

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO SECRETARIA DE EDUCAÇÃO
PROFISSIONAL E TECNOLÓGICO INSTITUTO FEDERAL DE
EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA
CÂMPUS JARAGUÁ DO SUL- CENTRO

ÂNGELA HILGER
ANNA JULIA ZANDONAI
GENÉSIO FERREIRA DO NASCIMENTO NETO
JÚLIA ZANOTTI MACEDO
KAWANNE PAOLLA ROGALEWSKI
RAYSSA CAROLINA COSTA

EXTRAÇÃO DO COLÁGENO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS E ANÁLISE DAS
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

JARAGUÁ DO SUL, 2017

ÂNGELA HILGER
ANNA JULIA ZANDONAI
GENÉSIO FERREIRA DO NASCIMENTO NETO
JÚLIA ZANOTTI MACEDO
KAWANNE PAOLLA ROGALEWSKI
RAYSSA CAROLINA COSTA

Relatório de pesquisa desenvolvido no eixo formativo “Conectando Saberes” do Curso Técnico em Química (Modalidade: integrado) do Instituto Federal de Santa Catarina- Campus Jaraguá do Sul.

Orientadora: Aline Gevaerd Krelling

Coorientadora: Ana Paula Aparecida Duarte

EXTRAÇÃO DO COLÁGENO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS E ANÁLISE DAS
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Jaraguá do sul, 2017

Agradecimentos

Agradecemos a todos que de alguma forma se envolveram com nosso projeto e colaboraram para o andamento e execução desta pesquisa científica.

Primeiramente agradecemos à nossa orientadora Prof. Aline Gevaerd Krelling, que sempre esteve presente no desenvolvimento e execução do trabalho, nos aconselhando e incentivando em todos os momentos. Da mesma forma, agradecemos a nossa coorientadora Prof. Ana Paula Aparecida Duarte Souza por sempre estar disposta a sanar nossas dúvidas referentes a execução do projeto. A vocês, gratificações a todo o apoio e confiança que nos foi transmitido.

À Prof. Luciana Valgas de Souza pela ajuda nas análises laboratoriais e no tratamento de dados, bem como na escrita do trabalho. Também agradecemos ao Prof. Elder Correa Leopoldino pelo auxílio na análise de espectrofotometria de infravermelho.

A todos os professores que, de algum modo, nos ajudaram a enfrentar os problemas que surgiram, em especial ao Prof. Giovanni Pakuszewsk.

Ao Instituto Federal Catarinense - Câmpus Araquari por disponibilizar local e o equipamento para a realização da análise de teor de proteína bruta utilizando o método de Kjeldahl, particularmente ao técnico de laboratório Filipe Antunes da Silva, que nos auxiliou na parte final de nossa pesquisa.

Ao Instituto Federal de Santa Catarina - Câmpus Geraldo Werninghaus por disponibilizar local e o equipamento para análises na região do infravermelho.

Aos estagiários Gilliard C. de Almeida e Marlon Wendel, que estavam dispostos a ajudar no desenvolvimento da execução deste projeto, bem como os estagiários Douglas Kviatkowski Junior e Nathalia Junckes.

Por fim agradecemos a banca por suas considerações, críticas e propostas, concedidas na etapa inicial do projeto, que auxiliaram no decorrer e resultado de tal.

RESUMO

O colágeno, sendo uma proteína de fundamental importância em nosso organismo, possui uma composição parcial, mas que se encontra existente em diferentes quantidades em todos os tecidos do corpo humano, com exceção dos queratinosos. Levando isso em consideração, e também tendo em vista o crescente mercado de produtos e subprodutos com a utilização de tal proteína, surge o interesse por esta substância. Sendo assim, a fim de realizar a extração do colágeno em pés de galinha e cabeças de carpa com maior eficiência, e após compará-lo com o colágeno comercial, testes foram realizados com ambos os resíduos orgânicos, com diferenças de molaridades (4 M e 3 M) e tempos (25 min e 105 min) de extração, procurando verificar qual apresentaria melhor rendimento na extração, sendo observado que o resíduo do pé de galinha apresentou maior rendimento de colágeno, e a mais adequada molaridade evidenciada para extração foi a de 3 M. E o mesmo mostrou-se correlativo em seus dados comparados com as propriedades físico-químicas do colágeno hidrolisado.

Palavras-chave: Colágeno. Extração. Resíduos orgânicos.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - PROCESSO DE TRANSCRIÇÃO.....	12
FIGURA 2 - SÍNTESE DE RNA.....	13
FIGURA 3 - FORMAÇÃO DAS FIBRAS COLÁGENAS.....	15
FIGURA 4 - FIBRAS COLÁGENAS DO TECIDO CONJUNTIVO HUMANO.....	16
FIGURA 5 - PÉ DE GALINHA TRITURADO EM SOLUÇÃO COM ÁGUA DESTILADA.....	21
FIGURA 6 - VISCOSÍMETRO CAPILAR CANNON-FENSKE.....	24
FIGURA 7 - AMOSTRAS APÓS SEREM DIGERIDAS.....	26
FIGURA 8 - DESTILADOR DE NITROGÊNIO.....	27
FIGURA 9 - COLORAÇÃO DE NEUTRALIZAÇÃO.....	27
FIGURA 10 - ESPECTRO DE INFRAVERMELHO PARA AS AMOSTRAS DE COLÁGENO.....	31
FIGURA 11 - ESPECTRO DE COLÁGENO EM PÓ.....	31
FIGURA 12 - CINZAS.....	38

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ALIMENTOS QUE CONTÉM COLÁGENO.....	20
TABELA 2 - TRIPLICATAS EM RELAÇÃO AO TEMPO E CONCENTRAÇÃO.....	22
TABELA 3 - TITULAÇÃO.....	28
TABELA 4 - QUANTIDADE DE RESÍDUO DAS AMOSTRAS.....	32
TABELA 5 - PH DAS AMOSTRAS.....	33
TABELA 6 - TEMPO DE ESCOAMENTO.....	35
TABELA 7 - VISCOSIDADE CINEMÁTICA E DINÂMICA.....	35
TABELA 8 - DENSIDADE DAS AMOSTRAS.....	36
TABELA 9 - TEOR DE PROTEÍNA BRUTA.....	37
TABELA 10 - TEOR DE CINZAS.....	39
TABELA 11- COMPARATIVO DE PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	41
TABELA 12- RENDIMENTO.....	42

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - PORCENTAGEM DE EXTRAÇÃO (FRANGO).....	43
GRÁFICO 2 - PORCENTAGEM DE EXTRAÇÃO (PESCADO)	44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 HISTÓRICO.....	10
2.2 DEFINIÇÃO.....	10
2.2.1 Síntese de proteínas.....	11
2.2.2 Resíduos orgânicos.....	14
2.3 CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	14
2.3.1 Potencial Hidrogeniônico (pH).....	16
2.3.2 Viscosidade.....	17
2.3.3 Densidade.....	17
2.4 COLÁGENO NA SOCIEDADE.....	17
2.4.1 Benefícios do Colágeno.....	17
2.4.2 Doenças causadas pela escassez do colágeno.....	18
2.4.3 Produtos na indústria de cosméticos e alimentícia	18
2.4.4 Opinião (Pesquisa de satisfação).....	20
3 METODOLOGIA.....	21
3.1 TRATAMENTO DA MATÉRIA PRIMA E EXTRAÇÃO.....	21
3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE COLÁGENO.....	23
3.2.1 Viscosidade.....	24
3.2.2 Teor de cinzas.....	25
3.2.3 Teor de proteína bruta.....	25
3.2.4 Densidade.....	28
3.2.5 Potencial Hidrogeniônico- pH.....	29
3.3 CÁLCULO DE RENDIMENTO.....	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
4.1 FASE DE TESTES.....	30
4.2 EXTRAÇÃO DO COLÁGENO.....	32
4.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	33
4.3.1 Potencial Hidrogeniônico- pH.....	33
4.3.2 Viscosidade.....	34
4.3.3 Densidade.....	36
4.3.4 Teor de proteína bruta.....	37
4.3.5 Teor de cinzas.....	38
4.4 COMPARAÇÃO COM O COLÁGENO COMERCIALIZADO.....	40
4.5 CÁLCULO DE RENDIMENTO.....	42
4.6 INFLUÊNCIA DO TEMPO E DA CONCENTRAÇÃO NA EXTRAÇÃO.....	44

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
6 REFERÊNCIAS.....	47

1. INTRODUÇÃO

O colágeno é uma proteína de origem animal que está presente em todos os tecidos do corpo, exceto os queratinosos, representando 6% do peso corporal (SILVA & PENNA, 2012). Suas funções são significativamente amplas no organismo, indo desde gerador de fibras insolúveis até modulador de forças mecânicas internas e externas executadas no corpo humano (PEDROSO, 2009). A molécula de colágeno possui 280 nm de comprimento, com massa molecular de 300.000 Da e sua estrutura se dá por uma série de repetições que originam microfibrilas de colágeno, essas formam as fibrilas que dão origem às fibras de colágeno.

Na atualidade, o colágeno circula pela mídia associado a produtos de beleza e alimentos, pois a questão da 'qualidade de vida' impulsionou e atraiu consumidores a inserir alimentos saudáveis, que auxiliam no bem estar, à sua dieta. Em decorrência disso, a aplicação industrial desta proteína na área alimentícia e estética intensificou-se notavelmente para atender a demanda deste novo mercado. No Brasil, a maior parte do colágeno comercializado é proveniente dos subprodutos da indústria de carne, em função da elevada produção brasileira de carne para exportação (SILVA & PENNA, 2012).

Silva & Penna (2012) afirmam que uma das razões para consumir a extração do colágeno de espécies de animais (mamíferas ou não) distintas, se dá ao fato da progressiva valorização de subprodutos industriais do mesmo. Desta forma, o aprimoramento de técnicas de extração, não só do colágeno, mas também da gelatina tem interessado pesquisadores na última década.

Diante disso, foi considerado que tanto as cabeças de carpa quanto os pés de galinha possuem significativo descarte, fácil acesso e baixo custo, viabilizando, assim, a presente pesquisa que tem como objetivo aplicar o mesmo método de extração do colágeno nos dois resíduos orgânicos escolhidos pelo grupo e, posteriormente, analisar e comparar suas propriedades físico-químicas. Inicialmente foram levantadas algumas hipóteses, sendo elas: o método de extração do colágeno poderia ser aplicado com eficácia nos dois diferentes tipos de resíduos

orgânicos; as propriedades físico-químicas do colágeno obtido seriam semelhantes às do colágeno comercializado; a matéria prima deixada em repouso em tratamento alcalino durante 105 minutos irá proporcionar maior quantidade de rendimento final (colágeno); e por fim, o método de extração é mais eficaz para extrair o colágeno das cabeças de carpa.

O método de extração utilizado foi o descrito por Silva *et al* (2011), em que a matéria prima é mantida em tratamento alcalino e posteriormente centrifugada ao fim de cada etapa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico

A palavra “colágeno” é derivada do grego *kolla* que significa colagem. Existem indícios de que adesivos de colágeno foram usados por egípcios e nativos americanos cerca de 4.000 e 1.500 anos atrás, respectivamente. Além disso, antigamente, peles e nervos de cavalos e outros animais eram fervidos para obter-se cola. (MATOS, 2012)

O aparecimento de alimentos derivados do colágeno datam do final de 1.600. Segundo a revista FiB (2011), em 1682, o francês Denis Papin (1647-1714) expôs pela primeira vez um procedimento de cozimento que permitia o ganho de uma massa gelatinosa a partir de ossos de certos animais. Hoje denominamos a tal massa como gelatina, mas o uso regular da palavra só aconteceu em torno do ano de 1700 e significa firme, rígido, gelado. Diferente da palavra, o reconhecimento que temos dado hoje à gelatina como alimento de grande valor nutritivo data das guerras napoleônicas. Nessa época, o produto foi largamente utilizado para garantir o aporte protéico necessário às tropas francesas.

