	
Coeficiente de Determinação ( $R^2$ ) =				0,9806	

(Fonte: Próprio autor)

As Figuras 15, 16 e 17 são as superfícies de respostas obtidas no *Software Statistica 6.0 for Windows*® e usadas na otimização da extração do colágeno dos pés de frango. Como observa-se na Figura 15, os maiores rendimentos são encontrados quando se operou com as maiores concentrações de ácido acético e com os menores tempos de processo.

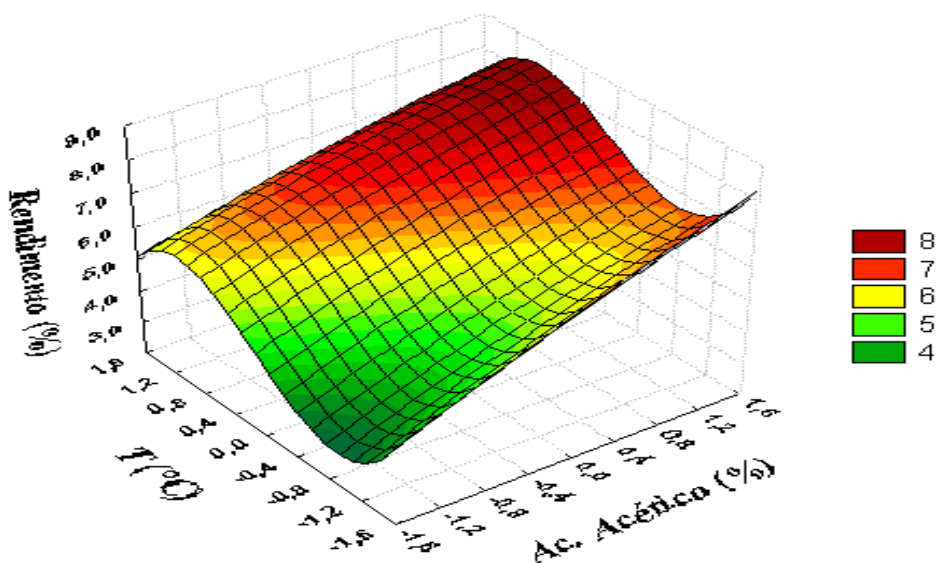
Figura 15. Superfície de resposta que mostra a influência mútua do tempo e da concentração do ácido acético sobre o rendimento da extração



(Fonte: Próprio autor)

Na Figura 16 percebe-se que se a temperatura estiver em seus maiores valores, a concentração de ácido acético também deve ser usada nos seus maiores valores para que o rendimento seja máximo.

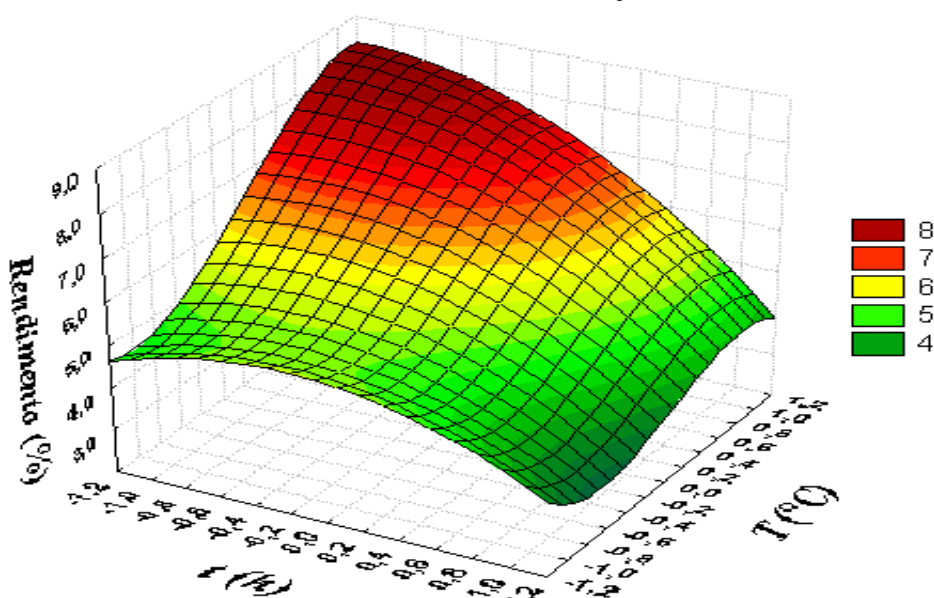
Figura 16. Superfície de resposta que mostra a influência mútua da temperatura e da concentração do ácido acético sobre o rendimento da extração



(Fonte: Próprio autor)

Na Figura 17, percebe-se que nos menores tempos de processo e nos maiores valores de temperatura o rendimento tende para o seu valor máximo. E, assim, pode-se concluir que ao usar a concentração de ácido acético entre 3,000 e 3,682%, o tempo de operação entre 1 e 3 horas e a temperatura entre 70 e 76,82°C, rendimento superior a 8,0% de colágeno pode ser obtido.

Figura 17: Superfície de resposta que mostra a influência mútua do tempo e da temperatura sobre o rendimento da extração.



(Fonte: Próprio autor)

#### 4.1. Avaliação dos biofilmes

A partir da extração do colágeno dos pés de frango foram produzidos biofilmes. O Quadro 4 representa os resultados coletados referentes as suas características organolépticas. Podemos notar que há uma diferença entre a textura dos biofilmes preparados com propilenoglicol com os de glicerina, porém nos requisitos odor e coloração apresentam resultados iguais. Essas características são de alta relevância para qualidade do biofilme, pois a partir desses resultados podemos adequar a sua empregabilidade em diversas aplicações, como por exemplo, emprego de um biocurativo e material de embalagem para alimentos.

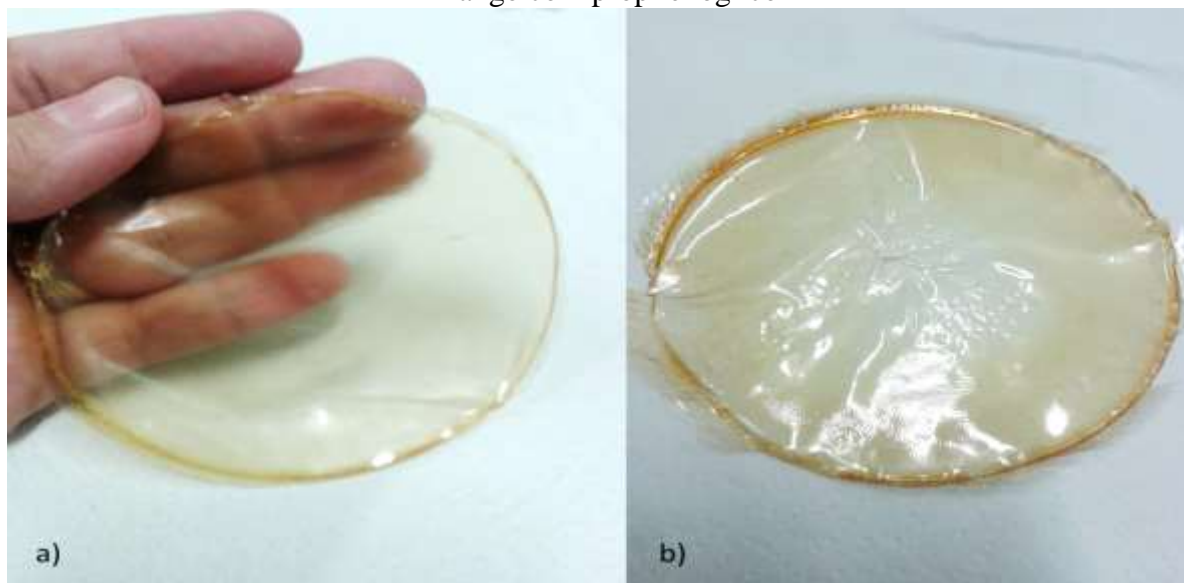
Quadro 4: Comparação das características organoléticas dos biofilmes a base de colágeno dos pés de frango em glicerina e propilenoglicol.

