

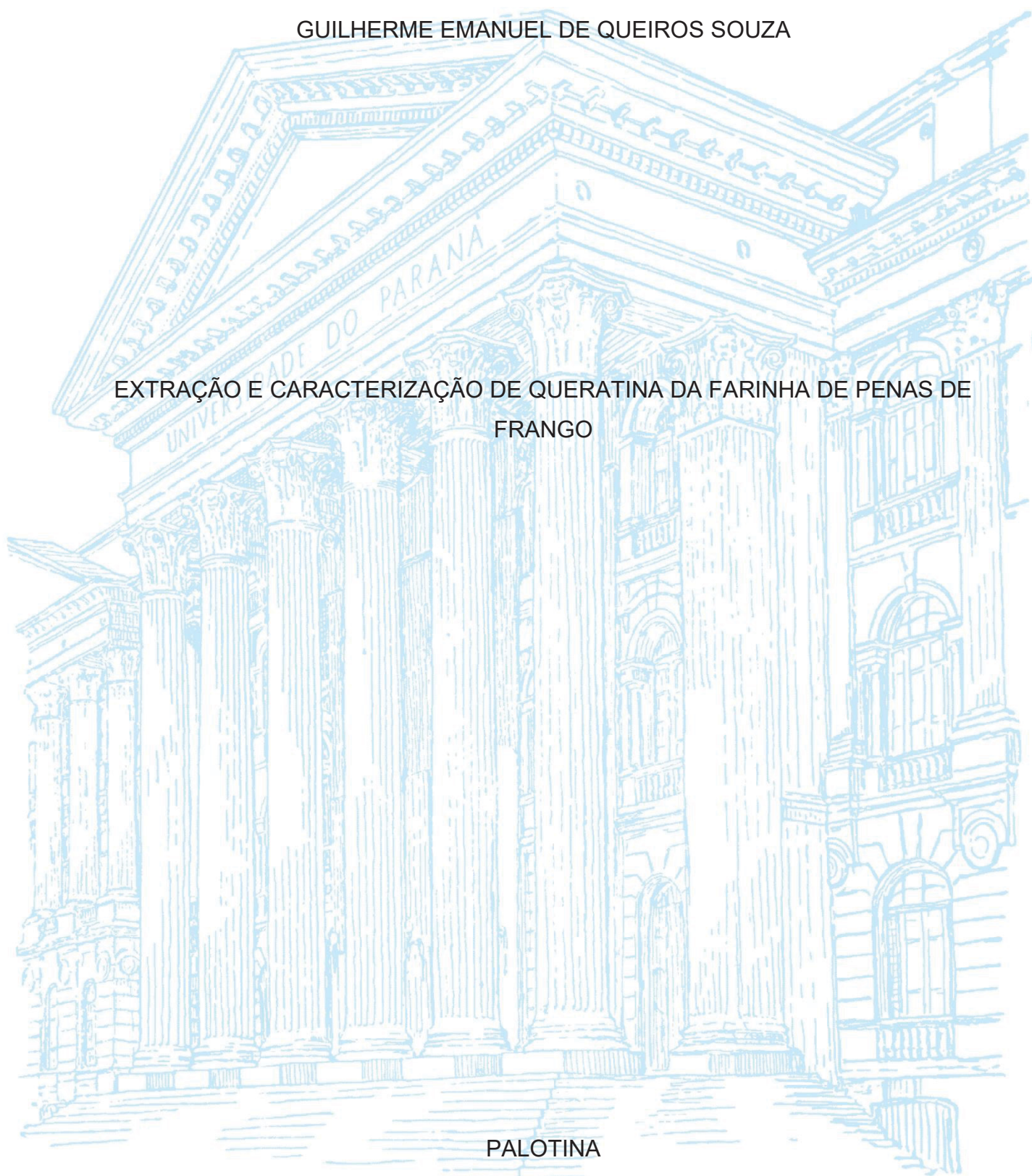
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GUILHERME EMANUEL DE QUEIROS SOUZA

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUERATINA DA FARINHA DE PENAS DE  
FRANGO

PALOTINA

2022



GUILHERME EMANUEL DE QUEIROS SOUZA

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUERATINA DA FARINHA DE PENAS DE  
FRANGO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia Ambiental Setor de Palotina-PR, da Universidade Federal do Paraná, como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Helton José Alves

Coorientador(a): Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Gláucia Regina  
Medeiros Burin

PALOTINA

2022

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.  
Biblioteca UFPR Palotina.

S729 Souza, Guilherme Emanuel de Queiros  
Extração e caracterização de queratina da farinha de  
penas de frango / Guilherme Emanuel de Queiros Souza.  
– Palotina, PR, 2022.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,  
Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação Engenharia  
e Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Helton José Alves.

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Gláucia Regina Medeiros Burin.

1. Hidrólise alcalina. 2. Nanopartículas de queratina.  
3. Subproduto agroindustrial. I. Alves, Helton José.  
II. Medeiros, Gláucia Regina. III Universidade Federal  
do Paraná. IV. Título.

CDU 502



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR PALOTINA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA E  
TECNOLOGIA AMBIENTAL - 40001016173P5

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **GUILHERME EMANUEL DE QUEIROS SOUZA** intitulada: **Extração e caracterização de queratina da farinha de penas de frango**, sob orientação do Prof. Dr. HELTON JOSE ALVES, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Palotina, 03 de Março de 2022.

Assinatura Eletrônica

09/03/2022 00:42:35.0

HELTON JOSE ALVES

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

08/03/2022 09:12:46.0

JOEL GUSTAVO TELEKEN

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

08/03/2022 09:53:04.0

ELIANE HERMES

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

09/03/2022 13:36:39.0

RILTON ALVES DE FREITAS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

RUA PIONEIRO, 2153 - Palotina - Paraná - Brasil

CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8500 - E-mail: ppgeta@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 159939

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 159939



Dedico este trabalho ao meu pai, Sebastião Carlos de Souza.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por estar comigo em todos os momentos.

Aos meus pais, Sebastião e Inês, por todo amor, carinho, educação e incentivo em todos os momentos da minha vida. Aos meus irmãos, Gabriel e Otávio.

Aos meus orientadores, professor Dr. Helton José Alves e Dra. Gláucia Regina Medeiros Burin, pela oportunidade, orientação, dedicação e compreensão em todos os momentos desta caminhada.

Ao técnico de laboratório Lázaro José Gasparrini, pela parceria, apoio e ensinamentos.

Ao Laboratório de Materiais e Energias Renováveis (LABMATER), da Universidade Federal do Paraná (UFPR) - Setor Palotina, que disponibilizou toda infraestrutura e condições necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Nathália Perugini, pelo companheirismo e carinho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia Ambiental (PPGETA) - UFPR/UNIOESTE/EMBRAPA, pela oportunidade e apoio para a realização deste trabalho. Aos professores do PPGETA, pelos ensinamentos repassados.

Aos professores Rilton, Joel e Eliane, pelas contribuições e enriquecimento do trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O avanço na avicultura industrial trouxe consigo um aumento na geração de resíduos, como penas, cascas de ovos, carcaças, sangue e águas residuais. Estima-se que são globalmente produzidas mais de 8,5 milhões de toneladas de penas anualmente como subprodutos desse setor. O descarte inadequado desse resíduo contribui para problemas ambientais e transmissão de doenças, no entanto, as penas das aves são constituídas por aproximadamente 91% (em peso) da proteína queratina. Portanto, do ponto de vista econômico e ambiental, é desejável desenvolver processos eficazes de extração de queratina das penas de aves. Sendo assim, este trabalho apresenta um método de extração de queratina inovador, visto que utiliza a farinha das penas de frango para a obtenção da proteína, diferentemente dos métodos convencionais que realizam o processo de extração direto das penas, tornando o processo de extração, portanto, ainda mais rápido. A queratina foi obtida por um processo de extração alcalina, alcançando um rendimento de extração de 20% em temperatura de 15 °C, concentração de NaOH de 2 M e tempo de extração de 90 min. Adicionalmente, com o intuito de despolimerizar a proteína, realizou-se um processo de choque térmico seguido de moagem. Dessa forma, através das análises de DLS e GPC, foi possível observar partículas com diâmetros entre 5 e 200 nm e massa molar menor que 9 kDa, respectivamente. Além disso, a análise de MET apresentou domínios cristalinos com diâmetros entre 5 e 15 nm. Portanto, este trabalho representa um avanço importante para a indústria avícola e a biomedicina, visto que apresenta uma alternativa em potencial para o reaproveitamento das penas de aves e para a produção de queratina, que pode ser estudada para aplicações em biomateriais.

Palavras-chave: Subproduto agroindustrial. Nanopartículas de queratina. Hidrólise alcalina.  $\beta$ -queratina.

## ABSTRACT

The advance in industrial poultry farming has brought with it an increase in the generation of waste such as feathers, eggshells, carcasses, blood and wastewater. It is estimated that globally more than 8.5 million tons of feathers are produced annually as a by-product of this sector. The disposal of this waste transmission to environmental problems and diseases. However, bird feathers are made up of approximately 91% (by weight) of the protein keratin. Therefore, the set point of environmental cost penalties is the process of developing environmental penalty processes. Therefore, this presents a method of obtaining keratin, a method seen, that is used in a different way, to obtain a method of obtaining different methods so that a method of obtaining different flour is adopted. In this way, the receiving process even faster. Kera was carried out by an aca obtaining process, obtaining a yield of obtaining a concentration of 20% at 15 °C, a temperature of 2 M and a obtaining time of 90 min. Additionally, in order to depolymerize a protein, a thermal shock process was carried out followed by milling. In this way, through the observations, respectively, of DLS and GPC, it was possible to observe with observation between 5 and 200 nm in diameter and molar mass less than 9 kDa. Furthermore, TEM analysis showed crystalline domains with diameters between 5 and 15 nm. Therefore, it represents an alternative and an important advance for the biomedicine industry, since it represents a reuse of feathers and the production of a work alternative for the industry, which can be a potential application for work.

Keywords: Agro-industrial by-product. Keratin nanoparticles. Alkaline hydrolysis. B keratin.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – RANKING E VARIAÇÃO ANUAL DO ABATE DE FRANGOS DAS UNIDADES FEDERATIVAS - 2019/2020 .....	21
FIGURA 2 – PRODUÇÃO MUNDIAL DE CARNE DE FRANGO NO ANO DE 2020 .....	22
FIGURA 3 – EXPORTAÇÕES DE CARNE DE FRANGO POR UNIDADE FEDERATIVA (DO BRASIL) NO ANO DE 2020 .....	23
FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS LIGAÇÕES INTER E INTRAMOLECULARES DA $\alpha$ -QUERATINA, QUE RESULTAM NO AUMENTO DE FORÇA E ESTABILIDADE DA PROTEÍNA .....	26
FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA $\alpha$ -QUERATINA .....	27
FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA $\beta$ -QUERATINA .....	29
FIGURA 7 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DE UMA PENA.....	30
FIGURA 8 – FARINHA DE PENAS HIDROLISADAS – FPH.....	39
FIGURA 9 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA QUERATINA.....	40
FIGURA 10 – A) SOLUÇÃO DE NAOH E FPH APÓS AGITAÇÃO MAGNÉTICA; B) RESÍDUO INSOLÚVEL GERADO NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA QUERATINA.....	41
FIGURA 11 – PI DA QUERATINA HIDROLISADA.....	42
FIGURA 12 – A) SOBRENADANTE (QUERATINA SOLUBILIZADA) APÓS PASSAR PELO PROCESSO DE FILTRAÇÃO A VÁCUO; B) SOLUÇÃO APÓS PRECIPITAÇÃO DA QUERATINA.....	42
FIGURA 13 – QUERATINA RETIDA NO FILTRO DE PAPEL APÓS ETAPA DE FILTRAÇÃO A VÁCUO.....	43
FIGURA 14 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE AMPLIAÇÃO NA ESCALA DE EXTRAÇÃO E DESPOLIMERIZAÇÃO DA QUERATINA.....	49
FIGURA 15 – ETAPA DE EXTRAÇÃO ALCALINA COM AGITAÇÃO MECÂNICA E CONTROLE DE TEMPERATURA PELO BANHO ULTRATERMOSTÁTICO .....	50
FIGURA 16 – FILTRAÇÃO A VÁCUO DO RESÍDUO INSOLÚVEL UTILIZANDO FILTRO DE TECIDO OXFORD.....	51

FIGURA 17 – QUERATINA PRECIPITADA APÓS A ETAPA DE PRECIPITAÇÃO COM HCL 2 M .....	51
FIGURA 18 - A) QUERATINA APÓS PRECIPITAÇÃO; B) QUERATINA APÓS A PRIMERA LAVAGEM; C) QUERATINA APÓS A SEGUNDA LAVAGEM; D) QUERATINA APÓS A TERCEIRA LAVAGEM .....	52
FIGURA 19 – PROCESSO DE CHOQUE TÉRMICO COM NITROGÊNIO LÍQUIDO NA QUERATINA, APÓS SAIR DA ESTUFA .....	53
FIGURA 20 – GRÁFICO DE PARETO PARA TD.....	58
FIGURA 21 – GRÁFICO DE PARETO PARA RQ .....	58
FIGURA 22 – A) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NA TAXA DE DISSOLUBILIDADE. B) GRÁFICO DE CONTORNO MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NA TAXA DE DISSOLUBILIDADE .....	59
FIGURA 23 – A) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NO RENDIMENTO DE QUERATINA. B) GRÁFICO DE CONTORNO MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NO RENDIMENTO DE QUERATINA.....	60
FIGURA 24 – GRÁFICO DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X DAS AMOSTRAS DE FPH, QUERATINA E RESÍDUO .....	62
FIGURA 25 – GRÁFICO DA ANÁLISE ELEMENTAR DAS AMOSTRAS DE FPH, QUERATINA E RESÍDUO .....	64
FIGURA 26 – IMAGENS DE MEV EM DIFERENTES AMPLIAÇÕES. A) QUERATINA; B) RESÍDUO E C) FPH.....	65
FIGURA 27 – GRÁFICO DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO DAS AMOSTRAS DE FPH, QUERATINA E RESÍDUO .....	67
FIGURA 28 – A) ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (ATG) E; B) TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) DAS AMOSTRAS DE QUERATINA E FPH .....	69
FIGURA 29 – A) ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (ATG) E; B) TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) DAS AMOSTRAS DE RESÍDUO E FPH.....	70

FIGURA 30 – GRÁFICO DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X DAS AMOSTRAS QUERATINA .....	71
FIGURA 31 – IMAGENS DE MEV EM DIFERENTES AMPLIAÇÕES DAS AMOSTRAS DE QUERATINA. A) AMOSTRA 6Q; B) AMOSTRA 7Q E C) AMOSTRA 8Q.....	73
FIGURA 32 – IMAGENS DE MEV EM DIFERENTES AMPLIAÇÕES. A) AMOSTRA 13Q, ANTES DA LAVAGEM E B) AMOSTRA 8Q, APÓS A LAVAGEM .....	74
FIGURA 33 – A) ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (ATG) E; B) TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) DAS AMOSTRAS DE QUERATINA .....	76
FIGURA 34 – GRÁFICO DE VOLUME DE ELUIÇÃO PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA .....	77
FIGURA 35 – MORFOLOGIA DAS AMOSTRAS DE QUERATINA EXPLORADAS ATRAVÉS DAS MICROGRAFIAS HRTEM. A) AMOSTRA 6Q; B) AMOSTRA 7Q E C) AMOSTRA 8Q.....	79
FIGURA 36 – DETERMINAÇÃO DO DIÂMETRO HIDRODINÂMICO POR DISPERSÃO DINÂMICA DE LUZ PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA. A) AMOSTRA 6Q; B) AMOSTRA 7Q; C) AMOSTRA 8Q .....	80
FIGURA 37 – GRÁFICO DE PARETO PARA O RQ e TD.....	92
FIGURA 38 – A) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA mostrando O EFEITO da TEMPERATURA E DA CONCENTRAÇÃO NaOH NA TAXA DE DISSOLUBILIDADE. B) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA mostrando O EFEITO dO TEMPO E DA CONCENTRAÇÃO NaOH NA TAXA DE DISSOLUBILIDADE .....	93
FIGURA 39 – A) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA mostrando O EFEITO da TEMPERATURA E DA CONCENTRAÇÃO NaOH NO RENDIMENTO DE QUERATINA. B) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA mostrando O EFEITO dO TEMPO E DA CONCENTRAÇÃO NaOH NO RENDIMENTO DE QUERATINA .....	93
FIGURA 40 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA. A) AMOSTRA 13Q; B) AMOSTRA 15Q E C) AMOSTRA 17Q .....	94

FIGURA 41 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE RESÍDUO. A) AMOSTRA 13R; B) AMOSTRA 15R E C) AMOSTRA 17R .....	94
FIGURA 42 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA A AMOSTRA DE FPH .....	95
FIGURA 43 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA. A) AMOSTRA 6Q; B) AMOSTRA 7Q E C) AMOSTRA 8Q .....	96



## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – APLICAÇÕES DA QUERATINA OBTIDA DAS PENAS DE AVES.....	36
QUADRO 2 – BANDAS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO E OS GRUPOS FUNCIONAIS CARACTERÍSTICOS DA PROTEÍNA .....	66
QUADRO 3 – CARACTERÍSTICAS DAS AMOSTRAS DE QUERATINA – A TEMPERATURA REPRESENTA O VALOR MÁXIMO DO CHOQUE TÉRMICO .....	71

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DE AVES PARA PRODUÇÃO DE PRODUTOS COM VALOR AGREGADO .....	25
TABELA 2 – MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE QUERATINA DE PENAS DE AVES .	33
TABELA 3 – ENSAIOS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	44
TABELA 4 – CONDIÇÕES UTILIZADAS NA ANÁLISE ELEMENTAR .....	48
TABELA 5 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA TD E RQ.....	57
TABELA 6 – RESULTADO DOS TEORES DE UMIDADE, CINZAS E LIPÍDEOS DAS AMOSTRAS DE FPH, QUERATINA, RESÍDUO .....	61
TABELA 7 – ANÁLISE ELEMENTAR DAS AMOSTRAS DE QUERATINA, RESÍDUO E FPH POR.....	17
TABELA 8 – ANÁLISE ELEMENTAR DAS AMOSTRAS DE QUERATINA .....	75
TABELA 9 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL I .....	92

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ABPA	–	Associação Brasileira de Proteína Animal
ATG	–	Análise Termogravimétrica
ATR	–	FTIR - Reflexão Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier
BIOPOL	–	Laboratório de Biopolímeros
DAEU	–	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
DEMa	–	Departamento de Engenharia de Materiais
DLS	–	Espalhamento Dinâmico de Luz ( <i>Dynamic Light Scattering</i> )
DRX	–	Difração de raios X
DTG	–	Termogravimetria Derivada
EDS	–	Espectroscopia por Energia Dispersiva
FI	–	Filamento Intermediário
FPH	–	Farinha de Penas Hidrolisadas
GPC	–	Cromatografia por Permeação em Gel
IBGE	–	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICTAC	–	Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria
LABMATER	–	Laboratório de Materiais e Energias Renováveis
LCE	–	Laboratório de Caracterização Estrutural
LI	–	Líquido Iônico
MET	–	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	–	Microscopia eletrônica de Varredura
PI	–	Ponto Isoelétrico
RQ	–	Rendimento de Queratina
SECEX	–	Secretaria de Comércio Exterior
SIDRA	–	Banco de Tabelas e Estatísticas
TD	–	Taxa de Dissolução
UFSCar	–	Universidade Federal de São Carlos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>20</b>
3.1 PRODUÇÃO AVÍCOLA .....	20
3.1.1 Panorama geral da produção mundial de carne de frango .....	22
3.2 RESÍDUOS PROVENIENTES DA PRODUÇÃO AVÍCOLA .....	23
3.2.1 Problemas relacionados à geração de resíduos na avicultura .....	23
3.2.2 Aproveitamento dos resíduos de penas de aves .....	24
3.3 ESTRUTURA MOLECULAR E PROPRIEDADES MECÂNICAS DA QUERATINA.....	25
3.3.1 $\alpha$ -Queratina .....	27
3.3.2 $\beta$ -Queratina .....	28
3.4 MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE QUERATINA DE PENAS DE AVES .....	30
3.5 APLICAÇÕES DA QUERATINA DE PENAS DE AVES.....	35
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>38</b>
4.1 MATERIAIS – FARINHA DE PENAS HIDROLISADAS .....	38
4.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE QUERATINA A PARTIR DA FPH.....	39
4.2.1 Planejamento composto central 2 <sup>2</sup> - Avaliação do rendimento de queratina e taxa de dissolução .....	44
4.2.2 Cálculo do rendimento de extração de queratina e da taxa de dissolução .....	45
4.3 ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUERATINA, RESÍDUO E FPH .....	45
4.3.1 Determinação dos teores de umidade, cinza e lipídeos das amostras de queratina, resíduo e FPH .....	45
4.3.2 Difração de raios X (DRX) das amostras de queratina, resíduo e FPH .....	46
4.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com o acessório de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) das amostras de queratina, resíduo e FPH.....	46
4.3.4 Reflexão Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR- FTIR) das amostras de queratina, resíduo e FPH .....	47



4.3.5	Análise elementar das amostras de queratina, resíduo e FPH .....	47
4.3.6	Análise Termogravimétrica (ATG) das amostras de queratina, resíduo e FPH	48
4.4	PROCESSO DE AMPLIAÇÃO NA ESCALA DE EXTRAÇÃO E DESPOLIMERIZAÇÃO DA QUERATINA .....	48
4.5	ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUERATINA APÓS DESPOLIMERIZAÇÃO .....	54
4.5.1	Difração de raios X (DRX) das amostras de queratina .....	54
4.5.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das amostras de queratina.....	54
4.5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com o Acessório de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) das amostras de queratina .....	54
4.5.4	Análise Termogravimétrica (ATG) das amostras de queratina .....	55
4.5.5	Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico por Dispersão Dinâmica de Luz ( <i>Dynamic Light Scattering</i> , DLS) das amostras de queratina .....	55
4.5.6	Cromatografia de Exclusão por Tamanho ( <i>Size Exclusion Chromatography</i> - SEC) das amostras de queratina .....	55
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
5.1	RESULTADOS DO PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL 2 <sup>2</sup> .....	57
5.2	ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUERATINA, RESÍDUO E FPH .....	61
5.2.1	Determinação dos teores de umidade, cinzas e lipídeos das amostras de queratina, resíduo e FPH .....	61
5.2.2	Difração de raios X (DRX) das amostras de queratina, resíduo e FPH .....	62
5.2.3	Análise elementar das amostras de queratina, resíduo e FPH .....	63
5.2.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras de queratina, resíduo e FPH.....	64
5.2.5	Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) das amostras de queratina, resíduo e FPH.....	66
5.2.6	Reflexão Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR- FTIR) das amostras de queratina, resíduo e FPH .....	66
5.2.7	Análise Termogravimétrica (ATG) e Termogravimetria Derivada (DTG) das amostras de queratina, resíduo e FPH.....	68
5.2.8	ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUERATINA, APÓS DESPOLIMERIZAÇÃO .....	71
5.2.9	Difração de raios X (DRX) das amostras de queratina .....	71

5.2.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com o Acessório de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) das amostras de queratina .....	72
5.2.11 Análise Termogravimétrica (ATG) e Termogravimetria Derivada (DTG) das amostras de queratina .....	75
5.2.12 Cromatografia por Permeação em Gel (GPC) das amostras de queratina ....	76
5.2.13 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das amostras de queratina...	77
5.2.14 Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico por Dispersão Dinâmica de Luz ( <i>Dynamic Light Scattering, DLS</i> ) das amostras de queratina .....	80
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>82</b>
<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....	<b>83</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>84</b>
<b>APÊNDICE 1 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL I</b> .....	<b>92</b>
<b>APÊNDICE 2 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA, RESÍDUO E FPH</b> .....	<b>94</b>
<b>APÊNDICE 3 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA</b> .....	<b>96</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Um dos maiores setores da indústria alimentícia do mundo é a avicultura (CHOWDHURY; MOREY, 2019). Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (2021), a produção mundial de carne de frango em 2020 foi de aproximadamente 100,4 milhões de toneladas (USDA, 2021).

A indústria avícola produz em escala global cerca de 68 milhões de toneladas de resíduos por ano (penas, cascas de ovos, carcaças, sangue e águas residuais) (MCGAURAN *et al.*, 2021). Dessa forma, os principais problemas enfrentados por esse setor estão relacionados às questões ambientais e ao gerenciamento de resíduos. Tais problemas podem ser minimizados com uma gestão ambiental correta, pois, além de melhorar o desenvolvimento da atividade, aumentará sua lucratividade (KARUPPANNAN *et al.*, 2021).

A avicultura gera aproximadamente 8,5 milhões de toneladas de resíduos de pena anualmente em todo o mundo (YADAV; KHOSLA, 2021). Devido à grande variedade de microrganismos em sua composição, incluindo patógenos, as penas devem ser tratadas rapidamente (SINKIEWICZ *et al.*, 2017), tendo em vista que o descarte inadequado desse material contribui para problemas ambientais e de transmissão de doenças (TESFAYE *et al.*, 2017). Atualmente, o método mais comum para o reaproveitamento das penas é a produção de farinha de penas hidrolisadas (FPH), que é utilizada para produção de ração animal. Segundo Bellaver (2002), a FPH pode ser definida como um produto resultante da cocção, sob pressão, de penas limpas e não decompostas (podendo conter sangue, desde que não altere significativamente sua composição), obtidas no abate de aves.

As penas das aves são constituídas por aproximadamente 91% (em peso) da proteína queratina, que apresenta características como alta estabilidade e baixa taxa de degradação (OUAKARROUCH *et al.*, 2020). A queratina pertence à família dos filamentos intermediários, sendo encontrada em lã, cabelos, unhas, cascos, penas e chifres de mamíferos, aves e répteis. Essa proteína pode ser classificada em dois tipos de conformações:  $\alpha$ -queratina e  $\beta$ -queratina. A  $\alpha$ -queratina é o principal componente de lã, cabelos, unhas, chifres e cascos. Já a  $\beta$ -queratina constitui principalmente as penas, os bicos de aves, as garras e as escamas de répteis (POURJAVAHARI *et al.*, 2019).

Podem ser encontrados 14 tipos de aminoácidos na composição da queratina, sendo a cisteína o aminoácido principal (2% a 18% em peso), cuja presença resulta no aumento de força e resistência, dificultando a ação de enzimas proteolíticas. Além disso, esse aminoácido apresenta propriedades hidrofóbicas, resultando na insolubilidade em solventes polares ou apolares. Sendo assim, a dissolução da queratina pode ser alcançada através da quebra das ligações dissulfeto e de hidrogênio, podendo esse processo ser realizado através da hidrólise (alcalina ou ácida), combinação de tratamentos enzimáticos ou tratamentos químicos (SHI; DUMONT, 2014).

De acordo com Ji *et al.* (2014), a queratina possui uma estrutura molecular única e arranjos cristalinos, tornando esse polímero uma ótima alternativa para aplicações biomédicas como transporte de fármacos, cicatrização de feridas e engenharia de tecidos (FEROZ *et al.*, 2020; MCLELLAN *et al.*, 2019). Dessa forma, do ponto de vista econômico e ambiental, é desejável desenvolver processos eficazes de extração de queratina das penas de aves. Dentre os métodos mais comuns de extração da queratina, destacam-se os métodos de redução, oxidação, explosão a vapor, líquidos iônicos e extração alcalina (HOLKAR *et al.*, 2018).

No entanto, ainda há escassez de informações a respeito dos métodos de extração de queratina das penas de aves. Com toda essa disponibilidade de resíduos de penas, ainda é necessário desenvolver métodos de extração de queratina que sejam mais ecológicos, econômicos e menos demorados, e que visem a produção em maior escala, facilitando assim a comercialização desse material. Além disso, parte dos estudos encontrados na literatura estão voltados para a extração de queratina diretamente das penas das aves, tornando o processo ainda mais demorado devido às etapas de pré-tratamento das penas.

