

QUERATINA DE PENAS DE FRANGO: EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E OBTENÇÃO DE FILMES¹

Geovana R.P. MOORE², Silvia M. MARTELLI², Cristhiane A. GANDOLFO²,
Alfredo T.N. PIRES³, João B. LAURINDO^{2,*}

RESUMO

Apresenta-se neste trabalho um processo brando de extração de queratina de penas de frango em solução aquosa contendo uréia, 2-mercaptoetanol e um surfactante (pH 9,0). Foram realizadas as determinações das massas molares, do perfil de aminoácidos e da estabilidade térmica da queratina extraída. Resultados preliminares relativos às propriedades mecânicas de filmes de queratina obtidos por *casting* também são apresentados. A extração proporcionou um rendimento de 94% em relação à queratina presente inicialmente nas penas secas. As massas molares dos compostos presentes na solução de queratina extraída foram determinadas por eletroforese e variaram entre 10 e 14.000 g mol⁻¹. A termogravimetria da queratina extraída mostrou que o processo de extração não modificou a temperatura de degradação da queratina. Os filmes de queratina obtidos apresentaram propriedades que estão de acordo com dados da literatura.

Palavras-chave: penas, queratina, 2-mercaptoethanol, massas molares, aminoácidos, filmes.

SUMMARY

CHICKEN FEATHER KERATIN: EXTRACTION, CHARACTERIZATION AND FILMS PREPARATION. The objective of this study was to extract and to determine the average molecular weight, the amino acids profile, and the thermal stability of feather keratin and the basic properties of the obtained films. The extraction, carried out with an aqueous solution containing urea, 2-mercaptoethanol and surfactant (pH 9.0), allowed the extraction of 94% of the keratin presented in the dry feather. The keratin molecular weights were determined by electrophoresis and ranged from 10 to 14,000 g mol⁻¹. Thermogravimetric analyses of keratin showed that the extraction process did not change the degradation temperatures of keratin. The films of feather keratin presented lower tensile strength and about the same elongation at break than films of wool keratin cited by the literature.

Keywords: feather, keratin, 2-mercaptoethanol, molar mass, amino acids, films.

1 - INTRODUÇÃO

Nos vertebrados, as principais epidermes tais como cabelos, penas, cascos, escamas, bicos e unhas são resultados de um processo de diferenciação de células epiteliais especializadas, denominadas de queratinócitos. Durante este processo, o tecido epitelial é convertido em um material inerte, fibroso, resistente e insolúvel em água, com pequenas diferenciações entre as várias espécies e que gera um ótimo revestimento de proteção externa [6, 7, 20].

Queratinas são polipeptídios formados por unidades de aminoácidos, com massa molar média da ordem de 10.000 g mol⁻¹, apresentando resíduos de cisteína na proporção de 7 a 20% do número total de resíduos de aminoácidos [14, 22]. Pertencem à classe de proteínas fibrosas, com formação de pontes dissulfeto inter ou intramolecular, resultando em um material com características de conformação rígida e tenaz, devido à rede tridimensional das fibras de queratina [16,17]. Essas proteínas apresentam as cadeias de polipeptídios fortemente associadas entre si em estruturas paralelas, sendo capazes de formar uma matriz contínua após a secagem [16], sendo essa uma

propriedade que favorece a formação de filmes. Análises espectroscópicas e de difração de raios-X sugerem que a molécula de queratina assume a forma α em solução e a forma β em filmes [12].

Os métodos para extrair queratinas de lã e cabelo envolvem a cisão simultânea de ligações peptídicas (hidrólises ácida e básica), redução de pontes dissulfeto com soluções de sulfato de sódio alcalino ou a combinação de tratamentos enzimáticos e químicos com o uso de hidróxido de amônio. Processos sem cisões peptídicas significativas, em que somente pontes dissulfeto são rompidas, incluem sulfitolises ou oxidação de pontes dissulfeto com ácido per fórmico [16]. WOODIN [20] extraiu queratina de penas com uréia, tioglicolato ou bissulfeto de sódio em solução tampão, a diferentes condições de pH (5,8-9,5) com o objetivo de investigar o tamanho molecular, a forma e o conteúdo de cistina/cisteína na molécula de queratina. Seus estudos demonstraram que a razão cistina/cisteína em soluções de uréia e bissulfeto dependem do pH e da concentração de uréia, sendo que a maior razão foi encontrada em pH 8,5.

