

PROTEÓLISE ENZIMÁTICA COMO FERRAMENTA PARA A VALORIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS AGROALIMENTARES DE ORIGEM ANIMAL

RODRIGO A. DE LIMA^{1,2*}, JULIANO B. SCHERER³, BRUNA W. KOPPLIN⁴,
DANIEL J. DAROIT^{2,5}

1 Introdução

A indústria avícola brasileira é a 3^a maior produtora de carne de frango, sendo a principal exportadora mundial. Contudo, o processamento para a obtenção de carne origina diversos subprodutos ricos em proteína, como penas, ossos, vísceras, pés, bicos, cristas, pele, dentre outros, que representam 30% do peso vivo de um frango de corte (Ibarz-Blanch *et al.*, 2023).

A destinação adequada destes subprodutos, por meio de sua conversão em produtos úteis, alinha-se aos preceitos da economia circular, e os processos biocatalíticos ganham relevância neste cenário. O uso de enzimas proteolíticas, por exemplo, surge como estratégia para gerar hidrolisados proteicos bioativos como insumos de valor agregado, com aplicações que incluem desde o setor alimentício até o desenvolvimento de fármacos (Borrajo *et al.*, 2019).

Hidrolisados com capacidade antioxidante, particularmente, são propostos como ingredientes funcionais e na conservação de alimentos. Considerando que essas atividades biológicas dependem dos peptídeos liberados do substrato pela ação de proteases, a prospecção de enzimas e de subprodutos apropriados para a obtenção de hidrolisados bioativos constitui temática relevante (Ibarz-Blanch *et al.*, 2023).

2 Objetivos

Utilizar a protease bruta de *Bacillus* sp. CL14 na obtenção de hidrolisados proteicos antioxidantes a partir de subprodutos de abatedouros de frangos.

1 Graduando do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Cerro Largo. Contato: rodrigoprk@gmail.com.

2 Grupo de Pesquisa: Biociências.

3 Mestre em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis, UFFS, Campus Cerro Largo.

4 Mestranda, PPG em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis (PPGATS), UFFS, Campus Cerro Largo.

5 Doutor em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. UFFS, Campus Cerro Largo. Contato: daniel.daroit@uffs.edu.br. **Orientador.**

3 Metodologia

A protease bruta de *Bacillus* sp. CL14 foi obtida após 4 dias de cultivo (30 °C, 125 rpm) em meio mineral (K₂HPO₄, 0,3 g/L; KH₂PO₄, 0,4 g/L; NaCl, 0,5 g/L) contendo farelo de canola (30 g/L). Os sobrenadantes dos cultivos foram utilizados como protease bruta (2.950 U/mL).

Intestinos e cristas de frango foram usados como substratos para as hidrólises. Os subprodutos foram triturados, fervidos (100 °C, 20 min) para inativar enzimas endógenas, e adicionados de tampão Tris-HCl (100 mM; pH 9,0; 5 mM Ca²⁺) para atingir 70 g/L. Após pré-incubação (55 °C; 20 min), adicionou-se a protease bruta (6%, v/v). As reações (55 °C, com agitação) ocorreram pelos tempos (t) 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180 e 240 min, e encerradas por fervura (100 °C, 20 min). Após centrifugação, os sobrenadantes (hidrolisados) foram coletados.

Avaliou-se, nos hidrolisados, o conteúdo de proteínas solúveis (método Folin-fenol; mg/mL), a captura dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH; %) e 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS; %), a quelação de Fe²⁺ (método da ferrozina; %), e o poder redutor [método do ferricianeto de potássio; absorbância (Abs) a 700 nm].

4 Resultados e Discussão

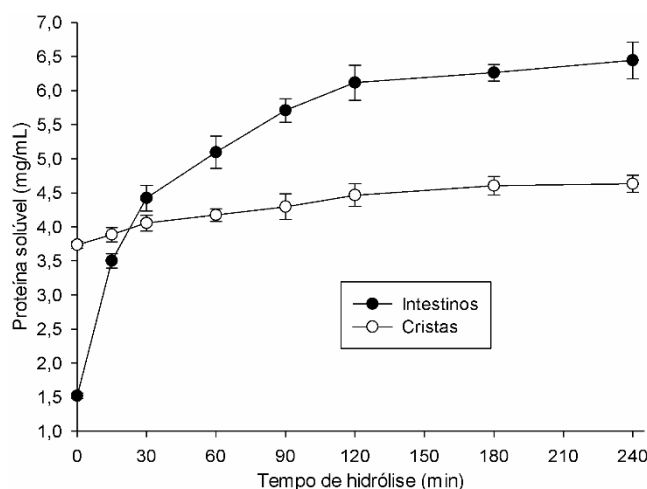
Cerca de 6 bilhões de frangos são abatidos anualmente no Brasil (IBGE, 2026). Considerando o peso médio de intestinos (~100 g) e cristas (~4 g) por frango, cerca de 600 mil e 24 mil toneladas destes respectivos subprodutos são geradas por ano. Assim, avaliou-se a capacidade da protease bruta de *Bacillus* sp. CL14 em hidrolisar estas abundantes biomassas.