2.2 Definição

O termo colágeno vem aparecendo ultimamente nas mídias associado a produtos de beleza e alimentos. Isto porque o aumento da preocupação da

sociedade contemporânea em relação à qualidade de vida impulsionou e atraiu o consumidor a ingerir produtos saudáveis que possam auxiliar no seu bem estar. Como consequência, o aumento da aplicação industrial de colágeno em suplementos alimentares, produtos de beleza/estética e em produtos alimentícios cresceu significativamente para conseguir atender a este novo mercado. Porém, o que é o colágeno?

O colágeno é um ingrediente com características funcionais, é uma proteína de origem animal, cuja função no organismo é contribuir com a boa formação e sustentação dos tecidos em que está presente (SILVA & PENNA, 2012). O termo “colágeno” é utilizado para denominar uma família de 27 proteínas isoformas, encontradas nos tecidos conjuntivos do corpo. Também é o componente mais importante deste tipo de tecido e é um elemento estrutural importante em organismos multicelulares (SILVA & PENNA, 2012). É a proteína mais abundante no organismo dos animais vertebrados sendo que a sua formação se inicia no decorrer do desenvolvimento embrionário no processo de diferenciação dos tecidos, sendo eles pele, cartilagem, tendões, ossos, vasos sanguíneos e dentes (SILVA & PENNA, 2012).

2.2.1 Síntese de proteínas

“A síntese de proteínas é um processo de produção de proteínas definido pelo DNA, formado por duas etapas: Transcrição e Tradução.” (SILVA, SASSON e JÚNIOR, 2011, p.98). A transcrição é um processo de síntese de uma molécula de RNA usando como molde a sequência de uma cadeia de DNA de um gene¹ (LOPES, 2008).

O DNA é constituído por duas fitas complementares que estão ligadas entre si (Figura 1, A) por ligações de hidrogênio . Logo, essas ligações se rompem e as duas fitas se afastam (Figura 1, B) (SILVA, SASSON e JÚNIOR, 2011). Assim,

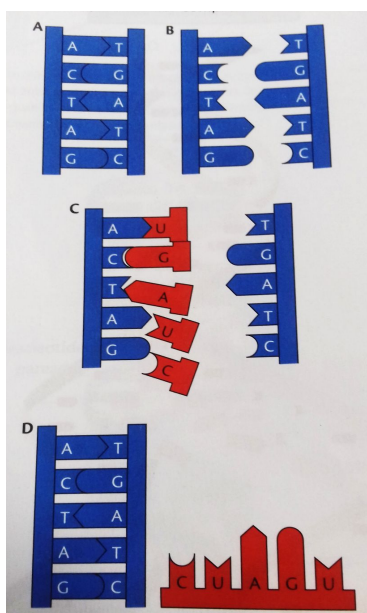
¹ Gene é uma sequência de nucleotídeos distintos que fazem parte de um cromossomo. Cada gene codifica uma determinada sequência de uma cadeia polipeptídica (união de aminoácidos que formam a proteína).

apenas uma das fitas de DNA opera como molde (Figura 1, C). Nela se encaixam nucleotídeos² de RNA que já se encontravam na célula (em vermelho).

Os nucleotídeos do RNA, apresentam os mesmo constituintes básicos do DNA, diferindo apenas quanto ao açúcar, que no caso é a ribose, e quanto a uma das bases nitrogenadas: no RNA aparece a uracila (U) em vez de timina (T) (LOPES, 2008, p.205).

Na adenina, base nitrogenada do DNA, encaixa-se uma uracila, específica do RNA, substituindo a timina (SILVA, SASSON e JÚNIOR, 2011). Assim que produzida, a fita de RNA retira-se e migra para o citoplasma. As duas fitas de DNA retornam à posição inicial (Figura 1, D) (SILVA, SASSON e JÚNIOR, 2011).

Figura 1 – Processo de Transcrição, onde ‘A’ é adenina, ‘C’ é citosina e ‘T’ é timina e ‘G’ é guanina

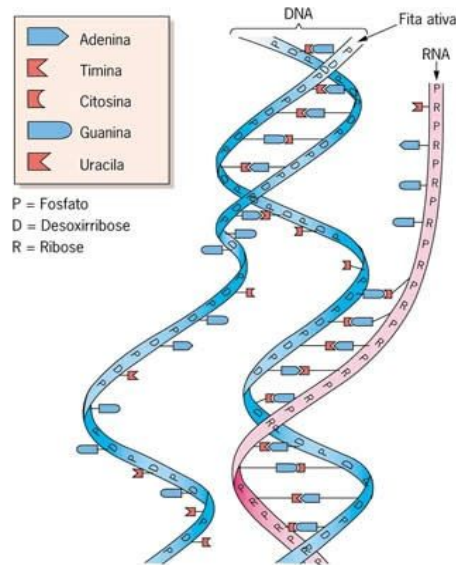


Fonte: Biologia: volume único. César da Silva Junior, p. 98.

Portanto, o RNA é uma fita única, ou seja, simples (Figura 2). O catalisador de todo este processo (afastamento das fitas de DNA e o encaixe dos nucleotídeos de RNA) é a enzima RNA polimerase (SILVA e SASSON, 2007).

² Nucleotídeos: são compostos por uma base nitrogenada, um grupo fosfato e uma ribose ou desoxirribose (MELDAU, 2016).

Figura 2 – Esquema representativo da síntese de RNA.



Fonte: Muito mais biologia.

Segundo Petrin (2015), a tradução refere-se ao processo biológico em que é feita a leitura da mensagem que está contida na molécula de RNA mensageiro (RNAm) por parte do ribossomo. Ela consiste na união de aminoácidos de acordo com a sequência dos códons³ do RNAm que está determinada pelo gene.

A tradução gênica acontece nos ribossomos: nestes, o RNA mensageiro é traduzido em proteína por diversas moléculas de RNA transportador, sendo que cada um deles é específico para cada um dos aminoácidos. As moléculas de RNA mensageiro possuem uma sequência de nucleotídeos que será traduzida em outra sequência de aminoácidos que será determinada de acordo com o código genético. Apesar de existirem 64 trincas possíveis de nucleotídeos, 61 codificam a produção de aminoácido enquanto apenas 3 correspondem às sequências de término do processo de tradução gênica. (PETRIN, 2015, s.p).

Assim, o processo de síntese de proteínas finaliza no momento em que o códon finalizador pode ser encontrado na mesma tira de RNAm que neste é traduzido. Contudo, esses códons não são lidos, sendo assim, não interferem no processo de tradução. No processo final, o polipeptídeo é liberado deixando o ribossomo disponível para o início de uma nova síntese (PETRIN, 2015).

³ Códons são “sequências de três bases nitrogenadas que codificam um determinado aminoácido ou a parada da síntese proteica” (s.a.)

2.2.2 Resíduos Orgânicos

Os resíduos são definidos como os “restos das atividades humanas, considerados pelos geradores como inúteis, indesejáveis ou descartáveis” (ABNT, 2004). A origem dos resíduos é classificada segundo a lei 12305/10, podendo ser resíduos domiciliares, de limpeza urbana, de estabelecimentos comerciais e prestadores de serviço, industriais, de serviços da saúde, da construção civil e de mineração.

São feitas também diferenciações entre resíduos úmidos e secos, orgânicos e inorgânicos, e perigosos e não perigosos. Os resíduos sólidos orgânicos são considerados como todo e qualquer resíduo de origem animal ou vegetal, como por exemplo: restos de pescados, sementes, cascas de ovos, restos de carnes, frutas etc. (BENTO *et al.*, 2013)

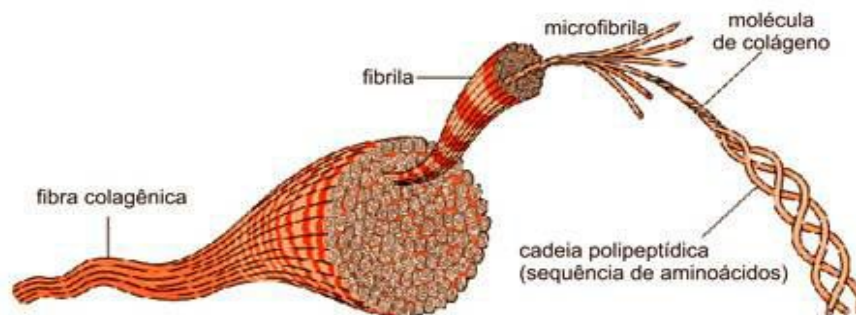
2.3 Características e propriedades físico-químicas

O colágeno representa aproximadamente 25% de toda a proteína corporal e 6% do peso corporal, isso devido ao fato de que essa proteína está presente nos tecidos do corpo, com exceção dos tecidos queratinosos (GOISSIS, 2007). Além disso, é caracterizado como um ingrediente que apresenta características funcionais, isto é, sua função está ligada ao auxílio da unidade estrutural dos tecidos em que se faz presente. Segundo Silva e Penna (2012), os alimentos funcionais são definidos como aqueles que possuem um ou mais ingredientes com propriedades terapêuticas destacando-se: fibras alimentares, oligossacarídeos, carotenóides, prebióticos, probióticos, simbióticos, fitoquímicos, e ácidos graxos poli-insaturados.

Essa proteína possui funções significativas no organismo, sendo encarregada de gerar fibras indissolúveis que possuem grande força elástica, tendência de hidratação e reabsorção (FRIESS, 1998 *apud* PEDROSO, 2009). Possui alta resistência à tração e também é responsável por acomodar e modular forças mecânicas internas e externas exercidas no organismo (PEDROSO, 2009).

Segundo Silva & Penna (2012), a molécula de colágeno tem 280 nm de comprimento, com massa molecular de 300.000 Da, estabilizada por ligações de hidrogênio e por ligações intermoleculares. Cada molécula de colágeno é predominantemente formada pelos aminoácidos glicina, prolina, lisina, hidroxiprolina e hidroxilisina. Porém, a hidroxiprolina e a hidroxilisina são aminoácidos originados respectivamente da prolina e da lisina através de processos enzimáticos dependentes da vitamina C. Portanto, o colágeno possui basicamente uma sequência de repetição tripeptídica, glicina-X-prolina ou glicina-X-hidroxiprolina, em que o X pode ser qualquer um dos 20 aminoácidos-padrão. A estrutura da molécula do colágeno se dá por esta repetição, sendo que estas cadeias peptídicas se organizam de forma paralela a um eixo, formando assim as microfibrilas. O conjunto de microfibrilas se organiza em feixes, dando origem as fibrilas que por sua vez formam as fibras de colágeno (Figura 3).

Figura 3 - Formação das fibras colágenas.



Fonte: SARCINELLI, Estrutura da carne, 2007

Os principais tipos de colágenos formadores de fibrilas são os do tipo I, II e III

⁴. As fibras de colágeno possuem alta resistência à tração, sendo praticamente inextensíveis e individualmente são incolores, porém quando estão juntas

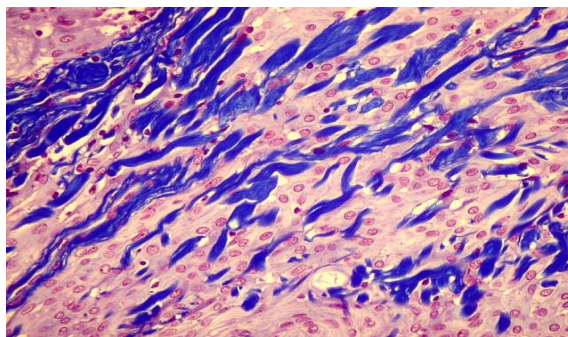
⁴ Tipo I = É o mais comum, geralmente são encontrados em locais que resistem a grandes tensões como, por exemplo, nos tendões, derme da pele, nos ossos e até mesmo na córnea. Este tipo forma fibras e feixes de colágeno.