A importância econômica da produção de lã e o interesse médico no crescimento e reposição de pele e cabelo fizeram da família das queratinas flexíveis e resistentes de mamíferos, uma das classes de proteínas estruturais bastante estudadas. Desde 1934, estudos sobre a insolubilidade da queratina devido à presença de pontes dissulfeto e sua solubilidade quando da quebra das mesmas têm sido relatados [5, 9, 20]. YAMAUCHI *et al.* [22] utilizaram um processo brando para extrair queratina de lã, o qual envolve o uso de tióis, como o 2-mercaptoetanol, para reduzir as

¹Recebido para publicação em 15/8/2005. Aceito para publicação em 28/4/2005. (001592)

²Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina

³Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina Caixa Postal 476

CEP 88040-900 – Florianópolis (SC)

Fone.: (55) 48-331-9930, Fax: (55) 48-331-9687

E-mail: joao@eng.ufsc.br

pontes dissulfeto em soluções concentradas de uréia em pH moderadamente alcalino. A remoção do 2-mercaptoetanol e da uréia desta solução por diálise resulta na agregação das cadeias polipeptídicas de queratina e na re-oxidação dos resíduos de cisteína, resultando em gel branco e opaco.

As penas de aves são compostas basicamente por 90% de proteína, na forma de queratina, que atualmente vem sendo utilizada, depois de hidrolisadas a altas temperaturas, na formulação de ração animal. Considerando-se que as penas representam de 5 a 7% do peso dos frangos [13] e que o Brasil é o segundo produtor mundial dessa ave, pode-se avaliar a grande disponibilidade da queratina na indústria de processamento de aves. Estudos têm revelado que esponjas e filmes preparados com soluções de queratina reduzida são mecanicamente fortes e insolúveis em água [19].

SCHROOYEN *et al.* [17] estudaram a extração queratina de penas de frango, buscando a otimização do processo. Para tal, realizaram a extração em atmosfera inerte de nitrogênio, em uma faixa de pH de 3,0 a 10,0. Estudaram, ainda, a influência de diferentes concentrações de uréia e temperaturas, bem como a estabilização da solução formada através de modificações químicas ou através da adição de diferentes quantidades de surfactante (lauril sulfato de sódio). As condições para maior rendimento de extração foram pH igual a 9,0, temperatura de 50°C e concentração de uréia de 8 mol L⁻¹.

Algumas proteínas vêm despertando o interesse para a elaboração de filmes, entre as quais destacam-se as proteínas da soja, o glúten, a gelatina, o colágeno e a queratina de lã [3, 8, 10]. Para uma maior utilização da queratina na forma de biofilmes destinados à fabricação de embalagens biodegradáveis e de outros materiais, uma otimização dos métodos de extração e a avaliação das propriedades físico-químicas da queratina extraída se fazem necessárias.

O objetivo deste trabalho foi adequar uma metodologia para extração de queratinas a partir de penas de frango e caracterização dos mesmos quanto à massa molar, perfil de aminoácidos e propriedades térmicas, além da determinação de algumas propriedades dos filmes obtidos.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

As penas de frango foram fornecidas por uma indústria avícola local, com teor de umidade de 10% em massa. Foram utilizados os reagentes: uréia (Nuclear), 2-mercaptoetanol (Vetec), lauril sulfato de sódio (Nuclear), éter de petróleo (Nuclear) e glicerol (Nuclear). As membranas de diálise utilizadas foram da Spectra/Por-1, com corte de 8.000-10.000 g mol⁻¹.

2.1 - Extração da queratina de penas por solubilização com 2-mercaptoetanol

As penas foram previamente lavadas segundo a norma ASTM [2], secadas e posteriormente moídas em moinho de facas marca Tecnal, modelo TE-648. Este material foi

desengordurado com éter de petróleo em um extrator de soxhlet por 12 h.

A solução de queratina foi extraída conforme o procedimento de YAMAUCHI *et al.* [22]. Inicialmente, 45 g de penas foram imersas em 500 mL de solução aquosa contendo uréia 8 mol L⁻¹; lauril sulfato de sódio 0,26 mol L⁻¹ e 2-mercaptoetanol 1,66 mol L⁻¹. A mistura foi mantida sob agitação durante 1 h a pH 9,0, sob atmosfera de nitrogênio e posteriormente filtrada. O filtrado foi dialisado com água destilada durante três dias consecutivos. A dosagem de proteínas foi realizada pelo método colorimétrico do biureto [11]. O processo de extração foi realizado nas temperaturas de 40, 50, 60, 70 e 80°C, para avaliação do efeito da temperatura no rendimento de queratina.