Amostra	PH	Coloração	Textura	Odor
Biofilmes de colágeno de frango em glicerina	5,72	Amarelo escuro	Maleável, macia, toque levemente, pegajoso, porém, com toque sensorial suave	Característico
Biofilmes de colágeno de frango em propilenoglicol	5,78	Amarelo escuro	Maleável, macia, toque levemente pegajoso, porém, com toque sensorial grosseiro	Característico

(Fonte: Próprio autor)

O toque sensorial do biofilme preparado com glicerina (Figura 18.a), mostra-se mais suave, apresentando semelhanças com a textura do látex utilizado para produção de luvas descartáveis e preservativos, o que sugere a aplicação como um biocurativo. Entretanto, o biofilme preparado com propilenoglicol (Figura 18.b), apresenta-se com uma característica mais rústica, com toque grosseiro, apresentando semelhanças ao papel celofane, o que sugere uma aplicação como material de embalagem.

Figura 18: biofilmes obtidos a partir do colágeno de frango com tamanho de 90x90mm; a) o biofilme de colágeno dos pés de frango com glicerina; b) biofilme de colágeno dos pés de frango com propilenoglicol



(Fonte: Próprio autor)

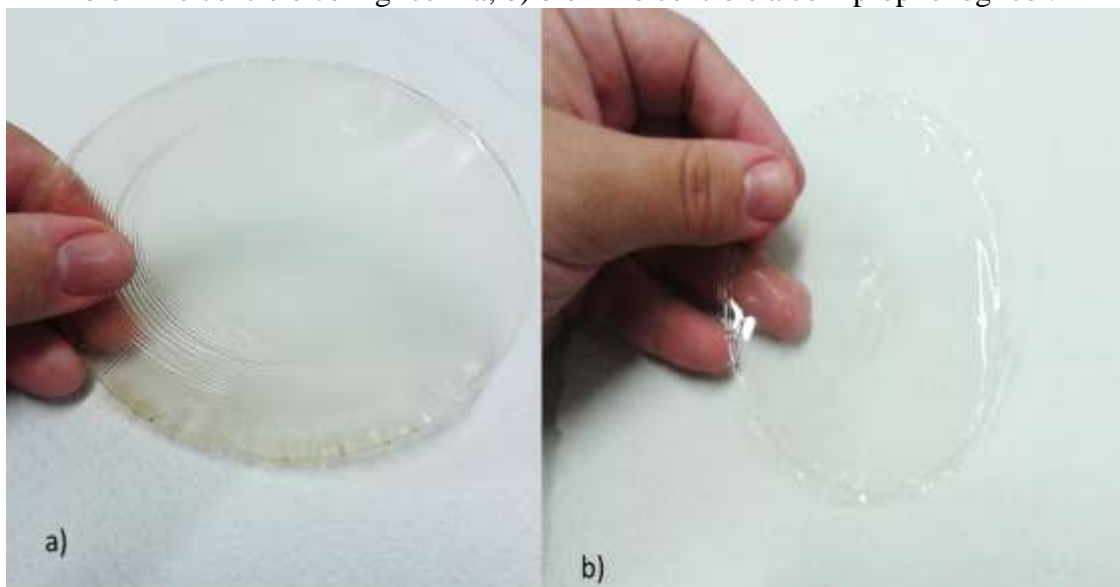
Para critérios comparativos, também foram obtidos biofilmes controles à base de colágeno comercial (Figuras 19.a e 19.b). Referente as características organoléticas, demonstradas no Quadro 5, apresentaram-se semelhantes às produzidas a base do colágeno de frango, porém, inodoras e transparentes.

Quadro 5: Resultados organoléticos do biofilme controle a base de colágeno comercial.

Amostra	PH	Coloração	Textura	Odor
Biofilmes de colágeno suíno em glicerina	5,63	Amarelo claro, quase transparente	Maleável, macia, toque sensorial seco e suave	Inodoro
Biofilmes de colágeno suíno em propilenoglicol	5,71	Amarelo claro, quase transparente	Maleável, macia, com toque sensorial seco e grosseiro	Inodoro

(Fonte: Próprio autor)

Figura 19: Biofilmes obtidos a partir do colágeno suíno com tamanho de 90x90mm; a) biofilme controle com glicerina; b) biofilme controle a com propilenoglicol.



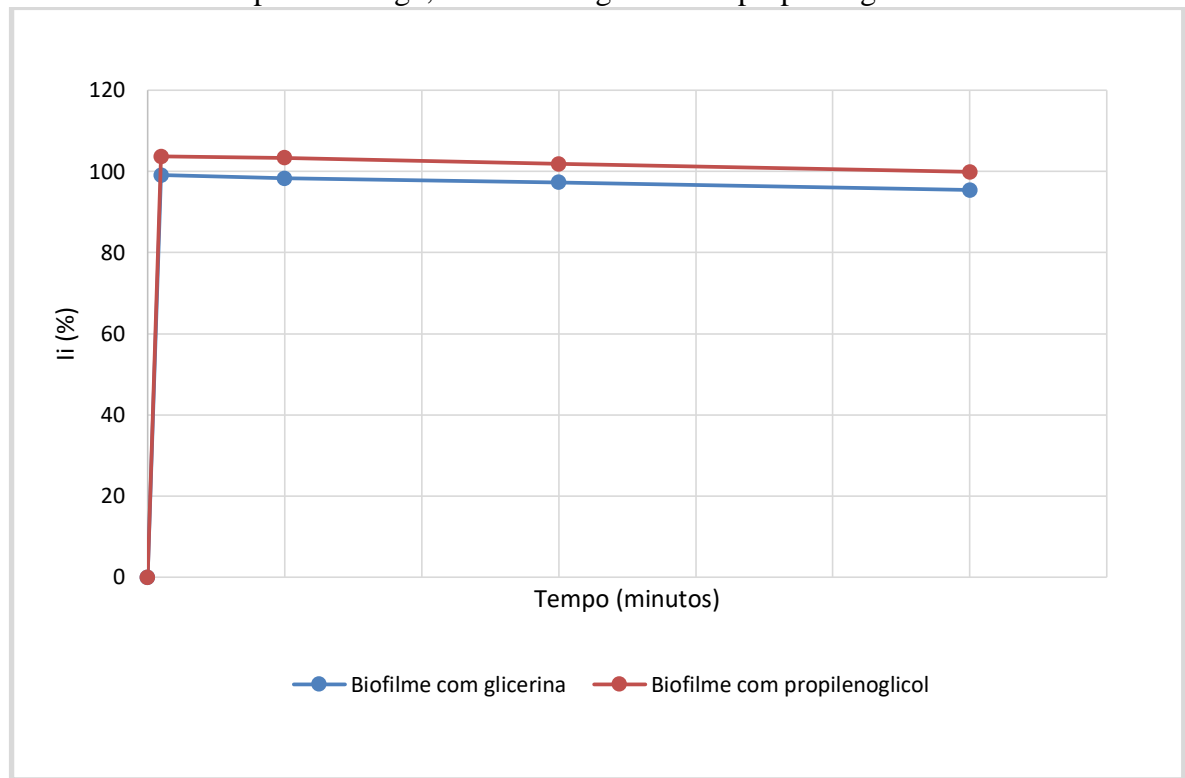
(Fonte: Próprio autor)

#### 4.2. Teste de Intumescimento (Ii%)

Para avaliação do grau de hidratação foi realizado os testes de Intumescimento (Ii), em triplicatas, nos biofilmes a partir do colágeno dos pés de frango e colágeno comercial, tanto com plastificante glicerina, quanto propilenoglicol.

