

## DEGRADAÇÃO DE PENAS POR *BACILLUS* SP. CL14 COMO ESTRATÉGIA PARA A OBTENÇÃO DE PRODUTOS ÚTEIS

**RODRIGO FERRAZ RAMOS<sup>1</sup>, DANIEL JONER DAROIT<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Cerro Largo

\*Autor para correspondência: Daniel Joner Daroit (djdaroit@gmail.com)

### 1 Introdução

Estratégias para a reciclagem de resíduos orgânicos recebem interesse no contexto da crescente exploração dos recursos naturais e reconhecimento de sua escassez. A produção avícola, desde a criação das aves até abatedouros e frigoríficos, origina enormes quantidades de resíduos sólidos e líquidos que necessitam de correto manejo (Lasekan et al., 2013).

Dentre os resíduos sólidos gerados pela produção de carne de frango, os mais abundantes são as penas, materiais de difícil degradação formados por proteínas recalcitrantes denominadas queratinas. Tecnologias microbianas de conversão são usualmente consideradas alternativas adequadas para a reciclagem destes resíduos (Brandelli et al., 2010).

O potencial queratinolítico de microrganismos pode ser empregado na degradação das penas, resultando em produtos com relevância comercial e industrial, como proteases microbianas de uso biotecnológico. Particularmente, interesse recente vem sendo dedicado à investigação do potencial antioxidante de hidrolisados proteicos derivados das penas (Brandelli et al., 2015).

### 2 Objetivo

Investigar o isolado bacteriano *Bacillus* sp. CL14 quanto à degradação de penas, produção de proteases e de hidrolisados protéicos em cultivos submersos, bem como avaliar estes hidrolisados quanto à potencial capacidade antioxidante.

### 3 Metodologia

*Bacillus* sp. CL14, isolado de solo, foi utilizado neste trabalho. Cultivos submersos foram realizados em Caldo Pena (CP), composto por 0,5 g/L NaCl, 0,3 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,4 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 10 g/L de penas de frango. Erlenmeyers (250 mL) contendo 50 mL de CP foram inoculados e incubados em estufa com agitação (30 °C; 125 rpm) por 13 dias. Periodicamente, Erlenmeyer foram retirados para as avaliações subsequentes.

A degradação de penas foi avaliada através da determinação da massa seca das penas durante os cultivos. Após filtração dos meios em filtros de papel previamente pesados, os filtros foram alocados em estufa (60 °C) até peso constante. Os resultados foram expressos como porcentagem de redução do peso inicial das penas (100%).

Para a avaliação da produção de proteases, alíquotas dos cultivos foram centrifugadas, e os sobrenadantes utilizados como fonte de enzima em ensaios (40 °C, 10 min, pH 8,0) utilizando azocaseína como substrato. Uma unidade arbitrária de atividade (U) foi determinada como a quantidade de enzima necessária para aumentar 0,1 unidades de absorvância a 420 nm.

A concentração de proteínas solúveis nos sobrenadantes dos meios de cultura foi determinada utilizando o reagente de Folin-fenol e curva padrão de albumina sérica bovina.

O potencial antioxidante dos hidrolisados de pena foi avaliado utilizando os sobrenadantes dos cultivos e solução metanólica do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). A atividade de captura do radical DPPH, mensurada pela absorvância a 517 nm, foi calculada conforme Fakhfakh et al. (2011):  $\text{Captura do DPPH}(\%) = [(Ac - As) / Ac] \times 100$ , sendo Ac a absorvância do controle e As a absorvância da amostra. Os ensaios foram realizados em triplicata.

#### **4 Resultados e Discussão**

*Bacillus* sp. CL14 apresentou capacidade de desenvolvimento em CP, demonstrando a habilidade de utilizar penas de frango como único substrato orgânico. Após 7, 10 e 13 dias de cultivos submersos, 65%, 79% e 99% das penas contidas no meio CP (100%) foram degradadas pela bactéria investigada. Neste sentido, a degradação de penas por bactérias queratinolíticas é amplamente variável (Brandelli et al., 2010).

Quanto à produção de proteases extracelulares por *Bacillus* sp. CL14, esta acompanhou a tendência de degradação das penas de frango. Aos 7 e 10 dias de cultivo, a atividade proteolítica foi de  $14,0 \pm 0,7$  e  $37,1 \pm 0,8$  U/mL, respectivamente, atingindo pico de produção no 13º dia ( $61,3 \pm 1,4$  U/mL). Os resultados indicam que a capacidade de degradação de penas por *Bacillus* sp. CL14 é mediada por proteases extracelulares (Brandelli et al., 2015).

A concentração de proteínas solúveis em sobrenadantes do CP, no início dos cultivos (dia zero), foi de  $0,14 \pm 0,05$  mg/mL. Observou-se incremento da concentração até o 8º dia ( $3,3 \pm 0,1$  mg/mL), sendo que este parâmetro permaneceu relativamente estável até o 13º dia de cultivo (3,3 a 3,5 mg/mL). Desta forma, indica-se a relação positiva entre a degradação das penas e o incremento da concentração de proteínas solúveis no meio. Hidrolisados protéicos derivados das penas podem ser utilizados como fertilizantes nitrogenados e ingredientes em rações para animais (Lasekan et al., 2013). Ainda, estes hidrolisados podem apresentar

capacidade antioxidante devido à presença de peptídeos bioativos (Fakhfakh et al., 2011).

A atividade antioxidante dos hidrolisados obtidos durante os cultivos de *Bacillus* sp. CL14 em CP foi avaliada utilizando o radical DPPH. O sobrenadante do CP no início dos cultivos (tempo zero) apresentou capacidade restrita de capturar o radical DPPH ( $37,1 \pm 1,3\%$ ). Com o decorrer dos cultivos, especialmente a partir do 6º dia ( $45,1 \pm 3,0\%$ ), observou-se elevação da capacidade de captura do radical DPPH, atingindo valores máximos aos sete dias ( $78,9 \pm 3,3\%$ ), que foram mantidos relativamente estáveis (66,0-75,3%) em cultivos de até 13 dias. Hidrolisados de penas, obtidos por bioconversão utilizando *Chryseobacterium* sp. kr6, apresentaram potenciais antioxidante, antihipertensivo e antidiabético *in vitro* (Fontoura et al., 2014).

## 5 Conclusão

O bioprocessamento de penas por *Bacillus* sp. CL14 pode ser utilizado para a produção de proteases e de hidrolisados protéicos com atividade antioxidante, cujas aplicações devem ser subsequentemente investigadas.

## Referências

- BRANDELLI A., et al. Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.85, p.1735-1750, 2010.
- BRANDELLI, A., et al. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. **Food Research International**, v.73, p.3-12, 2015.
- FAKHFAKH, N., et al. Total solubilisation of the chicken feathers by fermentation with a keratinolytic bacterium, *Bacillus pumilus* A1, and the production of protein hydrolysate with high antioxidative activity. **Process Biochemistry**, v.46, p.1731-1737, 2011.
- FONTOURA, R., et al. Production of feather hydrolysates with antioxidant, angiotensin-I converting enzyme- and dipeptidyl peptidase-IV-inhibitory activities. **New Biotechnology**, v.31, p.506-513, 2014.
- LASEKAN, A., et al.. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. **Waste Management**, v.33, p.552-565, 2013.

**Palavras-chave:** bioconversão; protease; hidrolisados protéicos; capacidade antioxidante.

## Fonte de Financiamento

PROBITI - FAPERGS