2.2 - Caracterização das proteínas por eletroforese (SDS-PAGE)

Soluções aquosas de queratina extraída foram caracterizadas por eletroforese em gel de poliácridamida na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) [21]. As amostras foram desnaturadas a 100°C por 10 min em solução de mercaptoetanol, Tris-HCl 0,5 mol L⁻¹ (pH 6,8), glicerol, SDS 10% (m/v) e azul de bromofenol 0,1% (m/v). A separação das frações foi realizada em gel de poliácridamida de 12% (m/v), em placas verticais, imerso em solução tampão Tris 0,025 mol L⁻¹, glicina 0,19 mol L⁻¹ e SDS 0,1% (m/v) (pH 8,3). A identificação das frações de proteínas foi realizada por comparação com padrão Sigmamarker com massa molar entre 6.500 e 205.000 g mol⁻¹. A voltagem aplicada foi de 120 V durante 5 h e a coloração das frações foi desenvolvida com o azul coomassie (R-250) [15].

2.3 - Perfil de aminoácidos

A determinação dos aminoácidos da queratina extraída das penas foi realizada de acordo com SPACKMAN, STEIN e MOORE [18]. As amostras foram inicialmente hidrolisadas em meio ácido, com HCl 6 mol L⁻¹ a 110°C por 24 h, em uma coluna de troca iônica, seguida de reação com nihidrina. As análises foram realizadas usando cromatografia líquida em coluna de fase reversa por HPLC usando o cromatógrafo DX300-Dionex, Sunnyvale, USA.

2.4 - Termogravimetria (TG)

Nas termogravimetrias [TG], as massas de pequenas quantidades de amostra de queratina ou penas previamente desengorduradas (ca. 15 mg) e desidratadas em estufa a vácuo (50°C/24 h) foram monitoradas em um equipamento Shimadzu TGA-50 durante aquecimentos controlados com razão de aquecimento de 10°C min⁻¹, com nitrogênio como gás de purga. As corridas foram feitas da temperatura ambiente até 600°C.

2.5 - Isotermas de sorção de umidade

A determinação das isotermas de sorção de umidade (curva de adsorção) foi realizada pelo método estático.

A queratina foi condicionada em diferentes atmosferas obtidas com várias soluções salinas saturadas. Soluções de NaOH, MgCl₂, K₂CO₃, Mg(NO₃)₂, NaNO₂, NaCl, KCl foram utilizadas para se obter umidades relativas (atividades de água) na faixa de 6 a 96 %. As isotermas foram obtidas nas temperaturas de 25 e 35°C e o modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer) foi utilizado para ajustar os dados experimentais de sorção de umidade. A representação matemática do modelo de GAB, *Equação 1*, foi descrita na literatura como adequada para a representação dos conteúdos de umidade das amostras de filmes de queratina (W) condicionados a diferentes atividades de água (umidades relativas do ar, em decimal) [13].

$$W = \frac{(A \cdot B \cdot C \cdot A_w)}{((1 - C \cdot A_w) + (1 + (B - 1) \cdot C \cdot A_w))} \quad (1)$$

Sendo:

A: o conteúdo de umidade (base seca) na monocamada; B: a constante de Guggenheim associada ao calor de sorção na primeira camada; C: a constante associada ao calor de sorção das multicamadas; A_w: a atividade de água (umidade relativa do ar).

2.6 - Preparo e caracterização de filmes de queratina

A queratina extraída foi utilizada para a preparação de filmes pela técnica de espalhamento em placas de poliestireno (*casting*). Para a formação de cada filme, 50 mL de solução de queratina foram utilizadas diretamente ou com a adição de 0,30 g glicerol/g queratina. Todas as soluções foram mantidas sob agitação mecânica constante por 1 h, para promover a homogeneização do glicerol na mistura.

Após essa etapa, a mistura foi espalhada em uma placa de poliestireno de 0,177 m² de área e posteriormente seca a 30°C por 24 h, em estufa com ventilação e renovação de ar. Os filmes foram em seguida removidos das placas e condicionados em dessecadores a 35°C, com umidade relativa igual a 75%, obtida com uma solução saturada de cloreto de sódio. Esse condicionamento foi realizado por pelo menos 48 h, antes da determinação das propriedades dos filmes de queratina. As espessuras médias dos filmes foram calculadas a partir de medidas das espessuras em quatro diferentes pontos do filme, com um micrômetro digital Mitutoyo Co., Japão, com exatidão de ±0.001 mm.