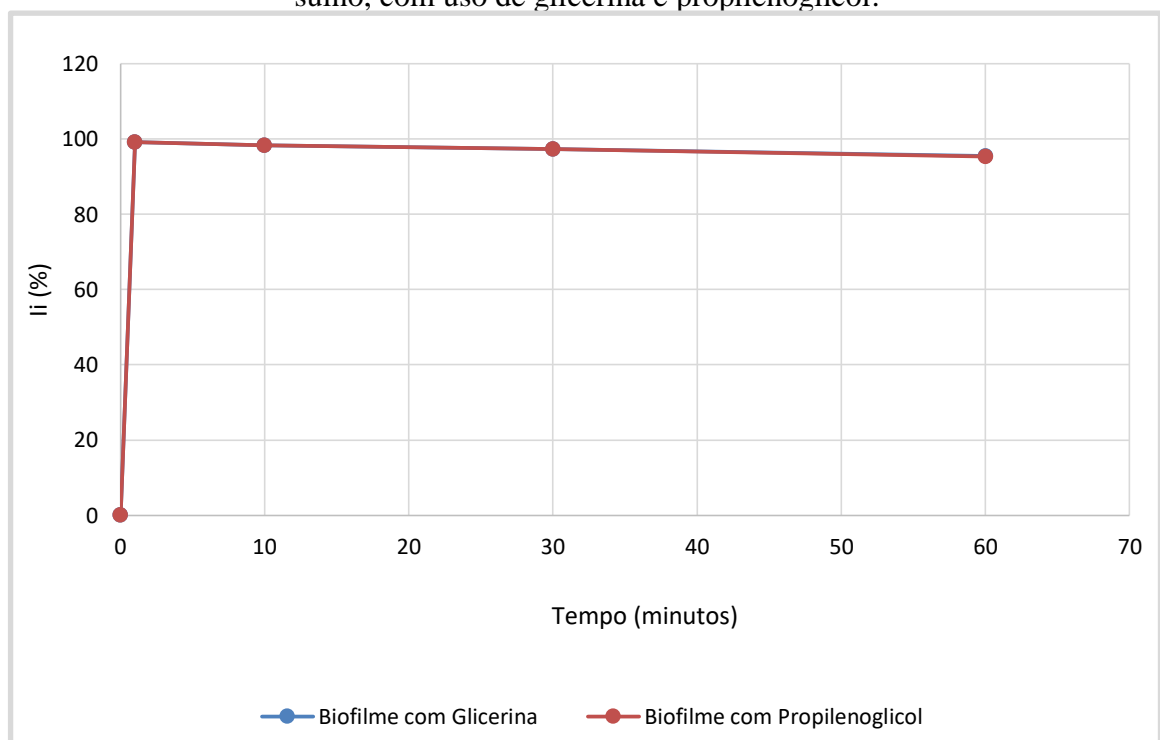
A Figura 20 mostra o Ii dos biofilmes de colágeno dos pés dos frangos, enquanto a Figura 21 indica os biofilmes controle. Entretanto, ambos colágenos apresentaram índices de hidratação de aproximadamente 99,9%, não apresentando diferenças relevantes ao tipo de colágeno utilizado para produção desses biofilmes. Em relação aos plastificantes, também não ocorreram alterações significantes.

Figura 20: demonstração gráfica do índice de intumescimento dos biofilmes de colágeno dos pés de frango, com uso de glicerina e propilenoglicol.



(Fonte: Próprio autor)

Figura 21: demonstração gráfica do índice de intumescimento dos biofilmes de colágeno suíno, com uso de glicerina e propilenoglicol.



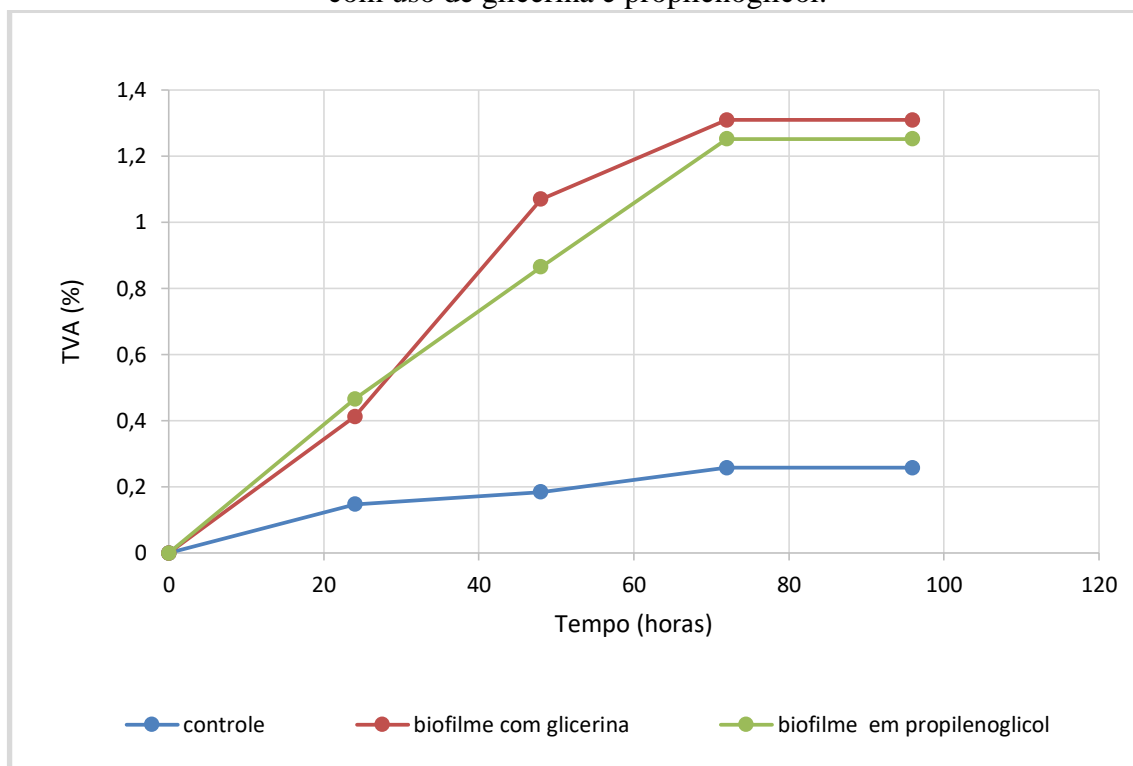
(Fonte: Próprio autor)