Inicialmente, destaca-se que, embora os subprodutos avaliados possuam teores similares de proteína (11-18%, base úmida), as cristas exibiram maior conteúdo de proteínas solúveis do que os intestinos em t₀ (Fig. 1). O colágeno, principal proteína nas cristas (75-80%), pode ter sido convertido em gelatina (solúvel) pelo tratamento térmico. Já nos intestinos, o teor de colágeno é inferior (15-25%) àquele de proteínas como actina e miosina (30-40%), que usualmente formam agregados insolúveis quando tratadas termicamente (Bhat *et al.*, 2021).

Durante as incubações, a protease bruta demonstrou capacidade de hidrolisar proteínas nos substratos. Isso pode ser verificado pelos aumentos no conteúdo de proteínas solúveis durante as incubações (Fig. 1), indicando que a ação da protease levou à liberação de peptídeos (Ibarz-Blanch *et al.*, 2023). Especificamente, o conteúdo de proteínas solúveis nos

experimentos com intestinos foi incrementado de 1,5 mg/mL (t0) para 4,4 mg/mL (t30), atingindo ~6,2 mg/mL (t120-240). Menores acúmulos foram detectados com as cristas, sendo as concentrações iniciais (3,7 mg/mL, t0) elevadas para ~4,5 mg/mL (t120-t240) (Fig. 1).

Figura 1. Concentração de proteínas solúveis durante a incubação de intestinos (●) e cristas (○) de frango com a protease bruta de *Bacillus* sp. CL14.



As taxas de hidrólise são comumente mais elevadas no início da hidrólise, decrescendo com o passar do tempo, devido à diminuição do número de ligações peptídicas acessíveis no substrato. Isso foi observado na hidrólise de intestinos; contudo, não claramente detectado na hidrólise de cristas (Fig. 1), onde os elevados teores iniciais de proteínas solúveis podem ter ocultado, parcialmente, os efeitos da hidrólise sobre este indicador (Lermen *et al.*, 2023).

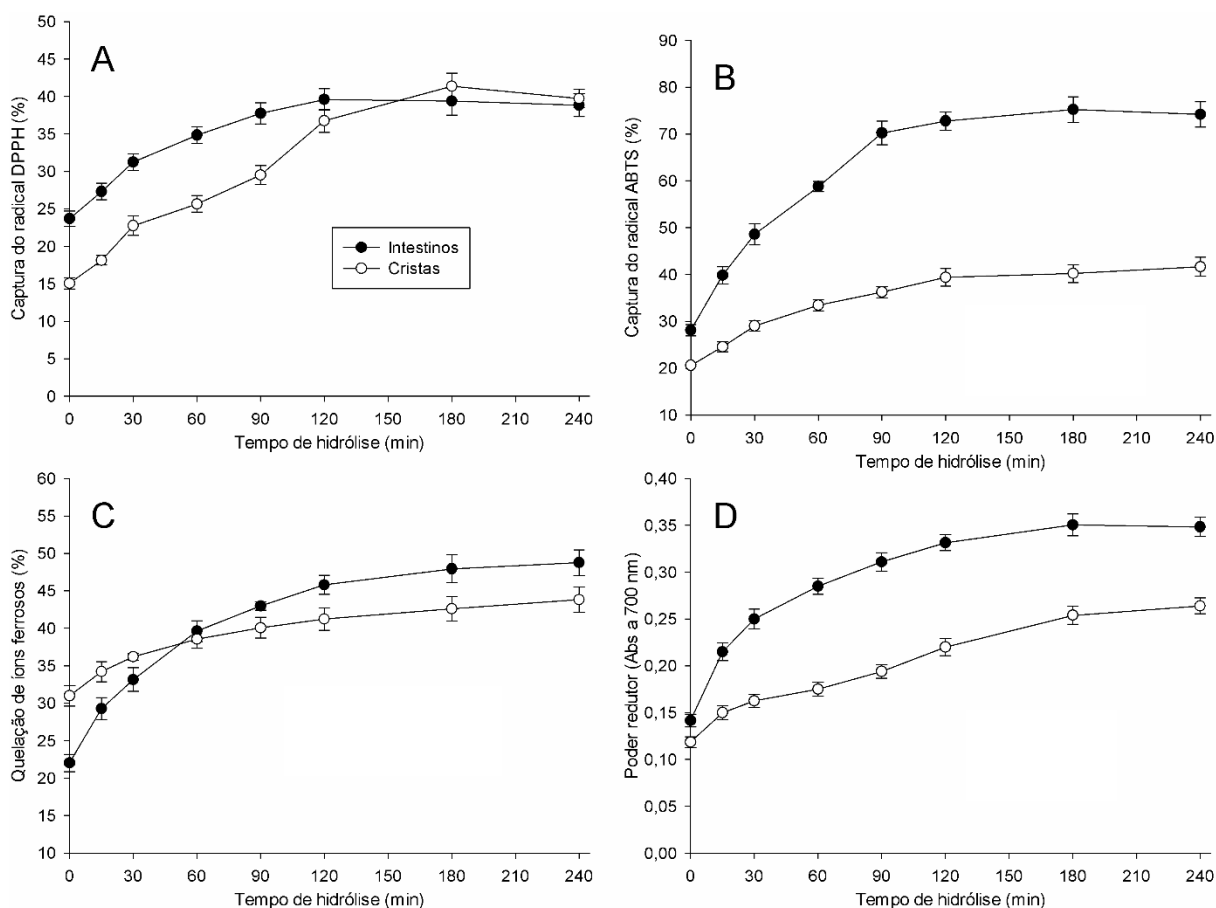
A despeito disso, o tratamento enzimático resultou em atividades antioxidantes superiores àquelas dos subprodutos não hidrolisados (Fig. 2), o que reforça que os peptídeos liberados das proteínas precursoras são os principais agentes bioativos (Borrajo *et al.*, 2019).