Tipo II = Esse tipo de colágeno é encontrado em locais que resiste a grandes pressões, cartilagem elástica e hialina, discos intervertebrais e nos olhos.

Tipo III = Abundante no tecido conjuntivo frouxo, é encontrado na artéria aorta do coração, nos pulmões, nos músculos dos intestinos, fígado, no útero. (GONÇALVES *et al*, 2015)

apresentam a cor branca que caracteriza os tendões. As ligações cruzadas entre si da molécula de colágeno relacionam-se com sua relativa insolubilidade e resistência à tensão (SILVA, PENNA, 2012). Podemos observar a distribuição das fibras colágenas em um tecido conjuntivo humano (Figura 4) no qual foi utilizada a técnica do Tricrômico de Masson, que confere às fibras colágenas a coloração azulada.

Figura 4 - Fibras colágenas do tecido conjuntivo humano.



Fonte: Departamento de Anatomia Patológica da FCM-UNICAMP.

2.3.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Na literatura, pH é o símbolo que denomina uma grandeza físico-química, o 'potencial hidrogeniônico'. Essa grandeza é responsável por indicar se uma substância aquosa se encontra em acidez, neutralidade ou alcalinidade. O "p" vem do alemão *potenz*, que significa poder de concentração, e o "H" é para o íon de hidrogênio (H⁺). (META, sd)

O pH pode ser definido com um medidor de pH, conhecido como pH-metro, que se constitui em um eletrodo acoplado a um potenciômetro. Ele converte o valor do potencial do eletrodo em unidades de pH, assim mede-se a concentração de íons H⁺ na solução. Além desse medidor, o pH pode ser determinado indiretamente pela adição de um indicador de pH na solução que se encontra em análise, em que a cor do indicador vai variar conforme o pH da solução. (META. s.d.)

Segundo Ferreira (2013), o pH da gelatina extraída dos pés de frango é de aproximadamente 3,47. A solubilização do colágeno, no entanto, é possível pela ação de ácidos diluídos a pH 3,0 – 4,0, e precipitam em pH neutro. A autora ainda afirma que quando se utiliza um ácido o pH mais elevado evidencia uma melhor eficiência das etapas de lavagem dos pré-tratamentos, devido ao fato de que as

lavagens com água corrente eliminam grande parte das soluções utilizadas durante a preparação das matérias-primas, antecedentes a etapa de extração.

2.3.2 Viscosidade

Segundo Coelho (s.d.), viscosidade é a propriedade que um fluido possui de transmitir quantidade de movimento linear ao longo de direções normais. Segundo Silva e Penna (2012), um estudo feito sobre as propriedades viscoelásticas de moléculas de colágeno e de fibrilas mostrou que uma molécula individual de colágeno indicou comportamento viscoelástico não linear. Pela primeira vez, foi relatado que a viscosidade de uma única molécula é muito menor do que a viscosidade encontrada nas fibrilas individuais de colágeno, sugerindo que o comportamento viscoso de fibrilas de colágeno e as fibras envolvem mecanismos adicionais, como deslizamento molecular entre as moléculas de colágeno dentro da fibrila.

2.3.3 Densidade

De acordo com Gomes e Clavico (2005), a densidade de uma substância mede o grau de compactidade da mesma e é definida pela razão entre a massa da espécie química e o seu volume. Os sólidos são, em geral, mais compactos que os líquidos e os gases. Geralmente com a elevação da temperatura da substância, a sua densidade decresce.

2.4 O COLÁGENO NA SOCIEDADE

2.4.1 Benefícios do colágeno

Almeida e Santana (2010) trazem que o colágeno apresenta benefícios, tais quais, oferecer mais elasticidade à pele, formar uma matriz onde os minerais se fixam para deixá-los fortes, resistentes e brilhantes, sustentar as células dos tecidos

unidas e fortalecidas, e promover a cicatrização e/ou regeneração da pele em caso de corte ou cirurgia.

A gelatina à base de colágeno auxilia em dietas de baixas calorias, devido ao alto conteúdo protéico e por não conter gordura e carboidratos. A mesma possui uma grande quantidade de água, o que proporciona sensação de saciedade após a sua ingestão e ajuda na hidratação. (ALMEIDA e SANTANA, 2010).

2.4.2 Doenças causadas pela escassez do colágeno

Algumas doenças estão relacionadas a falta de colágeno no organismo. Essas são denominadas grupalmente de colagenoses e condizem com doenças com características auto-imunes que atacam vários órgãos, incluindo o pulmão.

Algumas doenças são nomeadas como artrite reumatóide, esclerose sistêmica progressiva, lúpus eritematoso sistêmico, dermatopolimiosite, doença mista do tecido conjuntivo e síndrome de Sjögren, hernia inguinal direta e indireta, e em casos raros distrofia muscular (ALMEIDA e SANTANA, 2010 *apud* DUARTE, 2011; FREITAS *et al.*, 2005; WOLWACZ JUNIOR, 2003; SILVA e MULLER, 2008)

2.4.3 Produtos que contém colágeno na indústria

A gelatina é usada em muitos alimentos, incluindo sobremesas de gelatina com sabor. Além de alimento, ela tem sido utilizada em indústrias farmacêuticas, cosméticas e de fotografia. Apesar disso, é uma fonte pobre de nutrição protéica, já que não contém todos os aminoácidos essenciais⁵ nas proporções que exige o corpo humano. No entanto, alguns fabricantes de dieta à base de colágeno alegam que seus produtos podem melhorar a qualidade da pele e unha, bem como a saúde das articulações.

⁵ Segundo Goular (s.d.), aminoácidos essenciais são aqueles que o organismo humano não consegue sintetizar. Deste modo, eles devem ser obrigatoriamente ingeridos através de alimentos, pois caso contrário, ocorre a desnutrição. Já os aminoácidos não-essenciais, ou dispensáveis, são aqueles que o organismo humano consegue sintetizar a partir dos alimentos ingeridos.

Colas animais a base de colágeno são termoplásticas, ou seja, elas secam, endurecem e amolecem no reaquecimento. Essas ainda são usadas na fabricação de instrumentos musicais como guitarras e violinos. (MATOS, 2012).

O colágeno apresenta também aplicações biomédicas, pois é amplamente usado como veículo para fármacos, proteínas e genes. Apresenta aplicações bem-sucedidas, como substituto de pele humana, vasos sanguíneos e ligamentos (SILVA & PENNA, 2012).

Segundo o site “Melhor com Saúde” os alimentos que contêm colágeno são classificados em 5 (cinco) grupos, para facilitar na procura do consumidor. O primeiro grupo é chamado de Antocianinas que, segundo Castañeda (2009), são compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonóides que são pigmentos naturais amplamente distribuídos no Reino vegetal. Esses compostos são encontrados em frutas que protegem o organismo contra os radicais livres e aumentam o nível de Vitamina C nas nossas células.

No grupo dois, os alimentos presentes contêm níveis altos de Vitamina C (também denominada ácido ascórbico), que são importantes por auxiliarem na produção do colágeno. No terceiro grupo há os alimentos ricos em Prolina e Lisina, que são aminoácidos. A Lisina é um aminoácido essencial e pode ser encontrada em alimentos no geral. Porém, a Prolina não é essencial e a sua produção é feita pelo corpo. (CASTAÑEDA,2009)

Segundo o mesmo autor, abrangendo o quarto grupo, temos a Soja e derivados. Ambos contribuem para a formação do colágeno. Embora possa ser consumida inteira após ser cozida ou assada, a maioria dos grãos de soja são transformados em uma grande variedade de alimentos.

O último grupo é dos alimentos ricos em Cobre, que contribuem na formação de colágeno no corpo. O Cobre é um mineral extremamente essencial para o organismo, pois ele é um oligoelemento, ou seja, um elemento químico essencial para os seres vivos. Na tabela 1, pode-se observar onde os alimentos dos 5 grupos citados anteriormente são encontrados. (CASTAÑEDA, 2009)

Tabela 1 - Alimentos que contém colágeno.

Antocianinas	Vitamina C	Prolina e Lisina	Cobre
<ul style="list-style-type: none">• Beringela;• Ameixa;• Amora;• Aspargo;• Banana;• Repolho roxo;	<ul style="list-style-type: none">• Acerola;• Goiaba;• Mamão;• Pimentão;• Brócolis;• Couve de Bruxelas.	<ul style="list-style-type: none">• Carnes magras;• Peixes;• Legumes;• Clara do Ovo;• Gérmen do trigo.	<ul style="list-style-type: none">• Vísceras;• Fígado;• Mariscos;• Ostras;• Nozes;• Legumes;

Fonte: Elaborado pelo grupo.

2.4.4 Opinião e pesquisa de satisfação

O uso do colágeno vem aumentando a cada ano junto com a entrada de novas marcas de produtos no mercado, com novas formas de utilização. Com o conhecimento da sociedade verificou-se um aumento na utilização desses produtos por pessoas na faixa etária dos 30 anos em diante, já que o corpo começa a diminuir a produção de colágeno com o avanço da idade.

Analisando opiniões no site de uma marca específica de colágeno hidrolizado pode-se observar que há, com uma diferença significativa, satisfações e insatisfações de clientes que utilizam/utilizaram produtos a base de colágeno para melhorias corporais como queda de cabelo, fortalecimento das unhas, fortalecimento das articulações, elasticidade da pele etc. Chaves (2013) afirma que:

A partir dos 30 anos acontece uma diminuição natural de 1% ao ano na produção de colágeno pelo corpo. Durante os 10 primeiros anos da menopausa essa perda de colágeno chega a 2% ao ano e, após a menopausa, pode chegar a 65% de perda de todo o colágeno do corpo (CHAVES, 2013, s.p).

Notou-se em um número considerável de comentários na mídia que, pessoas que fazem uso diário de colágeno nas suas mais diversas formas, recomendam a utilização do mesmo, assim como reumatologistas, dermatologistas, ortopedistas que indicam o colágeno para melhoria da estética e da saúde. Como, por exemplo, de pessoas com problemas nas articulações que após algumas semanas relataram

melhora significativa da mesma. Já os comentários de insatisfação encontram-se reduzidos, alguns consumidores relatam que não têm ou até mesmo não notaram nenhuma melhora estética em seu corpo ao fazer uso de produtos com colágeno.

3. METODOLOGIA

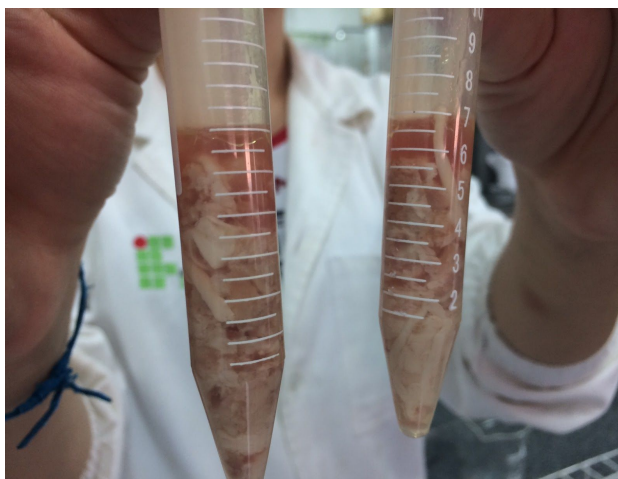
A matéria prima, pés de galinha e cabeça de carpa, foi submetida ao processo de extração seguindo o método descrito por Silva *et al.* (2011), com adaptações. No fim, houve a comparação entre o colágeno extraído e o colágeno comercial através da análise de propriedades físico-químicas, sendo que essas foram as mesmas analisadas no colágeno extraído da matéria prima.