Portanto, este trabalho visa extrair queratina da farinha de penas de frango, pois esse subproduto avícola já se encontra na rota comercial para produção de ração animal, tornando o processo de extração ainda mais rápido. Utilizou-se o método de hidrólise alcalina para solubilizar a proteína, pois essa técnica apresenta maiores facilidades para controlar as variáveis envolvidas no processo (temperatura, tempo e concentração de NaOH), tornando possível melhorar o rendimento de extração de queratina das penas das aves. Ademais, realizou-se um processo de choque térmico seguido de moagem para avaliar o efeito de despolimerização da proteína.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o processo de extração da queratina da farinha das penas de frango.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Propor um método alternativo para aproveitamento das penas de frango, utilizando-as para extração de queratina;
- b) Estudar o potencial da farinha de penas de frango para extração de queratina;
- c) Otimizar o processo de extração de queratina da farinha de penas de frango por hidrólise alcalina, avaliando a concentração de solução, temperatura e tempo de extração, bem como as propriedades físico-químicas dos materiais extraídos;
- d) Caracterização das amostras de queratina por DRX, MEV, ATR-FTIR, Análise Elementar, ATG, MET e GPC;
- e) Avaliar o processo de choque térmico, seguido de moagem na despolimerização da queratina.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 PRODUÇÃO AVÍCOLA

A avicultura no Brasil iniciou com pequenos produtores familiares que trabalham até hoje em diversas regiões do país. No início, a geração de renda dessas propriedades era proveniente da criação de animais rústicos, também conhecidos como “caipiras”, destacando-se a produção de aves e as outras atividades como produção de ovos, leite, carne bovina e suína (ZEN *et al.*, 2014).

De acordo com Govoni *et al.* (2021), a avicultura fornece uma ampla variedade de sistemas de produção e fornece subprodutos como carne, ovos e esterco para fertilização. Além disso, essa atividade pode ser desenvolvida por pequenos e grandes produtores, gerando mais renda e consequentemente melhorando o nível social.

Desde a primeira década do século XXI, é possível observar a evolução da avicultura industrial no país. Esse processo está relacionado ao movimento rural que é influenciado diretamente pelas demandas comerciais e produtivas. Com o mercado cada vez mais competitivo e com a necessidade de aumentar a produtividade e lucratividade, a avicultura vem passando por constantes inovações tecnológicas (DIANE BELUSSO; ANTONIO NIVALDO HESPANHOL, 2010).

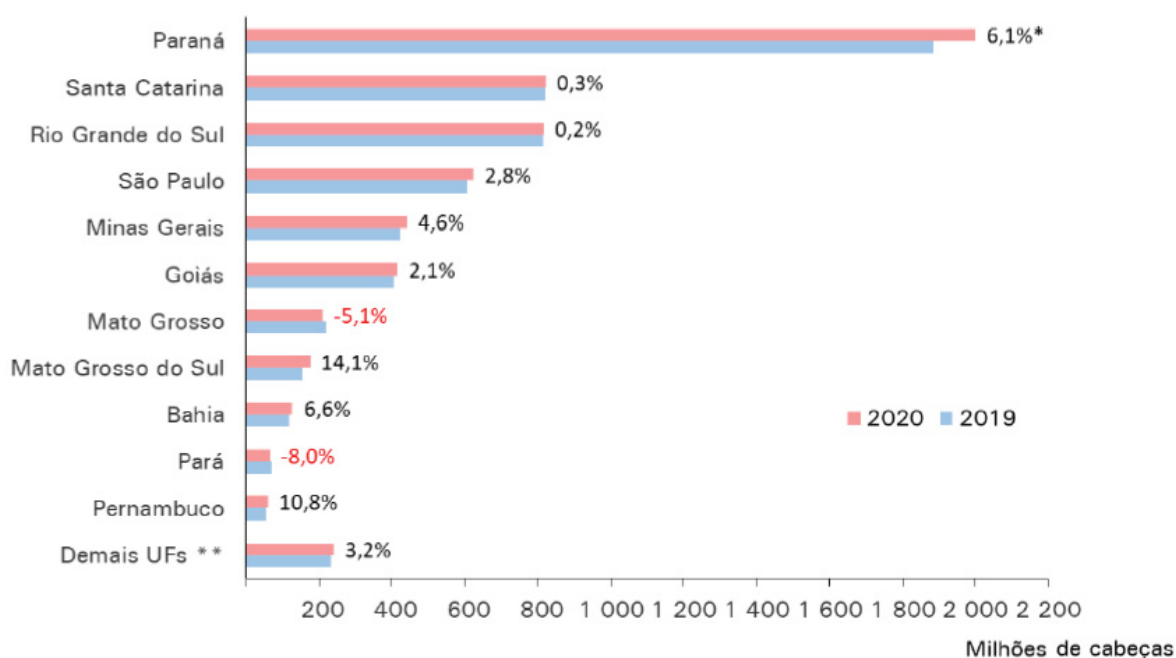
Segundo Oliveira *et al.* (2012), o uso dessas inovações tecnológicas tem sido um dos principais responsáveis pelo destaque do Brasil na produção de frangos de corte. No ano de 1930, o frango de corte pesava em média 1,5 kg e idade de abate em torno de 105 dias. Com a evolução avícola, no ano de 2009, o frango de corte pesava em média 2,06 kg, com taxa de conversão alimentar de 1,83 kg e idade de abate de 45 dias (OLIVEIRA *et al.*, 2012; PATRICIO *et al.*, 2012). Segundo os dados apresentados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no 4º trimestre (outubro, novembro e dezembro) de 2020, o frango de corte pesou em média 2,30 kg e idade de abate próxima a 45 dias (IBGE, 2020).

No Brasil, no ano de 2020, foram abatidas 6,0 bilhões de cabeças de frango, que correspondem a um aumento de 3,3% em relação ao ano anterior (5,84 bilhões em 2019), sendo esse o maior resultado alcançado da série histórica iniciada em 1997 (IBGE, 2020). Nesse contexto, a região do país que mais se destacou no abate de frangos foi a Região Sul, que respondeu por 60,7% dessa produção, seguida pelas

Regiões Sudeste (19,3%), Centro-Oeste (14,1%), Nordeste (4,2%) e pela Região Norte (1,7%) (IBGE, 2020). Segundo Zen *et al.* (2014), o Sul do país é umas das regiões mais tradicionais na produção avícola, com destaque para a presença de cooperativas que apoiam e auxiliam a organização dos produtores.

Na região Sul, no ano de 2020, foram abatidas cerca de 190,83 milhões de cabeças de frango a mais que em 2019. Nesse contexto, o Paraná liderou o *ranking* das unidades federativas no abate de frangos em 2020, sendo responsável por 33,4% da participação nacional, seguido por Santa Catarina, com 13,7%, e Rio Grande do Sul com 13,6%. A Figura 1 apresenta o *ranking* e a variação anual no abate de frangos das unidades federativas nos anos de 2019 e 2020 (IBGE, 2020).

FIGURA 1 – RANKING E VARIAÇÃO ANUAL DO ABATE DE FRANGOS DAS UNIDADES FEDERATIVAS - 2019/2020



FONTE: IBGE (2020).

LEGENDA: \*VARIAÇÃO 2020/2019. \*\*AGREGADO DAS UNIDADES DA FEDERAÇÃO COM PARTICIPAÇÃO INFERIOR A 1% DO TOTAL NACIONAL.

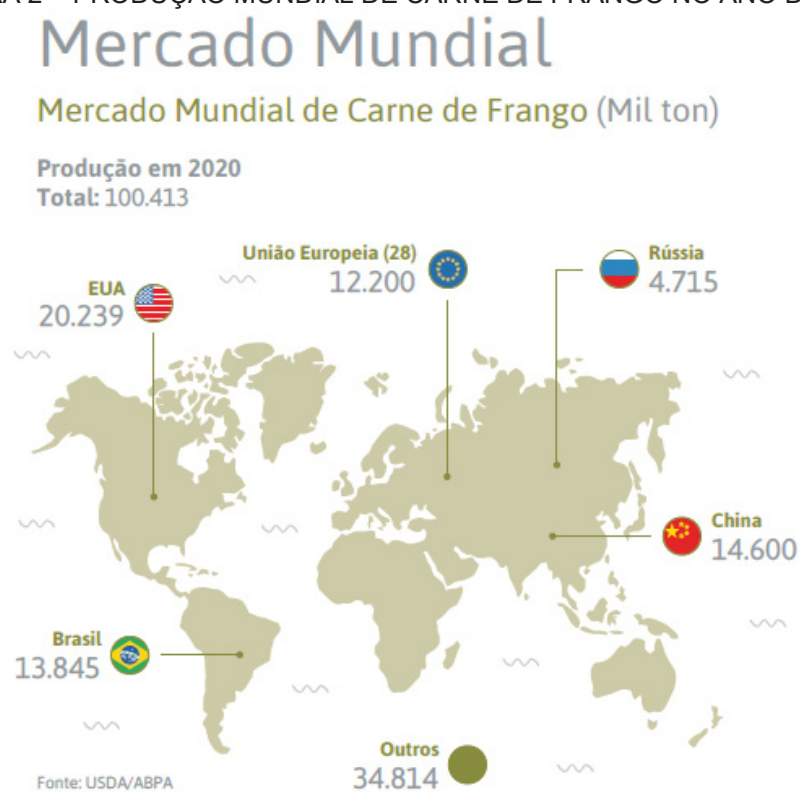
As penas das aves constituem cerca de 7% do peso corporal dos frangos (FAGBEMI; SITHOLE; TESFAYE, 2020). Segundo o Banco de Tabelas e Estatísticas (SIDRA) do IBGE, no primeiro trimestre de 2021, o peso médio do frango abatido no Brasil foi de aproximadamente 2,30 kg. Dessa forma, a quantidade estimada de resíduos de penas de frango gerada no ano de 2020 pela indústria avícola no Brasil é cerca de 966 mil toneladas (IBGE, 2021).



### 3.1.1 Panorama geral da produção mundial de carne de frango

Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (DAEU), no ano de 2020, o Brasil foi o terceiro maior produtor mundial de carne de frango, com produção estimada de 13,8 milhões de toneladas. Quem liderou a produção mundial foram os Estados Unidos, com cerca de 20,2 milhões de toneladas. A China apareceu, conforme Figura 2, em segundo lugar, com produção aproximada de 14,6 milhões de toneladas (USDA, 2021).

FIGURA 2 – PRODUÇÃO MUNDIAL DE CARNE DE FRANGO NO ANO DE 2020



FONTE: Adaptado de ABPA (2020).

Segundo o levantamento realizado pela Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), em 2020, 69% da produção brasileira de carne de frango foi comercializada internamente e 31% destinada às exportações. Mesmo não sendo o maior produtor mundial em 2020, o Brasil ficou em primeiro lugar no *ranking* mundial de exportação de carne de frango, enviando para outros países cerca de 4,2 milhões de toneladas, seguido dos Estados Unidos (3,3 milhões de toneladas) e União Europeia (1,4 milhões de toneladas) (ABPA,2020).

No ano de 2020, o país que mais importou carne de frango do Brasil foi a China. Esse país foi responsável por importar cerca de 673,2 mil toneladas, o que representa 16,3% do volume total das exportações brasileiras. Seguindo o *ranking* dos países que mais importaram carne de frango do Brasil, encontra-se a Arábia Saudita com 467,5 mil toneladas (11,3%) e Japão com 410,5 mil toneladas (9,9%) (ABPA, 2020).

Nesse contexto, a unidade federativa que mais exportou frango em 2020 foi o Paraná, responsável por 40,19% de toda exportação nacional, seguido por Santa Catarina, com 23,39%, e Rio Grande do Sul com 16,45%, conforme Figura 3. Em relação às exportações da Unidade da Receita Federal, o Porto de Paranaguá teve maior participação, exportando cerca de 42,33%, seguido pelo Porto de Itajaí, com 35,50%, e Porto de Santos com 8,25% (ABPA, 2020).

FIGURA 3 – EXPORTAÇÕES DE CARNE DE FRANGO POR UNIDADE FEDERATIVA (DO BRASIL) NO ANO DE 2020



FONTE: Adaptado de ABPA (2020).

## 3.2 RESÍDUOS PROVENIENTES DA PRODUÇÃO AVÍCOLA

### 3.2.1 Problemas relacionados à geração de resíduos na avicultura

Segundo Blake e Donald (1992), a indústria avícola deve buscar esforços para minimizar os impactos que ela causa ao meio ambiente, visto que seu crescimento

corroborar com o aumento do volume de resíduos gerados. Estima-se que são globalmente produzidas mais de 8,5 milhões de toneladas de penas anualmente como subproduto da indústria avícola (YADAV; KHOSLA, 2021). Devido aos avanços desse setor, e conseqüentemente o aumento da produção, têm sido gerado grandes volumes de resíduos sólidos como excreta, ração, penas, resíduos de incubação e resíduos de mortalidade, que são incinerados ou descartados em aterros. No entanto, esses processos possuem desvantagens, como produção de poluentes, odores e custos significativos (BLAKE, 2004; KARUPPANNAN *et al.*, 2021).

Um dos principais problemas enfrentados pelo produtor de aves está relacionado ao descarte das carcaças das aves que podem ser enterradas, incineradas, compostadas ou processadas (BLAKE, 2004; BLAKE; DONALD, 1992). O gerenciamento incorreto dos produtos residuais dos abatedouros pode ocasionar a geração de doenças nas aves, resultando em perdas diretas na mortalidade e produtividade. Sendo assim, o descarte adequado e antecipado do resíduo, atrelado a uma estrutura organizada e um gerenciamento correto dos produtos residuais, pode tornar a atividade avícola mais produtiva e gerar menos doenças (KARUPPANNAN *et al.*, 2021).

### 3.2.2 Aproveitamento dos resíduos de penas de aves

A indústria avícola não se limita apenas ao abate e processamento das aves, ela envolve todo o processo de criação e cuidado do animal até chegar no estágio de abate. Durante esse processo, uma quantidade significativa de resíduos é gerada, podendo ser observada na forma de cama de frango, penas, cascas de ovos, dejetos e aves mortas. Dessa forma, o gerenciamento dos resíduos em todas as etapas de crescimento das aves é muito importante, pois grande parte desse material pode ser reutilizada, diminuindo os impactos causados ao meio ambiente (KARUPPANNAN *et al.*, 2021). A Tabela 1 apresenta algumas alternativas para o reaproveitamento desse material.

TABELA 1 – REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS DE AVES PARA PRODUÇÃO DE PRODUTOS COM VALOR AGREGADO

Subproduto avícola	Proteína (% mássico)	Usos
Penas	85-99	Farinha para ração animal e biofertilizante
Sangue	60-80	Farinha para ração animal
Ossos	23-24	Farinha para ração animal
Vísceras	11-12	Aproveitadas na graxaria
Pele de galinha	17-20	Farinha para ração animal
Miudezas (cabeça, pés, vísceras contaminadas)	12-15	Farinha para ração animal

FONTE: Adaptado de KARUPPANNAN *et al.* (2021); BRANDELLI, SALA, E KALIL (2015).

As penas das aves contêm um alto teor de proteínas: cerca de 91% da massa (em base seca) das penas são representadas por queratina (CALLEGARO; BRANDELLI; DAROIT, 2019). Tais propriedades tornam as penas mais resistentes termicamente e mecanicamente, além de melhorar sua hidrofobicidade (DOU *et al.*, 2014; MARIA MARTELLI *et al.*, 2006).

Os métodos mais utilizados para reaproveitamento dos resíduos avícolas estão ligados às origens agrícolas das próprias matérias-primas. Os métodos mais comuns e tradicionais estão relacionados à produção de ração animal ou fertilizantes (JAYATHILAKAN *et al.*, 2012). Quando gerenciadas da forma correta, as penas das aves podem ser benéficas para diversas aplicações, além das convencionais. A queratina pode ser utilizada no desenvolvimento de adesivos para madeira (ADHIKARI; CHAE; BRESSLER, 2018) e na produção de biomateriais (FEROZ *et al.*, 2020), biofertilizantes (REDDY, 2015) e ração animal (BRANDELLI; SALA; KALIL, 2015).

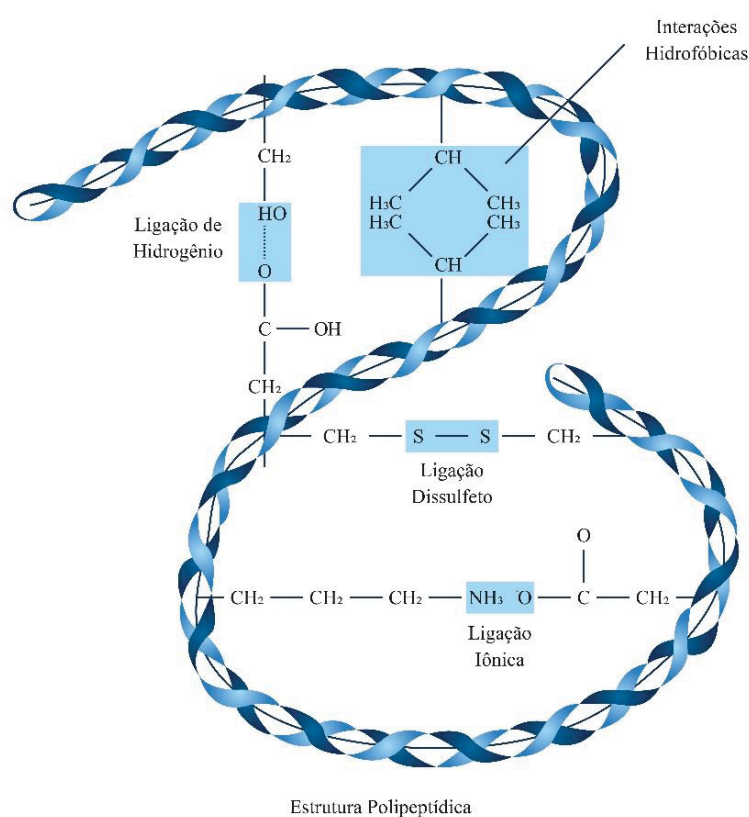
### 3.3 ESTRUTURA MOLECULAR E PROPRIEDADES MECÂNICAS DA QUERATINA

Os materiais à base de queratina vêm ganhando cada vez mais destaque na área dos biomateriais, no entanto, ainda existem poucos estudos voltados para as características biológicas e estruturais dessa proteína (WANG *et al.*, 2016). A queratina é uma proteína fibrosa rica em cisteína e pode ser classificada também como um filamento intermediário, estando presente em penas de aves, lã, cabelo e no chifre de animais (FEROZ *et al.*, 2020). A organização estrutural e a montagem hierárquica dessa proteína pode variar entre os diferentes tipos de organismos,

resultando assim em diversas estruturas e funções diferentes, incluindo mobilidade, impermeabilização, proteção e integridade estrutural (MCLELLAN *et al.*, 2019).

A estrutura da queratina é constituída por uma cadeia polipeptídica de diferentes aminoácidos interligados por ligações dissulfeto, hidrogênio e iônicas. Essas ligações são responsáveis por aumentarem a estabilidade e a força estrutural da queratina, conforme pode ser visualizado na Figura 4.

FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS LIGAÇÕES INTER E INTRAMOLECULARES DA  $\alpha$ -QUERATINA, QUE RESULTAM NO AUMENTO DE FORÇA E ESTABILIDADE DA PROTEÍNA



FONTE: O autor (2022).

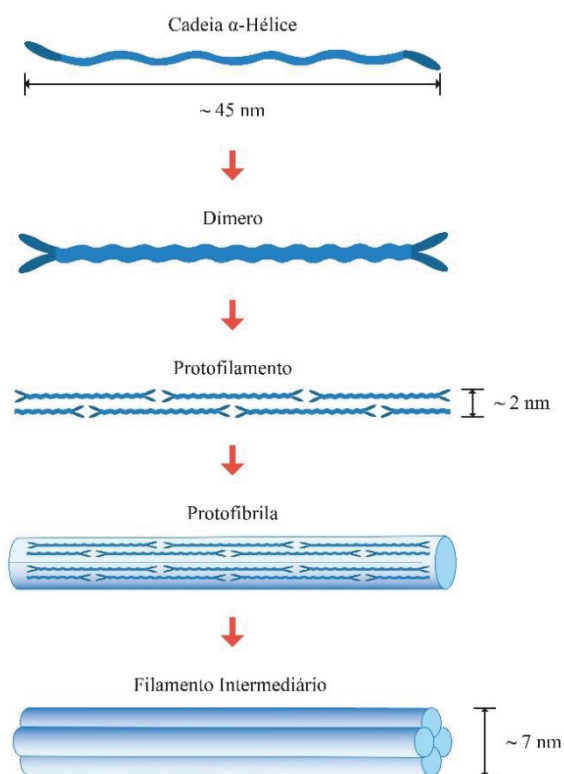
A queratina pode ser classificada de acordo com duas principais estruturas de suporte interno, a  $\alpha$ -queratina e a  $\beta$ -queratina (WANG *et al.*, 2016). Na  $\alpha$ -queratina, as cadeias polipeptídicas são organizadas em  $\alpha$ -hélice; já na  $\beta$ -queratina, as cadeias são constituídas por folhas  $\beta$ -pregueadas (FEROZ *et al.*, 2020).

### 3.3.1 $\alpha$ -Queratina

De acordo com Feroz *et al.* (2020), são produzidas mais de 2,5 milhões de toneladas de lã anualmente. Além disso, ela vem sendo estudada como o principal material constituído de  $\alpha$ -queratina. A queratina da lã é composta por aproximadamente 95% de proteína, 0,5% de minerais e 0,1% de vestígio de lipídeos (SHAVANDI *et al.*, 2017).

A estrutura da  $\alpha$ -queratina é organizada de forma hierárquica em dímeros, protofilamentos, protofibrilas e filamentos intermediários. A associação de duas  $\alpha$ -hélices individuais em antiparalelo formam dímeros em bobinas enroladas, com ligações cruzadas de enxofre estabilizadas por interações iônicas. Em seguida, acontece o empacotamento dessas bobinas para a formação de protofilamentos, que possuem terminais N e C não helicoidais e são ricos em resíduos de cisteína (MCKITTRICK *et al.*, 2012; MCLELLAN *et al.*, 2019). A organização das  $\alpha$ -queratinas pode ser observada na Figura 5.

FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA  $\alpha$ -QUERATINA



FONTE: O autor (2022).

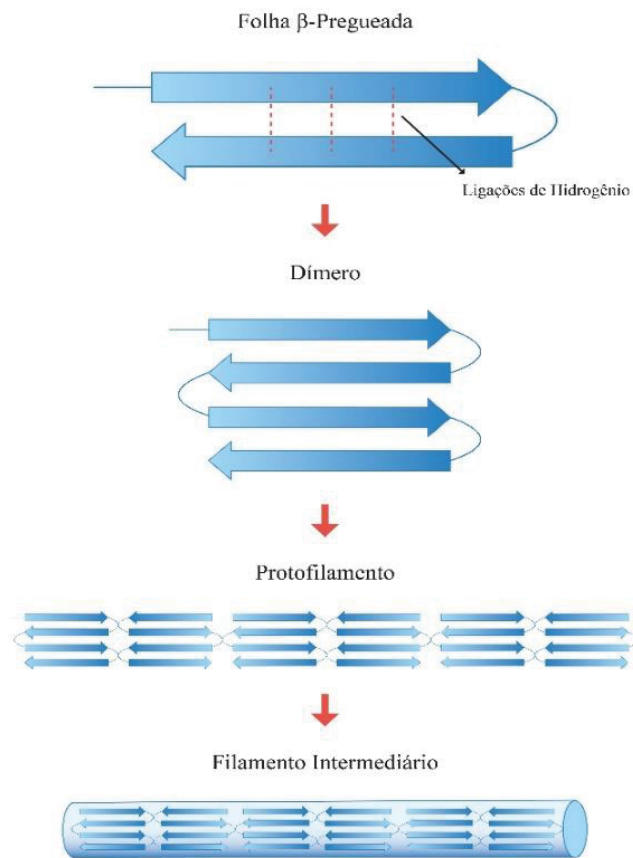
Os protofilamentos se polimerizam para formar uma unidade estrutural básica denominada de filamento intermediário (FI), o qual é constituído pela associação de quatro protofibrilas de maneira helicoidal. Além disso, ele possui 7 nm de diâmetro e 10 nm de espaçamento (MCKITTRICK *et al.*, 2012). Esses FI são circundados por uma matriz de queratina amorfa, constituindo, assim, as unidades estruturais básicas da queratina (FEROZ *et al.*, 2020).

### 3.3.2 $\beta$ -Queratina

A  $\beta$ -queratina é formada por uma folha  $\beta$ -pregueada composta por filamentos empacotados lateralmente, que podem ser paralelos ou antiparalelos. As cadeias se conectam por ligações intermoleculares de hidrogênio, como pode ser observado na Figura 6 (WANG *et al.*, 2016).

Um filamento  $\beta$ -queratina, que possui de 3 a 4 nm de diâmetro, é formado, conforme demonstrado na Figura 6. (FEROZ *et al.*, 2020). Primeiro, a parte central da cadeia polipeptídica se dobra para formar quatro fitas beta laterais; depois elas se ligam por ligações de hidrogênio, que resultam em uma folha pregueada; e em seguida, duas dessas folhas se sobrepõem em direções opostas, formando um filamento  $\beta$ -queratina. Dessa forma, a queratina pode ser considerada um polímero com filamentos cristalinos embutidos em uma matriz amorfa (WANG *et al.*, 2016).



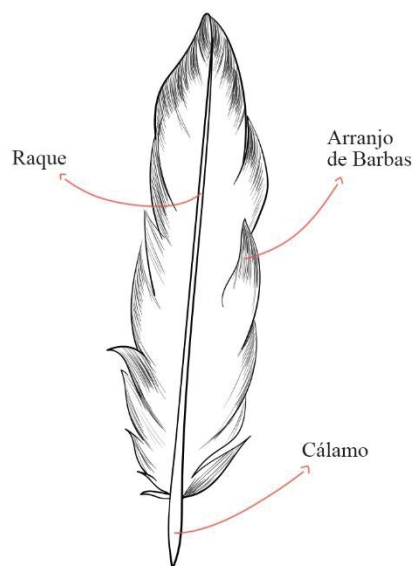
FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA  $\beta$ -QUERATINA

FONTE: O autor (2022).

Portanto, as  $\beta$ -queratinas de pena podem ser compreendidas como proteínas fibrosas constituídas de quatro unidades repetidas de duas folhas  $\beta$ , formando uma estrutura helicoidal. Essa estrutura é cercada por uma matriz que compõe o arranjo filamento-matriz, como pode ser visualizado na Figura 7, que apresenta a estrutura das penas (GREENWOLD; SAWYER, 2010).



FIGURA 7 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DE UMA PENA



FONTE: O autor (2022).

### 3.4 MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE QUERATINA DE PENAS DE AVES

Segundo Ji *et al.* (2014), devido à estrutura molecular única e aos arranjos cristalinos da queratina, essa proteína possui diversas aplicações nos campos dos biomateriais, por isso, do ponto de vista econômico e ambiental, é desejável desenvolver processos eficazes de extração de queratina das penas de aves. Os métodos mais utilizados para sua extração são: redução, explosão a vapor, líquidos iônicos e extração alcalina (FEROZ *et al.*, 2020; HOLKAR *et al.*, 2018).

As extrações de queratina, utilizando-se agentes redutores, geralmente são mais utilizadas do que os processos de oxidação por serem mais rápidas e eficientes. Além disso, essa técnica tem sido muito relatada para reduzir as ligações dissulfeto presentes na cadeia polipeptídica da queratina. Um tipo muito comum de extração por redução é o uso de uma mistura de 2-mercaptoetanol ( $C_2H_6OS$ ) e ureia ( $CH_4N_2O$ ) (SCHROOYEN *et al.*, 2001a, b).