### 4.3. Teste de Transmissão de Vapor d'água (TAV)

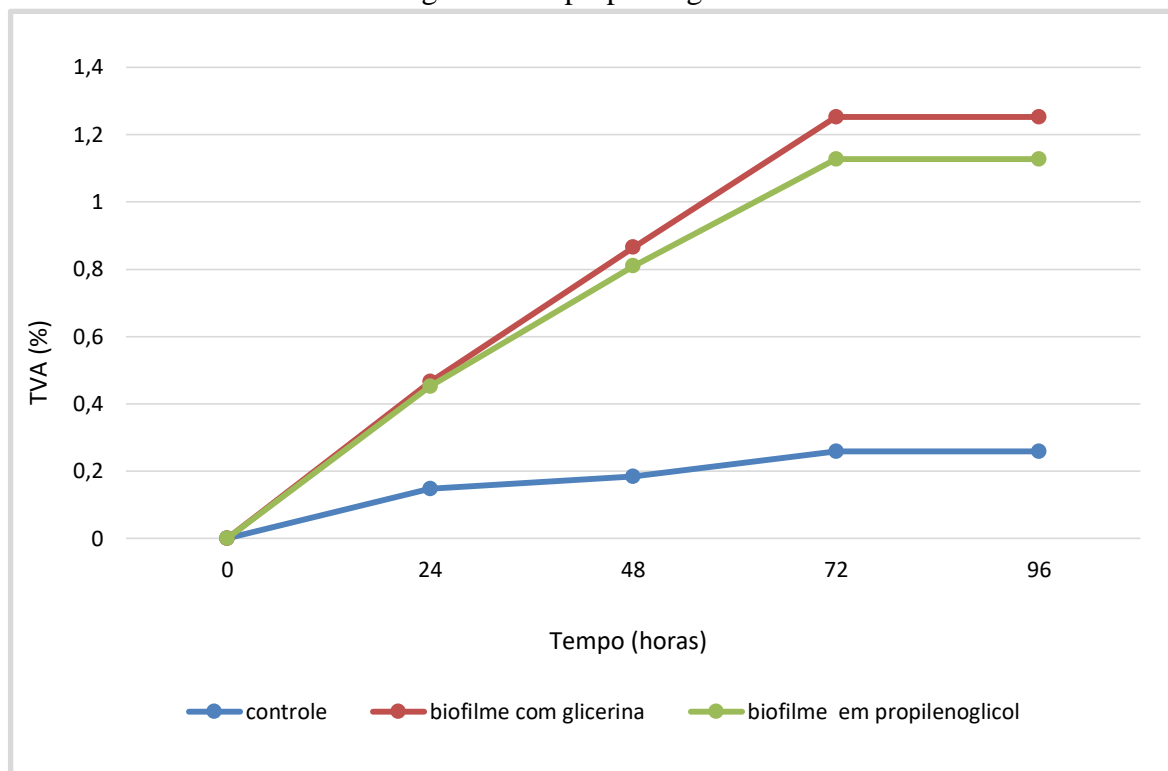
Os testes de TVA foram realizados nos biofilmes produzidos a partir do colágeno dos pés de frango e colágeno comercial, ambos com os plastificantes: glicerina e propilenoglicol. Os resultados são demonstrados nas Figuras 22 e 23. Nota-se que independentemente do tipo do colágeno e plastificante utilizado, todos biofilmes apresentam índices de transmissão de vapor d'água aproximadamente entre 1,2 e 1,4 %, favorecendo assim, a passagem de água entre as faces do biofilme. As diferenças apresentadas são irrelevantes quando avaliados em conjunto.

Figura 22: índices obtidos pelo teste de TVA dos biofilmes de colágeno dos pés de frango, com uso de glicerina e propilenoglicol.



(Fonte: Próprio autor)

Figura 23: índices obtidos pelo teste de TVA dos biofilmes de colágeno comercial, com uso de glicerina e propilenoglicol.



(Fonte: Próprio autor)

#### 4.4. Avaliação de custos

Para produção dos biofilmes se fez necessário a utilização de alguns insumos para compor a formulação (plastificantes/emoliente, por exemplo). Para tanto, os componentes da formulação foram cotados por fornecedores da Indústria Farmacêutica: Vital Farma, Deg e Henrifarma.

A escolha da quantidade de biofilmes para o levantamento do custo de insumos utilizados na produção, teve como base a embalagem comercializada de biocurativos que utilizam em sua formulação o colágeno comercial FIBRACOL Plus<sup>®</sup> que contém 12 unidades. Os custos para obtenção dos biofilmes a base de colágeno de frango apresentam-se viáveis, com um valor total que não chega a cinco centavos de reais (Quadro 6 e 7).

Quadro 6: Custo de insumos para Formulação I dos biofilmes de colágeno de frango, com glicerina em 12 unidades do biofilme.

<b>Materiais</b>	<b>Composição (%)</b>	<b>Peso (g) 12 biocurativos</b>	<b>Custo (R\$)</b>
Colágeno de pé de frango	10	3	0,000225
Glicerina bidestilada	5	0,15	0,006525
Metilparabeno	0,1	0,3	0,0273
Água purificada	qsp 100 ml	qsp 300 ml	0,0021
Custo total			≈ 0,04

(Fonte: Próprio autor)

Quadro 7: Custos de insumos para Formulação II dos biofilmes de colágeno de frango, com propilenoglicol e em 12 unidades.

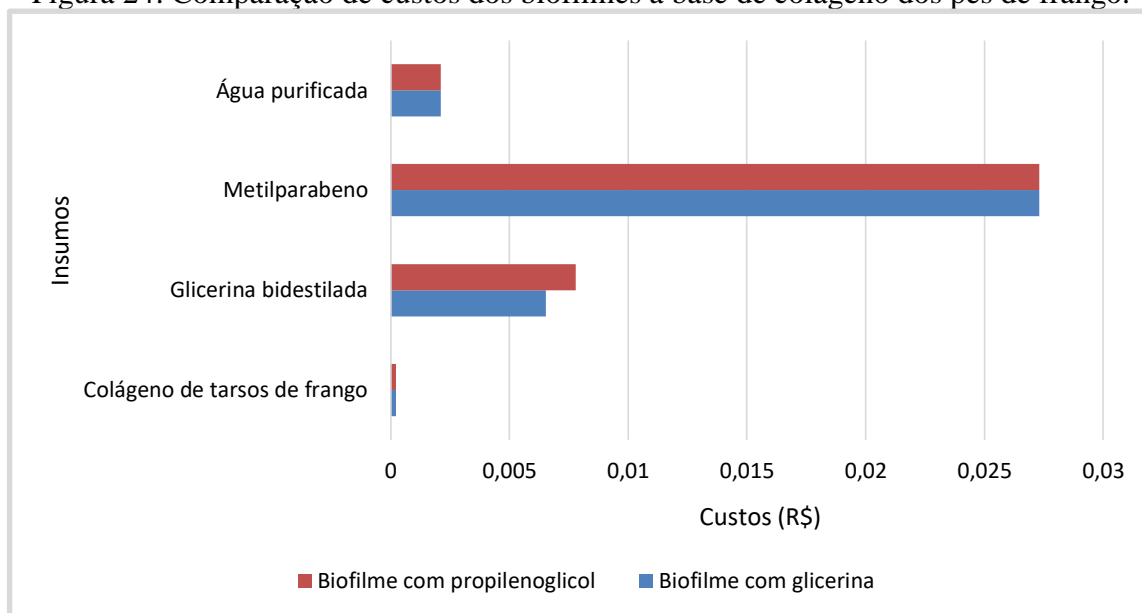
<b>Materiais</b>	<b>Composição (%)</b>	<b>Peso (g) para 12 biocurativos</b>	<b>Custo (R\$)</b>
Colágeno de pé de rango	10	3	0,000225
Propilenoglicol	5	0,15	0,0078
Metilparabeno	0,1	0,3	0,0273
Água purificada	qsp 100 ml	qsp 300 ml	0,0021
<b>total</b>			≈ 0,04

(Fonte: Próprio autor)

Para ambas formulações, o material que detém o maior custo é o metilparabeno (73-75%), seguido da glicerina ou propilenoglicol (18-20%), mas mesmo assim, o custo total com matéria prima não excede os R\$ 0,04 o que demonstra ser bastante promissor a aplicação do

colágeno de pés de frango, pois reduz bastante o custo com a material usado na produção dos biofilmes (Figura 24).