Micrografias dos filmes foram obtidas com um microscópio eletrônico de varredura, Philips XL-30. Para a obtenção das mesmas, as amostras foram cobertas por uma camada de ouro. Todas as micrografias foram obtidas com uma voltagem de aceleração de 10 kV. As propriedades mecânicas de tensão de ruptura e alongamento na ruptura foram determinadas com o analisador de textura TA-XT2 – Stable Micro System – Inglaterra. Os ensaios foram realizados com a velocidade de 0,3 mm/s e a separação

inicial das presilhas foi de 70 mm. Dez corpos de prova de 25 mm de largura e 100 mm de comprimento foram utilizados nos ensaios de tração, para cada formulação usada na preparação do filme. Antes dos ensaios, as amostras foram condicionadas em ambiente com umidade relativa de 75%, obtido com o uso de uma solução saturada de NaCl em um câmara hermética.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apresentam-se, a seguir, os resultados sobre os rendimentos obtidos na etapa de extração de queratina a diferentes temperaturas, assim como o perfil de aminoácidos da solução protéica obtida. A capacidade de sorção de água pela queratina é apresentada a duas diferentes temperaturas. Os resultados das análises termogravimétricas e da eletroforese em gel de poliácridamida são apresentados e discutidos. Resultados preliminares sobre a aplicação da queratina de frango na obtenção de filmes são também apresentados.

3.1 - Extração da queratina

O 2-mercaptoetanol e a uréia, atuando como agentes redutores, promoveram a quebra das pontes de enxofre e das ligações de hidrogênio. O lauril sulfato de sódio foi usado para promover a estabilidade da solução em meio aquoso a pH igual a 9,0, necessário para que ocorra a ativação dos grupos tióis, desfazendo-se as pontes dissulfeto. Sob estas condições foi obtida uma quantidade de queratina com rendimento de aproximadamente 94 %, em relação à massa seca inicial das penas.

Na *Tabela 1*, são relacionadas as quantidades de queratina extraídas de penas de frango, expressas em gramas por mililitro, em função da temperatura de extração. Os resultados indicaram uma tendência de redução do rendimento da extração de queratina com o aumento da temperatura. Isso pode estar associado à potencialização dos reagentes com o aumento da temperatura, que provoca um maior número de ruptura nas ligações, ocasionando a obtenção de moléculas de menor massa molar. As moléculas de massas molares inferiores a 8.000 mol L⁻¹ permeiam a membrana de diálise, levando a uma redução do rendimento efetivo do processo de extração.

TABELA 1 – Influência da temperatura no rendimento da extração de queratina

Temperatura (°C)	Concentração de proteína (mg mL ⁻¹)
40	165
50	130
60	120
70	81
80	115

3.2 - Perfil de aminoácidos

Na *Tabela 2*, apresenta-se o perfil de aminoácidos da queratina extraída de penas de frangos.

TABELA 2 – Resultados da análise de aminoácidos da queratina reduzida

Aminoácidos	Resíduos (%)
Ác. Aspártico	4,73
Ác. Glutâmico	7,65
Serina	9,31
Glicina	6,18
Histidina	0,43
Arginina	5,36
Treonina	3,50
Alanina	3,56
Prolina	8,77
Tirosina	1,96
Valina	6,94
Metionina	1,30
Cisteína	7,63
Isoleucina	4,28
Leucina	7,04
Fenilalanina	4,20
Lisina	0,53

As análises de aminoácidos foram conduzidas após completa hidrólise da queratina na presença de ácido clorídrico 6 mol L⁻¹ a 120°C, por 6 h. Sob estas condições, a asparagina e glutamina foram convertidas em ácido aspártico e ácido glutâmico, respectivamente. Os resultados indicaram que os resíduos de cisteína representam em torno de 6 a 8 % do total dos resíduos de aminoácidos, os quais concordam com os valores encontrados na literatura para a queratina da lã [22]. ARAI *et al.* [1], trabalhando com queratina extraída de penas encontraram valores de 6,7 % para resíduos de cisteína.