O método de explosão a vapor é um processo físico em que um vapor com alta pressão e temperatura é descarregado em um sistema fechado contendo o material a ser tratado. Essa metodologia tem sido muito utilizada para obtenção de materiais de base biológica. Nesse processo, o material é exposto a vapor de alta temperatura por um curto período, que penetra nos tecidos e nas células do material, ocorrendo uma

rápida descompressão em uma reação de milissegundos (HOLKAR *et al.*, 2018; SHAVANDI *et al.*, 2017).

Segundo LEI *et al.* (2017), os líquidos iônicos (LI's) podem ser definidos como compostos formados por íons com baixo ponto de fusão (abaixo de 100 °C). Além disso, esse sal orgânico tem chamado atenção por ser um solvente ecologicamente correto e seguro (JI *et al.*, 2014). Esses líquidos possuem algumas propriedades físico-químicas particulares, como alta pressão de vapor, estabilidade térmica e ampla faixa de líquido. Ademais, os LI's podem ser facilmente modificados, alterando-se as estruturas dos cátions ou ânions (WANG and CAO, 2012). Devido a essas propriedades, e por serem reconhecidos como solventes verdes, os LI's têm sido amplamente utilizados para diversos tipos de extração, no entanto, possuem um custo elevado, resultando na restrição do seu uso no processo de extração industrial da queratina (CHAITANYA REDDY *et al.*, 2021).

De acordo com Zhang, Zhao e Yang (2015), as soluções alcalinas vêm sendo estudadas para extrair proteínas de subprodutos agroindustriais devido a sua capacidade de romper o hidrogênio dos grupos carboxílicos e dissociar o sulfato da proteína, facilitando a solubilização da queratina; porém, nesse processo, podem ocorrer danos nas cadeias peptídicas (ZHANG; ZHAO; YANG, 2015). O rendimento da hidrólise alcalina depende de alguns fatores como o pH, a concentração e os tipos dos ácidos e bases utilizados, além da temperatura e do tempo de reação. A solubilidade e a estabilidade dos materiais hidrolisados dependem do grau de degradação das proteínas (SINKIEWICZ *et al.*, 2017).

Os resultados de extração que serão apresentados foram posteriormente padronizados para melhorar a compreensão e interpretação dos dados entre os trabalhos. De acordo com JI *et al.* (2014) e Zhang (2015), o rendimento de queratina (RQ) pode ser expresso como a massa da queratina dividida pela massa inicial da amostra. Dessa forma, o RQ pode ser determinado utilizando-se a Equação 1 a seguir:

$$RQ = \frac{m_{\text{queratina}}}{m_{\text{penas}}} \times 100 \quad (1)$$

onde:

$m_{\text{queratina}}$  = a massa de queratina seca (g)

$m_{\text{penas}}$  = a massa inicial de penas (g)

Segundo JI *et al.* (2014), a taxa de dissolução (TD) pode ser expressa como a massa inicial da amostra, menos a massa de resíduo não dissolvido (fibras, gordura e minerais), dividido pela massa inicial da amostra. Dessa forma, a TD pode ser determinada utilizando-se a Equação 2 a seguir:

$$TD = \frac{(m_{\text{penas}} - m_{\text{resíduo}})}{m_{\text{penas}}} \times 100 \quad (2)$$

onde:

$m_{\text{resíduo}}$  = a massa de resíduo seco (g).

A queratina das penas envolve uma série de interações não covalentes (forças eletrostáticas, ligações de hidrogênio e forças hidrofóbicas) e interações covalentes (ligações dissulfeto), que devem ser rompidas para ocorrer a dissolução das penas para extração da queratina (WANG, Yun-Xian; CAO, 2012). No entanto, esse processo não é fácil, por isso as pesquisas concentram-se mais na obtenção dessa proteína através de materiais ricos em  $\alpha$ -queratina (lã e cabelo humano) do que em materiais ricos em  $\beta$ -queratina (penas de aves).

Dessa forma, visando explorar mais os estudos voltados para  $\beta$ -queratina, a Tabela 2 apresenta um panorama dos métodos de obtenção de queratina de penas de aves. Vale ressaltar que alguns autores apresentam os resultados como RQ, que é o percentual em massa da proteína recuperada no processo de extração; já outros autores apresentam os resultados como TD, que indica o percentual de penas que foi dissolubilizada no processo de extração.

TABELA 2 – MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE QUERATINA DE PENAS DE AVES

Referência	Métodos de extração	Condições	Rendimentos (%)
(SCHROOYEN <i>et al.</i> , 2001b)	Redução	Solvente: ureia (6 M) e 2-mercaptoetanol (1,4 M) Temperatura: 40 °C Tempo de extração: 1 h	RQ = 77
(POOLE; LYONS; CHURCH, 2011)	Redução	Solvente: sulfeto de sódio (10 g L <sup>-1</sup> ) Razão massa/solvente: 1:10 (g mL <sup>-1</sup> ) Temperatura: 30 °C Tempo de extração: 24 h	TD = 62
(RAMAKRISHNAN <i>et al.</i> , 2018)	Redução	Solvente: sulfeto de sódio (0,5 M) Temperatura: 50 °C Tempo de extração: 6 h	RQ = 79,6
(KHUMALO; SITHOLE; TESFAYE, 2020)	Redução	Solvente: bissulfito de sódio (0,3 M), dodecil sulfato de sódio (0,07 M) e ureia (1,5 M) Temperatura: 70 °C Tempo de extração: 4 h	RQ = 51,38
(DAS <i>et al.</i> , 2021)	Redução	Solvente: sulfeto de sódio (0,5 M) Temperatura: 52 °C Tempo de extração: 6,5 h	RQ = 82,7
(ZHAO, Wei <i>et al.</i> , 2012)	Explosão a vapor	Solvente: hidróxido de potássio (0,03 M) Pressão: 2 Mpa Descompressão: 0,0875 s	TD = 72,8
(ZHANG; ZHAO; YANG, 2015)	Explosão a vapor	Solvente: hidróxido de sódio (0,1 M) Pressão: 1,6 Mpa Descompressão: 0,1 s	TD = 65,8 RQ = 42,8
(WANG, Yun-Xian; CAO, 2012)	LI's	LI: ([HOEMIm][NTf <sub>2</sub> ]) (2,5%) + (1,0%) Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> Temperatura: 80 °C Tempo de extração: 4 h	TD = 21
(Ji <i>et al.</i> , 2014)	LI's	LI: [Bmim]Cl (20%) + Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> (10%) Temperatura: 90 °C Tempo de extração: 1 h	TD = 96,7 RQ = 75,1
(SINKIEWICZ <i>et al.</i> , 2017)	Extração alcalina	Solvente: hidróxido de sódio (0,6 M) Temperatura: 70 °C Tempo de extração: 1,25 h	TD = 93,7
(FAGBEMI; SITHOLE; TESFAYE, 2020)	Extração alcalina	Solvente: hidróxido de sódio (0,45 M) e bissulfito de sódio (0,04 M) Temperatura: 87 °C Tempo de extração: 1,85 h	TD = 65,2 RQ = 68,3

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: RQ: Rendimento de queratina; TD: Taxa de dissolução; LI's: Líquidos iônicos; ([HOEMIm][NTf<sub>2</sub>): 1-hidroxietil-3-metilimidazólio bis(trifluorometanossulfonil)amida; Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>: Sulfito de sódio; [Bmim]Cl: Cloreto de 1-butil-3-metilimidazólio.

Conforme pode ser observado na Tabela 2, a técnica mais abordada na literatura para extração de queratina das penas de aves é o método de redução. Esse método, quando comparado às outras técnicas, apresenta melhores RQ, no entanto, o uso de agentes redutores, como tióis (por exemplo, 2-mercaptoetanol), apresenta algumas desvantagens, como preço elevado e alta toxicidade (SHAVANDI *et al.*,

2017). Nos últimos anos, alguns autores, como exemplo, Ramakrishnan *et al.* (2018) e Das *et al.* (2021), têm substituído o 2-mercaptoetanol (RQ de 79,6%) pelo sulfeto de sódio (RQ de 82,7%) para extrair queratina das penas das aves. No entanto, apesar desse substituto ser mais barato e apresentar também um bom rendimento de queratina, ele continua sendo prejudicial e tóxico ao meio ambiente, tornando inviável seu uso industrialmente.

No contexto ambiental, os LI's apresentam-se como uma excelente alternativa, visto que são considerados solventes ecologicamente corretos e seguros, devido à sua característica não volátil e durável; além disso, apresentam excelente resiliência química e térmica, não inflamabilidade e alta capacidade de solvatação (CHAITANYA REDDY *et al.*, 2021). No entanto, o processo de extração utilizando LI's possui algumas desvantagens, como o custo elevado e a necessidade de ser realizado sob nitrogênio, o que requer um controle preciso da temperatura (temperatura próxima a 100 °C), pois pode ocasionar um efeito negativo na composição dos aminoácidos da queratina (SHAVANDI *et al.*, 2017).

De acordo com Shavandi *et al.* (2017), o método de explosão a vapor apresenta baixo custo e baixo impacto ambiental. Porém, o forte processo de aquecimento pode ocasionar a destruição de alguns aminoácidos, como por exemplo, a cisteína. Outro método de extração de queratina das penas das aves destacado pelos autores é o processo de hidrólise alcalina. Segundo Sinkiewicz *et al.* (2017), a solução alcalina de alta concentração dissocia o hidrogênio do sulfato e dos grupos carboxílicos, facilitando a solubilização da queratina.

Além disso, o uso de compostos alcalinos fortes pode reduzir a quantidade de solução necessária para a extração de queratina (ALAHYARIBEIK; ULLAH, 2020). No entanto, a cadeia primária pode ser danificada e a quebra das ligações pode levar à formação de odores de sulfeto alcalino durante o processo de extração (SHAVANDI *et al.*, 2017).

Portanto, pode-se observar que ainda há escassez de informações a respeito dos métodos de extração de queratina das penas das aves. Com toda essa disponibilidade de resíduos de penas, ainda é necessário desenvolver métodos de extração de queratina que sejam mais ecológicos, econômicos e menos demorados e que visem a produção em maior escala, facilitando, assim, a comercialização desse material.

### 3.5 APLICAÇÕES DA QUERATINA DE PENAS DE AVES

A queratina pode ser considerada um dos principais produtos a serem extraídos dos resíduos da indústria avícola. Os materiais queratinosos são ricos em proteínas, o que facilita sua aplicação nos fertilizantes e na nutrição animal. No entanto, esses biomateriais também possuem um alto potencial em aplicações biomédicas, fato que incentiva o desenvolvimento de produtos comerciais com maior valor agregado (HOLKAR *et al.*, 2018).

Dentre os polímeros naturais biodegradáveis, os materiais a base de queratina revolucionaram o campo dos biomateriais devido às propriedades como biocompatibilidade, que diminui a probabilidade de reações alérgicas, e biodegradabilidade, que permite a implantação sem necessidade de remover o material posteriormente (FEROZ *et al.*, 2020; MCLELLAN *et al.*, 2019).

Devido às vantagens presentes nos materiais à base de queratina, nas últimas décadas, muitas investigações foram conduzidas para fabricar novos materiais como hidrogéis, filmes e *scaffolds* (FEROZ *et al.*, 2020). Tais produtos têm potencial de aplicação em diversas áreas, como na cicatrização de feridas, nervos, ossos, ligamentos, cartilagem e tecidos vasculares (MOGOSANU; GRUMEZESCU; CHIFIRIUC, 2014).

Os hidrogéis são polímeros organizados em fibras reticuladas, que absorvem e retêm quantidades consideráveis de água, podendo ser aplicados na cicatrização de feridas, curativos e substituição da pele. Esse polímero mantém o local da ferida úmido, acelerando o processo de cicatrização, além de reduzir as dores e infecções (ESPARZA *et al.*, 2018). Além disso, também se mostrou eficiente para prevenir aderências pós-operatórias.

Segundo Chilakamarry *et al.* (2021), os filmes à base de queratina podem ser utilizados na fabricação de materiais biodegradáveis e biocompatíveis, permitindo sua aplicação na cicatrização de feridas e na engenharia de tecidos. Além disso, os filmes de queratina promovem adesão celular, representando uma alternativa promissora para o tratamento de feridas.

Métodos de fabricação de *scaffolds* vêm sendo desenvolvidos para aplicações na engenharia de tecidos e na medicina regenerativa (LU; LI; CHEN, 2013). Essa área aplica os princípios das ciências biológicas e da engenharia para desenvolver

alternativas que possam melhorar ou restaurar a função de uma célula tecido ou de um órgão (NAYAK; GUPTA, 2015).

Além disso, alguns métodos estão sendo estudados para introduzir, na superfície de *scaffolds* nanoestruturados, grupos funcionais para aumentar a fixação celular, migração e proliferação (LU; LI; CHEN, 2013). Os *scaffolds* são considerados uma ótima alternativa para aplicação na engenharia de tecidos devido a sua capacidade de conduzir o arranjo celular ou tecidos *in vitro* e *in vivo* (NAYAK; GUPTA, 2015). O Quadro 1 apresenta um panorama das aplicações da queratina de penas de aves na biomedicina.

QUADRO 1 – APLICAÇÕES DA QUERATINA OBTIDA DAS PENAS DE AVES

Referência	Material	Objetivo	Resultado/Aplicações
(ESPARZA <i>et al.</i> , 2018)	Hidrogel	Caracterizar e comparar hidrogéis preparados a partir de várias fontes de queratina (penas, cabelo e lã).	Os hidrogéis a base de queratina de penas, resultaram em materiais mais robustos mecanicamente. Podendo ser aplicados em biomateriais para cicatrização avançada de feridas.
(WANG, Ju <i>et al.</i> , 2017)	Hidrogel	Fabricação de hidrogéis a base de queratina de penas para cicatrização de feridas e testes de biocompatibilidade <i>in vivo</i> .	A queratina das penas exibiu efeitos de cicatrização de feridas, taxas de biodegradação e biocompatibilidade <i>in vivo</i> semelhantes a queratina de cabelo humano. Os hidrogéis de queratina de penas podem ser utilizados para aplicações biomédicas, em especial na cicatrização de feridas.
(CAO <i>et al.</i> , 2019)	Hidrogel	Fabricação de hidrogéis a base de queratina de penas, convertendo as ligações dissulfeto intramoleculares em ligações dissulfeto intermoleculares.	O hidrogel a base de queratina apresentou capacidade redox-responsiva na degradação do gel e na liberação de fármacos devido as estruturas baseadas na ligação de dissulfeto. Desta forma, podendo ser aplicado na engenharia de tecidos e liberação de fármacos.
(DOU <i>et al.</i> , 2014)	Filmes	Preparar uma mistura de filmes em série baseada em farinha de penas e poli (álcool vinílico) (PVA) por fundição em solução, e amido dialdeído (DAS) foi introduzido para alcançar melhores propriedades físico-químicas para a mistura de filmes.	Este método forneceu uma maneira de melhorar as propriedades dos filmes de queratina de penas, para aplicações em embalagens e nas indústrias biomédicas.



(MARIA MARTELLI <i>et al.</i> , 2006)	Filmes	Realizar um estudo comparativo de diferentes tipos de plastificantes e suas concentrações aplicadas a filmes de queratina.	O aumento de plastificante diminui as propriedades de barreira, favorecendo a adsorção de água pela rede polimérica, aumentando assim, o teor de umidade dos filmes.
(ESPARZA <i>et al.</i> , 2017)	<i>Scaffolds</i>	Fabricar e caracterizar <i>scaffolds</i> de nanofibras a base de queratina de penas eletrofiadas, utilizando solventes ecológicos e métodos de reticulação polimérica. Utilizou-se PVA como polímero auxiliar para eletrofição e ácido cítrico para reticulação térmica de nanofibras.	A queratina de penas foi eletrofiada com sucesso para formação de <i>scaffolds</i> de nanofibras. Este método apresentou resultados significativos para aplicação do material na engenharia de tecidos.
(NAYAK; GUPTA, 2015)	<i>Scaffolds</i>	Produzir <i>scaffolds</i> de queratina e ágar. De forma, que o material preparado tenha propriedades avançadas e recursos necessários para aplicações em engenharia de tecidos.	O <i>scaffold</i> fabricado apresentou uma toxicidade negativa e um crescimento celular positivo. Portanto, o biomaterial apresentou potencial para aplicações na engenharia de tecidos, cicatrização de feridas e regeneração da pele.
(SARAVANAN <i>et al.</i> , 2013)	<i>Scaffolds</i>	Produção e caracterização de <i>scaffolds</i> a partir de nanopartículas de queratina (produzidas com queratina de penas de frango) e matriz de quitosana.	Os <i>scaffolds</i> produzidos apresentaram uma estrutura porosa de suporte para penetração celular e difusão de nutrientes. As nanopartículas de queratina junto a matriz de quitosana, melhorou a capacidade de adsorção das proteínas. Além disso, o biomaterial formado não apresentou toxicidade para celular humanas.

FONTE: O autor (2022).

Atualmente, os nanomateriais à base de queratina vêm sendo explorados de diversas maneiras, principalmente no desenvolvimento de nanopartículas para aplicações biomédicas, como pode ser observado no Quadro 1. Dessa forma, o desenvolvimento dessas nanopartículas à base de queratina representa um grande avanço para biomedicina. No entanto, ainda faltam métodos alternativos para fabricação de queratina em nanoescala, pois grande parte dos estudos são voltados para o encapsulamento de fármacos em nanopartículas de queratina por métodos como gelificação iônica, dispersão ultrassônica e agregação. Processos físicos visando reduzir a massa molar e o tamanho das partículas podem representar uma excelente alternativa para produção de queratina em nanoescala.



## 4 METODOLOGIA

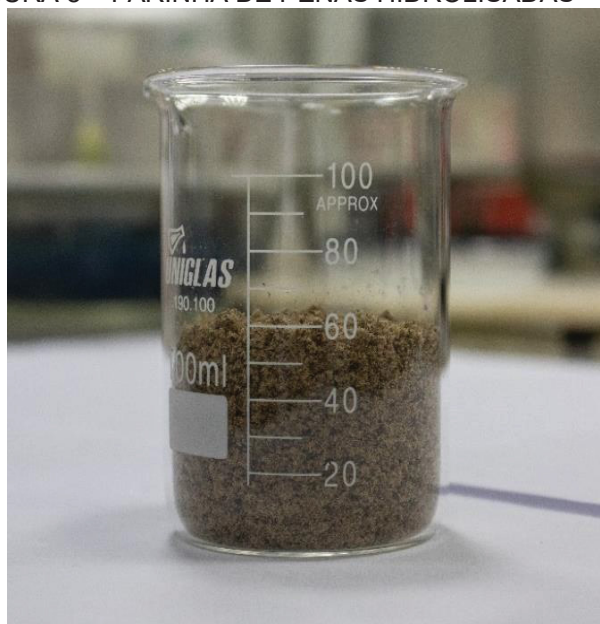
Para obtenção da queratina, utilizou-se a farinha de penas de frango fornecida por uma empresa localizada no estado do Paraná. As atividades de pesquisa foram desenvolvidas no Laboratório de Materiais e Energias Renováveis (LABMATER), do Departamento de Engenharias e Exatas (DEE) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina, que disponibilizou a infraestrutura e as condições necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa.

### 4.1 MATERIAIS – FARINHA DE PENAS HIDROLISADAS

A farinha de penas hidrolisadas (FPH) da Figura 8 pode ser definida como um subproduto produzido a partir de penas limpas e não decompostas, que são cozidas sob pressão, podendo conter sangue em sua composição; além disso, o seu teor de proteína bruta é de aproximadamente 85% (BELLAVÉR, 2002; MORRIS; JUDY; KONONOFF, 2020).

Esse resíduo foi produzido em uma unidade industrial de abate e processamento de aves, sendo posteriormente submetido a um processo de hidrólise parcial com vapor de água saturado nas condições de pressão de aproximadamente 2 bar, temperatura de 120 °C e tempo de 30 min em um reator encamisado, de acordo com informações fornecidas pela empresa. Para padronizar as amostras, a FPH foi peneirada em uma peneira com abertura de 2,0 mm.

FIGURA 8 – FARINHA DE PENAS HIDROLISADAS – FPH

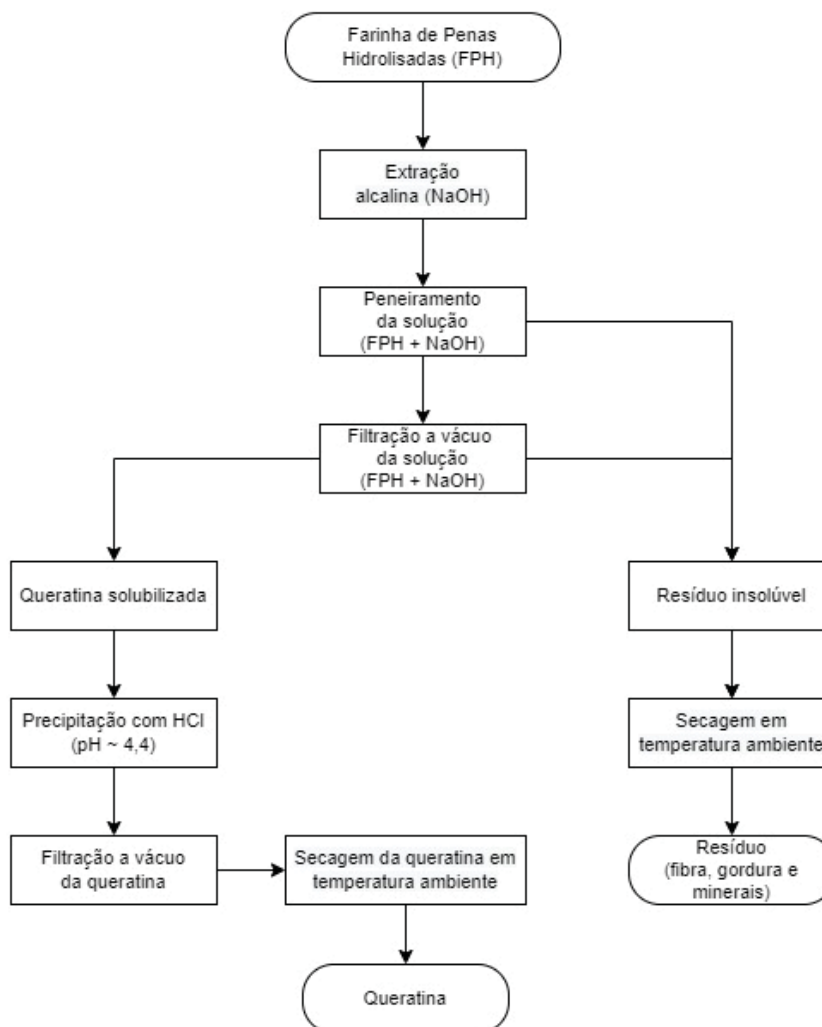


FONTE: O autor (2022).

#### 4.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE QUERATINA A PARTIR DA FPH

A Figura 9 apresenta um fluxograma do processo de extração de queratina a partir da FPH. Esse processo compreende 5 etapas principais: extração alcalina (NaOH), peneiramento e filtração a vácuo do resíduo insolúvel, precipitação, filtração a vácuo da queratina e secagem dos materiais (queratina e resíduo).

FIGURA 9 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA QUERATINA



FONTE: O autor (2022).

- *Etapa I – Extração alcalina (NaOH)*

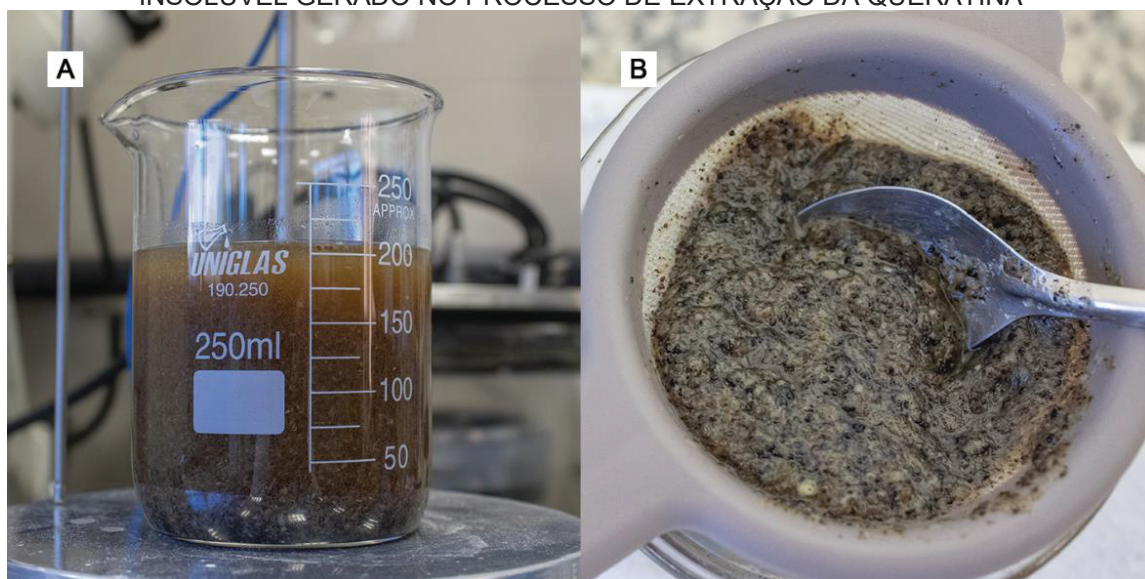
A primeira etapa do processo é a extração da queratina da FPH por meio da hidrólise alcalina, utilizando solução hidróxido de sódio (NaOH) 2 M como solvente. Nessa etapa, a razão massa de FPH para volume de solução de NaOH foi determinada com base em estudos realizados por Zhang, Zhao e Yang (2015), que utilizaram uma razão mássica de 1:20 g mL<sup>-1</sup>. No estudo atual, as amostras de FPH foram adicionadas em solução de NaOH na proporção de 1:20 m v<sup>-1</sup> (massa de FPH/volume de solução de NaOH), sendo 10 g de FPH para 200 mL de solução de NaOH 2 M. Essa solução foi mantida sob agitação magnética a 350 rpm, velocidade

que foi estabelecida de acordo com o equipamento disponível (agitador magnético digital com aquecimento, modelo SL-92/2-H).

- *Etapa II – Peneiramento e filtração a vácuo do resíduo insolúvel*

O resíduo insolúvel foi peneirado em uma peneira pequena (dimensões (C x L x A): 17 × 7,2 x 3 cm) de polipropileno (marca Plasvale) com poros de aproximadamente 1 mm, conforme Figura 10. Esse processo de peneiramento foi realizado para facilitar a filtração a vácuo, removendo parte do resíduo insolúvel. Durante esse procedimento, foi realizada a lavagem do resíduo com 120 mL de água destilada, pois ela contribui para redução da viscosidade do sobrenadante (queratina solubilizada) (Jl *et al.*, 2014).

FIGURA 10 – A) SOLUÇÃO DE NAOH E FPH APÓS AGITAÇÃO MAGNÉTICA; B) RESÍDUO INSOLÚVEL GERADO NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA QUERATINA

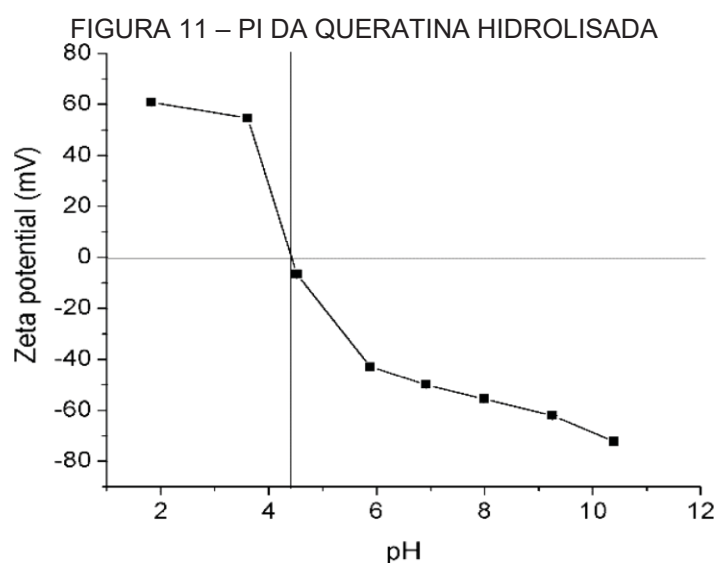


FONTE: O autor (2022).