3.1 Tratamento da matéria prima e extração

Moagem ≡ Os pés de galinha e cabeças de carpa foram triturados em liquidificador até que fosse obtida uma massa de 500g de cada matéria prima, dispondo uma massa de 100g para cada experimento, que foi posteriormente dividida entre uma triplicata, totalizando 33,33g para cada amostra.

Lavagem ≡ Em uma segunda etapa, foi realizada a lavagem com água destilada para remoção de impurezas (1:6 p/v) a 4°C por um período de 10 minutos (Figura 5).

Figura 5 - Pé de galinha triturado em solução com água destilada.



Fonte: acervo pessoal.

Centrifugação ≡ As amostras foram centrifugadas a 3700 rpm (rotações por minuto) para separação da fase líquida e da fase sólida. Sendo a rotação máxima permitida pela centrífuga disponível no laboratório de 4000 rpm, o processo foi repetido por três vezes durante 5 min, e não apenas uma vez como descrito na metodologia, para que o máximo possível de água fosse separado da amostra.

Tratamento Alcalino ≡ Durante a quarta etapa, adicionou-se água destilada (1:1 p/v) às amostras, seguido de um tratamento com solução alcalina de NaOH 3 M e 4 M, com o objetivo de analisar a influência da concentração na extração do colágeno. Adicionou-se uma quantidade que variou de 0,9 a 4,0 mL, nas triplicatas de pés de galinha, e 1,2 a 3,7 mL, nas triplicatas de cabeças de carpa, da solução concentrada de hidróxido de sódio para obter o pH 11.

Repouso ≡ A matéria prima permaneceu em repouso na solução de NaOH 3 M e 4 M, nos tempos de descanso de 25 e 105 minutos, conforme **tabela 2** . O objetivo foi testar a influência do tempo de exposição das amostras na solução concentrada de NaOH na extração do colágeno.

Tabela 2 - Triplicatas em relação ao tempo e concentração.

PÉS DE GALINHA			CABEÇAS DE CARPA		
Nº do experimento	Descanso (min)	Concentração NaOH	Nº do experimento	Descanso (min)	Concentração NaOH
Triplicata A, B, C	25 min	3 Mol/L	Triplicata M,N,O	25 min	3 Mol/L
Triplicata D, E, F	25 min	4 Mol/L	Triplicata P, Q, R	25 min	4 Mol/L
Triplicata G, H, I	105 min	3 Mol/L	Triplicata S, T, U	105 min	3 Mol/L
Triplicata J, K, L	105 min	4 Mol /L	Triplicata V,W,X	105 min	4 Mol /L

Fonte: Elaborado pelo grupo.

Centrifugação ≡ Após o repouso, fez-se necessária a centrifugação do material a 3700 rpm por 15 minutos, repetindo-se três vezes o processo.

Tratamento ácido ≡ Na presente etapa, fora adicionado o mesmo volume de água destilada à amostra, ou seja, 33,33 mL - 1:1 p/v - e posteriormente o pH foi ajustado em 2, com a adição de 3,1 mL e 2,7 mL de solução concentrada de ácido clorídrico (HCl) 3 M nas amostras de pé de galinha e cabeça de carpa, respectivamente. A quantidade utilizada deu-se pela média feita de acordo com os valores utilizados em laboratório.

Centrifugação ≡ Após o tratamento ácido, foi feita centrifugação a 3700 rpm, por 15 minutos, o processo se repetiu três vezes .

Tratamento ácido ≡ Adicionou-se 1,02 mL e 0,8 mL, nos pés de galinha e nas cabeças de carpa, respectivamente, da solução de ácido clorídrico (HCl) 3 M, para que o pH das amostras ficasse em 4. Este valor, deu-se pela média das quantidades, adicionadas em cada triplicata, feita em laboratório.

Banho termostatizado ≡ Para a extração de colágeno as amostras foram submetidas ao tratamento com adição de água destilada (1:1 p/v) a 52°C, em banho termostatizado, por um período de 2h.

O Banho Maria, equipamento de laboratório utilizado na presente etapa, acabou danificado, ficando temporariamente inutilizável, o que acarretou no atraso desta última etapa de extração. Assim, enquanto a utilização do aparelho não foi possível, o banho termostatizado foi realizado com chapa de aquecimento com agitação e termômetro acoplado para acompanhar a temperatura que oscilou entre 52 °C e 54 °C.

Centrifugação ≡ Nesta etapa, o colágeno obtido foi centrifugada a 3700 rpm por 15 minutos, para que o ácido fosse o máximo possível eliminado da dispersão.

Filtração ≡ Por fim, as amostras foram submetidas a filtração a vácuo com funil de Büchner e papel de filtro nº 4, assim a dispersão foi separada dos resíduos dos pés de galinha e das cabeças de carpa.

3.2 Caracterização das amostras do colágeno

Posteriormente à obtenção do colágeno, realizou-se análises das propriedades físico-químicas presentes no material.

O teor de cinzas⁶ fora determinado por incineração de cinzas em mufla a 500-600°C, segundo metodologia descrita por Lutz (2008).

A técnica consiste em secar previamente o material em chapa de aquecimento, carbonizado em baixa temperatura e incinerado em mufla a 550°C até eliminação completa do carvão. As cinzas devem apresentar coloração branca ou ligeiramente acinzentada.

Para o cálculo do teor de cinzas o cadinho vazio foi pesado previamente, em seguida foram adicionados 5 g da amostra de colágeno. Após a incineração o cadinho foi resfriado em dessecador e foi pesado em balança semi-analítica para que fosse efetuado o cálculo de determinação do teor de cinzas, como descrito pela equação 1.

Equação 1:

$$100 \times N / P$$

N = nº de g de cinzas

P = nº de g da amostra

3.2.3 Teor de proteína bruta

O teor de proteína bruta foi determinado através do teor de Nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, realizado no laboratório de Química Orgânica do Instituto Federal Catarinense - Câmpus Araquari.

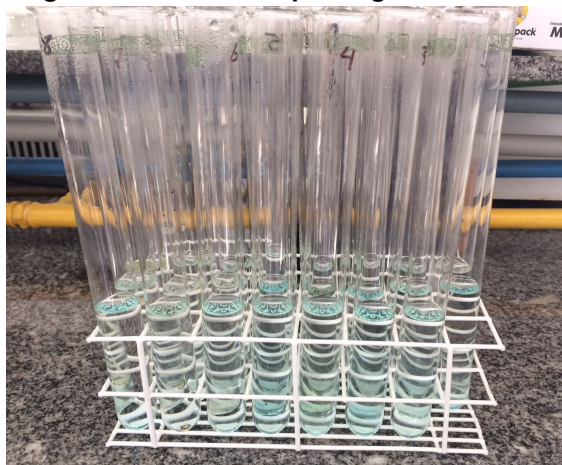
Inicialmente foi realizada a digestão do material, no bloco digestor, onde fora utilizado aproximadamente 2 g de amostra e adicionado 2 g da mistura catalizadora (H₂SO₄ concentrado) aproximadamente 5 mL e 2 mL de água oxigenada 130 volumes.

Os balões foram levados para aquecimento em chapa elétrica durante o tempo necessário para que o carbono contido na matéria orgânica fosse oxidado e o CO₂ desprendido, (aproximadamente 40 minutos). O tempo final de digestão é

⁶ A quantificação do conteúdo inorgânico faz-se por meio da determinação do resíduo pela incineração ou cinzas.

observado, através da obtenção de uma coloração verde clara na solução, como está retratado na **figura 7**. Verificou-se que o processo completo da fase de digestão, ocorre em um intervalo de tempo que corresponde ao equivalente de 3 horas.

Figura 7 - Amostras após digestão.



Fonte: Acervo pessoal.

Após a digestão, a amostra passou para o destilador de nitrogênio. Neste equipamento, a solução entra em reação com hidróxido de sódio, esta é intensa e libera grande quantidade de calor. Conforme ocorreu, deslocou-se para o condensador onde foi recebida por um erlenmeyer contendo 10 mL de H_3BO_3 + Solução indicadora (vermelho de metila). Nesse erlenmeyer são condensadas, aproximadamente 40 mL da amostra que anteriormente havia passado pela reação alcalina, (**Figura 8**).

Figura 8 - Destilador de nitrogênio.



Fonte: Acervo pessoal.

No fim desta reação há a formação do borato ácido de amônio, que é titulado com uma solução de H_2SO_4 com concentração 0,01 M. O borato ácido de amônio normalmente é obtido na coloração verde (por conta do indicador utilizado) e passa para o vermelho após a neutralização, porém observa-se que em nas amostras de colágeno não foram acatados tais preceitos, visto que a mudança da coloração transcorreu-se do verde para o amarelo (**Figura 9**).

Figura 9 - Coloração de neutralização.



Fonte: acervo pessoal.

Para a titulação foram manipuladas as porções expressas na **tabela 3**. O fator de conversão de nitrogênio total em proteína adotado foi de 6,25.

Tabela 3 - Valores de titulação.

Nº experimento	Massa da amostra (g)	Volume gasto (mL)
A	1,4138	5,1
D	2,3055	3,7
K	1,5418	2,3
B	1,5565	2,1
P	1,4656	2,5
T	1,3060	12,9

M	1,1977	11,2
X	1,4034	7,1
I	1,9440	2,5

Fonte: Elaborado pelo grupo.

Por fim, os dados obtidos foram inseridos na fórmula , para conversão do teor de N-total e proteína.

$$\% \text{ Nitrogênio} = (N \times f \times 14 \times 100 / \text{p.a.}) \times (v - v')$$

Onde: N = Normalidade do H₂SO₄

f = fator do H₂SO₄

Meq de Nitrogênio = 14

p.a. = peso da amostra

v = volume gasto na titulação da amostra

v' = volume gasto na prova em branco

3.2.4 Densidade

Na literatura, de acordo com a definição expressa pela Equação (1), para obter a densidade de um corpo sólido ou líquido é necessário: a) determinar a massa M em gramas do corpo cuja densidade se deseja; b) estabelecer uma medida precisa do volume ocupado por essa massa.

$$d \text{ ou } \rho = \frac{M}{V}, \text{ onde } M = \rho V \text{ e } V = \frac{M}{\rho} \quad (1)$$

Inicialmente, a densidade seria obtida através do uso de picnômetro, porém, com o decorrer das análises, foram utilizadas quantidades significativas de amostras, o que impossibilitou que esse método fosse aplicado, pois a porção restante de amostras era inferior a exigida nesta metodologia. Devido a este fato,

decidiu-se que para a obtenção de um rendimento de dados autênticos a densidade passou a ser calculada através da fórmula ($d = m/V$).

3.2.5 Potencial hidrogeniônico - pH

Para a determinação do pH, as amostras foram retiradas da geladeira, e posteriormente ficaram em repouso por um período de aproximadamente 30 min, para que entrassem em equilíbrio térmico com o ambiente.

A medição foi feita com o auxílio de um pHmetro de bancada calibrado com duas soluções tampão de pH 4,00 e 7,00, respectivamente, com variação de temperatura de 22°C a 24°C. Tal medição consistiu em manter o eletrodo, acoplado ao equipamento, submerso na amostra de colágeno até que o mesmo atingisse o equilíbrio e fizesse a leitura do pH.