3.3 - Isotermas de sorção umidade

Na *Figura 1*, apresentam-se os resultados experimentais das umidades de equilíbrio dos filmes em função da atividade de água (A_w), a 25 e 35°C, assim como as curvas obtidas pelo ajuste do modelo de GAB. Para as duas temperaturas estudadas, os coeficientes de correlação foram iguais a 0,99, sugerindo que o modelo de GAB é adequado para representar os dados experimentais de sorção de umidade dos filmes. Os valores dos parâmetros do modelo são dados na *Tabela 3*. As isotermas de sorção de umidade da queratina, para as temperaturas de 25 e 35°C, apresentam comportamentos diferentes para valores de A_w superiores a 0,5. O modelo sigmoidal das curvas é típico de materiais biológicos e indicam que a água é adsorvida em camadas multimoleculares [4].

TABELA 3 – Valores das constantes da equação de GAB a 25 e 35°C, calculados por regressão não linear

Temperatura (°C)	Parâmetros ajustados para a equação de GAB			
	A	B	C	R ²
25	0,0334	2,1659	1,0223	0,99
35	0,0301	4,4806	1,0060	0,99

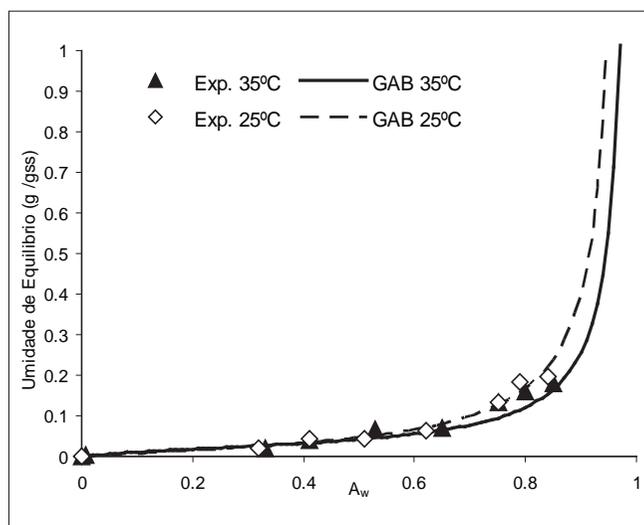


FIGURA 1 – Isotermas de sorção da queratina liofilizada a 25 e 35°C

3.4 - Termogravimetria

A análise da perda de massa das penas trituradas e da queratina na forma de filme apresentaram o mesmo perfil de variação de massa em função da temperatura, com uma diferença a temperaturas inferiores a 200°C. As perdas de massa observadas no início do aquecimento (até 150°C) foram iguais a 8 e 3% para a pena triturada e para a queratina, respectivamente. Esse resultado pode estar associado à presença do solvente nas penas trituradas, o qual foi usado na extração das gorduras e ceras das mesmas. O resíduo sólido final foi da ordem de 28% na temperatura de 600°C para ambas amostras analisadas, conforme curvas de TG apresentadas na *Figura 2*.

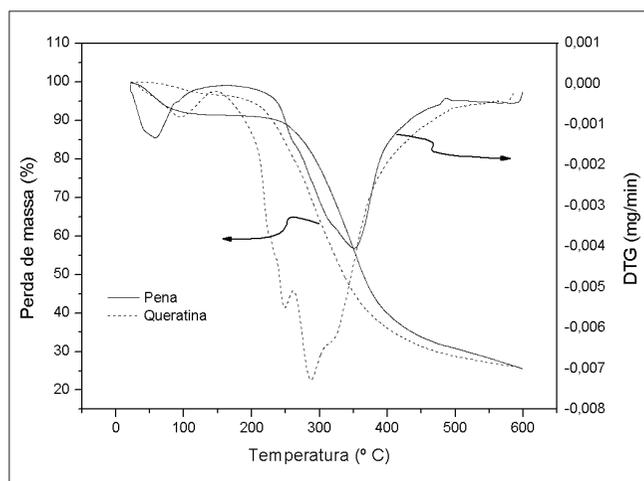


FIGURA 2 – Curvas termogravimétricas da pena triturada e da queratina extraída, com as correspondentes curvas da primeira derivada

A partir da representação gráfica da derivada primeira das curvas de TG (DTG), tem-se a temperatura com maior taxa de decomposição para pena a 50°C e para queratina a 100°C. Considerando que a perda de massa para a pena

triturada nesta faixa de temperatura é três vezes maior do que para a queratina, deve ocorrer a eliminação de componentes presentes na pena triturada que durante o processo de isolamento da queratina são suprimidos.