Após o peneiramento, a solução que passou (queratina solubilizada e resíduo insolúvel) foi filtrada a vácuo (filtro de papel), e nessa etapa, o sobrenadante passa pelo filtro de papel e o resíduo insolúvel é retido. Dessa forma, o sobrenadante é destinado para próxima etapa do processo de extração (precipitação da queratina).

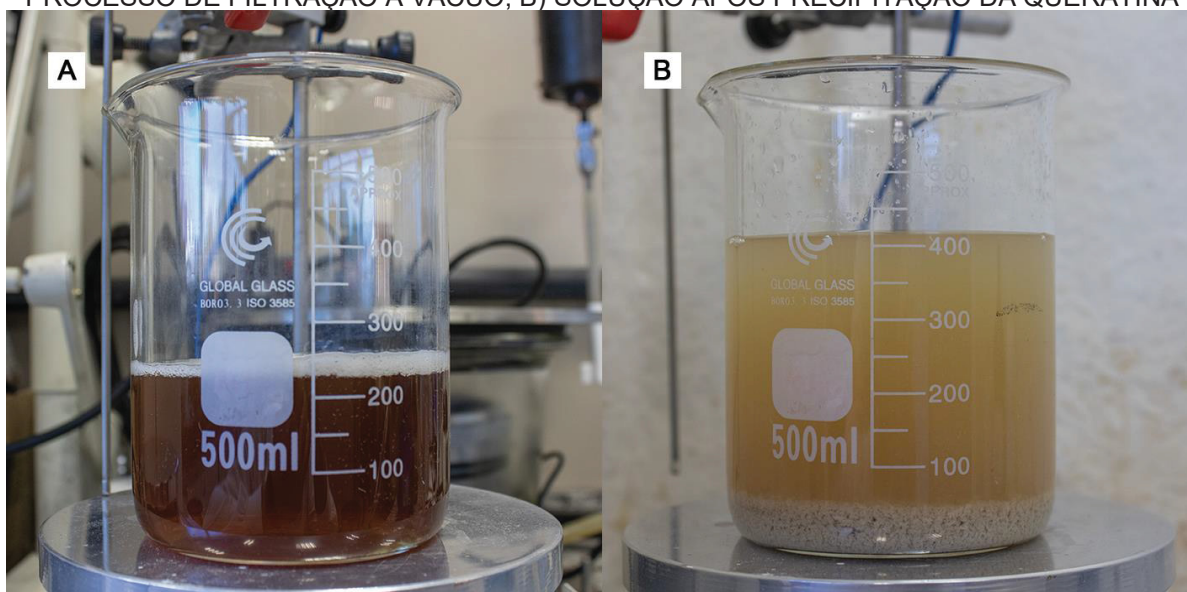
- *Etapa III – Precipitação da queratina*

De acordo com Xu *et al.* (2014), o ponto isoelétrico da queratina (PI) é de aproximadamente 4,4. Valores de pH maiores ou menores que esse resultam em uma carga líquida de superfície que pode ser positiva ou negativa, conforme Figura 11. Sendo assim, após a filtração do sobrenadante, a queratina foi precipitada ajustando-se o pH do filtrado para aproximadamente 4,4 com solução de ácido clorídrico (HCl) 2 M em temperatura ambiente de acordo com a Figura 12.



FONTE: XU *et al.* (2014).

FIGURA 12 – A) SOBRENADANTE (QUERATINA SOLUBILIZADA) APÓS PASSAR PELO PROCESSO DE FILTRAÇÃO A VÁCUO; B) SOLUÇÃO APÓS PRECIPITAÇÃO DA QUERATINA



FONTE: O autor (2022).

- *Etapa IV – Filtração a vácuo da queratina*

Após a etapa de precipitação, a solução é filtrada a vácuo novamente para obtenção da queratina, que fica retida no filtro de papel, como pode ser observado na Figura 13.

FIGURA 13 – QUERATINA RETIDA NO FILTRO DE PAPEL APÓS ETAPA DE FILTRAÇÃO A VÁCUO



FONTE: O autor (2022).

- *Etapa V – Secagem da queratina e do resíduo insolúvel*

Após a filtração a vácuo, o material retido no filtro de papel (queratina precipitada) foi seco em temperatura ambiente por 36 h, assim como o resíduo insolúvel. Ensaio preliminares a 40 e 60 °C foram realizados para avaliar o efeito da temperatura de secagem do material, no entanto, visualmente, a queratina apresentou mudanças em seus aspectos físicos. Dessa forma, com base em testes preliminares, a secagem em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) apresentou-se como melhor alternativa.

#### 4.2.1 Planejamento composto central 2<sup>2</sup> - Avaliação do rendimento de queratina e taxa de dissolução

A queratina foi obtida por extração alcalina da FPH, adaptando as metodologias de Nagai e Nishikawa (1970) e Zhang *et al.* (2015). Buscou-se encontrar o melhor RQ e avaliar a TD da queratina e utilizou-se um planejamento composto central 2<sup>2</sup>, com dois fatores avaliados em 5 níveis (temperatura e tempo), com triplicata do ponto central, totalizando 11 experimentos, conforme apresentado na Tabela 3.

**TABELA 3 – ENSAIOS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL**

Ensaio	Temperatura de extração (°C)	Tempo de agitação (min)
11	15 (-1)	30 (-1)
12	15 (-1)	90 (+1)
13	35 (+1)	30 (-1)
14	35 (+1)	90 (+1)
15	11 (-α)	60 (0)
16	39 (+α)	60 (0)
17	25 (0)	18 (-α)
18	25 (0)	102 (+α)
19	25 (0)	60 (0)
20	25 (0)	60 (0)
21	25 (0)	60 (0)

FONTE: O autor (2022).

A interação entre as respostas dependentes e as variáveis independentes (lineares e quadráticas) foi modelada pela equação polinomial de segunda ordem, conforme demonstrado na Equação 3. Os modelos matemáticos foram ajustados pela análise de variância (ANOVA) (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 \quad (3)$$

onde:

$X_1$  e  $X_2$  = variáveis independentes codificadas na forma adimensional

$\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_{12}, \beta_{11}$  e  $\beta_{22}$  = coeficientes de regressão

$Y$  = a função de resposta.



#### 4.2.2 Cálculo do rendimento de extração de queratina e da taxa de dissolução

O RQ foi expresso como a massa da queratina dividida pela massa inicial da amostra. Dessa forma, o RQ foi determinado utilizando-se a Equação 4. Já a TD foi expressa como a massa inicial da amostra menos a massa do resíduo, dividido pela massa inicial da amostra. Com isso, a TD foi determinada utilizando-se a Equação 5.

$$RQ_{FPH} = \frac{m_{queratina}}{m_{FPH}} \times 100 \quad (4)$$

onde:

$m_{queratina}$  = massa de queratina seca (g)

$m_{FPH}$  = massa inicial de farinha de penas hidrolisadas (g).

Segundo *Jl et al.* (2014), a taxa de dissolução (TD) pode ser expressa como a massa inicial da amostra menos a massa do resíduo, dividido pela massa inicial da amostra. Dessa forma, a TD pode ser determinada utilizando-se a Equação 5.

$$TD_{FPH} = \frac{(m_{FPH} - m_{residuo})}{m_{FPH}} \times 100 \quad (5)$$

onde:

$m_{residuo}$  = massa de resíduo seco (g).

### 4.3 ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUERATINA, RESÍDUO E FPH

#### 4.3.1 Determinação dos teores de umidade, cinza e lipídeos das amostras de queratina, resíduo e FPH

A caracterização macroscópica da queratina e do resíduo extraídos da FPH foi realizada conforme os métodos propostos pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), com pequenas modificações. Os parâmetros analisados foram: umidade pelo método de



secagem direta em estufa a 105 °C, cinzas por incineração em mufla a 800 °C e lipídeos por extração Soxhlet com éter de petróleo.

#### 4.3.2 Difração de raios X (DRX) das amostras de queratina, resíduo e FPH

A difração de raios X (DRX) é uma técnica utilizada para determinar a estrutura em escala atômica dos materiais. Ela é baseada na comparação entre o comprimento de onda dos raios X e as distâncias interatômicas em sólidos. (PETKOV, 2008). Um de seus princípios consiste na incidência de radiação em uma amostra e na detecção dos fótons difratados ao longo de um intervalo angular (GOBBO, 2009).

As análises de DRX foram realizadas na Central Analítica da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), *campus* Toledo – PR. Para essa análise, foi utilizado um difratômetro Bruker, modelo D2 – PHASER. Os difratogramas foram obtidos utilizando-se radiação de  $\text{CuK}\alpha$  (1,54 Å), operando-se a 30 kV, 10 mA de corrente, com varredura contínua a  $1,5^\circ \text{ min}^{-1}$  e leituras efetuadas no intervalo  $2\theta$  entre  $5^\circ$  e  $80^\circ$ .

#### 4.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com o acessório de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) das amostras de queratina, resíduo e FPH

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) com o acessório de energia dispersiva (EDS) é uma análise realizada para observar a morfologia e composição dos nanomateriais (SUGA *et al.*, 2014). O microscópio eletrônico de varredura fornece imagens de alta resolução ao escanear a superfície da amostra com uma sonda de elétrons extremamente focada e aparência tridimensional (JÚNIOR, 2013; RIVACOBA; ZABALA; AIZPURUA, 2000). Já o EDS fornece a composição química dos elementos.

As análises de MEV foram realizadas no Laboratório de Materiais e Energias Renováveis (LABMATER) da Universidade Federal do Paraná, *campus* Palotina – PR. Para essa análise, foi utilizado um microscópio TESCAN VEGA3. As amostras foram espalhadas no porta amostras sobre uma fita de carbono dupla face, posteriormente secas e metalizadas com fina camada (5 nm) de ouro na superfície ("*sputtering*"). As micrografias foram obtidas em aumentos de 200, 2.000 e 15.000 vezes. Nessa análise, foi utilizado o EDS para analisar os elementos químicos das amostras.

#### 4.3.4 Reflexão Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR-FTIR) das amostras de queratina, resíduo e FPH

A reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) é uma técnica utilizada para detectar as frequências das vibrações moleculares e revelar sua estrutura molecular como um conjunto de ligações químicas e interações. Além disso, ela fornece informações sobre a presença ou não de ligações ou interações químicas utilizadas para compreender o mecanismo molecular das reações (NOGUCHI, 2008).

As análises de ATR-FTIR foram realizadas no Laboratório Multiusuário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *campus* Toledo – PR. Os espectros de infravermelho da queratina e da FPH foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro da marca Spectrum 65 - Perkin Elmer, com acessório de ATR para obter informações estruturais e composição elementar. As amostras foram analisadas com 128 varreduras, resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e comprimento de onda entre  $400$  e  $4000\text{ cm}^{-1}$  (ESPARZA *et al.*, 2017).

#### 4.3.5 Análise elementar das amostras de queratina, resíduo e FPH

A análise elementar é utilizada para determinar a proporção dos compostos elementares que constituem diversos tipos de materiais. Essa análise foi realizada no Instituto SENAI de Inovação – Biomassa em Três Lagoas – MG. Com isso, determinou-se a composição elementar (%) do carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N), enxofre (S) e oxigênio (O) das amostras, utilizando um analisador elementar modelo *FLASH SMART CHNS/O* da *Thermo Fisher Scientific* com a análise do oxigênio de forma direta através do mesmo equipamento.

As amostras foram analisadas com a utilização do BBOT - 2,5-bis(5-terc-butil-benzoxazol-2-il-tiofeno) como padrão. Os parâmetros utilizados na programação do equipamento estão descritos na Tabela 4.

TABELA 4 – CONDIÇÕES UTILIZADAS NA ANÁLISE ELEMENTAR

Padrão utilizado	BBOT - 2,5-Bis(5-terc-butil-benzoxazol-2-il)tiofeno		
Temperatura (°C)	Fornalha direita O <sub>2</sub>	Fornalha esquerda CHNS	Forno
	Off (CHNS) 1060 (O)	950 (CHNS) Off (O)	65
Tempo (s)	Ciclo de Análise	Inj. de amostra	Inj. de oxigênio
	720 (CHNS)	12 (CHNS)	5 (CHNS)
	500 (O)	10 (O)	0 (O)
Fluxo dos gases (mL/min)	Arraste (He)	Oxigênio	Referência (He)
	140 (CHNS)	250 (CHNS)	100 ambos
	100 (O)	0 (O)	

FONTES: O autor (2022).

#### 4.3.6 Análise Termogravimétrica (ATG) das amostras de queratina, resíduo e FPH

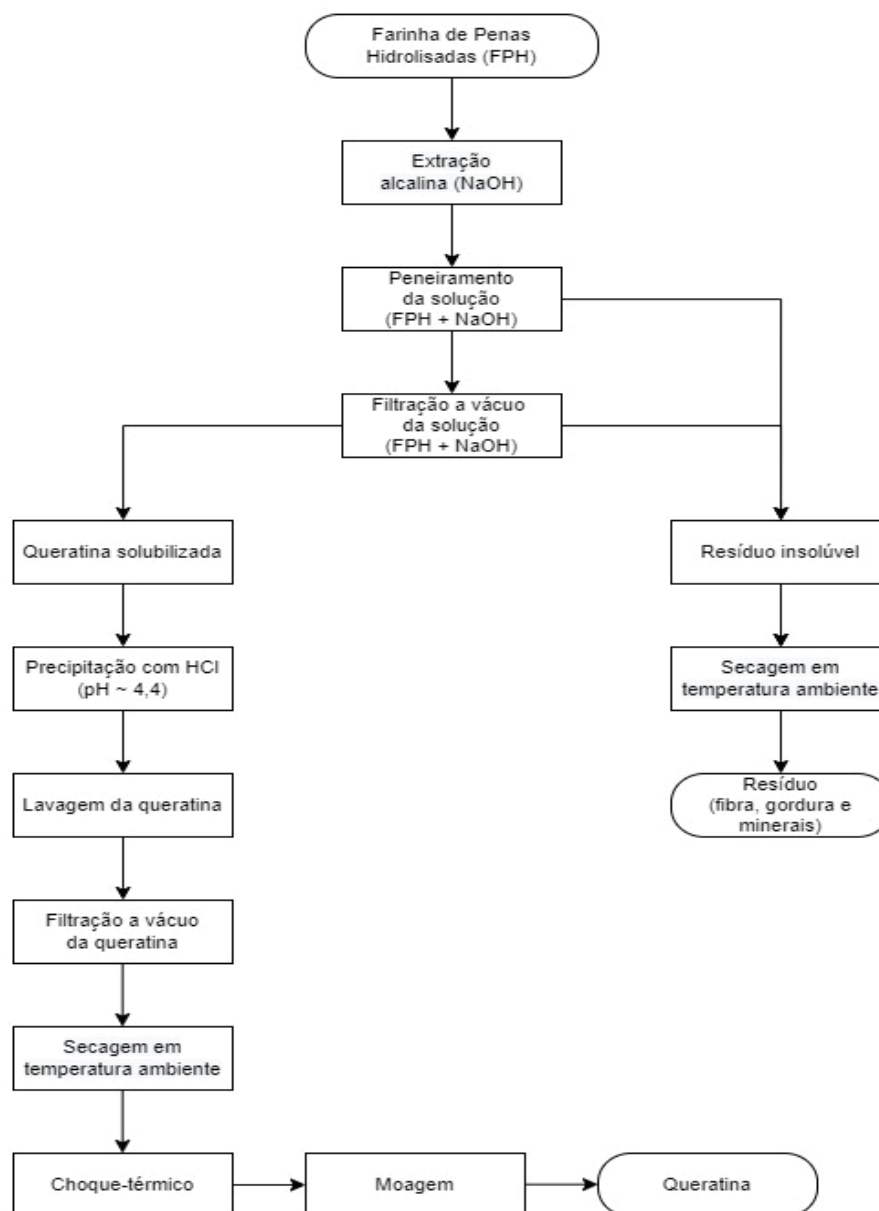
Segundo a Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC), a análise termogravimétrica pode ser definida como um conjunto de técnicas em que as propriedades físicas de uma amostra é determinada em função do tempo ou da temperatura (HAINES, 1995).

As análises termogravimétricas foram realizadas na Central Analítica Multiusuário da UTFPR, *campus* Medianeira – PR, e foram realizadas em um analisador térmico simultâneo STA 6000 da Perkin - Elmer. A temperatura de aquecimento foi de 35 a 650 °C, em atmosfera de nitrogênio, com uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> e uma vazão de nitrogênio de 50 mL min<sup>-1</sup>.

#### 4.4 PROCESSO DE AMPLIAÇÃO NA ESCALA DE EXTRAÇÃO E DESPOLIMERIZAÇÃO DA QUERATINA

A Figura 14 apresenta um fluxograma do processo de ampliação na escala de extração e despolimerização da queratina. Esse processo compreende 7 etapas principais: extração alcalina (NaOH), peneiramento e filtração a vácuo do resíduo insolúvel, precipitação da queratina, lavagem, filtração a vácuo e secagem em temperatura ambiente, choque térmico e moagem da queratina.

FIGURA 14 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE AMPLIAÇÃO NA ESCALA DE EXTRAÇÃO E DESPOLIMERIZAÇÃO DA QUERATINA



FONTE: O autor (2022).

Com o objetivo de ampliar a produção de queratina, foi realizada, em laboratório, a ampliação na escala de produção em 5 vezes, mantendo, ainda, a proporção de  $1:20 \text{ m v}^{-1}$  (massa de FPH/volume de solução de NaOH), sendo 50 g de FPH para 1000 mL de solução de NaOH 2 M. Para realização dessa etapa, foi utilizada a melhor condição do RQ encontrada no planejamento experimental: temperatura de  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ , tempo de reação de 90 min e concentração de NaOH de 2 M.

- *Etapa I – Extração alcalina (NaOH)*

A solução de FPH e NaOH foi mantida sob agitação constante por um agitador mecânico (Modelo EEQ-9034, Edutec), e a temperatura foi controlada utilizando-se um banho ultratermostático (Modelo SL 152, Solab), conforme pode ser visualizado na Figura 15.

FIGURA 15 – ETAPA DE EXTRAÇÃO ALCALINA COM AGITAÇÃO MECÂNICA E CONTROLE DE TEMPERATURA PELO BANHO ULTRATERMOSTÁTICO



FONTE: O autor (2022).

- *Etapa II – Peneiramento e filtração a vácuo do resíduo insolúvel*

Após a etapa de extração alcalina, o resíduo insolúvel foi peneirado em uma peneira média (dimensões (C x L x A): 23,2 × 12,7 × 5,5 cm) de polipropileno (marca Plasvale) com poros de aproximadamente 1 mm. Em seguida, a solução que passou pela peneira (queratina solubilizada e resíduo insolúvel) foi filtrada a vácuo (filtro de tecido Oxford), como pode ser observado na Figura 16. Nessa etapa, foi utilizado filtro de tecido devido ao volume de solução (aproximadamente 1000 mL).

FIGURA 16 – FILTRAÇÃO A VÁCUO DO RESÍDUO INSOLÚVEL UTILIZANDO FILTRO DE TECIDO OXFORD

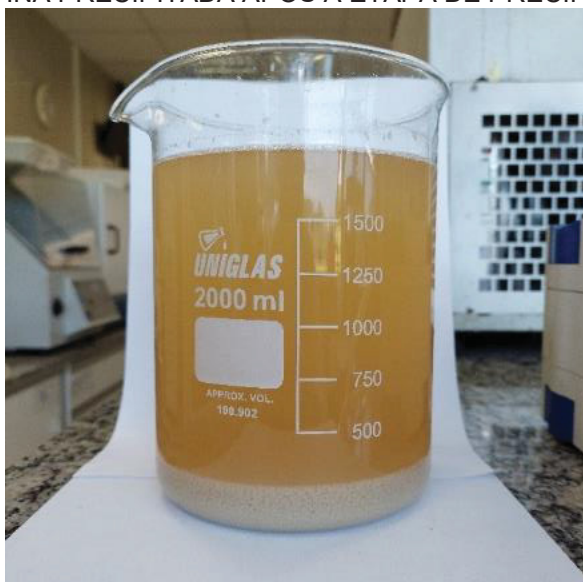


FONTE: O autor (2022).

- *Etapa III – Precipitação da queratina*

Após a filtração do sobrenadante, a queratina foi precipitada, ajustando-se o pH do filtrado para aproximadamente 4,4 com solução de ácido clorídrico (HCl) 2 M em temperatura ambiente, conforme pode ser observado na Figura 17.

FIGURA 17 – QUERATINA PRECIPITADA APÓS A ETAPA DE PRECIPITAÇÃO COM HCL 2 M

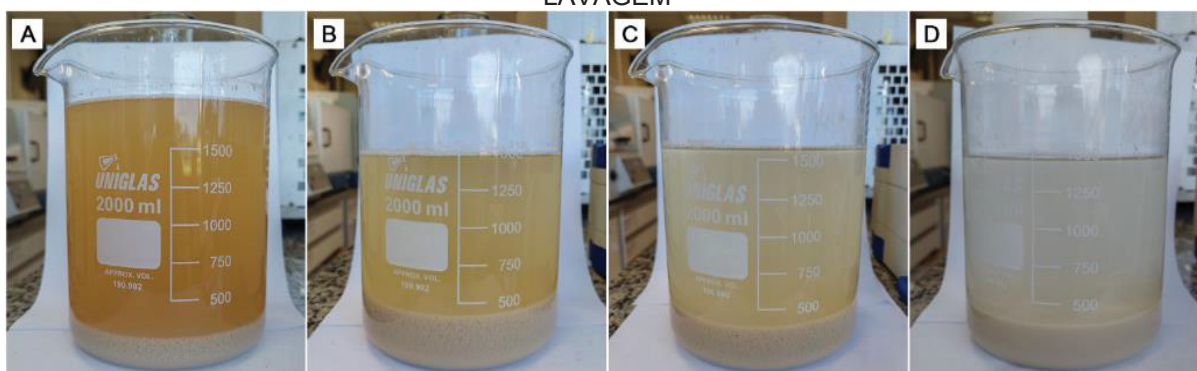


FONTE: O autor (2022).

- *Etapa IV – Lavagem da queratina*

Com os resultados obtidos no planejamento experimental, foi possível observar a presença de sal nas amostras de queratina. Por isso, nesse processo de ampliação de escala, foi incluída a etapa de lavagem após a precipitação. Foram realizadas 3 lavagens utilizando 1000 mL de água destilada em cada uma. Entre as lavagens, houve um intervalo de 20 min, pois esse foi o tempo necessário para queratina sedimentar, podendo, assim, succionar a água de lavagem. A Figura 18 apresenta as etapas de lavagem da proteína, sendo possível observar a clarificação da água no processo de lavagem.

FIGURA 18 - A) QUERATINA APÓS PRECIPITAÇÃO; B) QUERATINA APÓS A PRIMERA LAVAGEM; C) QUERATINA APÓS A SEGUNDA LAVAGEM; D) QUERATINA APÓS A TERCEIRA LAVAGEM



FONTE: O autor (2022).

- *Etapa V – Filtração a vácuo e secagem da queratina em temperatura ambiente*

Após a etapa de lavagem, a queratina foi filtrada a vácuo novamente; no entanto, essa segunda etapa de filtração foi realizada utilizando-se um filtro de papel, pois, em testes preliminares, a proteína passou pelo tecido Oxford. Em seguida, a queratina foi seca em temperatura ambiente por 36 h.

- *Etapa VI – Choque térmico nas amostras queratina*

Além da ampliação na escala de extração de queratina, foi realizado um estudo para despolimerização da queratina, técnica que foi baseada na metodologia descrita



por Alves *et al.* (2020). Dessa forma, foi realizado um processo de choque térmico, seguido de moagem nas amostras de queratina.

No processo de choque térmico, a primeira amostra de queratina passou por 10 ciclos de 10 min, sendo 5 min em temperatura de 50 °C (na estufa) e 5 min com N<sub>2</sub> líquido em sua superfície (-196,15 °C, foi utilizado aproximadamente 150 mL de nitrogênio líquido em cada ciclo), conforme pode ser observado na Figura 19.

FIGURA 19 – PROCESSO DE CHOQUE TÉRMICO COM NITROGÊNIO LÍQUIDO NA QUERATINA, APÓS SAIR DA ESTUFA



FONTE: O autor (2022).

A segunda amostra de queratina também passou por ciclos 10 ciclos de 10 min, sendo 5 min em temperatura de 100 °C (na estufa) e 5 min com N<sub>2</sub> líquido em sua superfície (-196,15 °C, foi utilizado aproximadamente 150 mL de nitrogênio líquido em cada ciclo).

- *Etapa VII – Moagem das amostras queratina*

Após a etapa de choque térmico, foi realizada a moagem da queratina com o objetivo de reduzir a dimensão das partículas. Dessa forma, a metodologia de moagem da queratina foi determinada com base em estudos realizados por Alves *et al.* (2018), nos quais avaliaram uma combinação de processos físicos para obtenção de quitosana com baixa massa molar.

Dessa forma, a queratina foi moída em um moinho de jarros (Modelo SL-34, Solab) composto por um recipiente de aço AISI 1020 (14 cm de diâmetro e 20 cm de



altura), e um motor de indução, operado a uma velocidade fixa de 300 rpm. Foram utilizadas bolas de cerâmica (esferas de 20 mm) na proporção de 230 g de bolas para 5 g de queratina. A proteína foi moída por 4 h para obter partículas menores que 1 mm, que foram passadas por uma peneira com aberturas de malha de 106  $\mu\text{m}$  (ALVES *et al.*, 2018).

#### 4.5 ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUERATINA APÓS DESPOLIMERIZAÇÃO

##### 4.5.1 Difração de raios X (DRX) das amostras de queratina

As análises de DRX foram realizadas no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos-SP. Para essa análise, foi utilizado um difratômetro Bruker, modelo D8 – Advance ECO. Os difratogramas foram obtidos utilizando radiação de  $\text{CuK}\alpha$  (1,54 Å / 8,047 keV), operando na potência de 1,0 kW (40 kV x 25 mA), passo de 0,02°, tempo de varredura de 15 min e leituras efetuadas no intervalo  $2\theta$  entre 5° e 80°.

##### 4.5.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das amostras de queratina

As análises de MET foram realizadas no Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos-SP. Para essa análise, foi utilizado um microscópio FEI Tecnai G<sup>2</sup> F20 operado a 200 kV. As amostras de queratina em pó foram colocadas em uma grade de cobre revestida com um filme fino de carbono. As análises no modo de alta resolução (HRTEM) foram realizadas em condições criogênicas, na temperatura do N<sub>2</sub> líquido (-196,15 °C).

##### 4.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com o Acessório de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) das amostras de queratina

As análises de MEV foram realizadas no Laboratório de Materiais e Energias Renováveis (LABMATER) da Universidade Federal do Paraná, *campus* Palotina – PR.

Para essa análise, foi utilizado um microscópio TESCAN VEGA3. As amostras foram espalhadas no porta amostras sobre uma fita de carbono dupla face, posteriormente secas e metalizadas com fina camada (5 nm) de ouro na superfície ("*sputtering*"). As micrografias foram obtidas em aumentos de 200, 2.000 e 10.000 vezes, e nessa análise, foi utilizado o EDS para analisar os elementos químicos das amostras.