3.3 Cálculo de rendimento

Para calcular o rendimento do colágeno, utilizou-se o método descrito por Yang *et al* (2007) e executado por Silva *et al.* (2011), sendo que o mesmo foi calculado segundo a equação:

$$RG = C_g \cdot V_s / m_c$$

Onde RG é o rendimento de colágeno ($\text{g}_{\text{gelatina}}/100 \text{ g}_{\text{cabeças}}$), C_g a concentração de proteínas da dispersão de colágeno (g mL^{-1}), V_s o volume da dispersão do colágeno extraído (mL) e m_c a massa inicial da cabeça de carpa moída ou do pé de galinha moído (g).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Fase de testes

O presente trabalho visava a extração do colágeno de resíduos orgânicos com posterior análise físico-química seguindo a metodologia descrita por Silva *et al.* (2011), porém, devido a contratempos a mesma precisou de modificações.

Na etapas posteriores à lavagem com adição de água, ao repouso em solução alcalina e ao banho termostatizado notou-se que a matéria prima absorveu o solvente de forma rápida dificultando a retirada do mesmo. Assim, a centrifugação em ambas as fases exigiu ser repetida pelo menos três vezes.

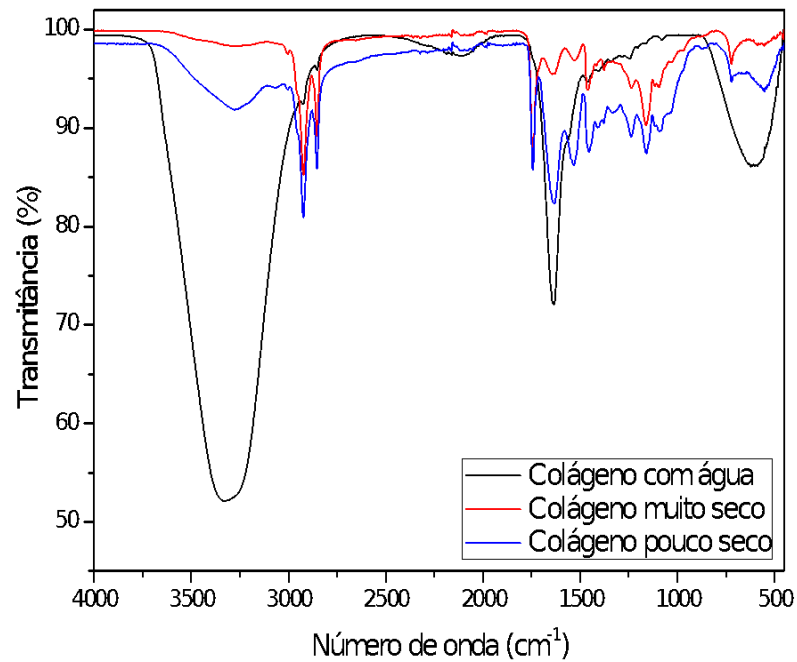
Esperava-se que na análise da viscosidade, o colágeno escoasse pelo Copo Ford, entretanto, após a extração, a consistência do material passou de líquida para rígida, impossibilitando a verificação de tal propriedade físico-química, além de que a quantidade extraída de colágeno não fora suficiente para que a metodologia do Copo Ford fosse usada. Dessa forma, o material precisou ser aquecido antes da execução desta análise, sendo utilizado o viscosímetro utilizado foi do tipo Cannon-Fenske.

Além disso, para garantir a fidedignidade dos dados obtidos, as amostras de colágeno obtidas foram analisadas por espectroscopia na região do infravermelho (IV) como mostrado na **Figura 10**.

O colágeno obtido na fase de testes, representado pela curva em preto na **Figura 10**, evidencia uma banda larga, característica de grupos hidroxila (OH), na região próxima de $3250-3500\text{ cm}^{-1}$. Atribui-se esta banda à água presente na amostra, o que dificultou a comparação com o espectro da literatura. Devido a este fato, fez-se necessária a secagem do mesmo em estufa a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ para a amostra 1 e amostra 2, respectivamente. Podemos evidenciar na curva em azul e na curva em vermelho ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $80\text{ }^{\circ}\text{C}$) uma banda intensa na região de 1660 cm^{-1} , que segundo Payne & Veis (1988), é característica de amida primária. Esta banda apresenta ainda três bandas adicionais em regiões próximas a 1651 cm^{-1} , 1642 cm^{-1} e uma banda intensa em 1632 cm^{-1} .

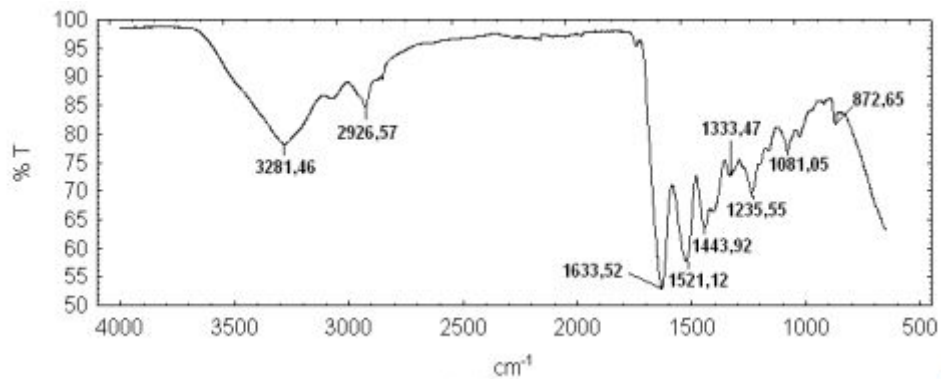
O espectro de infravermelho obtido está de acordo com o representado por Prestes *et al.* (2013) como pode-se observar na **Figura 11**, comprovando assim que o colágeno foi obtido.

Figura 10 - Espectro de infravermelho para as amostras de colágeno.



Fonte. Elaborado pelo grupo.

Figura 11 - Espectro de colágeno em pó.



Fonte: Prestes *et al.* (2013).

Assim, devido às dificuldades encontradas no período de testes, a metodologia para extração sofreu pequenas modificações.

4.2 EXTRAÇÃO DO COLÁGENO

Apesar do crescimento nas pesquisas científicas envolvendo o pescado e seus subprodutos como matéria-prima para obtenção de colágeno, ainda existe uma escassez no conhecimento aperfeiçoado sobre as propriedades da matéria extraída, ao contrário do colágeno ou gelatina de mamíferos (BUENO, 2008).

Nota-se na **Tabela 4** que a quantidade de colágeno obtida dos pés de galinha, seguindo a metodologia de Silva *et al.* (2011), foi significativamente maior que a quantidade extraída das cabeças de carpa.

Tabela 4 - Quantidade de resíduo das amostras.

PÉS DE GALINHA			CABEÇA DE CARPA		
Nº experimento	Qtd. resíduo	Qtd colágeno	Nº experimento	Qtd. resíduo	Qtd. colágeno
Triplicata A	32,39	32,58	Triplicata M	20,58	19,32
Triplicata B	34,05	29,62	Triplicata N	22,41	18,07
Triplicata C	34,39	33,62	Triplicata O	20,02	19,74
Triplicata D	34,13	34,54	Triplicata P	22,97	18,45
Triplicata E	31,12	28,78	Triplicata Q	21,84	16,81
Triplicata F	32,49	33,12	Triplicata R	24,54	18,09
Triplicata G	30,17	32,23	Triplicata S	24,04	17,58
Triplicata H	31,52	32,89	Triplicata T	22,78	16,00
Triplicata I	33,78	30,52	Triplicata U	23,42	18,41
Triplicata J	34,56	29,02	Triplicata V	25,29	16,33
Triplicata K	30,98	33,25	Triplicata W	24,00	14,16
Triplicata L	34,26	32,96	Triplicata X	22,56	16,74

Fonte: Elaborado pelo grupo

Em média, foram 31,92 g de amostra extraída dos pés de galinha e 17,47 g de amostra extraída das cabeças de carpa. Acredita-se que este dado deve-se ao fato de que, nos pés de galinha, encontram-se tendões e cartilagens em maior proporção do que nas cabeças de carpa e também vale salientar que carpas são

peixes ósseos, ou seja consequentemente a quantidade final de amostra extraída dos subprodutos do frango será maior, uma vez que tecidos conjuntivos mais maleáveis como o cartilaginoso apresentam uma maior quantidade de colágeno do que tecidos conjuntivos rígidos, como o tecido ósseo. Porém, em contrapartida, o resíduo final do pescado é relativamente menor. Apesar destes dados, a primeira hipótese mostra-se corroborada, pois, mesmo sendo mais eficaz nos pés de galinha do que na cabeça de carpa, a metodologia de extração se mostrou eficiente em ambos os resíduos.

4.3 PROPRIEDADES FÍSICO - QUÍMICAS

4.3.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

A **Tabela 5** apresenta o pH do colágeno extraído das cabeças de carpa e dos pés de galinha, determinado em suas respectivas triplicatas.

Tabela 5 - pH das amostras.

PÉS DE GALINHA		CABEÇA DE CARPA	
Nº experimento	pH	Nº experimento	pH
Triplicata A	7,73	Triplicata M	7,35
Triplicata B	6,48	Triplicata N	8,00
Triplicata C	8,39	Triplicata O	7,33
Triplicata D	7,46	Triplicata P	7,38
Triplicata E	7,47	Triplicata Q	7,38
Triplicata F	7,08	Triplicata R	7,42
Triplicata G	7,00	Triplicata S	7,40
Triplicata H	7,00	Triplicata T	7,98
Triplicata I	6,71	Triplicata U	7,39
Triplicata J	6,22	Triplicata V	8,12
Triplicata K	6,12	Triplicata W	7,20

Na literatura, o potenciômetro foi utilizado na determinação do pH das amostras de colágeno a 55 °C e 60 °C, nas concentrações de 1,0 % e 6,67%, respectivamente, conforme metodologia descrita por Schrieber & Gareis (2007) e executada por Prestes (2013).

O pH determinado das soluções de pés de galinha foi, em média, de 6,87. Este valor encontra-se acima do apresentado na literatura por Ferreira (2013) que variou entre 4,3 e 2,6. Este fato deve-se ao pré-tratamento alcalino ao qual as amostras foram submetidas, pois, de acordo com Alfaro (2008) valores de pH têm sido apresentados dentro da faixa de 3,8 a 5,0 para gelatinas processadas por pré-tratamento ácido e 4,7 a 7,5 para processadas por pré-tratamento alcalino.

Segundo Prestes (2013) o pH do colágeno bovino em pó, comprado comercialmente foi de 7,78, valor que mostra-se ligeiramente acima do pH do colágeno extraído do pescado que foi de 7,5 em média. Isto se deve principalmente ao processo de obtenção empregado e nas análises presentes na literatura o produto colágeno não se encontrava diluído como nessa pesquisa, o que facilitou a determinação do pH apenas da proteína sem interferência do pH da própria água.

4.3.2 Viscosidade

A **Tabela 6** apresenta o resultado das análises respectivo ao tempo de escoamento, desempenhadas nas amostras do frango e carpa, realizadas no viscosímetro Cannon-Fenske.

Tabela 6 - Tempo de escoamento

Amostras	4 mol 105 m.	3 mol 25 m.	4 mol 25 m	3 mol 105 m
Cabeças de arpa	3s e 86 ms	1 s e 40 ms	3 s e 64 ms	5 s e 84 ms
Pés de	2 m e 49 s	4 s e 28 ms	5 s e 63 ms	4 s e 70 ms

galinha

Fonte: elaborado pelo grupo.

A **tabela 7**, apresenta os resultados finais em relação a viscosidade cinemática e a viscosidade dinâmica, para os pés de galinha e para as cabeças de carpa.