Por outro lado, acima da temperatura de 200°C, as curvas de DTG apresentam características semelhantes, com picos correspondentes a temperaturas de taxa de decomposição máxima para o filme de queratina, coincidentes com ombros na curva correspondente ao filme de queratina, sugerindo que o mecanismo de decomposição seja o mesmo para as duas amostras estudadas, ou seja, a queratina apresenta a mesma estabilidade térmica na pena ou na forma de filme. YAMAUCHI & YAMAUCHI [21] apresentam dados de termogravimetria de filmes de queratina extraída da lã de ovinos. Os autores relatam que os filmes não fundiram durante o aquecimento e que foi evidenciada a decomposição gradual das amostras a temperaturas superiores a 160°C.

3.5 - Eletroforese em gel de poliacrilamida-SDS

As soluções de queratina obtidas a diferentes temperaturas foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida. Os resultados são apresentados na *Figura 3*.

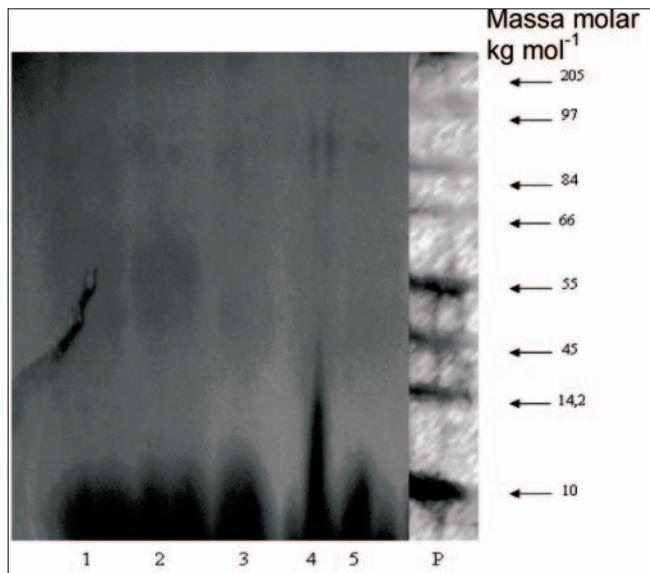


FIGURA 3 – Solução de queratina em gel de poliacrilamida-SDS.

As colunas 1-5 representam as soluções de queratina extraída submetidas a diferentes temperaturas de extração, enquanto a coluna P é relativa ao padrão utilizado (Sigmamarker)

As frações de proteínas desenvolvidas no gel mostraram que as diferentes temperaturas de extração tiveram pouca influência sobre a massa molar média da queratina extraída em solução, com maior concentração de proteínas na faixa de 10.000-12.000 g mol⁻¹.

3.6 - Características dos filmes de queratina obtidos

Na *Figura 4*, são apresentadas as micrografias das superfícies de filmes de queratina preparados sem a adição

de plastificante e com a incorporação de 0,30 g glicerol/g queratina na solução filmogênica, do mesmo modo realizado por YAMAUCHI & YAMAUCHI [21]. A textura da superfície do filme plastificado com glicerol mostrou-se mais homogênea.