#### 4.5.4 Análise Termogravimétrica (ATG) das amostras de queratina

As análises termogravimétricas foram realizadas em um analisador térmico simultâneo STA 6000 da Perkin - Elmer na Central Analítica Multiusuário da UTFPR, *campus* Medianeira – PR. A temperatura de aquecimento foi de 35 a 650 °C, em atmosfera de nitrogênio, com uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> e uma vazão de nitrogênio de 50 mL min<sup>-1</sup>.

#### 4.5.5 Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico por Dispersão Dinâmica de Luz (*Dynamic Light Scattering*, DLS) das amostras de queratina

Para as análises DLS, as amostras de queratina em pó foram solubilizadas em solução de NaOH 0,1 M e agitadas por 12 h a 125 rpm em uma Incubadora Shaker (Modelo SL -222, Solab); em seguida, foram diluídas em água destilada e dispersas em um dispersor ultrassônico (Modelo BT-50, Battersize) por 5 min para melhorar a dispersão das partículas. A distribuição de tamanho hidrodinâmico das partículas foi determinada usando um analisador de tamanho de partículas (Modelo Nanoptic 90, Battersize) em um comprimento de onda de 635 nm, ângulo de dispersão de 90° e temperatura de 30 °C.

#### 4.5.6 Cromatografia de Exclusão por Tamanho (*Size Exclusion Chromatography* - SEC) das amostras de queratina

As análises de cromatografia de exclusão por tamanho foram realizadas no Laboratório de Biopolímeros (BIOPOL) do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná – UFPR. Essa análise foi realizada em um sistema composto por uma bomba de fluxo, uma coluna de polimetacrilato da Shodex OHpak SB-806HQ (limite de exclusão da coluna de 20.000.000 g mol<sup>-1</sup>), acoplada a detectores do índice

de refração (RI), índice viscosimétrico ( $\eta$ ) e espalhamento de luz a ângulos de 7 e 90° (LALS e RALS).

A fase móvel utilizada no sistema foi composta por nitrato de sódios ( $\text{NaNO}_3$ ), a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  na presença de 0,02% (m/v) de azida de sódio ( $\text{NaN}_3$ ) e a um fluxo de  $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ . As amostras foram dispersas a uma concentração de  $2 \text{ mg mL}^{-1}$  na própria fase móvel, mantidas em agitação por 24 h e sonicadas em um equipamento Sonics Vibracell por 20 s, 25% de amplitude e filtrado em membrana MF-Millipore™ de éster de celulose com poros de diâmetro de  $0,22 \mu\text{m}$  antes da injeção. O volume de injeção foi de  $300 \mu\text{L}$  com um *loop* de  $100 \mu\text{L}$ . Para as amostras de queratina, o valor de  $dn/dc$  utilizado foi de  $0,215 \text{ mL g}^{-1}$ , conforme os dados apresentados por Zhao, Brown e Schuck (2011).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 RESULTADOS DO PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL 2<sup>2</sup>

Os resultados desse planejamento podem ser observados na Tabela 5. Esse planejamento experimental foi realizado após o planejamento prévio, as condições experimentais, bem como os gráficos de Pareto e gráficos de superfície de resposta para RQ e TD, que estão apresentados no Apêndice 1 deste trabalho.

TABELA 5 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA TD E RQ

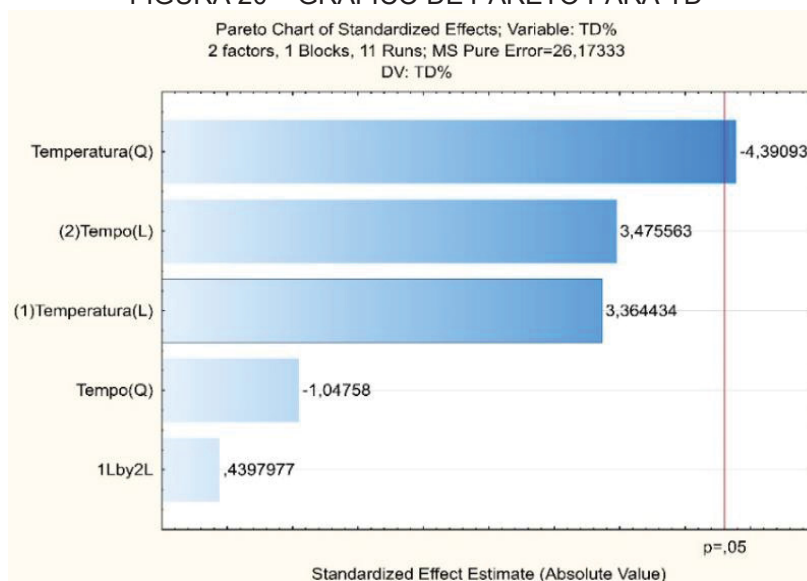
Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (min)	TD (%)	RQ (%)
11	15 (-1)	30 (-1)	16,5	17,9
12	15 (-1)	90 (+1)	24,5	20,0
13	35 (+1)	30 (-1)	18,1	8,3
14	35 (+1)	90 (+1)	30,6	14,9
15	11 (- $\alpha$ )	60 (0)	3,4	16,9
16	39 (+ $\alpha$ )	60 (0)	32,5	9,6
17	25 (0)	18 (- $\alpha$ )	21,7	17,8
18	25 (0)	102 (+ $\alpha$ )	42,8	16,1
19	25 (0)	60 (0)	39,0	19,3
20	25 (0)	60 (0)	29,6	18,4
21	25 (0)	60 (0)	37,8	16,7

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: TD: Taxa de Dissolução, RQ: Rendimento de Queratina em relação a massa de FPH.

Na Tabela 5, observa-se que a TD aumentou com a temperatura e o tempo de reação. Conforme o gráfico de Pareto da Figura 20, somente a temperatura apresentou efeitos quadráticos significativos ( $p < 0,05$ ), com influência negativa para a TD. Assim, o maior valor para a TD foi de 42,8% a 25 °C e 102 min.

FIGURA 20 – GRÁFICO DE PARETO PARA TD

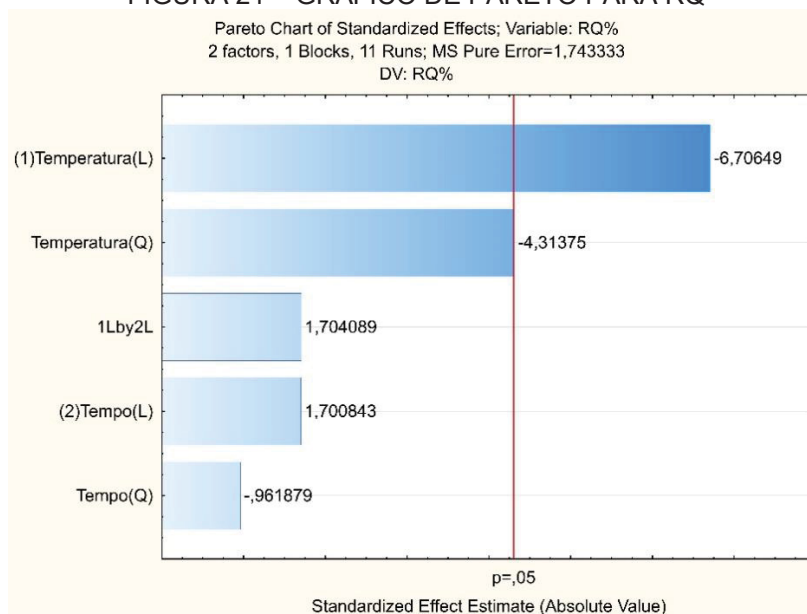


FONTES: O autor (2022).

LEGENDA: TD: taxa de dissolução.

Conforme o gráfico de Pareto apresentado na Figura 21, somente a temperatura apresentou efeitos quadráticos significativos ( $p < 0,05$ ), com influência negativa para o RQ. Dessa forma, o melhor RQ foi de 20% a 15 °C e 90 min de reação, indicando que temperaturas mais elevadas podem degradar termicamente a proteína.

FIGURA 21 – GRÁFICO DE PARETO PARA RQ



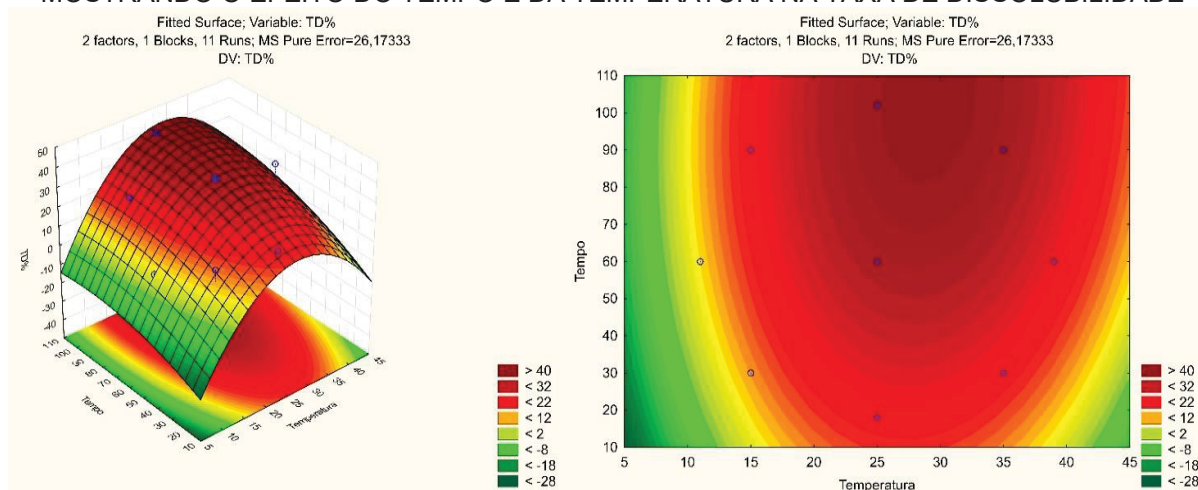
FONTES: O autor (2022).

LEGENDA: RQ: Rendimento de queratina.

Desse planejamento experimental, foram elaborados os gráficos de superfície de resposta para avaliar os efeitos das interações das variáveis do processo de

extração. As Figuras 22 e 23 apresentam as superfícies de resposta para a TD e o RQ, respectivamente.

FIGURA 22 – A) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NA TAXA DE DISSOLUBILIDADE. B) GRÁFICO DE CONTOURNO MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NA TAXA DE DISSOLUBILIDADE

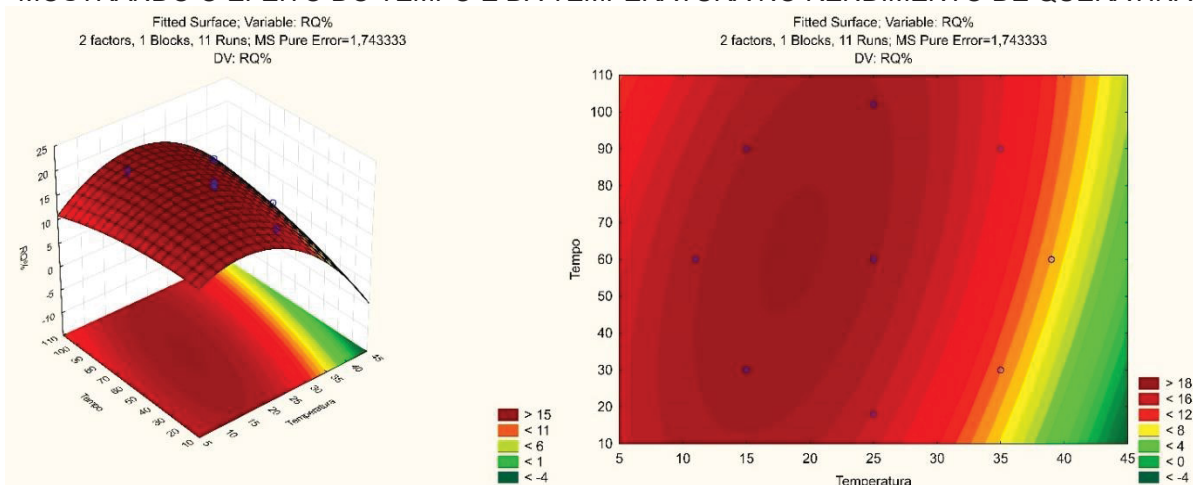


FONTE: O autor (2022).

A Figura 22 apresenta a interação entre o tempo e a temperatura de reação em relação a TD, com o melhor resultado igual a 42,8% a 25 °C e 102 min. Nesse modelo, a curvatura foi significativa, indicando que essas condições se aproximaram do ponto ótimo para TD. O modelo experimental foi significativo:  $p < 0,05$  e  $R^2 = 0,84$ . A equação do modelo de segunda ordem foi ajustada aos dados obtidos no experimento de planejamento fatorial usando a Equação 6.

$$TD = -55,8336 + 5,1176 \times Temperatura - 0,0958 \times Temperatura^2 + 0,4218 \times Tempo - 0,0025 \times Tempo^2 + 0,0038 \times Temperatura \times Tempo \quad (6)$$

FIGURA 23 – A) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NO RENDIMENTO DE QUERATINA. B) GRÁFICO DE CONTOURNO MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA TEMPERATURA NO RENDIMENTO DE QUERATINA



FONTE: O autor (2022).

A Figura 23 apresenta a interação entre o tempo e a temperatura de reação em relação ao RQ, com o melhor resultado igual a 20% a 15 °C e 90 min. O modelo experimental foi significativo:  $p < 0,05$  e  $R^2 = 0,85$ . Nesse modelo, a curva foi significativa, indicando que essas condições se aproximaram do ponto ótimo para o RQ. A equação do modelo de segunda ordem foi ajustada aos dados obtidos no experimento de planejamento fatorial usando a Equação 7.

$$RQ = 12,6742 + 0,6751 \times Temperatura - 0,0243 \times Temperatura^2 + 0,0051 \times Tempo - 0,0006 \times Tempo^2 + 0,0038 \times Temperatura \times Tempo \quad (7)$$

Dessa forma, como pode ser observado nas figuras apresentadas anteriormente, quanto maior a temperatura e o tempo de reação (acima de 25 °C e 60 min, respectivamente), maior foi a TD, indicando maior dissolubilidade da FPH ao processo de hidrólise alcalina. Também é possível observar uma redução do RQ em maiores temperaturas e tempos de reação (acima de 25 °C e 60 min, respectivamente), indicando que, nessas condições, pode ocorrer a degradação parcial da proteína.

## 5.2 ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUERATINA, RESÍDUO E FPH

### 5.2.1 Determinação dos teores de umidade, cinzas e lipídeos das amostras de queratina, resíduo e FPH

Inicialmente, foram avaliadas as características macroscópicas das amostras de FPH, queratina e resíduo através dos teores de umidade, cinzas e lipídeos, como pode ser observado na Tabela 6. Para essas análises, foram utilizados o resíduo e a queratina extraídos em testes preliminares nas seguintes condições, temperatura de 25 °C, concentração de NaOH de 2 M e tempo de extração de 60 min.

A amostra de FPH apresentou um baixo teor de umidade, cinzas e lipídeos, indicando que pode ser utilizada para extrair queratina sem precisar passar por procedimentos de secagem, desmineralização e desengorduramento.

O teor de umidade encontrado nas amostras de queratina e resíduo (11,3% e 15,1%, respectivamente) pode ser considerado alto quando comparado ao valor encontrado para a amostra FPH (4,41%). Essa diferença entre as amostras pode estar relacionada ao processo de secagem da queratina e do resíduo, pois os materiais foram secos em temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C), sendo assim, a água presente nas amostras pode estar interagindo com a proteína, ocasionando um aumento em seu teor de umidade.

Como pode ser observado na Tabela 6, o teor de cinzas e lipídeos encontrados na amostra de queratina foi menor que os teores encontrados na amostra de resíduo, indicando, assim, que o resíduo apresenta, em sua composição, uma concentração maior de minerais e gorduras.

TABELA 6 – RESULTADO DOS TEORES DE UMIDADE, CINZAS E LIPÍDEOS DAS AMOSTRAS DE FPH, QUERATINA, RESÍDUO

AMOSTRAS	PARÂMETROS		
	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídeos (%)
FPH	4,4 ± 0,1	1,3 ± 0,1	6,5 ± 0,4
Queratina	11,3 ± 0,1	2,7 ± 1,1	2,3 ± 0,3
Resíduo	15,1 ± 0,2	22,3 ± 1,3	6,1 ± 0,1

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: FPH: Farinha de Penas Hidrolisada.

Também foram realizadas análises de DRX, MEV, EDS, ATR-FTIR, análise elementar e ATG para avaliar as propriedades físicas, químicas e morfológicas das



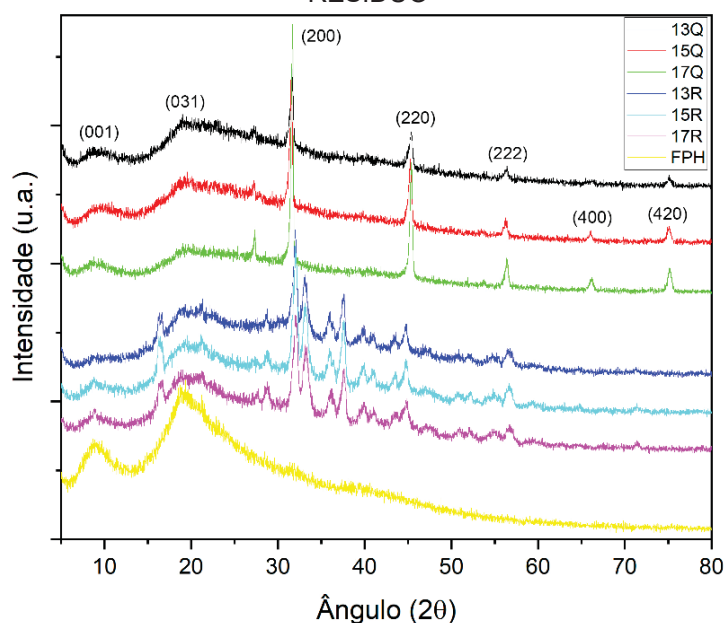
amostras de FPH, queratina e resíduo. Para essas análises, foram selecionadas três corridas experimentais do segundo planejamento, sendo elas as corridas 13 (35 °C e 30 min), 15 (11 °C e 60 min) e 17 (25 °C e 18 min). Para avaliar as propriedades da queratina e do resíduo gerados no processo de extração, foram selecionadas as amostras com maior e menor temperatura e tempo de reação.

Uma amostra de FPH também foi coletada para as análises de caracterização. Dessa forma, as amostras de queratina foram identificadas com o número da corrida selecionada seguida da letra Q; já as amostras de resíduos foram identificadas com os números das corridas seguidas pela letra R. A farinha de penas, por sua vez, foi identificada pela sigla FPH.

### 5.2.2 Difração de raios X (DRX) das amostras de queratina, resíduo e FPH

A cristalinidade nas penas de frango desempenha um papel muito importante em suas propriedades físicas, químicas, ópticas e térmicas (TESFAYE *et al.*, 2017). Segundo Nayak e Gupta (2015), assim como outras fibras animais, as penas de frango possuem uma espécie de estrutura polimérica macromolecular entre suas regiões cristalinas e amorfas. Sendo assim, foram analisadas as estruturas cristalinas das amostras de FPH, queratina e resíduo por difração de raios X, conforme Figura 24.

FIGURA 24 – GRÁFICO DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X DAS AMOSTRAS DE FPH, QUERATINA E RESÍDUO



FONTE: O autor (2022).

Como pode ser observado na Figura 24, todas as amostras apresentaram um pico de difração em  $9^\circ$ , indicando a presença de estruturas  $\alpha$ -hélice, comuns em queratinas de penas de frango (TESFAYE *et al.*, 2017). Outro pico semelhante entre as amostras foi em torno de  $20^\circ$ , região característica das folhas  $\beta$ -pregueadas (ZHAO, Wei *et al.*, 2012). Sendo assim, é possível observar dois tipos de estruturas cristalinas nas amostras, as  $\alpha$ -hélice (comum no arranjo de barbas) e folhas  $\beta$ -pregueadas (comum na raque das penas), de acordo com Figura 7. A presença de tais estruturas pode estar relacionada com o processo de produção da FPH, que contempla todas as partes das penas e todo o sangue das aves.

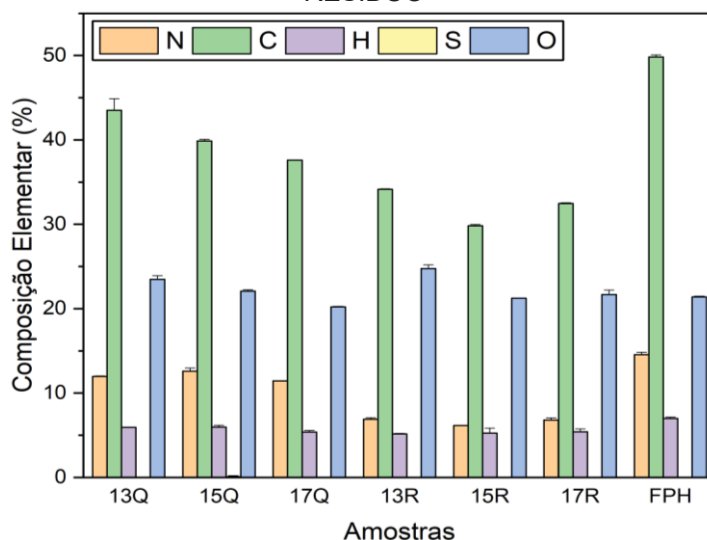
As amostras de queratina apresentaram algumas regiões com picos de difração bem definidos, como o pico em  $28^\circ$ ,  $32^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $57^\circ$ ,  $66^\circ$  e  $75^\circ$ . Esse resultado é causado pela presença de regiões cristalinas nas amostras (TESFAYE *et al.*, 2017). Segundo estudos realizados por Zago, Penha e Seckler (2020), esses picos podem estar relacionados com o teor do sal inorgânico cloreto de sódio (NaCl). A presença desse sal nas amostras de queratina está relacionada ao processo de hidrólise alcalina e de precipitação, o qual ocorre por meio do HCl.

Assim como as amostras de queratina, as amostras de resíduos também apresentaram algumas regiões com picos cristalinos, como exemplo, os picos em  $32^\circ$ ,  $37^\circ$ ,  $40^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $52^\circ$  e  $57^\circ$ ; já a FPH não apresentou tal característica. Essa redução na cristalinidade pode estar relacionada ao seu processo de produção, pois as penas passam por hidrólise em temperaturas elevadas, podendo ocasionar a degradação térmica das fases cristalinas.

### 5.2.3 Análise elementar das amostras de queratina, resíduo e FPH

A Figura 25 apresenta o resultado de uma análise qualitativa e quantitativa dos elementos químicos presentes na FPH, queratina e resíduo extraído. Foi encontrado, na amostra de queratina, 40,33% de carbono, 5,75% de hidrogênio, 12,00% de nitrogênio, 0,03% de enxofre, 21,93% de oxigênio e 19,96% de outros elementos. O teor de enxofre nas amostras de queratina indica a presença da proteína cisteína, enquanto o teor de nitrogênio pode estar relacionado aos aminoácidos da proteína. Khumalo, Sithole, Tesfaye (2020) encontraram uma composição semelhante para queratina extraída das penas de frango, 46,64% de carbono, 7,72% de hidrogênio, 10,82% de nitrogênio, 5,02% de enxofre e 29,74% de outros elementos.

FIGURA 25 – GRÁFICO DA ANÁLISE ELEMENTAR DAS AMOSTRAS DE FPH, QUERATINA E RESÍDUO



FONTE: O autor (2022).

A amostra de FPH apresentou 49,83% de carbono, indicando um alto potencial para aplicações como fonte de energia (TESFAYE *et al.*, 2017). As amostras de FPH e resíduo não apresentaram teor de enxofre para essa análise. O teor de nitrogênio (6,61%) presente no resíduo gerado no processo de extração da queratina indica que esse material pode ser reaproveitado para produção de ração animal, evitando seu descarte no meio ambiente.

#### 5.2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras de queratina, resíduo e FPH

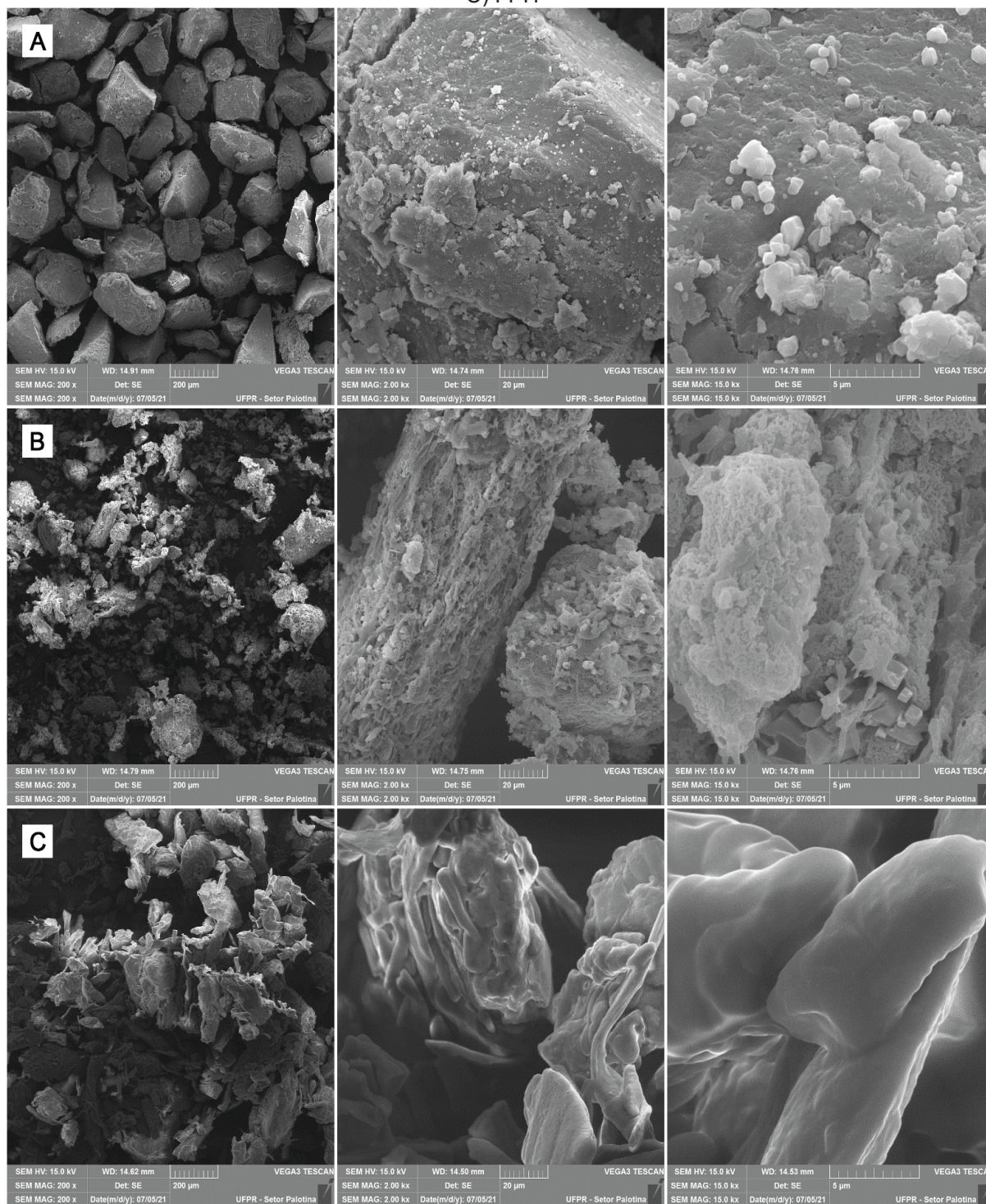
A morfologia da superfície da FPH, da queratina e do resíduo foram exploradas por análise de MEV. As imagens da queratina extraídas são mostradas na Figura 26A, do resíduo, na Figura 26B, e da FPH, na Figura 26C. Como pode ser observado na Figura 26A, na ampliação de 200 vezes, a queratina apresentou-se na forma de micropartículas bem compactadas e uniformes. Além da queratina, é possível observar também estruturas de NaCl (ZAGO; PENHA; SECKLER, 2020).