Figura 24: Comparação de custos dos biofilmes a base de colágeno dos pés de frango.



(Fonte: Próprio autor)

Entretanto, quando verificarmos que os pés de frango são subprodutos da Indústria Avícola, seu valor de venda chega a ser irrisório, o que torna viável a produção dos biofilmes. Nos estudos de Almeida (2012) apresentou um índice de lucratividade de 15% sobre as gelatinas produzidas a partir do colágeno dos pés de frango, o que comprova a viabilidade de produção de produtos a partir do colágeno do frango, assim como, a produção de biofilmes do presente trabalho.

## **CAPÍTULO V**

# **CONCLUSÕES E SUGESTÕES**

## 5. CONCLUSÕES

Verificou-se que o material seco e pulverizado apresentou uma coloração amarela e uma composição com mais de 78% de proteínas. O rendimento da extração variou de 1,7 até 8,5% de colágeno sobre a massa inicial dos pés de frango. E a otimização mostrou que é possível obter rendimentos acima dos 8,0% quando se usa a concentração de ácido acético entre 3,000 e 3,682 %, o tempo de operação entre 1 e 3h e a temperatura entre 70 e 76,82°C.

Nas características organolépticas, apesar de um leve odor característico, o biofilme a partir do colágeno dos pés de frango, quando utilizado com a glicerina apresenta melhores resultados, pois o material é mais flexível, com toque sensorial semelhante ao látex. Quando comparado ao biofilme controle (a base de colágeno comercial) difere-se apenas ao odor e coloração. Sendo assim, o colágeno dos pés de frango não deixa a desejar ao colágeno comercial. Os testes de intumescimento e transmissão de vapor d'água garantem a qualidade do presente estudo, atendendo as expectativas a partir dos resultados gerados na degradação e grau de hidratação.

Na análise de custos dos insumos utilizados na obtenção dos biofilmes, mostrou que o maior valor fica com o metilparabeno com 75% do custo e em seguida o plastificante (glicerina e/ou propilenoglicol) com aproximadamente 20% do custo total da formulação, obtendo um valor total de R\$0,40 um pacote com 12 unidades. Entretanto, ao comparamos com os valores dos biocurativos a base de colágeno comercial, que são vendidos em grandes redes farmacêuticas, esses podem chegar a um valor final de R\$ 130,00, uma embalagem com 30unidades, como o Artrogem Duo® ou R\$ 152,00 como ColZen®. Dessa forma, o biofilme pesquisado nesse trabalho torna-se viável para produção.

Esse estudo mostrou que é viável a obtenção dos biofilmes a partir do colágeno de frango, pois apresentam resultados com qualidade e características organolépticas satisfatórias, além de um rendimento na extração de colágeno superior aos das literaturas citadas como: Arumuga *et al.* (2018) com rendimento de 1,92%, Sionkowska *et al.* (2015) com 1,5%, Huang *et al.* (2016) com 1,23%, Almeida (2012) com 5,33% e Cheng *et al.* (2009) com 7,3%. Além de resultados que comprovam sua viabilidade, também nos mostrou que pela otimização de processo, pode-se padronizar a extração do colágeno através da combinação de três fatores, como: concentração do ácido, temperatura e tempo de decocção.

## 5.1 Sugestões para trabalhos futuros

Frente aos estudos desenvolvidos ao longo do presente trabalho deixa-se algumas sugestões de temas relevantes que possam ser estudados futuramente, tais como:

- Incorporar aos biofilmes produzidos, fármacos de ação anti-inflamatória e/ou antibiótica para utilização em lesões teciduais. Após, fazer os testes “*in vivo*” desses biocurativos e avaliar suas aplicações nas lesões.
- Utilização do colágeno em invólucro de cápsula;
- Produção de cápsulas de colágeno para fins nutracêuticas;
- Novas formulações de gelatina alimentícia com sabores de hortelã, erva doce entre outros.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEF – Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frango. *Estatísticas 2018*. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/default.php>>. Acesso em: 17/03/18.

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. *Resumo do setor de aves*. Disponível em: <[abpa-br.com.br/setores/avicultura/resumo](http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/resumo)> Acesso em: 19/12/2017

ABRUCEZE, L.H.B.; COTRIM, O. S.; PASIAN, A.C.P.; DEFFUNE, E.; FERREIRA, R.R - Evaluating the effectiveness of biocurativos in rats with skin lesions caused by burns - *Revista Enfermagem Atual in Derme*, 68 (6), p.12-17, Março, 2014.

ALMEIDA, P.F.De; SANTANA, J.C.C.- Avaliação da qualidade de uma Gelatina obtida a partir de Tarsos de frango. In *anais: XXX Encontro Nacional de Engenharia de Produção*, São Carlos, 2010.

ALMEIDA, P. F.; ALVES, W.A.L; FARIAS, T.M.B.; SANTANA, J. C. C. - Elaboración y Clasificación Sensorial de Gelatinas de Patas de Pollos: Correlación usando Redes Neuronales Artificiales. *Información Tecnológica*, 23 (6), p. 129-136, 2012.

ALMEIDA, P.F - Análise da qualidade de gelatina obtida de tarsos de frango e aspectos envolvidos no processo produtivo. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção, Universidade Nove de Julho, São Paulo, 2012.

ALMEIDA, P.F.; VANALLE, R.M.; SANTANA, J.C.C.- Produção de gelatina: uma perspectiva competitiva para a cadeia produtiva de frango de corte. *Produto & Produção*, 13 (2), p. 22-39, Junho, 2012.

ALMEIDA, P.F; SALLES, J. A. A.; FARIAS, T.M.B.; SANTANA, J.C.C – Aprovechamiento de patas de pollo como alternativa para disminuir residuos generados em los mataderos. *Informacion Tecnologica*, 23 (4), p. 45-52, 2012.

ALMEIDA, P.F. and LANNES, S.C.S. - Extraction and physicochemical characterization of Gelatin from chicken by-product. *Journal of Food Process Engineering*, 36 (6), p. 824-833, Dezembro, 2013.

ALMEIDA, P.F.; CALARGE, F.A.; SANTANA, J.C.C. - Production of a product similar to gelatin from chicken feet collagen. *Engenharia Agrícola*, 33 (6), p.1289-1300, Novembro / Dezembro, 2013.

ALMEIDA, P.F; ARAUJO, M.G.O; SANTANA, J.C.C., Collagen extraction from chicken feet for jelly production. *Acta Scientiarum. Technology*, 33 (6), p.1289-1300, Julho / Setembro, 2013.

ALMEIDA, S. S.; ALVES, W. A. L.; ARAÚJO, S. A.; SANTANA, J. C. C.; NARAIN, N.; SOUZA, R. R. Use of simulated annealing in standardization and optimization of the acerola wine production. *Food Science and Technology* (Campinas), 34, p. 292-297, 2014.

ALMEIDA, P.F, FARIAS, T.M.B, SANTANA, J.C.C -Sensory quality evaluation of gelatin formulations produced with collagen from chicken feet using fact planning. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 18 (2), p. 185-194, 2016.

ALMEIDA, P.F; GARDIM, R.B.; BORINI, G.B.; LANE, S.C.S, SANTANA, J.C.C - Evaluation of collagen quality from chicken feet using spectroscopy techniques. *In anais: XXI Simpósio Nacional de Bioprocessos e XII Simpósio de Hidrólise Enzimática De Biomassa*, 2017.