Tabela 7 - Viscosidade cinemática e dinâmica

PÉS DE GALINHA			CABEÇAS DE CARPA		
Nº do experimento	Viscosidade cinemática mm ² /s	Viscosidade dinâmica Pa.s	Nº do experimento	Viscosidade cinemática mm ² /s	Viscosidade dinâmica Pa.s
Triplicata A, B, C	2,79 x 10 ⁻⁶	2,84 x 10 ⁻⁵	Triplicata M,N,O	6,54 x 10 ⁻⁴	5,78 x 10 ⁻⁴
Triplicata D, E, F	2,68 x 10 ⁻⁵	2,26 x 10 ⁻⁵	Triplicata P, Q, R	2,38 x 10 ⁻⁵	2,26 x 10 ⁻⁵
Triplicata G, H, I	3,07 x 10 ⁻⁶	1,51 x 10 ⁻⁵	Triplicata S, T, U	3,81 x 10 ⁻⁵	4,21 x 10 ⁻⁵
Triplicata J, K, L	1,10 x 10 ⁻³	9,77 x 10 ⁻⁴	Triplicata V,W,X	2,52 x 10 ⁻⁵	2,84 x 10 ⁻⁵

Fonte: elaborado pelo grupo.

Valores referentes a viscosidade de gelatinas extraídas de pescados oscilam, normalmente, entre 1,5 e 7,5 mPa.s, medida por tempo de circulação de um colóide à 6,67% de concentração através de um viscosímetro à temperatura de 60°C (LINDEN e LORIENT, 1994 *apud* SILVA, 2011).

Alguns fatores podem influenciar diretamente a viscosidade, como, por exemplo, o valor do pH, onde valores de pH alcalinos normalmente acarretam grande queda na viscosidade, enquanto com pH ácido, ocorre apenas uma redução moderada da mesma (BUENO, 2008). Na literatura, os valores de viscosidade para a maioria das gelatinas comerciais têm sido reportados entre 2,0 - 7,0 mPa.s, e acima de 13,0 mPa.s para gelatinas especiais. Sendo assim, os valores de

viscosidade que foram obtidos se encaixam na literatura, salientando a veracidade de nossos resultados.

4.3.3 Densidade

A **Tabela 8** apresenta os valores de densidade encontrados para cada triplicata.

Tabela 8 - Densidade das amostras.

PÉS DE GALINHA		CABEÇA DE CARPA	
Nº experimento	Densidade (g/mL)	Nº experimento	Densidade (g/mL)
Triplicata A	1,101	Triplicata M	1,432
Triplicata B	0,934	Triplicata N	0,81
Triplicata C	0,921	Triplicata O	1,184
Triplicata D	0,840	Triplicata P	1,279
Triplicata E	1,2	Triplicata Q	0,935
Triplicata F	1,00	Triplicata R	0,942
Triplicata G	1,163	Triplicata S	0,866
Triplicata H	2,887	Triplicata T	0,929
Triplicata I	2,025	Triplicata U	0,921
Triplicata J	1,139	Triplicata V	0,888
Triplicata K	0,967	Triplicata W	0,918
Triplicata L	1,286	Triplicata X	0,851

Fonte: Elaborado pelo grupo.

A densidade do colágeno obtido dos pés de galinha foi de 1,28 g/mL, valor calculado através da média das densidades encontradas nas triplicatas de A até L. O mesmo foi considerado para o colágeno das cabeças de carpa, em que a densidade obtida foi de 0,99 g/mL.

Na literatura, não foram encontrados valores de análises físico-químicas para a densidade do colágeno obtido de subprodutos para comparação.

4.3.4 Teor de proteína bruta

No cálculo de teor de proteína, o fator de conversão utilizado foi 6,25, conforme descrito por Lutz (2008) e Silva *et al.* (2011). Na **Tabela 9**, encontram-se a média, em porcentagem, de proteína.

Tabela 9 - Média de teor de proteína bruta.

Pés de galinha		Cabeças de carpa	
Nº do experimento	Média de proteína (%)	Nº do experimento	Média de proteína (%)
Triplicata A, B, C	42,82	Triplicata M, N, O	69,63
Triplicata D, E, F	12,04	Triplicata P, Q, R	7,11
Triplicata G, H, I	59,12	Triplicata S, T, U	60,80
Triplicata J, K, L	16,62	Triplicata V, W, X	5,62

Fonte: elaborado pelo grupo.

As concentrações de proteína variaram de 7,11 a 69,63%, de acordo com o método de Kjeldahl. As triplicatas que permaneceram em tratamento com solução alcalina 4 M apresentaram o menor teor de proteína, enquanto as triplicatas que tiveram tratamento com solução alcalina 3 M mostraram o maior teor de proteína bruta: 69,23; 60,80; 59,12 e 42,82%, sendo que a maior porcentagem refere-se às amostras de colágeno extraídas das cabeças de carpa.

Ferreira (2013), encontrou valores que variaram de 67,5 a 69,5% no teor de proteína extraída de pés de frango, já Prestes (2013) relatou valores aproximados a 90% (87,35%) no teor de proteína bruta do colágeno bovino e Silva *et al.* (2011) encontraram um valor de 17,84% a partir de peles e cabeça de carpa.

Os dados da literatura se aproximam do resultado obtido para o colágeno extraído dos pés de frango no tempo de 105 minutos com tratamento alcalino NaOH 3 M, mostrando um alto conteúdo proteico. Tratando-se das cabeças de carpa, os dados encontram-se inferiores aos apresentados na **Tabela 8** nas triplicatas M, N, O, S, T e U. A variedade de dados encontrados mostra que o tratamento com base 3 M interferiu menos na quantidade de proteínas presentes nas amostras. Estas poderiam contribuir de forma significativa no enriquecimento do conteúdo protéico de alimentos segundo Ferreira (2013) .

4.3.5 Teor de cinzas

Em alimentos, as cinzas (**Figura 12**) dizem respeito ao resíduo inorgânico remanescente da queima da matéria orgânica. É de extrema importância salientar que a composição das cinzas referem-se à quantidade de substâncias minerais presentes em alimentos, devido às perdas por volatilização ou mesmo pela reação entre os componentes. As cinzas são consideradas como medida geral de qualidade e frequentemente é utilizada como critério na identificação dos alimentos (CHAVES *et. al.*, 2004).

Figura 12 - Cinzas



Fonte: acervo pessoal

A **Tabela 10** apresenta a massa de cinzas e o respectivo teor de cinzas do colágeno extraído das cabeças de carpa e dos pés de galinha.

Tabela 10 - Teor de cinzas.

PÉS DE GALINHA			CABEÇA DE CARPA		
Nº experimento	Cinzas Massa (g)	Teor de cinzas (%)	Nº experimento	Cinzas Massa (g)	Teor de cinzas (%)
Triplicata A	0,0277	0,2120	Triplicata M	0,0068	0,0498
Triplicata B	0,0311	0,2526	Triplicata N	0,0239	0,3740
Triplicata C	0,0179	0,1341	Triplicata O	0,0215	0,1565
Triplicata D	0,0395	0,2068	Triplicata P	0,0095	0,0348
Triplicata E	0,0124	0,6200	Triplicata Q	0,0776	0,4731
Triplicata F	0,0547	0,3589	Triplicata R	0,0203	0,1842
Triplicata G	0,0485	0,4295	Triplicata S	0,0065	0,1096
Triplicata H	0,0190	0,1420	Triplicata T	0,0060	0,0307
Triplicata I	0,0266	0,1301	Triplicata U	0,0099	0,0988
Triplicata J	0,0225	0,0884	Triplicata V	0,0073	0,0304
Triplicata K	0,0347	0,2328	Triplicata W	0,0226	0,1812
Triplicata L	0,0069	0,3122	Triplicata X	0,1242	0,0200

Fonte: Elaborado pelo grupo.

Na literatura, o máximo teor de cinzas recomendado para gelatina é 2,6%, embora, usualmente a gelatina com conteúdo de cinzas acima de 2% pode ser aceita para aplicações alimentícias (ALFARO, 2008). Ferreira (2013) obteve resultados que variaram de 1,0 a 1,9% no teor de cinzas das amostras extraídas de pés de frango. Já, de acordo com Tavakolipour (2011) *apud* Ferreira (2013), o teor de cinzas encontrado em gelatina extraída do pescado carpa prateado foi de 2,2% (para as amostras com pré-tratamento ácido) e 2,07% (para as amostras com pré-tratamento básico).

A média das triplicatas em relação ao teor de cinzas do colágeno obtido do frango, foi de 0,2599%, já para o colágeno extraído do pescado, houve uma média de 0,1452%. Os dados apresentam-se inferiores quando comparados a resultados mostrados na literatura, porém o teor de cinzas obtido nas análises se encaixa nos padrões necessários, uma vez que estão dentro dos limites recomendados pela legislação (menor que 2,6%) segundo Ferreira (2013).

4.4 COMPARAÇÃO COM O COLÁGENO COMERCIALIZADO

As análises efetuadas no colágeno comercializado após a análise decorreram das propriedades físico-químicas do colágeno extraído. O material foi obtido em uma casa de produtos naturais e submetido a diluição com água destilada 1:1 p/v. A seguir, as mesmas metodologias de análise aplicadas no colágeno extraído em laboratório foram executadas no colágeno comercializado.

No cálculo de determinação do pH, o valor adquirido foi de 6,71, constatando, assim, por meio comparativo, uma variação de 0,16 em relação às médias obtidas dos pés de galinha, com pH 6,87, e variação de 0,79 em relação às médias das cabeças de carpa, com pH 7,5.

Já para o cálculo da densidade, foram diluídas 10 g de colágeno comercial em pó em 10 mL de água destilada, (1/1) m/v. O resultado da análise deste correspondeu a 0,79 g/mL. Em comparação com os resultados obtidos do colágeno extraído do frango (1,28 g/mL) e do pescado (0,99 g/mL), é notável uma diferença de 0,48 g/mL e 0,19 g/mL, respectivamente.

Tratando-se da viscosidade, após as análises a viscosidade cinemática do colágeno hidrolisado foi de $8,76 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$, e a viscosidade dinâmica, $1,10 \times 10^{-3} \text{ Pa.s}$. Em comparação com as análises realizadas nas triplicatas de frango e carpa, deram em média, $2,89 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$, para os pés de galinha e $1,85 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ (viscosidade cinemática). Em relação a viscosidade dinâmica, a média realizada referente as amostra de frango foram de $2,60 \times 10^{-4} \text{ Pa.s}$, e ao pescado, $1,67 \times 10^{-4} \text{ Pa.s}$. É notável uma oscilação de $5,87 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ (frango) e $6,97 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ (carpa) da viscosidade cinemática em relação ao colágeno hidrolisado, e em relação

a viscosidade dinâmica, a diferença condiz a $8,4 \times 10^{-4}$ Pa.s (frango) e $9,3 \times 10^{-4}$ Pa.s (carpa).

Em relação ao teor de cinzas, após a incineração obteve-se 0,1943 g correspondente ao colágeno comercializado, ou seja, 1,33%. Quando comparado ao colágeno dos pés de galinha e da cabeça de carpa há uma diferença significativamente ampla, já que o teor foi de 0,26% e 0,15%, respectivamente, com uma diferença de 1,07% e 1,18%. Essa variação deve-se ao fato de que a amostra de colágeno comercializada apresentava-se em maior massa, o que pode acarretar em uma aumento na queima de matéria orgânica.