Diferente da queratina, na ampliação de 200 vezes, o resíduo apresentou uma estrutura irregular, de acordo com o demonstrado na Figura 26B. Após ampliar as imagens para 2000 e 15000 vezes, foi possível observar vários conjuntos de filamentos. A FPH apresentou uma morfologia muito semelhante ao resíduo na



ampliação de 200 vezes, conforme Figura 26C. Já nas imagens com o aumento de 2000 e 15000 vezes, foi possível observar filamentos compactos e com superfície lisa.

FIGURA 26 – IMAGENS DE MEV EM DIFERENTES AMPLIAÇÕES. A) QUERATINA; B) RESÍDUO E C) FPH



FONTE: O autor (2022).

### 5.2.5 Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) das amostras de queratina, resíduo e FPH

Depois da MEV, foi realizada a técnica semiquantitativa e complementar EDS. Nessa técnica, foram avaliadas 3 áreas que estão apresentadas no Apêndice 2 deste trabalho. A Tabela 7 mostra a composição elementar das amostras analisadas (FPH, queratina e resíduo). Nessa análise, observa-se, de forma mais evidente, a presença de enxofre e nitrogênio nas amostras de queratina, com teores aproximados de 1,9% e 20%, respectivamente. As amostras de queratina também apresentaram teores de sódio (aproximadamente 4,4%) e cloro (aproximadamente 7%), e a presença desses elementos pode estar relacionada aos processos de hidrólise alcalina e precipitação (com HCl) que ocorrem nas etapas de extração da queratina.

TABELA 7 – ANÁLISE ELEMENTAR DAS AMOSTRAS DE QUERATINA, RESÍDUO E FPH POR

Amostra	N (%)	C (%)	S (%)	O (%)	Na (%)	Cl (%)	F (%)	Ca (%)	Si (%)	P (%)	K (%)	Fe (%)	Zn (%)
<b>13Q</b>	20,7±1,2	58,2±1,3	2,0±0,5	9,2±1,6	4,9±0,6	5,0±0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>15Q</b>	16,6±2,6	58,3±0,8	2,7±0,8	5,6±1,3	5,0±1,5	11,5±2,5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>17Q</b>	21,7±1,6	55,4±3,1	1,1±0,2	14,5±3,2	3,2±0,6	4,1±0,8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>13R</b>	ND	37,3±3,3	ND	39,8±1,1	21,4±2,2	ND	1,2±0,2	< 0,5	ND	ND	ND	ND	ND
<b>15R</b>	6,8±1,6	30,3±4,1	0,9±0,3	35,4±3,8	25,0±5,8	ND	1,4±0,6	ND	< 0,5	ND	ND	ND	ND
<b>17R</b>	5,2±3,3	28,1±7,2	< 0,5	41,9±3,0	23,8±8,4	ND	0,5±0,2	ND	< 0,5	ND	ND	ND	ND
<b>FPH</b>	15,5±3,9	70,6±3,2	1,2±0,5	9,0±2,2	< 0,5	ND	ND	2,0±1,0	< 0,5	0,9±0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: ND: Não Detectado.

Na análise por EDS, a amostra de FPH apresentou um teor de carbono de 71%, sendo esse maior que na análise elementar (49,83%). A EDS detectou a presença de outros elementos na amostra de FPH, como o sódio, flúor, cálcio, silício, fósforo, potássio, ferro e zinco, que juntos somaram um teor de aproximadamente 4%. Com isso, a presença desses elementos pode estar relacionada ao processo de produção da FPH.

#### 5.2.6 Reflexão Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR-FTIR) das amostras de queratina, resíduo e FPH

Khumalo, Sithole e Tesfaye (2020) analisaram, por ATR-FTIR, a queratina extraída das penas de frango e notaram bandas vibracionais que correspondem a múltiplos grupos amida. O Quadro 2 apresenta a relação entre os grupos funcionais e as bandas correspondentes, baseando-se na literatura (KAKKAR *et al.*, 2014; KHUMALO; SITHOLE; TESFAYE, 2020). A Figura 27 apresenta os resultados da análise de ATR-FTIR, indicando as bandas vibracionais da FPH, queratina e resíduo.

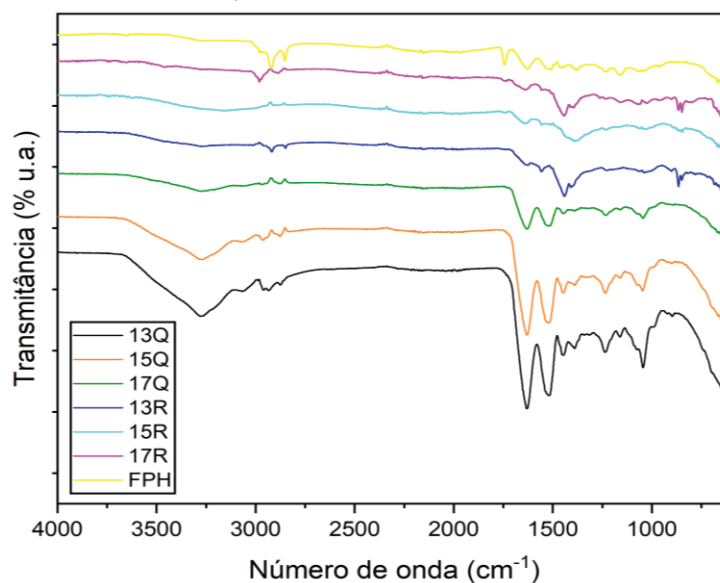
QUADRO 2 – BANDAS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO E OS GRUPOS FUNCIONAIS CARACTERÍSTICOS DA PROTEÍNA

<b>Grupo funcional característico</b>	<b>Banda de absorção (cm<sup>-1</sup>)</b>
Amida A (N – H)	3359
Amida B	2919
Amida I (C – O)	1650
Amida II (N – H & C – H)	1542
Amida III (C – N)	1242
1 íon tiosulfato	1000
Amida IV	623
Ligações dissulfeto	550

FONTE: Adaptado de (KAKKAR *ET AL.*, 2014; KHUMALO; SITHOLE; TESFAYE, 2020).



FIGURA 27 – GRÁFICO DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO DAS AMOSTRAS DE FPH, QUERATINA E RESÍDUO



FONTE: O autor (2022).

Kakkar *et al.* (2014) observaram algumas relações entre as bandas de absorção e os grupos funcionais característicos da queratina. Eles relataram que o grupamento Amida A tem banda próximo a  $3359\text{ cm}^{-1}$  devido às vibrações de alongamento das ligações de N – H; já a banda da Amida I é próxima a  $1650\text{ cm}^{-1}$  devido às vibrações de alongamento das ligações C – O. Para o grupamento Amida II, as bandas foram observadas próximas a  $1542\text{ cm}^{-1}$  devido à flexão N – H e às vibrações de alongamento das ligações de C – H. Próximo a  $1242\text{ cm}^{-1}$ , pode ser observada a banda da Amida III devido à combinação de fases de alongamento C – N e N – H.

As amostras de FPH, resíduo e queratina apresentaram bandas vibracionais em regiões próximas, como exemplo, a banda vibracional próxima a  $1000\text{ cm}^{-1}$  (grupamento 1 íon tiosulfato),  $1542\text{ cm}^{-1}$  (Amida II (N – H & C – H)) e  $2919\text{ cm}^{-1}$  (Amida B). Uma característica presente nas amostras de queratina foi a presença do grupamento Amida A (N – H) na região vibracional próxima a  $3359\text{ cm}^{-1}$ . Além disso, pode-se observar que as amostras de queratina apresentaram bandas vibracionais semelhantes, indicando que as estruturas da proteína se conservam independente das condições de extração (KHUMALO; SITHOLE; TESFAYE, 2020).



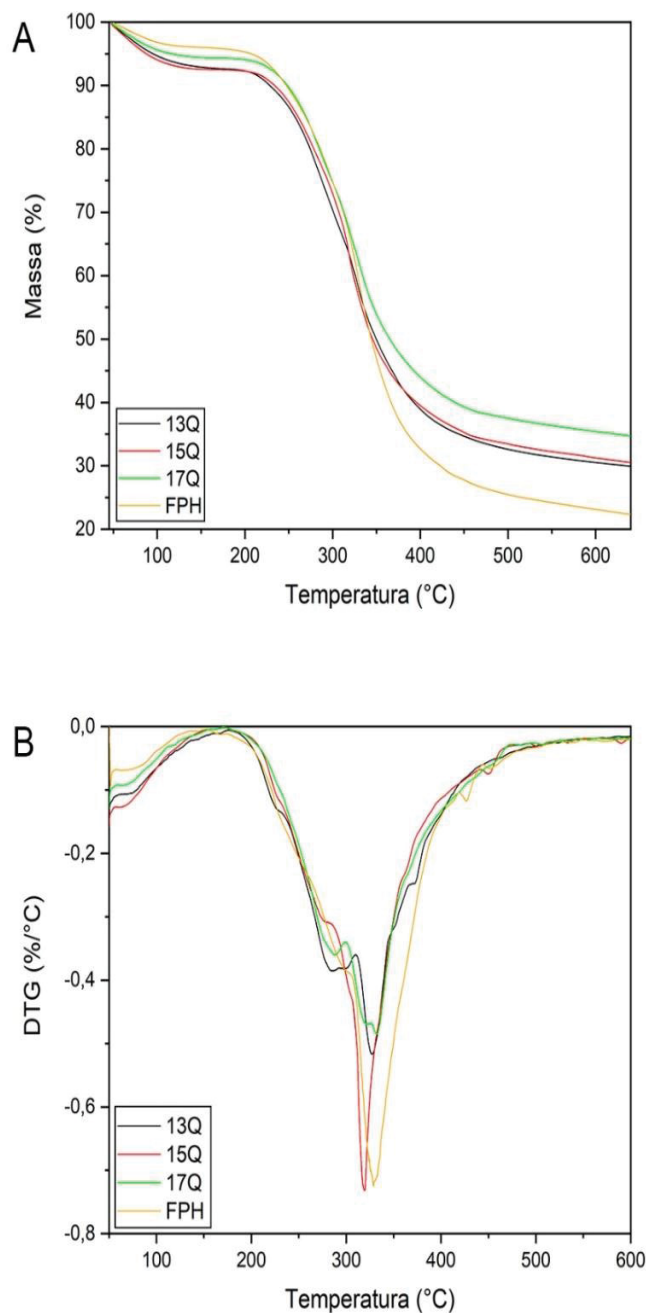
### 5.2.7 Análise Termogravimétrica (ATG) e Termogravimetria Derivada (DTG) das amostras de queratina, resíduo e FPH

A estabilidade térmica das amostras de FPH, queratina e resíduo foi investigada por ATG. Como pode ser visualizada na Figura 28A, a perda de massa para as amostras de queratina 13Q, 15Q e 17Q foi de 70,1%, 69,5% e 65,7%, respectivamente; e a perda de massa para amostra de FPH foi de 77,69%.

Na Figura 28B, podem ser visualizados os eventos de degradação térmica para as amostras de queratina e FPH. Para as amostras de queratina, o primeiro evento térmico ocorreu próximo a 60 °C devido à perda de umidade das moléculas de queratina. A segunda etapa, entre 215 e 350 °C, indica uma possível degradação térmica da proteína, e essa perda de massa pode estar relacionada à desnaturação térmica das ligações peptídicas e da cadeia proteica (TESFAYE *et al.*, 2018). A terceira etapa, entre 350 e 500 °C, pode estar relacionada à decomposição de partículas maiores e frações de queratina com estabilidade térmica mais alta, como as ligações de dissulfeto e cadeias polipeptídicas compactas na forma de folhas  $\beta$  (ALAHYARIBEIK; ULLAH, 2020).

Para a amostra de FPH, foi observado um processo de degradação térmica em três etapas. O primeiro evento térmico ocorreu abaixo de 100 °C, indicando uma possível perda de água; a segunda perda de massa ocorreu aproximadamente entre 200 e 400 °C, o que pode ser atribuída à degradação da cadeia proteica e liberação de dióxidos de enxofre e sulfeto de hidrogênio devido à quebra das ligações dissulfeto (ALAHYARIBEIK; ULLAH, 2020; SHARMA *et al.*, 2017); já o terceiro evento ocorreu entre 400 e 600 °C. Segundo Tesfaye *et al.* (2018), é nessa última etapa que ocorre a degradação completa do material.

FIGURA 28 – A) ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (ATG) E; B) TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) DAS AMOSTRAS DE QUERATINA E FPH



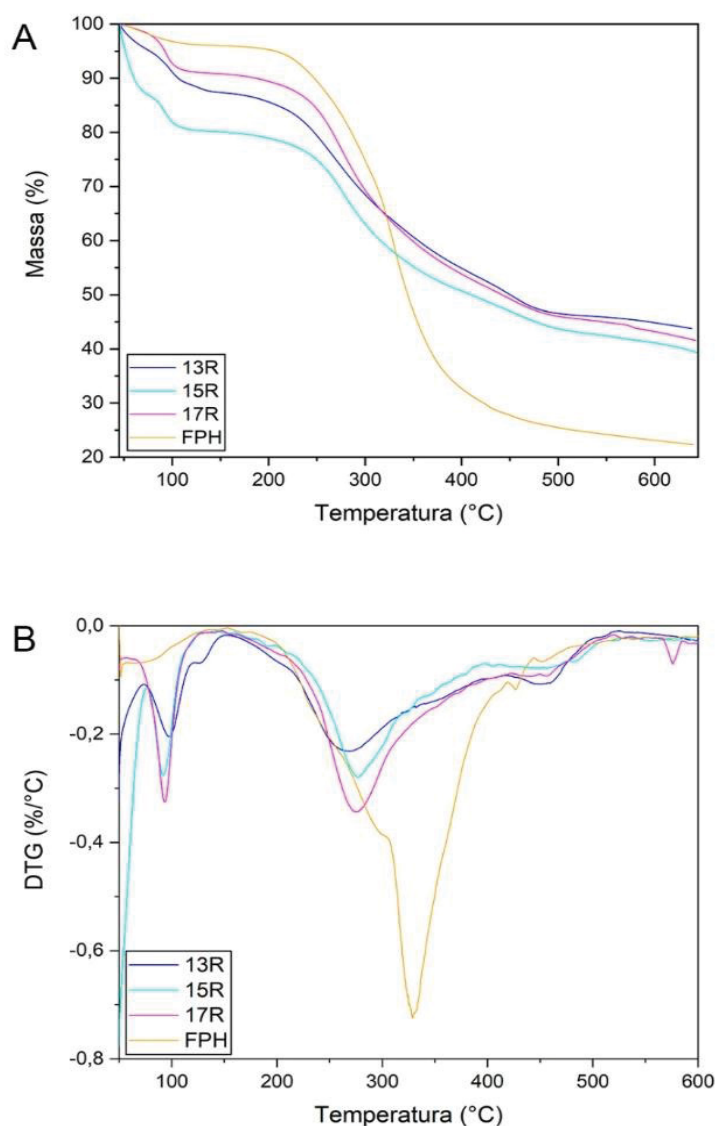
FONTE: O autor (2022).

Pode ser observado, na Figura 28B, que a amostra de FPH e a amostra de queratina 15Q apresentaram maior degradação do que as outras amostras no evento térmico próximo a 320 °C. Esse evento pode estar relacionado à degradação das moléculas da cadeia proteica, liberação de dióxido de enxofre e sulfeto de hidrogênio devido à quebra de ligações dissulfeto (SHARMA *et al.*, 2017).

A Figura 29A apresenta a perda de massa para as amostras de resíduo 13R, 15R e 17R, que foi de 56,3%, 58,47% e 60,62%, respectivamente. Também pode ser visualizada a perda de massa para amostra de FPH, que foi de 77,69%.

A Figura 29B apresenta os eventos térmicos para as amostras de resíduo. Foi observado um processo de degradação térmica em três etapas: (1) o primeiro evento ocorreu próximo a 100 °C, indicando à perda de água; (2) a segunda etapa ocorreu entre 240 e 400 °C, indicando a decomposição parcial da proteína; e (3) o terceiro evento ocorreu entre 400 e 600 °C, indicando a degradação completa do resíduo.

FIGURA 29 – A) ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (ATG) E; B) TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) DAS AMOSTRAS DE RESÍDUO E FPH



FONTE: O autor (2022).

### 5.2.8 ANÁLISES DE CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUERATINA, APÓS DESPOLIMERIZAÇÃO

Foram realizadas análises de DRX, TEM, MEV, EDS, ATG, DLS e GPC para avaliar as propriedades físicas, químicas e morfológicas das amostras de queratina que passaram pelos processos de choque térmico e moagem. Dessa forma, as amostras de queratina foram identificadas com o número da corrida seguido da letra Q, como pode ser observado no Quadro 3.

QUADRO 3 – CARACTERÍSTICAS DAS AMOSTRAS DE QUERATINA – A TEMPERATURA REPRESENTA O VALOR MÁXIMO DO CHOQUE TÉRMICO

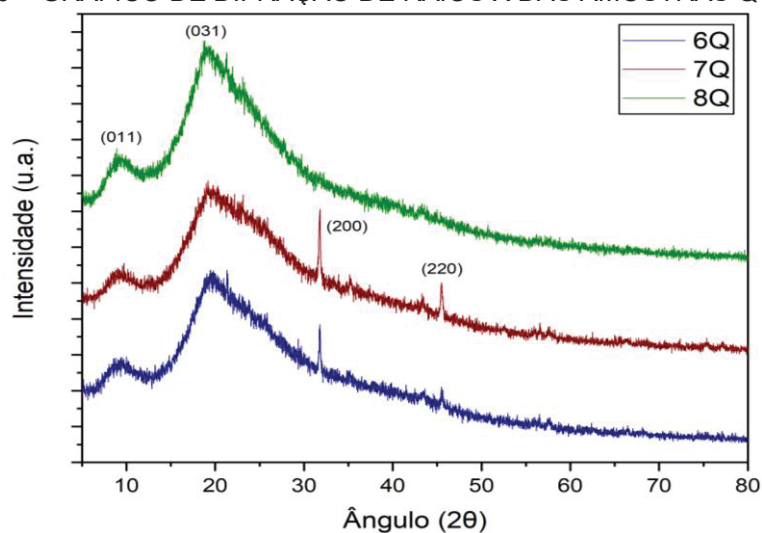
Amostra	Característica
6Q	Amostra controle
7Q	Choque térmico realizado a 50 °C
8Q	Choque térmico realizado a 100 °C

FONTE: O autor (2022).

### 5.2.9 Difração de raios X (DRX) das amostras de queratina

Segundo Tesfaye *et al.* (2017), a cristalinidade presente na queratina das penas de aves desempenha um papel importante para suas propriedades físicas, como resistência e rigidez. Como pode ser observado na Figura 30, as amostras avaliadas exibiram um padrão de difração em comum, apresentando um pico de difração em 9° e outro em 19°, indicando a presença de estruturas  $\alpha$ -hélice e folhas  $\beta$ -pregueadas, respectivamente.

FIGURA 30 – GRÁFICO DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X DAS AMOSTRAS QUERATINA



FONTE: O autor (2022).

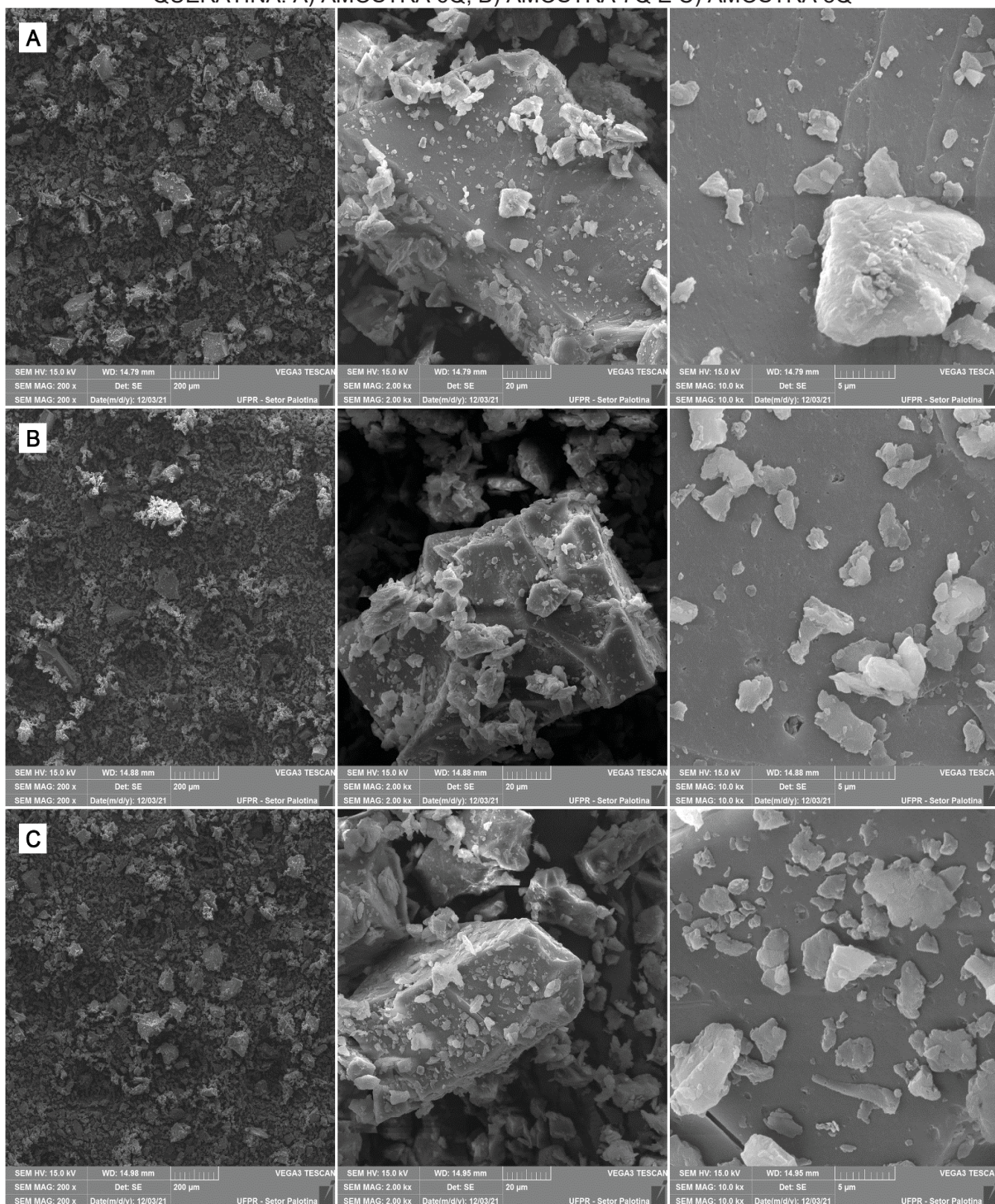
Além disso, observou-se que todas as amostras de queratina, quando comparadas à análise de DRX do planejamento experimental (SEÇÃO 5.2.2), tiveram uma redução perceptível de regiões cristalinas, indicando que a etapa de lavagem executada na ampliação de escala apresentou efeitos positivos para redução de NaCl nas amostras.

#### 5.2.10 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com o Acessório de Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS) das amostras de queratina

A morfologia das amostras de queratina também foi explorada por análise de MEV. As imagens da amostra 6Q são apresentadas na Figura 31, na amostra 7Q, na Figura 31B, na amostra 8Q, e na Figura 31C. Como pode ser observado, as amostras de queratina exibiram um padrão semelhante em todas as ampliações (200, 2000 e 10000 vezes). Na ampliação de 200 vezes, as amostras apresentaram-se na forma de micropartículas bem compactadas e não uniformes; já nas imagens com o aumento de 2000 e 10000 vezes, é possível observar micropartículas de queratina de diferentes tamanhos dispostas de forma não uniforme.



FIGURA 31 – IMAGENS DE MEV EM DIFERENTES AMPLIAÇÕES DAS AMOSTRAS DE QUERATINA. A) AMOSTRA 6Q; B) AMOSTRA 7Q E C) AMOSTRA 8Q



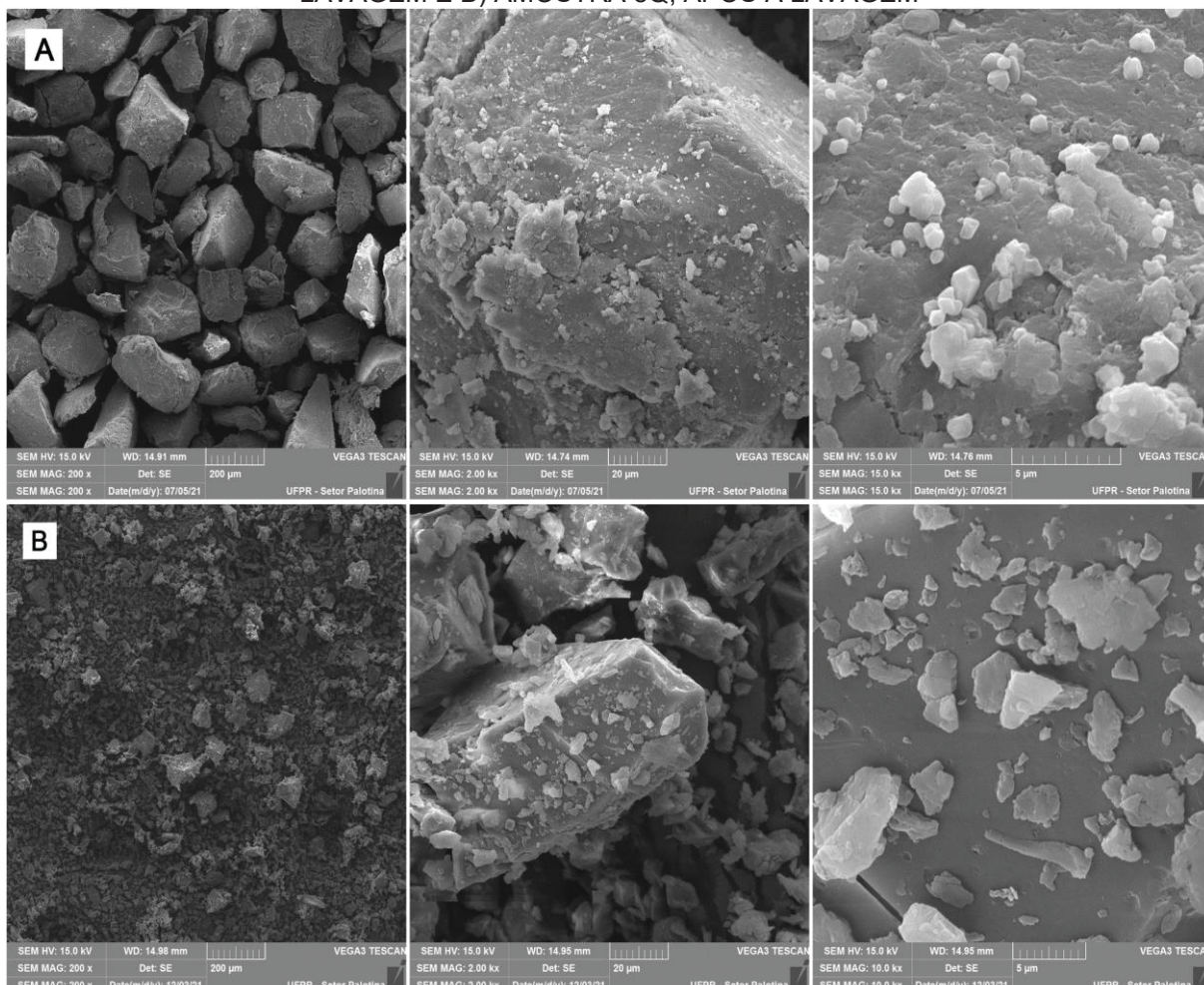
FONTE: O autor (2022).