A captura do radical DPPH dos intestinos (t0; 23,7%) foi elevada para ~38% (t120-240), e a captura inicial das cristas (t0; 15,1%) atingiu ~40% (t180-240) (Fig. 2A). A captura do radical ABTS passou de 28,1% (t0) para ~73% (t90-240) nos hidrolisados de intestino, e de 20,6% (t0) para ~40% (t120-240) nos hidrolisados de cristas (Fig. 2B). Isso indica que, nos hidrolisados, há maior concentração de peptídeos com propriedades de transferência de elétrons, mecanismo associado à neutralização direta de radicais oxidantes (Gulcin, 2025).

A quelatação de Fe^{2+} por intestinos (t0; 22%) e cristas (t0; 31%) foi inferior àquela dos

respectivos hidrolisados, que alcançaram ~47% e ~43% (t120-240), respectivamente (Fig. 2C). Tais incrementos indicam o efeito dos hidrolisados na diminuição da disponibilidade de íons ferrosos, reconhecidos por catalisar a geração de radicais altamente reativos (Gulcin, 2025).

Figura 2. Captura dos radicais DPPH (A) e ABTS (B), quelação de Fe^{2+} (C) e poder redutor (D), em função do tempo de hidrólise de intestinos (●) e cristas (○) de frango.



O poder redutor avalia a habilidade de moléculas em reduzir compostos que participam da degradação oxidativa de lipídios (Gulcin, 2025). Nos experimentos com cristas e intestinos, o poder redutor atingiu ~0,259 Abs700 (t180-240) e ~0,344 Abs700 (t120-240), apresentando-se superior ao detectados em t0 (0,119 Abs700 e 0,142 Abs700, respectivamente) (Fig. 2D).

A aplicação de enzimas proteolíticas comerciais vem sendo descrita na produção de hidrolisados de intestinos (Wu *et al.*, 2022) e cristas (Bezerra *et al.*, 2020) de frango. De nosso conhecimento, o presente estudo consiste no primeiro relato do uso de uma protease microbiana

alternativa (não comercial) para obter hidrolisados bioativos a partir destes subprodutos.

5 Conclusão

A hidrólise de intestinos e cristas de frango elevou as atividades antioxidantes que, de modo geral, foram máximas em t120-180. A proteólise enzimática apresenta-se como estratégia promissora e inovadora para o manejo e a valorização de subprodutos de abatedouros.

Referências Bibliográficas

- Bezerra, T. *et al.* Chicken combs and wattles as sources of bioactive peptides: optimization of hydrolysis, identification and bioactivity assessment. **Molecules**, v. 25, 1698, 2020.
- Bhat, Z. F. *et al.* Thermal processing implications on the digestibility of meat, fish and seafood proteins. **Compr. Rev. Food Sci. Food. Saf.**, v. 20, p. 4511-4548, 2021.
- Borrajó, P. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of peptides extracted from meat by-products: a review. **Food Anal. Methods**, v. 12, p. 2401-2415, 2019.
- Gulcin, İ. Antioxidants: a comprehensive review. **Arch. Toxicol.**, v. 99, p. 1893-1997, 2025.
- Ibarz-Blanch, N. *et al.* Chicken slaughterhouse by-products: A source of protein hydrolysates to manage non-communicable diseases. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 139, 104125, 2023.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Indicadores IBGE**: estatística da produção pecuária. Rio de Janeiro: IBGE, 2026.
- Lermen, A. *et al.* Characterization and application of a crude bacterial protease to produce antioxidant hydrolysates from whey protein. **Prep. Biochem. Biotechnol.**, v. 53, p.12-21, 2023.
- Wu, D. *et al.* Assessment of chicken intestinal hydrolysates as a new protein source to replace fishmeal on the growth performance, antioxidant capacity and intestinal health of common carp (*Cyprinus carpio*). **Fish Shellfish Immunol.**, v. 125, p. 161-170, 2022.

Palavras-chave: biocatálise; protease; hidrolisados proteicos; bioatividade.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2025-0034.

Financiamento



UFFS (PES 2025-0033)