De acordo com os dados, com exceção do teor de cinzas, houve pequena variação nos resultados obtidos do colágeno comercializado e do colágeno extraído do pé da galinha e da cabeça de carpa (**Figura 11**). Sendo assim, considera-se que ambos os produtos finais são semelhantes entre si, fato que corrobora a segunda hipótese que relatava que as propriedades físico-químicas do colágeno obtido dos dois resíduos orgânicos serão semelhantes às do colágeno comercializado.

Ainda é propício afirmar que a competência das análises das demais propriedades foram consideravelmente correlativas e similares, fazendo-se fatores justificantes das diferenças dos resultados encontrados para o colágeno comercializado e para o colágeno extraído, a concentração das diluições e o estado físico em que as mesma se encontravam.

Tabela 11: Comparativo de propriedades físico-químicas

Propriedades físico-químicas	Pés de galinha	Cabeças de carpa	Colágeno comercializado
Teor de cinzas (%)	0,26	0,15	1,33
Densidade (g/mL)	1,28	0,99	0,79
Viscosidade Pa.s	$2,60 \times 10^{-4}$	$1,67 \times 10^{-4}$	$1,10 \times 10^{-3}$
pH	6,87	7,5	6,71

Fonte: elaborado pelo grupo.

4.5 CÁLCULO DE RENDIMENTO

A **Tabela 12**, apresenta o valor de rendimento para cada extração. O cálculo deu-se pela média do teor de proteína bruta multiplicado pela média do volume de colágeno extraído da matéria prima, divididos pela massa inicial desta. A média se apresenta pela quantidade de colágeno extraído a cada 100 g de matéria prima.

Tabela 12 - Rendimento.

Pés de galinha		Cabeças de carpa	
Nº do experimento	Média de rendimento (g/100g)	Nº do experimento	Média de rendimento (g/100g)
Triplicata A, B, C	41,03	Triplicata M, N, O	39,77
Triplicata D, E, F	11,76	Triplicata P, Q, R	3,79
Triplicata G, H, I	56,44	Triplicata S, T, U	31,61
Triplicata J, K, L	16,58	Triplicata V, W, X	2,65

Fonte: elaborado pelo grupo.

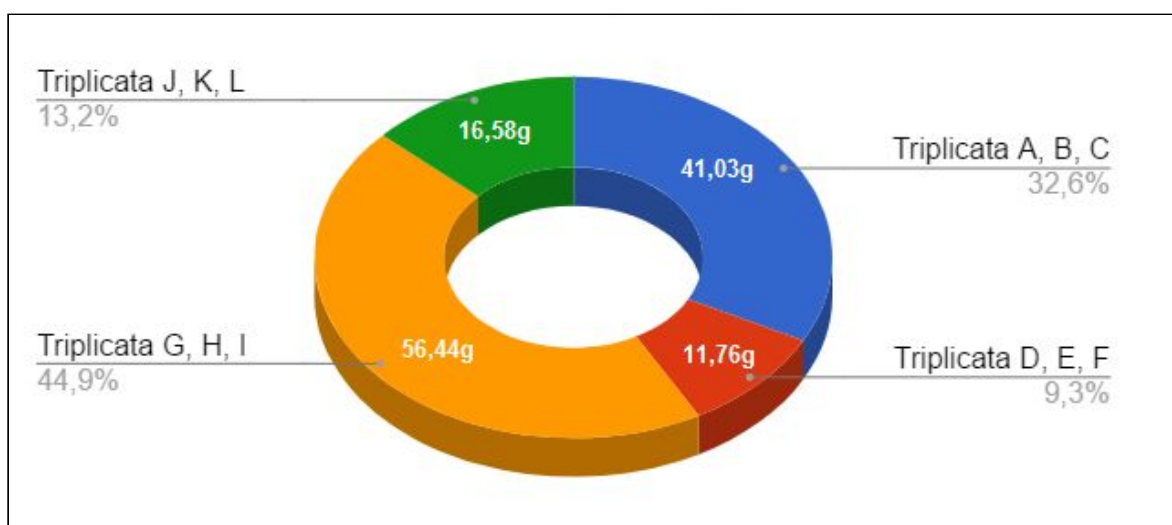
Os dados constataam que houve diferença significativa no rendimento de cada subproduto, o qual mostrou-se maior na extração do colágeno dos pés de galinha (cerca de 31,45 g e 19,45 g para o pescado). Esta afirmação refuta nossa última hipótese que dizia que o método de extração seria mais eficaz para extrair o colágeno das cabeças de carpa.

Vale salientar que a concentração mostrou-se significativamente mais influenciadora do que o tempo de descanso, na extração. Para as triplicatas que permaneceram em repouso na solução alcalina de NaOH 3 M a média de rendimento foi consideravelmente alta, sendo que nas triplicatas G, H e I foi superior a 50%. Já o tempo não mostrou padronagem, pois, como é possível observar na **Tabela 12**, o rendimento foi alto tanto no tempo de 105 minutos quanto no tempo de 25 minutos, da mesma forma que foi baixo no tempo de 25 minutos tanto quanto no tempo de 105 minutos.

No **Gráfico 1** e **Gráfico 2**, pode-se reafirmar as observações realizadas na **Tabela 11**, de forma que, relacionar o resultado do colágeno extraído com o percentual das triplicatas auxiliou na compreensão da análise como um todo.

Assim, considerando a quantidade total de proteína extraída, pode-se realizar a análise de comparação em relação a porcentagem com as concentrações e os períodos de repouso.

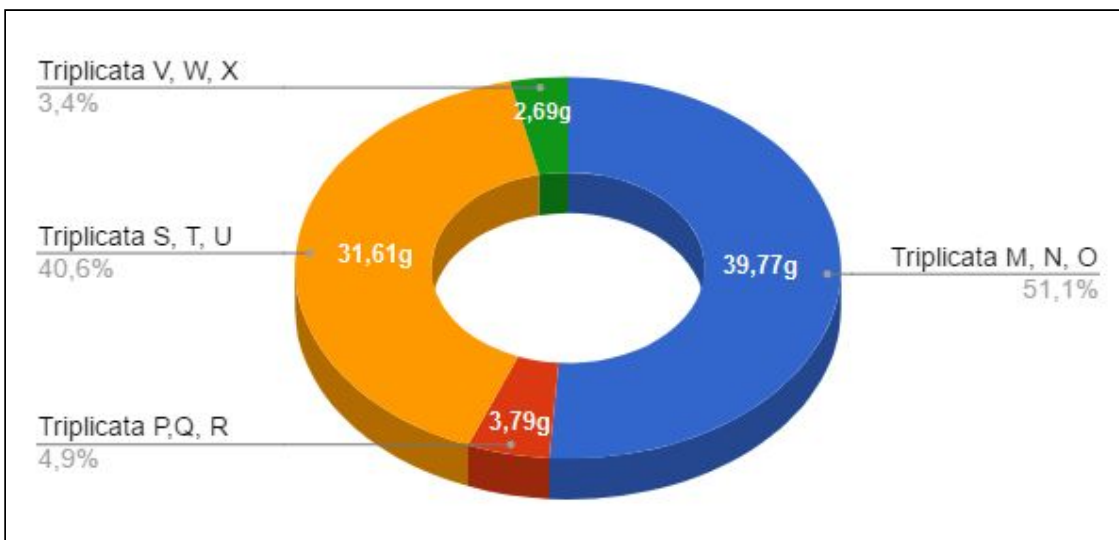
Gráfico 1 - Porcentagem de extração (frango).



Fonte: elaborado pelo grupo

Assim, é notável a oscilação em relação às porcentagens, onde as triplicatas com o maior percentual de proteína (44,9% e 32,6%) referem-se às amostras realizadas com concentração 3 M, com respectivo repouso de 25 minutos (A,B e C) e 105 minutos (G,H e I). Já, as amostras com o menor percentual (9,3% e 12,3%), referem-se às triplicatas submetidas a concentração 4 M, com repouso de 25 minutos (D,E e F) e 105 minutos (J,K e L).

Gráfico 2 - Porcentagem de extração (pescado).



Fonte: elaborado pelo grupo

Entretanto, nota-se que o percentual para as cabeças de carpa possui um resultado similar em comparação com os pés de galinha. Da mesma forma, as triplicatas com o maior percentual de proteína, 51,1% e 40,6%, refere-se às amostras realizadas com a concentração 3 M, com respectivo repouso de 25 minutos (M,N e O) e 105 minutos (S,T e U). Da mesma forma que as amostras com o menor percentual, 3,4% e 4,9%, referem-se às triplicatas submetidas a concentração 4 M, com os respectivos repousos de 25 minutos (P,Q e R) e 105 minutos (V,W e X).

4.6 INFLUÊNCIA DO TEMPO E DA CONCENTRAÇÃO NA EXTRAÇÃO

Após as amostras serem submetidas ao repouso, em tempos de 25 minutos e 105 minutos e concentrações de 4 M e 3 M, observou-se e constatou-se que as amostras que permaneceram em pré-tratamento alcalino com concentração 4 M tiveram um menor rendimento. Isto se dá, devido ao fato de que a base mais concentrada, quando em contato com as proteínas colagenosas, degrada as mesma de forma mais agressiva. Diferente das amostras que permaneceram em tratamento alcalino com concentração 3 M, onde a extração de colágeno teve uma performance mais satisfatória, logo, obteve-se um maior rendimento, pois nesta, as proteínas sofreram uma menor degradação.

Tratando-se dos intervalos de tempo de repouso de forma mais específica, não foram identificadas padronagens na quantidade final extraída. Pois, como visto na tabela anterior, o tempo de 105 minutos obteve um melhor rendimento quando nos pés de galinha, mas nas cabeças de carpa, obteve um rendimento inferior ao tempo de 25 minutos. Da mesma forma que estes mesmos tempos com concentrações diferenciadas obtiveram rendimentos consideravelmente diferentes. Portanto, a variação de tempo (105 minutos ou 25 minutos) não influencia diretamente na extração do colágeno tanto dos pés de galinha como das cabeças de carpa. Estes resultados corroboram parcialmente a terceira hipótese que diz que a matéria prima deixada em repouso em tratamento alcalino durante 105 minutos irá proporcionar maior quantidade de rendimento final (colágeno).

Vale ressaltar, neste tópico, que além de influenciar na extração do material, a concentração influencia diretamente a viscosidade das amostras, pois as amostras que ficaram em repouso na solução de NaOH 3 M tiveram um tempo de escoamento maior, ou seja, escoaram de forma mais lenta, caracterizando assim maior viscosidade. Ora em relação às amostras que receberam pré-tratamento alcalino 4 M, tiveram um tempo mais curto de escoamento, ou seja, escoaram mais rapidamente.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a execução desta pesquisa, foi possível refutar e corroborar hipóteses propostas no projeto, as quais eram relacionadas a extração e caracterização do colágeno obtido de resíduos orgânicos, com posteriores modificações.

Sendo assim, a primeira hipótese que dizia respeito ao método de extração empregado foi corroborada, pois apesar de ter mostrado-se mais eficaz nos pés de galinha do que nas cabeças de carpa, em ambos os resíduos ela foi eficiente.

Tratando-se da segunda hipótese, que citava as propriedades físico-químicas dos colágenos extraídos e do colágeno comercializado, esta foi corroborada, pois, como mostrado anteriormente, as propriedades físico-químicas analisadas apresentaram valores aproximados, principalmente tratando-se do colágeno

extraído dos pés de galinha. Vale salientar que devido a estes dados, os colágenos obtidos em laboratório podem sofrer modificações para futuras aplicações.

Em relação a terceira hipótese que previa um maior rendimento final nas amostras deixadas em tratamento alcalino no tempo de 105 minutos, pode ser considerada parcialmente válida, pois como discutido anteriormente, o rendimento de colágeno extraído no tempo de 105 minutos foi superior tratando-se dos pés de galinha, porém mostrou-se inferior em relação ao tempo de 25 minutos na extração do colágeno das cabeças de carpa.