Além disso, é possível observar que as amostras de queratina apresentadas na Figura 31 tiveram uma redução perceptível de cristais (NaCl) presentes nas superfícies das amostras. Isso difere da superfície da amostra de queratina apresentada na Figura 26A, onde era visível a presença do sal inorgânico através de regiões cristalinas. Para facilitar a visualização, a Figura 32 apresenta uma amostra



antes da etapa de lavagem e uma amostra do após essa etapa. Dessa forma, a etapa de lavagem apresentou-se eficiente no processo de extração de queratina das penas de aves.

FIGURA 32 – IMAGENS DE MEV EM DIFERENTES AMPLIAÇÕES. A) AMOSTRA 13Q, ANTES DA LAVAGEM E B) AMOSTRA 8Q, APÓS A LAVAGEM



FONTE: O autor (2022).

- *Espectroscopia por Energia Dispersiva (EDS)* das amostras de queratina

Depois da análise de MEV, foi realizada a técnica semiquantitativa e complementar EDS. A Tabela 8 mostra a composição elementar das amostras de queratina analisadas. Nessa análise, torna-se mais evidente a redução de NaCl nas amostras de queratina, pois elas apresentaram um teor médio de Na de 1% e Cl de 1,6% comparado ao planejamento experimental, representando uma redução de 3,3% para Na e de 5,4% para o Cl.

TABELA 8 – ANÁLISE ELEMENTAR DAS AMOSTRAS DE QUERATINA

Amostra	N (%)	C (%)	S (%)	O (%)	Na (%)	Cl (%)
6Q	18,9±1,4	58,0±1,8	2,0±0,5	19,0±1,9	0,8±0,1	1,3±0,4
7Q	17,8±0,6	57,1±0,2	1,2±0,1	20,9±1,6	1,3±0,2	1,7±0,5
8Q	20,4±1,5	62,3±1,7	1,9±0,8	12,7±1,6	1,0±0,2	1,7±0,5

FONTE: O autor (2022).

Também é possível observar, na Tabela 8, um teor médio de 1,7% de S e 19,1% de N nas amostras de queratina, o que pode estar relacionado com a presença da cisteína e dos outros aminoácidos da proteína, respectivamente. Além desses elementos, as amostras de queratina apresentaram um teor médio de C de 59,2% e O de 17,5%. As áreas avaliadas estão apresentadas no Apêndice 3 deste trabalho.

#### 5.2.11 Análise Termogravimétrica (ATG) e Termogravimetria Derivada (DTG) das amostras de queratina

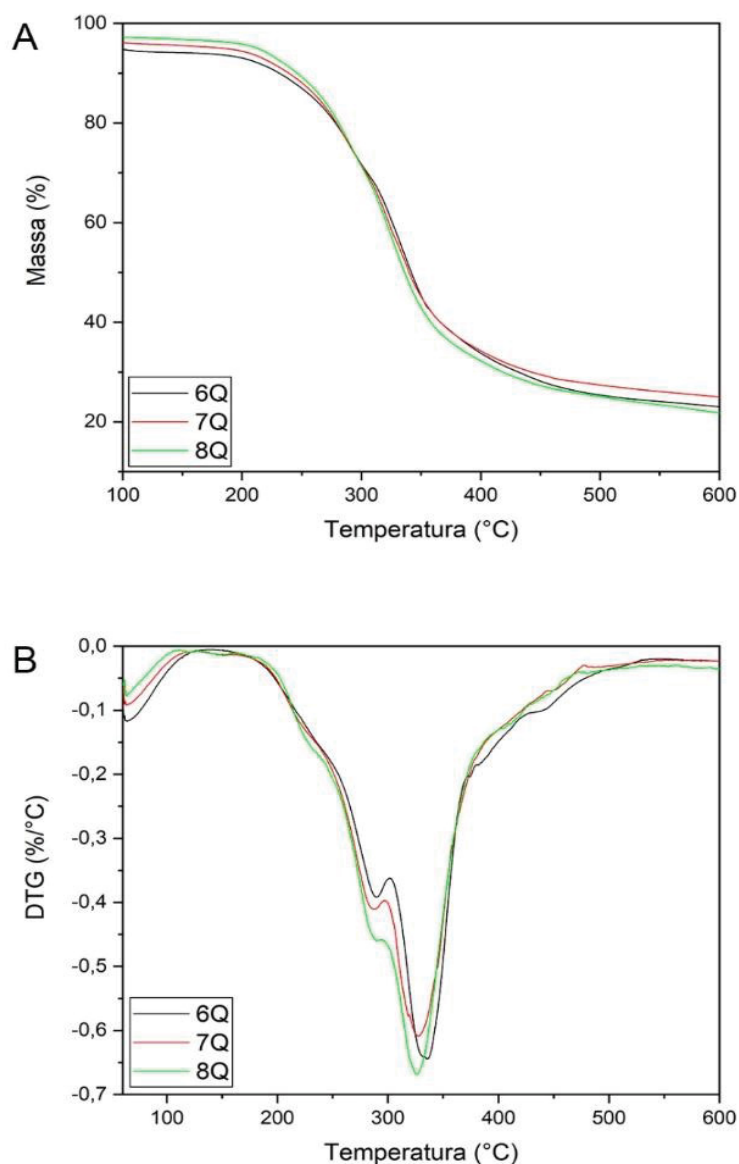
A estabilidade térmica das amostras de queratina foi investigada por ATG. Como pode ser visualizada na Figura 33A, a perda de massa para as amostras de queratina 6Q, 7Q e 8Q foi de 77,7%, 75,7% e 79,2%, respectivamente.

Na Figura 33B, podem ser visualizados os eventos de degradação térmica para as amostras de queratina. O primeiro evento térmico ocorreu próximo a 50 °C devido à perda de umidade das moléculas de queratina; a segunda etapa ocorreu entre 200 e 400 °C, indicando uma possível degradação térmica da proteína; e a terceira etapa ocorreu entre 400 e 600 °C, podendo estar relacionada à decomposição de partículas maiores de queratina com estabilidade térmica mais alta.

Como pode ser observada nas Figuras 33A e 33B, a amostra 7Q apresentou uma perda de massa e uma degradação térmica menor que as amostras 6Q e 8Q, indicando maior estabilidade térmica da amostra.



FIGURA 33 – A) ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (ATG) E; B) TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) DAS AMOSTRAS DE QUERATINA



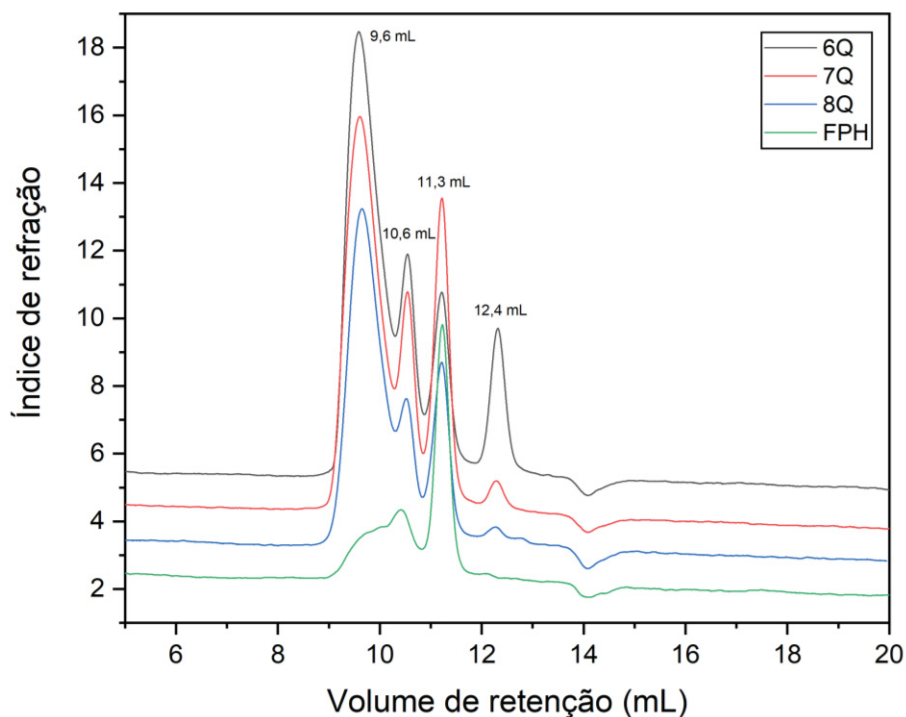
FONTE: O autor (2022).

A

### 5.2.12 Cromatografia por Permeação em Gel (GPC) das amostras de queratina

Para avaliar a massa molar das amostras de queratina, foi realizada a análise de cromatografia por permeação em gel. Segundo Fujii e Li (2008), a  $\beta$ -queratina (principal estrutura encontrada nas penas das aves) possui uma massa molar de aproximadamente  $10 \text{ g mol}^{-1}$ . Nesse estudo, as amostras de queratina 6Q, 7Q e 8Q apresentaram uma massa molar de 8.938, 8.900 e 8.022  $\text{g mol}^{-1}$ , respectivamente. A Figura 34 apresenta o gráfico de volume de eluição para as amostras de queratina.

FIGURA 34 – GRÁFICO DE VOLUME DE ELUIÇÃO PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA



FONTES: O autor (2022).

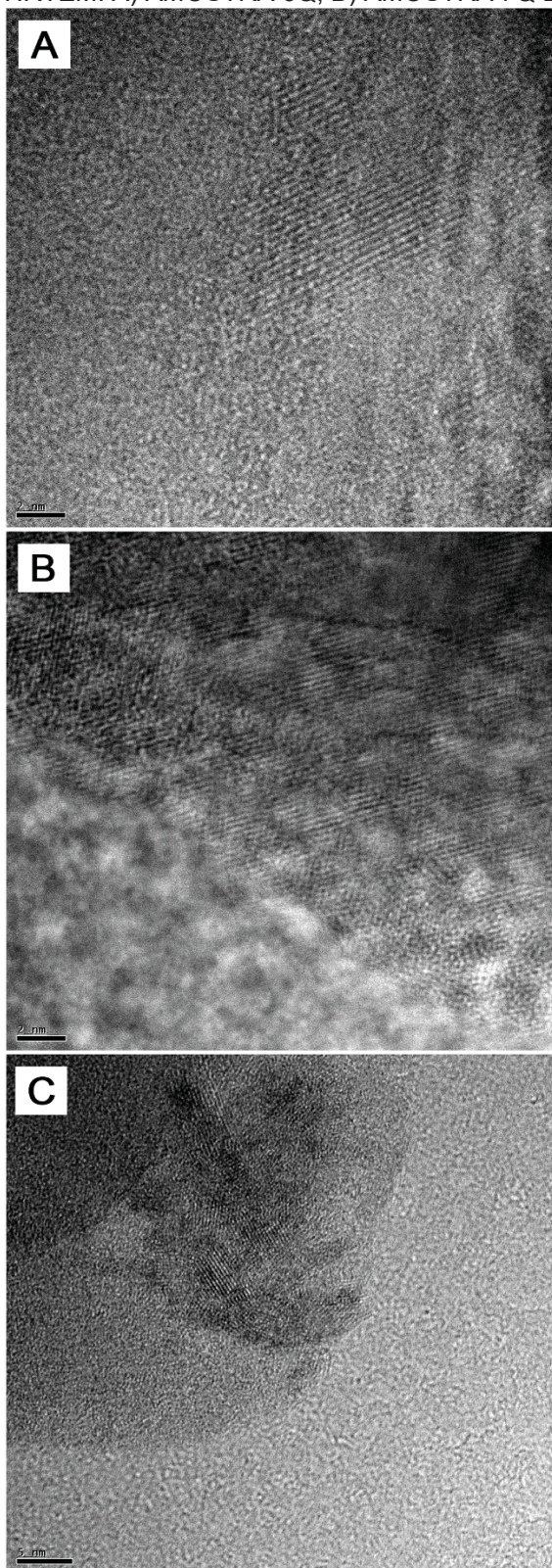
Como podem ser observados na Figura 34, os picos 1 possuem volumes de eluição de 9,6 mL, que representam a massa molar das amostras de queratina. O menor pico representa a amostra de queratina 8Q, que possui a menor massa molar, seguido da amostra 7Q e 6Q. Por sua vez, os picos 2, 3 e 4 possuem volumes de eluição de 10,6 mL, 11,3 mL e 12,4 mL, respectivamente, e representam uma amostra de menor massa molar que a queratina, que não espalhou luz, além de um volume total da coluna, contendo ainda resquícios de NaCl, e algum componente da amostra que interagiu entalpicamente com a coluna, eluindo após o volume total dela. O sinal invertido representa um artefato do viscosímetro.

### 5.2.13 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) das amostras de queratina

A morfologia das amostras de queratina também foi explorada através das micrografias HRTEM. A micrografia da amostra 6Q é apresentada na Figura 35A, na amostra 7Q, na Figura 35B, na amostra 8Q, e na Figura 35C. Como pode ser observado na Figura 35, todas as micrografias de queratina apresentaram domínios cristalinos com diferentes orientações e tamanhos, associados em uma matriz amorfa.

As micrografias das amostras de queratina mostraram partículas com diâmetros entre 5 e 20 nm. É possível observar, através das análises de TEM, DLS e SEC, que as amostras de queratina apresentaram características muito semelhantes entre si, destacando a amostra 6Q, que além da baixa massa molar ( $< 9$  kDa), apresentou maior concentração no diâmetro de partículas entre 5 e 15 nm, como pode ser visualizado na Figura 36A.

FIGURA 35 – MORFOLOGIA DAS AMOSTRAS DE QUERATINA EXPLORADAS ATRAVÉS DAS MICROGRAFIAS HRTEM. A) AMOSTRA 6Q; B) AMOSTRA 7Q E C) AMOSTRA 8Q

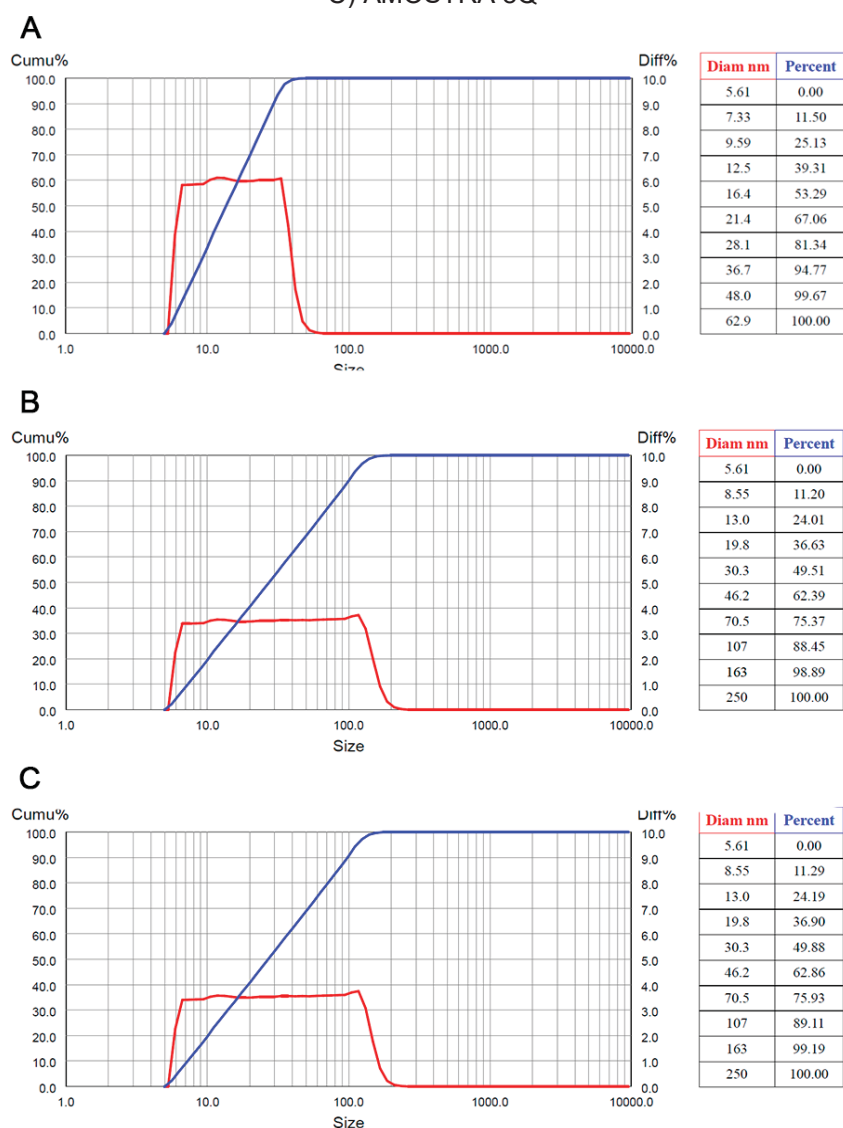


FONTE: O autor (2022).

### 5.2.14 Determinação do Diâmetro Hidrodinâmico por Dispersão Dinâmica de Luz (*Dynamic Light Scattering, DLS*) das amostras de queratina

O diâmetro hidrodinâmico das partículas presentes na solução de queratina foi avaliado através da análise de DLS. Os resultados obtidos para o número de partículas demonstrado na Figura 36 mostraram que as amostras de queratina, quando foram colocadas em meio básico, apresentaram maior concentração de diâmetros de partículas entre 5 e 200 nm.

FIGURA 36 – DETERMINAÇÃO DO DIÂMETRO HIDRODINÂMICO POR DISPERSÃO DINÂMICA DE LUZ PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA. A) AMOSTRA 6Q; B) AMOSTRA 7Q; C) AMOSTRA 8Q



FONTE: O autor (2022).

Como pode ser observado na Figura 36A, a queratina extraída da FPH, quando colocada em meio básico (NaOH 0,1 M L<sup>-1</sup>), apresentou pequenas partículas com diâmetro menor que 15 nm. Esse resultado pode estar relacionado ao processamento em que a FPH é submetida em sua produção, podendo já ter ocasionado a despolimerização da proteína. Já as amostras 7Q e 8Q (também em meio básico, NaOH 0,1 M L<sup>-1</sup>), conforme Figuras 36B e 36C, apresentaram partículas com um diâmetro médio de aproximadamente 30 nm, indicando que o processo de choque térmico seguido de moagem não apresentou efeitos positivos para despolimerização da queratina, pois o material já se encontrava com uma baixa massa molar (< 9 kDa) e pequeno diâmetro de partícula (entre 5 e 15 nm).

## 6 CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou que é possível extrair queratina a partir da farinha de penas de frango por hidrólise alcalina. Para encontrar as melhores condições de extração da queratina, foi realizado um planejamento experimental, no qual foi possível alcançar um rendimento de queratina de 20% em temperatura de 15 °C, concentração de NaOH de 2 M e tempo de extração de 90 min.

A partir dos resultados das análises de caracterização (DRX, MEV, EDS, ATR-FTIR, análise elementar e ATG), foi possível observar propriedades físicas, químicas e morfológicas semelhantes entre as amostras de queratina extraídas, indicando que, nas condições avaliadas, as amostras não apresentaram diferenças em suas características.

O processo de choque térmico seguido de moagem não apresentou resultados expressivos na despolimerização da queratina, visto que a proteína possivelmente já estava despolimerizada. Esse resultado pode estar relacionado ao processamento em que a FPH é submetida em sua produção. Dessa forma, foi possível visualizar, nas análises de caracterização da queratina (DLS, SEC e MET), um diâmetro médio inferior a 16 nm e massa molar menor que 9 kDa. Além disso, também foi possível identificar, pela análise MET, domínios cristalinos com diâmetros entre 5 e 15 nm.

Portanto, este estudo representa um avanço importante para o reaproveitamento de resíduos da indústria avícola, pois, além de agregar valor ao material gerado e reduzir os impactos causados ao meio ambiente, esse método apresenta um grande potencial para ser reproduzido em escala industrial, uma vez que essa técnica apresenta maiores facilidades para controlar as variáveis envolvidas no processo de extração (temperatura, tempo e concentração de NaOH).



## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) Estudar as características do resíduo gerado no processo de extração da queratina (análise de perfil de aminoácidos), visando sua aplicação para produção de ração animal;
- b) Realizar um estudo sobre o processo de produção da farinha de penas de frango;
- c) Ampliar a escala de extração de queratina da FPH;
- d) Estudar o reuso dos reagentes utilizados no processo de extração da queratina.

## REFERÊNCIAS

ADHIKARI, B.; CHAE, M.; BRESSLER, D. Utilization of Slaughterhouse Waste in Value-Added Applications: Recent Advances in the Development of Wood Adhesives. **Polymers**, v. 10, n. 2, p. 176, 11 Feb. 2018. DOI: 10.3390/polym10020176. Available at: <https://www.mdpi.com/2073-4360/10/2/176>.

ALAHYARIBEIK, S.; ULLAH, A. Methods of keratin extraction from poultry feathers and their effects on antioxidant activity of extracted keratin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, p. 449–456, Apr. 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.144. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.144>.

ALVES, H. J. *et al.* Chitosan Depolymerization and Nanochitosan Production Using a Single Physical Procedure. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 26, n. 9, p. 3913–23, 16 Sep. 2018. DOI: 10.1007/s10924-018-1267-7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s10924-018-1267-7>.

ALVES, H. J. *et al.* Alternative methods for the pilot-scale production and characterization of chitosan nanoparticles. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 9, p. 10977–87, 27 Mar. 2021. DOI: 10.1007/s11356-020-11343-5. Available at: <https://link.springer.com/10.1007/s11356-020-11343-5>.

ABPA. **Relatório Anual 2021**. São Paulo, 2021. 75p. Disponível em: [https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA\\_Relatorio\\_Anual\\_2021\\_web.pdf](https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf). Acesso em: 05 maio 2021.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. [S. l.: s. n.], 2001.

BELLAVER, C. Uso de resíduos de origem animal na alimentação de frangos de corte. **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, p. 6–22, 2002. Available at: [http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/anais0204\\_bsa\\_bellaver.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais0204_bsa_bellaver.pdf).

BLAKE, J. P. Methods and technologies for handling mortality losses. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 4, p. 489–499, 1 Dec. 2004. DOI: 10.1079/WPS200432. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1079/WPS200432>.

BLAKE, J. P.; DONALD, J. O. Alternatives for the Disposal of Poultry Carcasses. **Poultry Science**, v. 71, n. 7, p. 1130–1135, Jul. 1992. DOI: 10.3382/ps.0711130. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119336302>.

BRANDELLI, A.; SALA, L.; KALIL, S. J. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. **Food Research International**, v. 73, p. 3–12, Jul. 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.01.015. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.015>.

CALLEGARO, K.; BRANDELLI, A.; DAROIT, D. J. Beyond plucking: Feathers

bioprocessing into valuable protein hydrolysates. **Waste Management**, v. 95, p. 399–415, Jul. 2019. DOI: 10.1016/j.wasman.2019.06.040. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956053X19304283>.

CAO, Y. *et al.* Tunable keratin hydrogel based on disulfide shuffling strategy for drug delivery and tissue engineering. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 544, p. 121–129, May 2019. DOI 10.1016/j.jcis.2019.02.049. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979719302231>.

CHAITANYA REDDY, C. *et al.* Valorization of keratin waste biomass and its potential applications. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, no. May 2020, p. 101707, Apr. 2021. DOI: 10.1016/j.jwpe.2020.101707. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101707>.

CHILAKAMARRY, C. R. *et al.* Extraction and application of keratin from natural resources: a review. **3 Biotech**, v. 11, n. 5, p. 220, 16 May 2021. DOI: 10.1007/s13205-021-02734-7. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02734-7>.

CHOWDHURY, E. U.; MOREY, A. Intelligent Packaging for Poultry Industry. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 4, p. 791–800, Dec. 2019. DOI: 10.3382/japr/pfz098. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1056617119322457>.

DAS, A. *et al.* Newer guar gum ester/chicken feather keratin interact films for tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 180, p. 339–354, Jun. 2021. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.03.034. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.034>.

DIANE BELUSSO; ANTONIO NIVALDO HESPANHOL. A evolução da Avicultura Industrial Brasileira e seus efeitos territoriais. **Revista Percurso**, v 2, n. 1, p. 25–51, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/revpercurso.v2i1.9855>. Acesso em: 12 maio 2021.

DOU, Y. *et al.* Preparation and Physicochemical Properties of Dialdehyde Starch Crosslinked Feather Keratin/PVA Composite Films. **Journal of Macromolecular Science, Part A**, v. 51, n. 12, p. 1009–1015, 2 Dec. 2014. DOI: 10.1080/10601325.2014.967108. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10601325.2014.967108>.

ESPARZA, Y. *et al.* Hydrogels from feather keratin show higher viscoelastic properties and cell proliferation than those from hair and wool keratins. **Materials Science and Engineering: C**, v 90, n. April, p. 446–453, Sep. 2018. DOI: 10.1016/j.msec.2018.04.067. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.067>.

ESPARZA, Y. *et al.* Preparation and characterization of thermally crosslinked poly(vinyl alcohol)/feather keratin nanofiber scaffolds. **Materials & Design**, v. 133, p. 1–9, Nov. 2017. DOI: 10.1016/j.matdes.2017.07.052. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matdes.2017.07.052>.

FAGBEMI, O. D.; SITHOLE, B.; TESFAYE, T. Optimization of keratin protein extraction from waste chicken feathers using hybrid pre-treatment techniques.

**Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 17, p. 100267, Sep. 2020. DOI:

10.1016/j.scp.2020.100267. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100267>.

FEROZ, S. *et al.* Keratin - Based materials for biomedical applications. **Bioactive**

**Materials**, v. 5, n. 3, p. 496–509, Sep. 2020. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2020.04.007.

Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.04.007>.

FUJII, T.; LI, D. Preparation and properties of protein films and particles from chicken feather. **Journal of biological macromolecules**, v. 8, n. 2, p. 48–55, 2008.

GOBBO, L. de A. **Aplicação da difração de raios X e método de Rietveld no estudo do cimento Portland**. 2009. 273f. Tese (Doutorado em Recursos Minerais e Meio Ambiente) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

GREENWOLD, M. J.; SAWYER, R. H. Genomic organization and molecular phylogenies of the beta ( $\beta$ ) keratin multigene family in the chicken (*Gallus gallus*) and zebra finch (*Taeniopygia guttata*): implications for feather evolution. **BMC**

**Evolutionary Biology**, v. 10, n. 1, p. 148, 2010. DOI: 10.1186/1471-2148-10-148.

Available at: <http://bmcevolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-10-148>.

HOLKAR, C. R. *et al.* Valorization of keratin based waste. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 115, p. 85–98, Apr. 2018. DOI:

10.1016/j.psep.2017.08.045. Available at:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.2017.08.045>.

IBGE. **Estatística da Produção Pecuária – Indicadores IBGE**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

IBGE. **Banco de Tabelas Estatísticas – SIDRA**. Rio de Janeiro:

IBGE, 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/abate/brasil>. Acesso em: 17 ago. 2021.

ZENEBON, Odair; PASCUET, Neus Sadocco. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 2008. p. 1020.

JAYATHILAKAN, K. *et al.* Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. **Journal of Food Science and**

**Technology**, v. 49, n. 3, p. 278–293, 20 Jun. 2012. DOI: 10.1007/s13197-011-0290-

7. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-011-0290-7>.

Jl, Y. *et al.* Extraction of keratin with ionic liquids from poultry feather. **Separation and Purification Technology**, v. 132, p. 577–583, Aug. 2014. DOI:

10.1016/j.seppur.2014.05.049. Available at:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2014.05.049>.