ALMEIDA, P.F; LANNES, S.C.da S. - Effects of chicken by-product gelatin on the physicochemical properties and texture of chocolate spread. *Jornaul of Texture Studies*, 48, p.392 - 402, 2017.

ARUMUGAM, G.K.S.; SHARMA, D.; BALAKRISHNAN, R.M.; ETTIYAPPAN, J.B. P. Extraction, optimization and characterization of collagen from sole fish skin. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 9, p. 19-26, 2018.

AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; FOOK, M. V. L.; COSTA, A. C. F. M. - Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, 2 (3), p. 27-34, 2007.

BADII, F. and HOWELL, N.K. - Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. *Food Hydrocolloids*, 20, p. 630-640, 2006

BARROS NETO NB, SCARMÍNIO IS, BRUNS RE, *Como fazer experimentos: aplicações na ciência e na indústria*. 4ª edição. Porto Alegre: Bookman, p.414, 2010.

BENVENGA, M. A. C. ; LIBRANTZ, A. F. H. ; SANTANA, J. C. C. ; TAMBOURGI, E. B. . Genetic algorithm applied to study of the economic viability of alcohol production from Cassava root from 2002 to 2013. *Journal of Cleaner Production*, 113, p. 483-494, 2016.

BORDIGNON, Adriana Cristina. Caracterização da pele e da gelatina extraída de peles congeladas e salgadas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, 2010.

BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. *Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis and model building*. New York: Wiley, 1978.

BUENO, C. M. M. Extração e caracterização de gelatina de pele de tilápia e aplicação como agente encapsulante de óleo de salmão em micropartículas obtidas por coacervação complexa. 2008. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. Campinas, SP, 2008.

BUNHAK, E.J.; MENDES, E.S.; PEREIRA, N.C.; CAVALCANTI, O. A. - Influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados de polimetacrilato. *Quim. Nova*, 30 (2), p. 312-317, 2007.

CABRAL, S. Analisando a Reconfiguração da Cadeia de Produção de Pneus no Brasil pela Economia dos Custos de Transação. *Gestão & Produção*, 11 (3), pp. 373-384, 2004.

CANDIDO, B.S.L. e SANTOS, F de A. - Estudo de viabilidade econômico-financeira de uma central geradora hidrelétrica (CGH). *Revista Metropolitana de Sustentabilidade - RMS*, 2 (3), p. 3-27, 2012.

CAVALCANTI, O.A. e CÍCERI, L. – Material de acondicionamento e embalagem primária: avaliação da permeabilidade ao vapor d'água. *Arquivos de Ciência da Saúde Unipar*, 6 (1), p. 57-60, 2002.

CENTENARO, G. S.; FURLAN, V. J. M.; SOUZA-SOARES, L. A. DE - Chicken fat: technological and nutritional alternatives - *Semina: Ciências Agrárias*, 29 (3), p. 619-630, 2009.

CHEN, J.; LI, L.; YI, R.; XU, N.; GAO, R.; HONG, B. Extraction and characterization of acid-soluble collagen from scales and skin of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *LWT - Food Science and Technology*, 66, p. 453-459, 2016.

CHENG, F-Y.; HSU, F-W.; CHANG, H-S.; LIN, L-C.; SAKATA, R. Effect of different acids on the extraction of pepsin-solubilised collagen containing melanin from silky fowl feet. *Food Chemistry*, 113, p.563–567, 2009.

CHO, S-H.; JAHNCKE, M. L.; CHIN, K-B.; EUN, J-B. The effect of processing conditions on the properties of gelatin from skate (*Raja Kenojei*) skins. *Food Hydrocolloids*, 20, pp.810–816, 2006.

CLICHÉ, S.; AMIOT, J.; AVEZARD, C.; GARIÉPY, C. Extraction and Characterization of Collagen with or Without Telopeptides from Chicken Skin. *Poultry Science*, 82, p.503–509, 2003.

COSTA, D. P. S.; ROMANELLI, P. F.; TRABUCO, E. - The use of non-edible poultry viscera to produce meat flour. *Food Science and Technology*, 28 (3), p. 746-752, 2008.

COTRIM, O.S.; SILVA, L.L.; DEFFUNE, E. - Impact of research dissemination on bio bandages and psychosocial assessment of patients. *Revista Saúde e Desenvolvimento*, 3 (2), 2013.

CUNICO, M. W. M.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; ZAWADZKI, S. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; VOLPATO, N. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. *Visão Acadêmica, Curitiba*, 9 (1), p. 1-10, 2008.

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

DU, L. e BETTI, M. Chicken collagen hydrolysate cryoprotection of natural actomyosin: mechanism studies during freeze-thaw cycles and simulated digestion. *Food Chemistry*, 211, p.791–802, 2016.

FAEMA – Federação da Agricultura e Pecuária do Estado do Maranhão. *Balanço de Aves e Suínos* 2017. Disponível em: [http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/aves\\_e\\_suinos\\_balanço\\_2017](http://www.cnabrazil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/aves_e_suinos_balanço_2017). Acesso em: março de 2018.

FERNANDES, R. de C. de S.; PITOMBO, V.C.; DEMORAIS; SALVADOR, N.A.R.; A.C. de A.; REZENDE, L.S.; MATIAS A.C.G.; FURQUIM, N.R.; PEREIRA, I.R. O.- Development and sensory evaluation of yogurt ice cream (frozen)functional with green banana biomass and red fruits. *Uningá Review*, 30 (2), p.17-22, 2017.

FORIATO, A.; GARDIM, R. B.; MELLO, K. G. P.; BORINI, G. B. . Development of biopolymer based films intended for wound dressings: formulation of quitosan and soy protein isolate free films. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51, p. 70, 2015.

GABAS, V. G. S.; CAVALCANTI, O. A. - Influência da adição da Goma arábica em filmes isolados de polímero acrílico. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 39 (4), p.. 441-448, 2003.

GALÃO, O.F.; PINTO, J.P.; BORSATO, D. - Analysis and use of the fat of residues in slaughterhouses of chickens. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, 4, p. 93-96, 2003.

GARDIM, R. B.; ALMEIDA, P. F.; GAMARRA CABAJAL, F. M; BORINI, G. B. ; SANTANA, J. C. C.. Otimização da extração do colágeno de pés de frango pela metodologia da superfície de resposta. *In: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ*, 1, p. 1-4, São Paulo, 2018.

GIMÉNEZ, B.; GÓMEZ-ESTACA, J.; ALEMÁN, A. GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; MONTERO, M.P. Physico-chemical and film forming properties of giant squid (*Dosidicus gigas*) gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23, p.585–592, 2009.

GIRON, Elizabeth; OPAZO, M.A.U.; JUNIOR, W. F. R.; GIMENES, R.M.T. - APLICAÇÃO DO CONTROLE ESTATÍSTICO DE PROCESSO EM UMA EMPRESA DO SETOR AVÍCOLA. *Revista de Administração e Inovação*, 10 (4), p.38-62, 2013.

GOMES, M. - A indústria do frango no Brasil. *Revista Monitor*, p. 2-18, 2016.

GONÇALVES, G.R.; OLIVEIRA, M.A.S., MOREIRA, R. F.; BRITO, D. de - Benefícios da ingestão de colágeno para o organismo humano. *Revista Eletrônica de Biologia*, 8 (2), p. 190-207, 2015.