Por fim, a quarta hipótese, que dizia que o método de extração seria mais eficaz no colágeno de cabeças de carpa, está refutada, já que como apontado anteriormente, os pés de galinha mostraram um rendimento superior ao pescado, por possuir maior quantidade de tendões e cartilagens.

A partir dos resultados obtidos com a presente pesquisa, é possível constatar que o colágeno extraído de subprodutos da carne possui significativas aplicações no ramo alimentício e cosmético. Além do que é possível identificar a necessidade de aprimoramento das técnicas de extração na área, visto que na pesquisa, a metodologia adotada passou por modificações.

Quanto aos objetivos propostos nesta pesquisa, todos foram cumpridos, sendo eles: 1) extrair o colágeno dos dois resíduos orgânicos; 2) calcular o rendimento de colágeno obtido; 3) comparar as propriedades físico-químicas de cada extração dos colágenos obtidos em laboratório e o comercial; 4) Comparar as amostras do colágeno extraído em laboratório com o colágeno comercial.

Finalmente, é de saber mútuo que o incentivo a valorização de subprodutos da indústria de carnes necessita de maior reconhecimento, assim como as metodologias de extração referentes ao colágeno encontrado em tarsos de frango e pescados necessitam de aprimoramentos.

6. REFERÊNCIAS

ABNT. **Resíduos Sólidos Classificação**. 2004. Disponível em: <http://www.abetre.org.br/biblioteca/publicacoes/publicacoes-abetre/classificacao-de-residuos> . Acesso em: <Set. de 2016>

ALFARO, Alexandre da Trindade. **Otimização das condições de extração e caracterização da gelatina de pele de tilápia (*Oreochromis urolepis hornorum*)**. 130f. 2008. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

ALMEIDA, P. F. de; SANTANA, J.C.C. **Avaliação da qualidade de uma gelatina obtida a partir de tarsos de frango**. São Carlos, SP. 2010. Disponível em: <http://www.abepro.org.br/biblioteca/enegep2010_TN_STP_114_750_15403.pdf>. Acesso em: 2017.

BANDEIRA, Sidney Fernandes. **EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA GELATINA OBTIDA DE CABEÇAS DE CARPA (*Aristichthys mobilis*)**. Universidade Federal do Rio Grande, RS, 2009. Disponível em: <http://repositorio.furg.br/bitstream/handle/1/2450/dissertao%20sidney%20fernandes%20bsandeira.pdf?sequence=1>. Acesso em: <Set. 2016>.

BENTO, Ana Laura; TORRES, FLavia Luana; LEMES, Rafael Rocha; MAGALHÃES, Taciani de A. **Sistema de Gestão Ambiental para resíduos sólidos orgânicos**. UNIFAL. Alfenas, MG, 2013. Disponível em: http://www.unifal-mg.edu.br/sustentabilidade/sites/default/files/anexos/Res%C3%ADduos%20s%C3%B3lidos%20org%C3%A2nicos_rel%C3%B3rio_0.pdf . Acesso em: <Set. de 2016>

BUENO, C. M.; ALVIM, I. D.; KOBERSTEIN, T. C. R. D.; PORTELLA, M. C.; GROSSO, C. Produção de gelatina de pele de tilápia e sua utilização para obtenção de micropartículas contendo óleo de salmão. **Brazilian Journal of Food**

Technology, Campinas, v. 14, n. 1, p. 65-73, 2008. Disponível em: <<http://www.ital.sp.gov.br/bj/artigos/html/busca/PDF/v14n1446a.pdf>>. Acesso em: 2017.

CASTAÑEDA, Leticia Marisol Flores. **Antocianinas: O que são? Onde estão? Como atuam?**. 2009. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/agronomia/materiais/userfiles/Leticia.pdf>. Acesso em: <18 Nov. 2016>.

CHAVES, Maria da Conceição Veloso. GOUVEIA, Josivanda P. G. ALMEIDA, Francisco de Assis C. LEITE, Cleidimário Araújo. SILVA, Flávio Luiz Honorato. Caracterização físico-química do suco de acerola. **Rev. Biologia e Ciência da Terra.**, v.4, n.2, 2004.

COELHO, Sérgio L. Villares. **Conceitos fundamentais de mecânica dos fluidos**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ. Disponível em: http://www.turbulencia.coppe.ufrj.br/notas_aulas/CursoMecFlu_SLVC.pdf Acesso em: <nov. de 2016>.

FERREIRA, Mirele Fernandes. **Extração e caracterização de gelatina proveniente de subprodutos do frango: pés**. 2013. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/962/1/CM_COEAL_2012_2_07.pdf>. Acesso em: 05 jun. 2017.

INSTITUTO ADOLF LUTZ (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, v. 4, p. 1020, 2008.

FIB: Food Ingredients Brasil. São Paulo: Insumos, v. 18, 2011. Disponível em: http://www.revista-fi.com/edicoes_materias.php?id_edicao=28. Acesso em: <Out. de 2016>..

GOISSIS, Ana Paula Abdalla. **Análise estrutural do colágeno do tipo I - correlação estrutura : atividade biológica.**2007. 112 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007. Disponível em:<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/82/82131/tde-13022008-115745/pt-br.php>. Acesso em: <16 nov. 2016>.

GOMES, Abílio Soares; CLAVICO, Etiene. **Propriedades Físico-químicas da Água.** Rio de Janeiro, 2005. Color. Disponível em: <http://www.uff.br/ecosed/PropriedadesH2O.pdf>. Acesso em: <nov. 2016.>

GONÇALVES, Gleidiana Rodrigues et al. **BENEFÍCIOS DA INGESTÃO DE COLÁGENO PARA O ORGANISMO HUMANO.** 2015. Disponível em: <<http://revistas.pucsp.br/index.php/reb/article/viewFile/18568/17395>>. Acesso em: <17 nov. 2016>.

GOULART, Flávia Cristina. **Aminoácidos.** Disponível em: http://www.marilia.unesp.br/Home/Instituicao/Docentes/FlaviaGoulart/aula_aminoacidos.pdf. Acesso em: <Out. de 2016>.

LOPES, Sônia. **Bio:** Volume único. 2. ed. São Paulo: Saraiva, 2008.

MATOS, Alex. **Usos de colágeno.** 2012. Disponível em: <[http://www.news-medical.net/health/Collagen-Uses-\(Portuguese\).aspx](http://www.news-medical.net/health/Collagen-Uses-(Portuguese).aspx)>. Acesso em: <18 nov. 2016>.

MELDAU, Débora Carvalho. **Vitamina C.** Disponível em: <<http://www.infoescola.com/bioquimica/vitamina-c/>>. Acesso em: <18 nov. 2016>.

MELDAU, Débora Carvalho. **Nucleotídeos.** Disponível em: <http://www.infoescola.com/citologia/nucleotideos/>. Acesso em: <24 nov. 2016>.

META, Colégio. **Teoria sobre pH.** Disponível em: [http://colegiometa.yolasite.com/resources/Teoria sobre pH.pdf](http://colegiometa.yolasite.com/resources/Teoria%20sobre%20pH.pdf). Acesso em: <19 nov. 2016>.

OLIVEIRA, Anselmo Elcana de. **Manual de laboratório: Viscosimetria.** UFG, Goiás, p.2. S.d. Disponível em: https://anselmo.quimica.ufg.br/up/56/o/FQEXP_viscosimetria.pdf. Acesso em: 2017.

OLIVEIRA, Bruno de Moura; MELO FILHO, João Massena; AFONSO, Júlio Carlos. A densidade e a evolução do densímetro. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, São Paulo, v. 35, n.10, p.1601-16010, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbef/v35n1/v35n1a24.pdf>. Acesso em: 05 jun. 2017.

PEDROSO, Maitê Golinelli Vanella. **Estudo comparativo de colágeno hidrolisado e comercial com adição de PVA.** 2009. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Analítica, Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75132/tde-11032010-111128/pt-br.php>. Acesso em: <16 nov. 2016>.

PENNA, Ana Lúcia Baretto; SILVA, Tatiane Ferreira da; Colágeno: **Características químicas e propriedades funcionais.** Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.) vol.71 no.3 São Paulo 2012. Disponível em: http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552012000300014&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: <Set./out./nov. 2016>.

PRESTES, Rosa Cristina. **Colágeno e Seus Derivados: Características e Aplicações em Produtos Cárneos**. Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2012. Disponível em: <http://pgsskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/view/791/758>. Acesso em: <Ago./set. 2016>.

PETRIN, Natália. **Tradução gênica**. 2015. Disponível em: <<http://www.estudopratico.com.br/traducao-genica-sintese-de-proteinas/>>. Acesso em: 19 nov. 2016.

PRETRY, Fabiane Crstina; PINTO, Luiz A. de Almeida; SILVA, Roberto de Souza G. da; BANDEIRA, Sidney Fernandes. **Extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum**. Santa Maria, RS, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2011nahead/a961cr3863>> Acesso em: Set. 2016.

PRESTES, Rosa Cristina *et al.* CARACTERIZAÇÃO DA FIBRA DE COLÁGENO, GELATINA E COLÁGENO HIDROLISADO. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 15, n. 9, p.375-382, 2013. Disponível em: <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev154/Art1546.pdf>>. Acesso em: 07 jun. 2017.

SANTANA, José Carlos C.; ALMEIDA, Poliana Fernandes; VANALLE, Rosângela Maria. **Produção de gelatina: uma perspectiva competitiva para a cadeia produtiva de frango de corte**. Produto & Produção, vol. 13 n. 2, 2012. Disponível em: <http://www.seer.ufrgs.br/ProdutoProducao/article/viewFile/22468/18695>. Acesso em: <Ago./set. 2016>.

SAÚDE, Melhor com saúde. **Alimentos que fornecem colágeno à pele**. Disponível em: <<http://www.melhorcomsaude.com/alimentos-fornecem-colageno-pele/>>. Acesso em: <18 nov. 2016>.

SILVA JUNIOR, César da; SASSON, Sezar. **Biologia**: Volume único. 4. ed. São Paulo: Saraiva, 2007.

SILVA JUNIOR, César da; SASSON, Sezar; JÚNIOR, Nelson Cadini. **Biologia**: Volume único. 5. ed. São Paulo: Saraiva, 2011.

SILVA, Roberto Gomes, **Obtenção da gelatina utilizando cabeças de carpa comum (Cyprinus carpio): Avaliação das etapas de pré-tratamento e extração**. Universidade Federal do Rio Grande - FURG, 2010. Disponível em: <http://repositorio.furg.br/handle/1/2574>. Acesso em: <Out.2016>

SILVA, Roberto de Souza G. da, *et al.* **Extração de gelatina a partir das peles de cabeças de carpa comum**. Santa Maria, RS, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2011nahead/a961cr3863>> Acesso em: 2017.

VENTURINI, Katiani Silva; SILVA, Luís César da; SARCINELLI, Miryelle Freire. **Estrutura da Carne**. Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, 2007. Disponível em: http://www.agais.com/telomc/b01807_estrutura_carne.pdf. Acesso em: <Out. 2016>.

VIDAL, Benedicto de Campos; MELLO, Maria Luiza S. Espectroscopia de infravermelho de banda I do tipo I do colágeno I. In: VIDAL, Benedicto de Campos. **MICRON**. 3. ed. Campinas: Elsevier, 2011. p. 283-289. Disponível em: <http://ac.els-cdn.com/S0968432810002623/1-s2.0-S0968432810002623-main.pdf?_tid=9571911c-4d1a-11e7-9936-00000aab0f6c&acdnat=1497016403_dacbb2987938b7c02502cd1e01834698>. Acesso em: 09 jun. 2017.