BEZERRA JÚNIOR, C. A. **Fabricação de Compósitos da Liga de Alumínio**

**AA2124 com Reforço de Nitreto de Silício Através de Técnicas de Metalurgia do Pó.** 2013. Dissertação (Mestrado de Engenharia Mecânica) – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, 2013.

KAKKAR, P. *et al.* Development of keratin–chitosan–gelatin composite scaffold for soft tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 45, p. 343–347, Dec. 2014. DOI: 10.1016/j.msec.2014.09.021. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493114005918>.

KARUPPANNAN, S. K. *et al.* Application of poultry industry waste in producing value-added products—A review. **Concepts of Advanced Zero Waste Tools**. [S. l.]: Elsevier, 2021. p. 91–121. DOI: 10.1016/B978-0-12-822183-9.00005-2. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-822183-9.00005-2>.

KHUMALO, M.; SITHOLE, B.; TESFAYE, T. Valorisation of waste chicken feathers: Optimisation of keratin extraction from waste chicken feathers by sodium bisulphite, sodium dodecyl sulphate and urea. **Journal of Environmental Management**, v. 262, p. 110329, May 2020. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.110329. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110329>.

LEI, Z. *et al.* Introduction: Ionic Liquids. **Chemical Reviews**, v. 117, n. 10, p. 6633–6635, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00246>. Acesso em: 22 maio 2021.

LU, T.; LI, Y.; CHEN, T. Techniques for fabrication and construction of three-dimensional scaffolds for tissue engineering. **International Journal of Nanomedicine**, v. 8, p. 337, Jan. 2013. DOI 10.2147/IJN.S38635. Available at: <http://www.dovepress.com/techniques-for-fabrication-and-construction-of-three-dimensional-scaff-peer-reviewed-article-IJN>.

MARIA MARTELLI, S. *et al.* Influence of plasticizers on the water sorption isotherms and water vapor permeability of chicken feather keratin films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 292–301, Apr. 2006. DOI 10.1016/j.lwt.2004.12.014. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643805000095>.

MCGAURAN, T. *et al.* Feasibility of the use of poultry waste as polymer additives and implications for energy, cost and carbon. **Journal of Cleaner Production**, v. 291, p. 125948, Apr. 2021. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.125948. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.125948>.

MCKITTRICK, J. *et al.* The Structure, Functions, and Mechanical Properties of Keratin. **JOM**, v. 64, n. 4, p. 449–468, 3 Apr. 2012. DOI: 10.1007/s11837-012-0302-8. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11837-012-0302-8>.

MCLELLAN, J. *et al.* **Keratin as a Protein Biopolymer**. Cham: Springer International Publishing, 2019 (Springer Series on Polymer and Composite Materials). DOI: 10.1007/978-3-030-02901-2. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-02901-2>.

MOGOSANU, G.; GRUMEZESCU, A.; CHIFIRIUC, M. Keratin-Based Biomaterials

for Biomedical Applications. **Current Drug Targets**, v. 15, n. 5, p. 518–530, Apr. 2014. DOI: 10.2174/1389450115666140307154143. Available at: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1389-4501&volume=15&issue=5&spage=518>.

MORRIS, D. L.; JUDY, J. V.; KONONOFF, P. J. Use of indirect calorimetry to evaluate utilization of energy in lactating Jersey dairy cattle consuming diets with increasing inclusion of hydrolyzed feather meal. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 5, p. 4206–17, May 2020. DOI: 10.3168/jds.2019-17762. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030220302149>.

NAGAI, Y.; NISHIKAWA, T. Alkali Solubilization of Chicken Feather Keratin. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 34, n. 1, p. 16–22, 9 Jan. 1970. DOI: 10.1080/00021369.1970.10859572. Available at: <https://academic.oup.com/bbb/article/34/1/16-22/5977992>.

NAYAK, K. K.; GUPTA, P. In vitro biocompatibility study of keratin/agar scaffold for tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 1–10, Nov. 2015. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.07.025. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.07.025>.

NOGUCHI, T. Fourier transform infrared analysis of the photosynthetic oxygen-evolving center. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 252, n. 3–4, p. 336–346, Feb. 2008. DOI: 10.1016/j.ccr.2007.05.001. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001085450700121X>.

OLIVEIRA, D. R. M. S. *et al.* Summary for Policymakers. *In*: INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (ed.). **Climate Change 2013 - The Physical Science Basis**. Cambridge: Cambridge University Press, 2012. p. 1–30. DOI: 10.1017/CBO9781107415324.004. Available at: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9781107415324A009/type/book\\_part](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9781107415324A009/type/book_part).

OUAKARROUCH, M. *et al.* Thermal performances and environmental analysis of a new composite building material based on gypsum plaster and chicken feathers waste. **Thermal Science and Engineering Progress**, v. 19, n. June, p. 100642, Oct. 2020. DOI: 10.1016/j.tsep.2020.100642. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tsep.2020.100642>.

PATRICIO, I. *et al.* Overview on the performance of Brazilian broilers (1990 to 2009). **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 14, n. 4, p. 233–238, Dec. 2012. DOI: 10.1590/S1516-635X2012000400001. Available at: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-635X2012000400001&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-635X2012000400001&lng=en&tlng=en).

PETKOV, V. Nanostructure by high-energy X-ray diffraction. **Materials Today**, v. 11, n. 11, p. 28–38, Nov. 2008. DOI: 10.1016/S1369-7021(08)70236-0. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-7021\(08\)70236-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-7021(08)70236-0).

POOLE, A. J.; LYONS, R. E.; CHURCH, J. S. Dissolving Feather Keratin Using



Sodium Sulfide for Bio-Polymer Applications. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 19, n. 4, p. 995–1004, 27 Dec. 2011. DOI: 10.1007/s10924-011-0365-6. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10924-011-0365-6>.

POURJAVAHARI, F. *et al.* Extraction of keratin from waste chicken feathers using sodium sulfide and L-cysteine. **Process Biochemistry**, v. 82, n. April, p. 205–214, Jul. 2019. DOI: 10.1016/j.procbio.2019.04.010. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135951131831849X>.

RAMAKRISHNAN, N. *et al.* Keratin based bioplastic film from chicken feathers and its characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 111, p. 352–358, May 2018. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.037. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.037>. Access

REDDY, N. Non-food industrial applications of poultry feathers. **Waste Management**, v. 45, p. 91–107, Nov. 2015. DOI: 10.1016/j.wasman.2015.05.023. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2015.05.023>.

RIVACOBIA, A.; ZABALA, N.; AIZPURUA, J. Image potential in scanning transmission electron microscopy. **Progress in Surface Science**, v. 65, n. 1–2, p. 1–64, Sep. 2000. DOI: 10.1016/S0079-6816(00)00005-8. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079681600000058>.

SARAVANAN, S. *et al.* Chitosan scaffolds containing chicken feather keratin nanoparticles for bone tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 62, p. 481–486, Nov. 2013. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2013.09.034. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813013005229>.

SCHROOYEN, P. M. M. *et al.* Partially Carboxymethylated Feather Keratins. 2. Thermal and Mechanical Properties of Films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 221–230, 1 Jan. 2001a. DOI: 10.1021/jf0004154. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0004154>.

SCHROOYEN, P. M. M. *et al.* Stabilization of Solutions of Feather Keratins by Sodium Dodecyl Sulfate. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 240, n. 1, p. 30–39, Aug. 2001b. DOI: 10.1006/jcis.2001.7673. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979701976738>.

SHARMA, S. *et al.* Characterization of keratin microparticles from feather biomass with potent antioxidant and anticancer activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 189–196, Nov. 2017. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.06.015. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813017315052>.

SHAVANDI, A. *et al.* Keratin: dissolution, extraction and biomedical application. **Biomaterials Science**, v. 5, n. 9, p. 1699–1735, 2017. DOI: 10.1039/C7BM00411G. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C7BM00411G>.

SHI, W.; DUMONT, M.-J. Review: bio-based films from zein, keratin, pea, and



rapeseed protein feedstocks. **Journal of Materials Science**, v. 49, n. 5, p. 1915–1930, 14 Mar. 2014. DOI: 10.1007/s10853-013-7933-1. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10853-013-7933-1>.

SINKIEWICZ, I. *et al.* Alternative Methods of Preparation of Soluble Keratin from Chicken Feathers. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 4, p. 1043–1048, Jun. 2017. DOI: 10.1007/s12649-016-9678-y. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s12649-016-9678-y>.

SUGA, M. *et al.* Recent progress in scanning electron microscopy for the characterization of fine structural details of nano materials. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 42, n. 1–2, p. 1–21, May 2014. DOI: 10.1016/j.progsolidstchem.2014.02.001. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progsolidstchem.2014.02.001>.

TESFAYE, T. *et al.* Valorisation of chicken feathers: Characterisation of chemical properties. **Waste Management**, v. 68, p. 626–635, Oct. 2017. DOI: 10.1016/j.wasman.2017.06.050. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2017.06.050>.

TESFAYE, T. *et al.* Valorisation of chicken feathers: Characterisation of thermal, mechanical and electrical properties. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 9, p. 27–34, Sep. 2018. DOI: 10.1016/j.scp.2018.05.003. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2018.05.003>.

#### USDA. **Foreign Agricultural**

**Service**, 2021. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>. Acesso em: 27 jul. 2021.

WANG, B. *et al.* Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. **Progress in Materials Science**, v. 76, p. 229–318, Mar. 2016. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2015.06.001. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmatsci.2015.06.001>.

WANG, J. *et al.* Feather keratin hydrogel for wound repair: Preparation, healing effect and biocompatibility evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 149, p. 341–350, Jan. 2017. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.10.038. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.10.038>.

WANG, J. *et al.* Development of feather keratin nanoparticles and investigation of their hemostatic efficacy. **Materials Science and Engineering: C**, v. 68, p. 768–773, Nov. 2016. DOI: 10.1016/j.msec.2016.07.035. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.07.035>.

WANG, Y.-X.; CAO, X.-J. Extracting keratin from chicken feathers by using a hydrophobic ionic liquid. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 5, p. 896–899, May 2012. DOI: 10.1016/j.procbio.2012.02.013. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2012.02.013>.

XU, H. *et al.* Intrinsically Water-Stable Keratin Nanoparticles and Their in Vivo

Biodistribution for Targeted Delivery. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 37, p. 9145–50, 17 Sep. 2014. DOI: 10.1021/jf502242h. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf502242h>.

YADAV, S.; KHOSLA, B. Biodegradation of poultry feather waste by keratinase producing *Bacillus cereus* strain isolated from poultry farms waste disposal site. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 4, p. 100-114, Dec. 2021. DOI: 10.1016/j.cscee.2021.100114. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666016421000360>.

ZAGO, G. P.; PENHA, F. M.; SECKLER, M. M. PRODUCT CHARACTERISTICS IN SIMULTANEOUS CRYSTALLIZATION OF NaCl AND CaSO<sub>4</sub> FROM AQUEOUS SOLUTION WITH SEEDING. **Desalination**, v. 474, n. Oct. 2019, p. 114180, Jan. 2020. DOI: 10.1016/j.desal.2019.114180. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916419313876>.

ZEN, S. de *et al.* Evolução da avicultura no Brasil Mercado internacional. **Informativo Cepea**, p. 1–4, 2014. Available at: [www.cepea.esalq.usp.br](http://www.cepea.esalq.usp.br).

ZHANG, Y.; ZHAO, W.; YANG, R. Steam Flash Explosion Assisted Dissolution of Keratin from Feathers. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 3, n. 9, p. 2036–2042, 8 Sep. 2015. DOI: 10.1021/acssuschemeng.5b00310. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssuschemeng.5b00310>.

ZHAO, H.; BROWN, P. H.; SCHUCK, P. On the Distribution of Protein Refractive Index Increments. **Biophysical Journal**, v. 100, n. 9, p. 2309–2317, May 2011. DOI: 10.1016/j.bpj.2011.03.004. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2011.03.004>.

ZHAO, W. *et al.* Sustainable and practical utilization of feather keratin by a novel physicochemical pretreatment: high density steam flash-explosion. **Green Chemistry Dynamic**, 2012. DOI: 10.1039/c0xx00000x. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5TC02043C>.

## APÊNDICE 1 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL I

Para avaliar a TD e o RQ foi realizado um planejamento fatorial  $2^3$  completo, com 3 fatores avaliados em 5 níveis (concentração, temperatura e tempo) e com duplicata do ponto central, totalizando 10 experimentos. Os resultados desse planejamento podem ser observados na Tabela 9. A Figura 37A apresenta o gráfico de Pareto para o RQ do primeiro planejamento experimental. E a Figura 37B apresenta o gráfico de Pareto para a TD do primeiro planejamento experimental. As Figuras 38 e 39 apresentam a superfície de resposta para o TD e RQ, respectivamente.

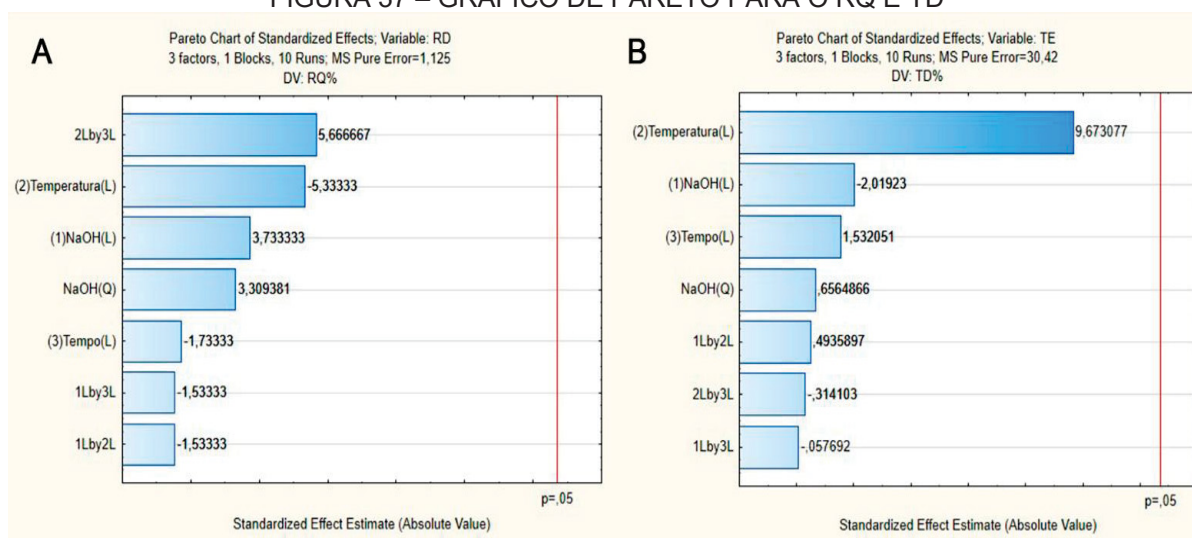
TABELA 9 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL I

Corridas	NaOH (M)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	TD (%)	RQ (%)
1	1 (-1)	25 (-1)	60 (-1)	51,4	14,8
2	1 (-1)	25 (-1)	180 (+1)	58,4	13,1
3	1 (-1)	75 (+1)	60 (-1)	88,0	10,4
4	1 (-1)	75 (+1)	180 (+1)	93,4	11,8
5	2 (+1)	25 (-1)	60 (-1)	41,4	22,6
6	2 (+1)	25 (-1)	180 (+1)	48,8	13,2
7	2 (+1)	75 (+1)	60 (-1)	82,7	10,5
8	2 (+1)	75 (+1)	180 (+1)	86,8	15,0
9	1,5 (0)	50 (0)	120 (0)	62,1	10,4
10	1,5 (0)	50 (0)	120 (0)	69,9	11,9

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: TD: taxa de dissolução, RQ: rendimento de queratina.

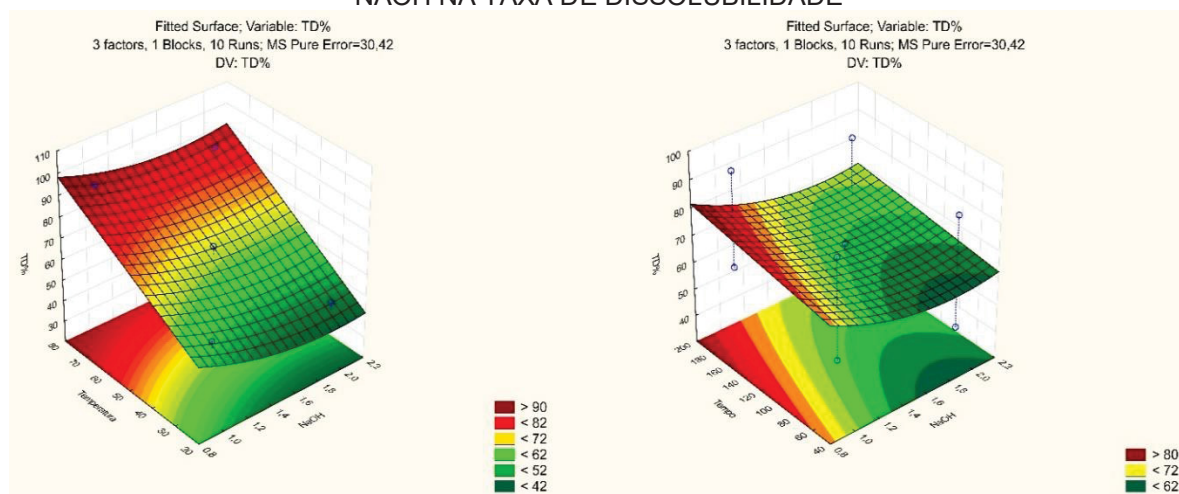
FIGURA 37 – GRÁFICO DE PARETO PARA O RQ E TD



FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: RQ: Rendimento de Queratina; TD: Taxa de Dissolução.

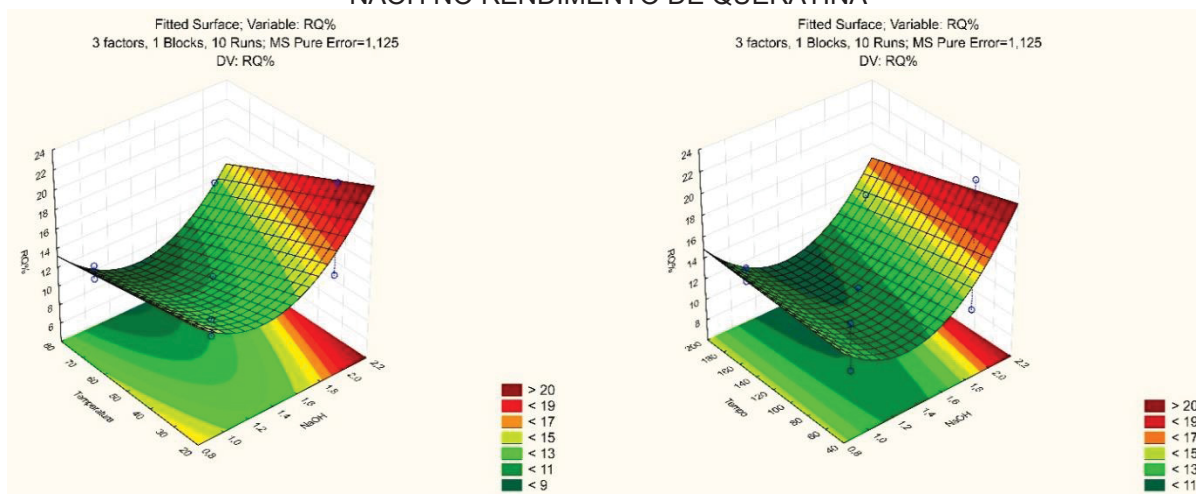
FIGURA 38 – A) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA MOSTRANDO O EFEITO DA TEMPERATURA E DA CONCENTRAÇÃO NAOH NA TAXA DE DISSOLUBILIDADE. B) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA CONCENTRAÇÃO NAOH NA TAXA DE DISSOLUBILIDADE



FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: TD: taxa de dissolução.

FIGURA 39 – A) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA MOSTRANDO O EFEITO DA TEMPERATURA E DA CONCENTRAÇÃO NAOH NO RENDIMENTO DE QUERATINA. B) GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA MOSTRANDO O EFEITO DO TEMPO E DA CONCENTRAÇÃO NAOH NO RENDIMENTO DE QUERATINA



FONTE: O autor (2022).

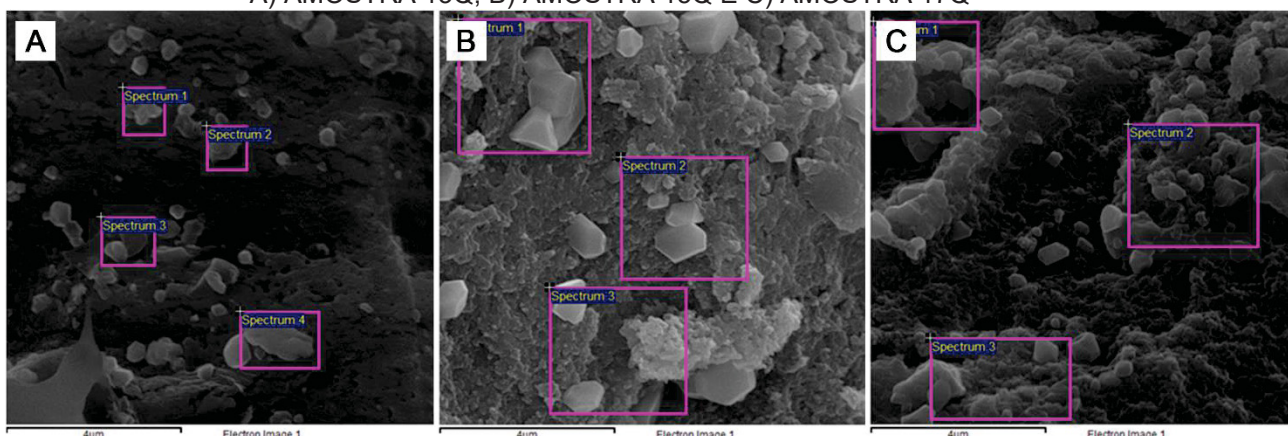
LEGENDA: RQ: rendimento de queratina.



## APÊNDICE 2 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA, RESÍDUO E FPH

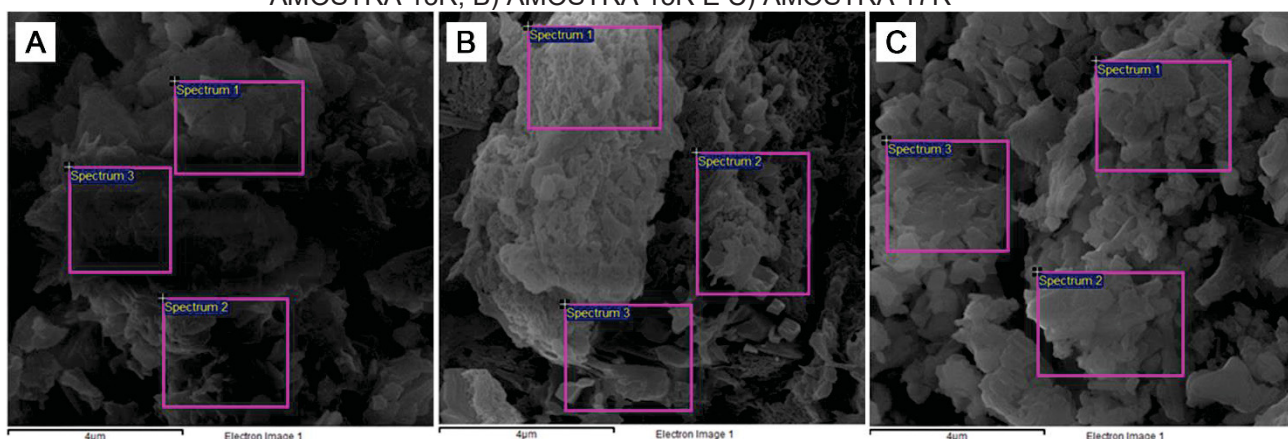
As áreas avaliadas pela técnica semiquantitativa e complementar EDS podem ser observadas nas Figuras 40, 41 e 42, para as amostras de queratina (13Q, 15Q e 17Q), resíduo (13R, 15R e 17R) e FPH, respectivamente.

FIGURA 40 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA. A) AMOSTRA 13Q; B) AMOSTRA 15Q E C) AMOSTRA 17Q



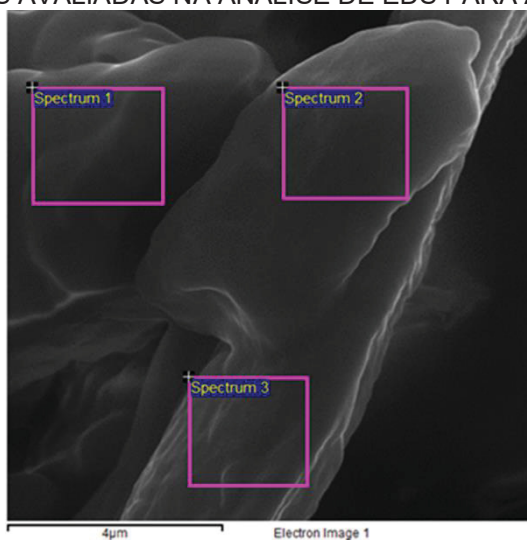
FONTE: O autor (2022).

FIGURA 41 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE RESÍDUO. A) AMOSTRA 13R; B) AMOSTRA 15R E C) AMOSTRA 17R



FONTE: O autor (2022).

FIGURA 42 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA A AMOSTRA DE FPH

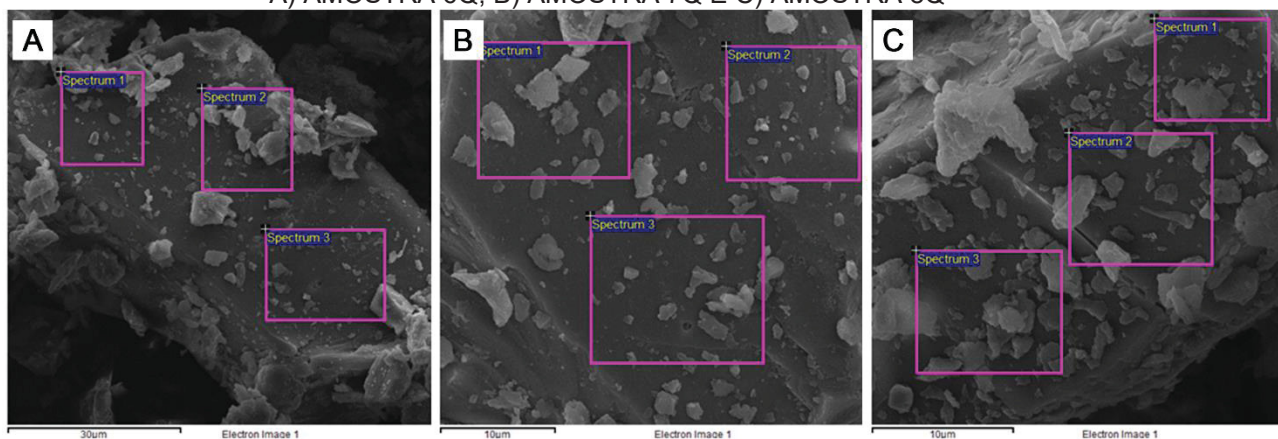


FONTE: O autor (2022).

### APÊNDICE 3 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA

As áreas avaliadas pela técnica semiquantitativa e complementar EDS podem ser observadas na Figura 43 para as amostras de queratina, após o processo de choque térmico seguido de moagem.

FIGURA 43 – ÁREAS AVALIADAS NA ANÁLISE DE EDS PARA AS AMOSTRAS DE QUERATINA. A) AMOSTRA 6Q; B) AMOSTRA 7Q E C) AMOSTRA 8Q



FONTE: O autor (2022).