GUIMARÃES, M.C.; LIMA, P.S.; BRISOLA, M.V. Condições de trabalho, organização do trabalho, saúde e bem-estar na produção avícola integrada – uma revisão. *Sociedade e Desenvolvimento Rural online*, 9 (1); p. 62-87, 2015.

HASHIM, P.; M. S. Mohd RIDZWAN; BAKAR J. Isolation and Characterization of Collagen from Chicken Feet. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Bioengineering and Life Sciences* ,(3), 2014.

HASHIM, P.; RIDZWAN M.S.M.; BAKAR, J. - Isolation and Characterization of Collagen from Chicken Feet. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Bioengineering and Life Sciences*, 8 (3), p. 250-254, 2014.

HECK, Fernando Mendonça - Uma geografia da degradação do trabalho: o adoecimento dos trabalhadores em frigoríficos. *Revista Percurso*, 5 (1), p. 03-31, 2013.

HECK, FM. - No abate de frangos e suínos: o descarte do trabalho. *Prismas*, 2017.

HEITZMANN, L.G.; BATTISTI, R.; RODRIGUES, A.F.; LESTINGI, J.V.; CAVAZZANA, C.; QUEIROZ, R.D. Osteomielite crônica pós-operatória nos ossos longos – O que sabemos e como conduzir esse problema? *Revista Brasileira de Ortopedia*, p 1-9, 2017.

Huanga, C.-H.; Kuo, J.-M.; Wu, S.-J.; Tsai, H.-T. Isolation and characterization of fish scale collagen from tilapia (*Oreochromis* sp.) by a novel extrusion–hydro-extraction process. *Food Chemistry*; 190, p. 997-1006, 2016.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística < <http://www.ibge.gov.br> > Acesso: maio de 2017.

JOHNSON, K.A.; ROGERS, G.J.; ROE, S.C.; HOWLETT, C.R.; CLAYTON, M.K.; KUSSANO, M.R.; BATALHA, M.O.; MIRANDA, P.S.M - Os desafios de adequação à questão ambiental: diagnóstico, limitações e possibilidades de um frigorífico avícola. In anais: *XXVIII Encontro Nacional de Engenharia de Produção*, Rio de Janeiro, 2008.

KACZMAREK, B.; SIONKOWSKA, A.; SKOPINSKA, W.J. Influence of glycosaminoglycans on the properties of thin films based on chitosan/collagen blends. *Journal Of The Mechanical Behavior Of Biomedical Materials*, 80, p. 189-193, 2018.

LEE, J.-H.; LEE, J. SONG, K.B. Development of a chicken feet protein film containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, 46, p. 208-215, 2015.

LI, X.-Q.; YE, Z.-M.; WANG, J.-B.; FAN, C.-R.; PAN, A.-W.; LI, C.; ZHANG, R.-B. Mucoadhesive buccal films of tramadol for effective pain management Open Access. *Brazilian Journal of Anesthesiology*, 67 (3), p. 231-237, 2017.

LI, Z.R.; WANG, B.; CHI, C.; ZHANG, Q.H., GONG, Y., TANG, J.J.; LUO, H.; DING G. - Isolation and characterization of acid soluble collagens and pepsin soluble collagens from the skin and bone of Spanish mackerel (*Scomberomorous niphonius*). *Food Hydrocolloids*, 31, p. 103 – 113, 2013.

MAHBOOB, Shahid - Isolation and characterization of collagen from fish waste material- skin, scales and fins of *Catla catla* and *Cirrhinus mrigala*. *J Food Sci Technol*, 52 (7), p. 4296 - 4305, 2015.

MARFRIG GROUP. Marfrig Alimentos S/A. *Relações com investidores: Relatório anual*. 2017.

MENDONÇA, F. H. O.; VITORINO, K. M. N.; CARVALHO, J. M. S.; ESPÍRITO SANTO, F. S. - Resíduos Sólidos Gerados em Agroindústrias. In *anais: 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, Joinville, 2003.

MILTHORPE, B.K.; SCHINDHELM, K. Nitrous acid pretreatment of tendon xenografts cross-linked with glutaraldehyde and sterilized with gamma irradiation. *Biomaterials*, 20, p.1003–1015, 1999.

MIRITZ, L.D.; TIMM, L.C.; MARION FILHO, P. J.; COSTA, N.L.; MARCOLIN, J.E.E.; OLIVEIRA, L. M. DE - Gestão de resíduos na cadeia produtiva de carne de frango. In *anais: 4º Fórum Internacional Ecoinovar*, Santa Maria/RS, 2015.

MOON, S.H.; LEE, Y.J.; RHIE, J.W.; SUH, D.S.; OH, D.Y.; LEE, J.H.; KIM, Y.J.; KIM, S.M.; JUN, Y.J. Comparative study of the effectiveness and safety of porcine and bovine

atelocollagen in Asian nasolabial fold correction. *Journal of Plastic Surgery and Hand Surgery*, 49, p. 147–152, 2015.

NOGUEIRA, P. - Nova linha de biocurativos à base de plasma e plaquetas que são capazes de tratar em meses feridas que incomodavam pacientes havia anos. *Revista UNESP Ciência*, p 12-15, 2010.

NOZAKI, A.C. M.; MARQUES, R.F.C.; MANZINE, L.M.; FERREIRA M.; MARCHI, J. Caracterização de intumescimento e degradação de membranas de colágeno visando à aplicação como biomaterial. *In anais: Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais*, 2012.

OECHSLEA, A.M.; AKGÜNA, D.; KRAUSEA, F.; MAIERA, C.; GIBISA, M., KOHLUSB, R.; WEISSA, J. - Microstructure and physical–chemical properties of chicken collagen. *Food Structure* 7, p. 29–37, 2016.

OLIVEIRA, S. H. dos S.; SOARES, M.J. G. O.; ROCHA, P. de S. - Uso de cobertura com colágeno e aloe vera no tratamento de ferida isquêmica: estudo de caso. *Revista Escola Enfermagem USP*, 44 (2), p.346-51, 2010.

OLIVEIRA, M. Si. R. de; FRANZEN, F. de L.; TERRA, N. N. KUBOTA, E. H. - Use of proteolytic enzymes for the production of protein hydrolysates from manually deboned chicken carcasses. *Brazilian Journal of Food Technology*, 18 (3), p. 199-210, 2015.

OLIVEIRA, V.M.; CUNHA, M.N.C. da; NASCIMENTO, T.P. ; ASSIS, C.R.D.; BEZERRA, R. de S.; PORTO, A.L.F. - Collagen: general characteristics and production of bioactive peptides - a review with emphasis on byproducts of fish. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*, 5 (2), p. 56-68, 2017.

PARENTEAU-BAREIL, R.; GAUVIN, R.; BERTHOD, F. Collagen-based biomaterials for tissue engineering applications. *Materials*, 3, p.1863-1887, 2010.

PENG, Y.Y; GLATTAUER, V; RAMSHAW, J.A.M; WERKMEISTER, J.A. Evaluation of the immunogenicity and cell compatibility of avian collagen for biomedical application. *Journal of Biomedical Materials Research*, part. A, 93 (4), p. 1235-1244, 2010.



PIEDRA, S.E.C.; CASTRO, L. A. C.; VENUTOLO, S.A.; CERDAS, C.C.; MADRIGAL, M.R., BAUDRIT J. V.; MORA, V. Z.; CHAVES, M.R. - Membranas de colágeno y quitosano de fuentes alternativas: evaluación para su uso potencial en ingeniería de tejidos. *Tecnología en Marcha, Edición especial Ingeniería de Tejidos*, p. 58-68, 2015.