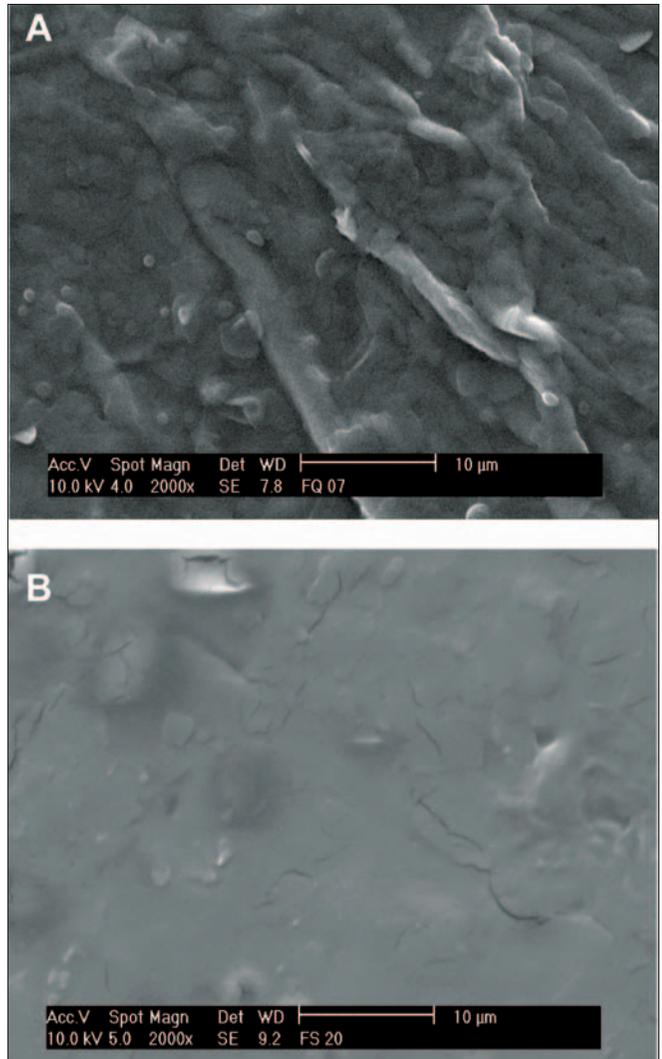


FIGURA 4 – Micrografias de filmes de queratina com aumento de 2.000 vezes: (A) sem plastificante e (B) com 0,30 g glicerol/g queratina

Na *Tabela 4*, são apresentados os valores das tensões e dos respectivos alongamentos dos filmes na ruptura. Como esperado, a tensão de ruptura diminuiu consideravelmente com a adição do glicerol. Por outro lado, o valor do alongamento médio dos filmes de queratina dobrou com a adição do glicerol na concentração citada acima.

TABELA 4 – Valores da tensão e do alongamento na ruptura dos filmes de queratina obtidos

Concentração de glicerol (g/g queratina)	Tensão de ruptura (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
0,00	5,13±0,17	16,25±2,00
0,30	0,45±0,04	31,74±3,46

Os valores absolutos de tensão de ruptura e de alongamento na ruptura dos filmes obtidos são menores do que os valores publicados na literatura sobre filmes de queratina. YAMAUCHI & YAMAUCHI [21] publicaram dados sobre filmes de queratina de lã de ovinos plastificados com 1 g glicerol/g queratina onde a tensão de ruptura dos mesmos variou entre 5 MPa (filmes condicionados a umidade relativa de 85%) e 11 MPa (filmes condicionados a umidade relativa de 65%).

Para as mesmas condições, esses autores relataram que os valores de alongamento na ruptura dos filmes de queratina foram de 32 e 42%. Esses últimos valores foram da mesma ordem de grandeza que os obtidos neste trabalho, embora a concentração de plastificante usada nos filmes de queratina de lã produzidos por YAMAUCHI & YAMAUCHI [21] tenha sido 3,3 vezes maior. As diferenças entre as propriedades mecânicas relatadas acima podem ter diversas explicações, como a distribuição de aminoácidos nas soluções filmogênicas. Nos dois casos, havia uma fração de aminoácidos com massas molares próximas de 15 kg/mol, mas a queratina de lã apresentou também uma fração importante de aminoácidos com massas molares entre 35 e 50 kg/mol, como relatado por YAMAUCHI & YAMAUCHI [21]. Os procedimentos de preparação e secagem dos filmes não foram exatamente os mesmos, o que também pode ter influenciado as propriedades dos filmes.

4 - CONCLUSÕES

A extração da queratina a partir de penas de frango utilizando agentes redutores e surfactantes é viável e apresentou elevado rendimento percentual, da ordem de 94% em relação à massa seca das penas. Diferentes proteínas foram identificadas, utilizando-se eletroforese em gel de poli-acrilamida, cuja maior concentração de proteínas apresentou massas molares na faixa de 10.000-12.000 g mol⁻¹.

A queratina extraída apresentou a mesma estabilidade térmica que a queratina nas penas de frango, indicando que o método de extração é adequado para o objetivo de se obter queratina para a produção de filmes que possivelmente sofrerão tratamentos térmicos.

Os valores absolutos de tensão de ruptura dos filmes obtidos foram menores do que os resultados publicados na literatura sobre filmes de queratina de lã de ovinos, mas os alongamentos dos dois tipos de filmes foram da mesma ordem de grandeza.