PRESTES, R.C. - Colágeno e Seus Derivados: Características e Aplicações em Produtos Cárneos. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e Saúde*, 15 (1), p.65-74, 2013.

ROCHA, O. da S.; COSTA, J. R. R.; GONÇALVES, R. da C.; AMORIM, S. M.; GALVÃO, A. K. de L.; SANTOS, F. F. - Performance evaluation of alternative broiler line raised in conventional housing system in the city of Manaus. *Revista Científica Avícola e Suína*, 2, (1), p. 21-26, 2016.

ROMAN, J.A.; SGARBIERI, V.C. - Caracterização físico-química do isolado proteico de soro de leite e gelatina de origem bovina. *Brazilian Journal of Food Technology*, 10 (2), p.137- 143, 2007.

SANTANA, J. C. C.; ARAÚJO, S. A.; ALVES, W. A. L.; BELAN, P. A.; LING, J.-G.; CHEN, J.; LIU, D.-D. Optimization of vacuum cooling treatment of postharvest broccoli using response surface methodology combined with genetic algorithm technique. *COMPUTERS AND ELECTRONICS IN AGRICULTURE*, 144, p. 209-215, 2018.

SARBON, N.M.; BADI, F.; HOWELL, N. K. – Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food Hydrocolloid*, 30 (1), p. 143-151, 2013.

SEIFERT, J. - Collagen hydrolysate and its relationship to joint health and its biological value. *A Scientific Compendium*, 1 (3), p.43-56, Alemanha, 2004.

SILVA A.F.; CRUZ, F.G.G.; RUFINO, J.P.F.; MILLER, W.M.P.; FLOR, N.S.; ASSANTE, R. T. - Fish by-product meal in diets for commercial laying hens. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 39 (3), p. 273-279, 2017.

SILVA, T.F.; PENNA A.L.B. - Chemical characteristics and functional properties of collagen. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 71 (3), p. 530-539, 2012.

SLIMANE, B.E. e SADOK, S. Collagen from Cartilaginous Fish By-Products for a Potential Application in Bioactive Film Composite. *MARINE DRUGS*, 16 (6), artigo: 211, 2018.

SOARES, I. F. DE O.; FAKHOURI, F. M.; GIRALDI, A. L. F. DE M.; BUONTEMPO, R. C. Síntese e caracterização de biofilme de amido plastificado com glicerol ou triacetina. *FOCO* - ano 5 (7), p. 79-97, 2014.

SONG, E.; YEON KIM, S.; CHUN, T.; BYUN, H.J.; LEE, Y.M. Collagen scaffolds derived from a marine source and their biocompatibility. *Biomaterials*, 27, p. 2951–2961, 2006.

SOUZA, I.J.G.S.; PINHEIRO, R.E.E.; RODRIGUES, A.M.D.; JÚNIOR, M. H.K.; PENELUC, T. Condenações não patológicas de carcaças de frangos em um matadouro-frigorífico sob inspeção federal no estado do Piauí. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 10 (1), p. 68-77, 2016.

USDA - U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. *Consumo mundial de carne de frango em 2017*. Disponível em: <http://sna.agr.br/usda-consumo-mundial-de-carne-de-frango-em-2017>. Acessado em março de 2018.

WOOD, A.; OGAWA, M.; PORTIER, R.J.; SCHEXNAYDER, M.; SHIRLEY, M.; LOSSO, J.N. Biochemical properties of alligator (*Alligator mississippiensis*) bone collagen. *Comparative Biochemystre. Physiology. Biochemystre & Molecular Biology*, 151, p.246–249, 2008.

YASIN, H. ; BABJI, A.S.; NORRAKIAH, A.S. Modification of chicken feet gelatin with aqueous sweet basil and lemongrass extract *LWT - Food Science and Technology*, 77, p.72-79, 2017.

ZEN, S. de; ORTELAN; C. B.; BISCALCHIN; IGUMA, R. M. R.; M. D.; SOUZA, B. U.; SCARPELIN, C.; CREVELÁRIO, F.; TUTUI L. G. S.; LIMA, P. S. de; MOURA P. M. de; PRODOXIMO, R. - Frango/CEPEA: Cenário é positivo para 2017, mas setor deve ficar de olho na oferta. *Cepea – USP*, 2017.

ZHANG, Y.; KOUGUCHI, T.; SHIMIZU, K.; SATO, M.; TAKAHATA, Y.; MORIMATSU, F. – Chicken collagen hydrolysate proinflammatory cytokine production in C57BL/6 KOR-ApoEshl mice. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 56 (3), p. 208-10, 2010.

# **ANEXOS**

## ANEXOS

### Anexo I: Trabalhos Publicados

GARDIM, R.B.; ALMEIDA, P.F. de, BORINI, G.B.; SANTANA, J. C. C.. Viabilidades técnica e econômica de biocurativos obtidos a partir de um rejeito da Indústria da Carne. *Anais do XXXVIII Encontro Nacional de Engenharia De Produção*, Maceió, AL, 2018.

GARDIM, R.B.; RIVERA, R.M.F.; VIEIRA JÚNIOR, M., VANALE R. M., NORTE C. Transferência de Tecnologia: estudos de caso na indústria farmacêutica no Brasil. *Anais do XXXVIII Encontro Nacional de Engenharia De Produção*, Maceió, AL, 2018.

GARDIM, R. B.; ALMEIDA, P. F.; GAMARRA CABAJAL, F. M.; BORINI, G. B.; SANTANA, J. C. C.. Otimização da extração do colágeno de pés de frango pela metodologia da superfície de resposta. *In: XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ*, 1, pp. 1-4, São Paulo, 2018.

MIRANDA, A. C.; GARDIM, R. B.; KLEPA, R. B.; SILVA FILHO, S. C.; SANTANA, J. C. C. Biodiesel obtido por óleos de frituras residuais: proposta para redução da emissão de so<sub>2</sub> e redução de casos de internações por doenças respiratórias provenientes deste composto na cidade de São Paulo. *In: XXIV Simpósio Nacional de Engenharia de Produção – SIMPEP*, 1, pp. 1-10, Baurú – SP, 2017.

RODRIGUES, A. M.; GARDIM, R. B.; MIRANDA, A. C.; KLEPA, R. B. Uma abordagem sustentável a partir da eficiência e avaliação do ciclo de vida dos módulos fotovoltaicos. *In: VI SINGEP Simpósio Internacional de Gestão de Projetos, Inovação e Sustentabilidade*, 2017, São Paulo. VI SINGEP, 2017.

ALMEIDA, P. F.; GARDIM, R. B.; BORINI, G. B. ; LANNES, S. C. S., FARIAS, T. M. B.; SANTANA J. C. C. Evaluation of collagen quality from chicken feet using spectroscopy techniques. *In: XXI Simpósio Nacional de Bioprocessos SINAFERM*, Aracaju - SE. 2017.

**Anexo II:****Trabalhos publicados em eventos da UNINOVE**

GARDIM, R.B.; ALMEIDA, P.F. de; BORINI, G.B.; SANTANA, J. C. C. Viabilidades técnica e econômica de biocurativos obtidos a partir de um rejeito da Indústria da Carne. *In XV Encontro de Iniciação Científica e XII Seminário Nacional de Pesquisa*, São Paulo, 2018.

GARDIM, R. B.; ALMEIDA, P. F.; GAMARRA CABAJAL, F. M.; BORINI, G. B.; SANTANA, J. C. C. Otimização da extração do colágeno de pés de frango pela metodologia da superfície de resposta. *In XV Encontro de Iniciação Científica e XII Seminário Nacional de Pesquisa*, São Paulo, 2018.