Deste modo, as técnicas de extração e de obtenção dos filmes se mostraram adequadas e podem ser úteis em estudos complementares visando o aproveitamento diferenciado desse resíduo industrial.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ARAI, K.M.; TAKAHASHI, R.; YOKOTE, Y.; AKAHANE, K. Amino-acid sequence of feather keratin from fowl. **European Journal Biochemical**, v. 32, p. 501-510, 1983.
- [2] ASTM (1997) **Standart Test Methods for Wool Content of Raw Wool**. In: Annual Book of ASTM Standards (1-5). Designation (D584-96). Philadelphia.
- [3] BARRETO, P.L.M.; PIRES, A.T.N.; SOLDI, V. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere. **Polymer Degradation and Stability**, v. 79, p. 147-152, 2003.
- [4] CUG, B.; AYMARD, C.; CUG, J.L.; GUILBERT, S. Edible packaging films based on fish myofibrillar proteins: Formulation and functional properties, **J. Food Sci.**, v. 60, p. 1.369-1.374, 1995.
- [5] DOWLING, L.M., SPARROW, L.G. Sequences of wool keratin proteins. **Trends Biochem. Sci.**, v. 16, p. 115, 1991.
- [6] FRASER, R.D.B.; MACRAE, T.P.; SPARROW, L.G. Disulphide bonding in α -keratin. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 10, p. 106, 1988.
- [7] FRASER R.D.B. Keratins. **Scientific American**, v. 221, p. 87, 1969.
- [8] GENNADIOS, A.; BRANDENBURG, A.H.; PARK, J.W.; WELLER, C.L.; TESTIN, R.F. Water vapor permeability of wheat gluten and soy protein isolate films. **Industrial Crops and Products**, v. 2, p. 189-195, 1994.
- [9] HEARLE, J.W.S. A critical review of the structural mechanics of wool and hair fibres. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 27, p. 123-138, 2000.
- [10] IRISSIN-MANGATA, J.; BAUDUIN, G.; BOUTEVIN, B.; GONTARD, N. New plasticizers for wheat gluten films. **European Polymer Journal**, v. 37, p. 1.533-1.541, 2001.
- [11] ITZHAKI, R.F.; GILL, D.M.; Micro-biuret method for estimating proteins Anal. Biochem. **Analytical Biochemistry**, v. 9, p. 401-410, 1964.
- [12] KAWANO, Y., WATANABE, K., OKAMOTO, S. Characterization of soluble keratin derivatives obtained from chicken feather powders by reduction **J. Agr. Chem. Soc. Jpn.**, v. 49, p. 513-517, 1974.
- [13] MARTELLI, S.M.; LAURINDO, J.B.; MOORE, G.R.P.; GONDOLFO, C.A.P.; PAES, S.S., **LWT-Food Sci. Technol.**, v. 39, p. 292-301, 2006.
- [14] ONIFADE, A.A.; AL-SANE, N.A.; AL MUSALLAM, A.A.; AL-ZAIBAN, S. A review: potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. **Biore-source Technology**, v. 66, p. 1-11, 1998.
- [15] B. SUGDEN, B. DETROY, R. J. ROBERTS AND J. SAMBROOK. Agarose slab-gel electrophoresis equipment, **Analytical Biochemistry**, v. 68, p. 36-46, 1975.
- [16] SCHROOYEN, P.M.M.; DIJKSTRA, P.J.; OBERTHÜR, R.; BANTJES, A.; FEIJEN, J. Stabilization of solutions of feather keratins by sodium dodecyl sulfate. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 240, p. 30-39, 2001.
- [17] SCHROOYEN, P.M.M.; DIJKSTRA, P.J.; OBERTHÜR, R.; BANTJES, A.; FEIJEN, J. Partially carboxymethylated feather keratins. 1. Properties in aqueous systems. **J. Agr. Food Chem.**, v. 48, p. 4.326, 2000.
- [18] SPACKMAN, D.H., STEIN, W.H., & MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Analytical Chemistry**, v. 30, p. 1.190-1.206, 1958.

- [19] TANABE T., OKITSU N., YAMAUCHI K. Fabrication and characterization of chemically crosslinked keratin films. **Materials Science & Engineering:C**, v. 24, p. 441-446, 2004.
- [20] WODDIN, A.M.; Molecular size, shape and aggregation of soluble feather keratin. **Biochem. J.**, v. 57, p. 99, 1954.
- [21] YAMAUCHI, K., YAMAUCHI, A. In: **Protein based films and coatings**, Gennadios, A., ed.; CRC Press, Boca Raton, p. 253, 2002.
- [22] YAMAUCHI, K.; YAMAUCHI, A.; KUSUNOKI, T.; KOHDA, A.; KONISHI, Y. Preparation of stable aqueous solution of keratins, and physiochemical and biodegradational properties of films. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 31, p. 439-444, 1996.

6 - AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao apoio financeiro fornecido através do projeto Finep/CT-AGRO/FNDCT nº 0.1.02-0104.00. Trabalho do Projeto XI. 20 do Cytel.