

PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS DE PENA COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE¹

NICOLY WELTER^{2,3}, KELLY CALLEGARO⁴, DANIEL JONER DAROIT^{3,5*}

1 Introdução

As penas estão entre os principais subprodutos do processamento de frangos para obtenção de carne. Além das elevadas quantidades, as penas são constituídas por proteínas recalcitrantes (queratinas), representando desafios para seu manejo adequado (Lasekan et al., 2013).

Devido ao elevado conteúdo de proteína (90%, m/m), as penas podem ser convertidas em hidrolisados proteicos, que são caracterizados como misturas de peptídeos/aminoácidos obtidas pela hidrólise de ligações peptídicas nas proteínas. A hidrólise microbiana surge como interessante abordagem para a utilização das penas, sendo que os hidrolisados obtidos são usualmente postulados como ingredientes de rações e fertilizantes (Brandelli et al., 2010).

A capacidade antioxidante de hidrolisados de proteínas alimentares é reconhecidamente relevante na nutrição e saúde humana e animal. Contudo, as propriedades bioativas de hidrolisados derivados de subprodutos agroindustriais ricos em proteína, como as penas, são amplamente desconhecidas (Lasekan et al., 2013).

2 Objetivos

Este trabalho teve como objetivos: (i) utilizar uma bactéria queratinolítica para a produção de hidrolisados de penas, e (ii) avaliar o potencial antioxidante dos hidrolisados obtidos.

3 Material e Métodos

Bacillus sp. CL18 foi utilizada para a bioconversão de penas através de cultivos submersos em Caldo Pena (CP), composto por (g/L): K₂HPO₄, 0,3; KH₂PO₄, 0,4; NaCl, 0,5; penas de frango, 10,0; e pH inicial 7,0. Erlenmeyers (250 mL) contendo 50 mL de CP estéril foram inoculados e incubados em estufa com agitação (30 °C, 125 rpm, 7 dias). Erlenmeyers foram retirados diariamente, em duplicata, e os meios filtrados através de papel filtro para

- 1 Trabalho vinculado ao projeto de pesquisa institucionalizado intitulado “Bioconversão microbiana de penas de frango e catálise enzimática como estratégias para a produção de hidrolisados proteicos bioativos”, aprovado em edital externo (Chamada Universal MCTI/CNPq N° 01/2016).
 - 2 Graduanda do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Cerro Largo, **Bolsista IC-CNPq**. Contato: nicolywelter@hotmail.
 - 3 Grupo de Pesquisa: Biotecnologias (UFFS).
 - 4 Mestranda do Programa em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis, UFFS, *campus* Cerro Largo.
 - 5 Doutor em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFFS, *campus* Cerro Largo, **Orientador**.
- * Contato: daniel.daroit@uffs.edu.br

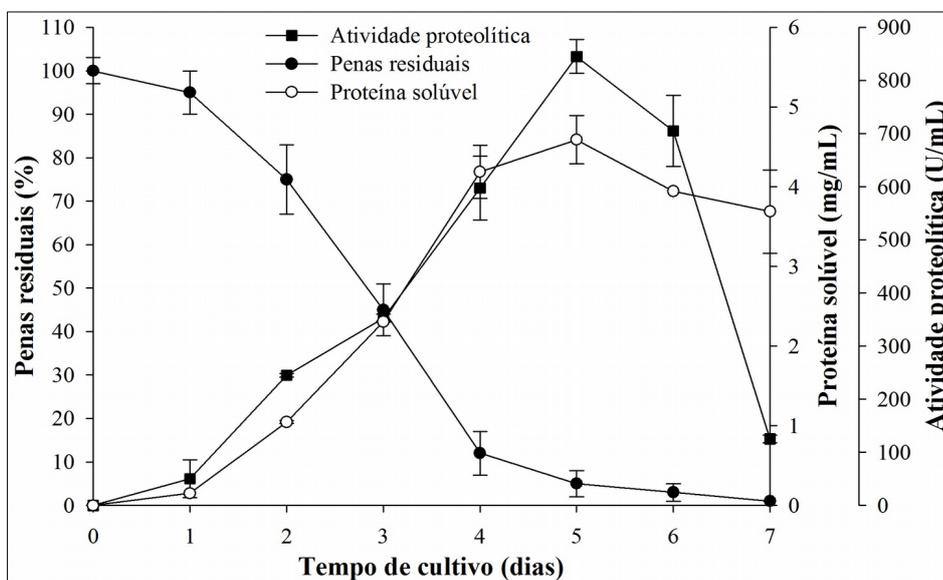
determinação das penas residuais após secagem (60 °C). Os filtrados foram centrifugados (10.000 g; 10 min) e o sobrenadante usado para a avaliação da produção de proteases empregando azocaseína. Os sobrenadantes foram aquecidos (100 °C; 10 min), sendo doravante denominados hidrolisados de pena (HP). Os HPs foram subsequentemente avaliados quanto à concentração de proteínas solúveis e quanto ao potencial antioxidante.

A capacidade antioxidante foi investigada utilizando quatro métodos, realizados em triplicata (Fakhfakh et al., 2013). A captura dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), foi mensurada pela diminuição da absorbância (Abs) dos meios reacionais a 517 nm e 734 nm, respectivamente. A capacidade quelante de Fe²⁺ foi avaliada pelo método da ferrozina. A presença de agentes quelantes diminui a formação de complexos ferrozina/Fe²⁺ e, com isso, a Abs a 562 nm. As porcentagens de captura de radicais e de atividade quelante foram calculadas em relação aos controles (água destilada). O poder redutor foi mensurado pela habilidade dos HPs em reduzir complexos Fe³⁺/ferricianeto à forma ferrosa (Fe²⁺), que resulta no aumento da Abs a 700 nm.

4 Resultados e Discussão

Cerca de 90% da massa inicial das penas foi degradada após 4 dias de cultivo com *Bacillus* sp. CL18 em CP (Fig. 1), indicando a eficiência desta bactéria (Brandelli et al., 2010).

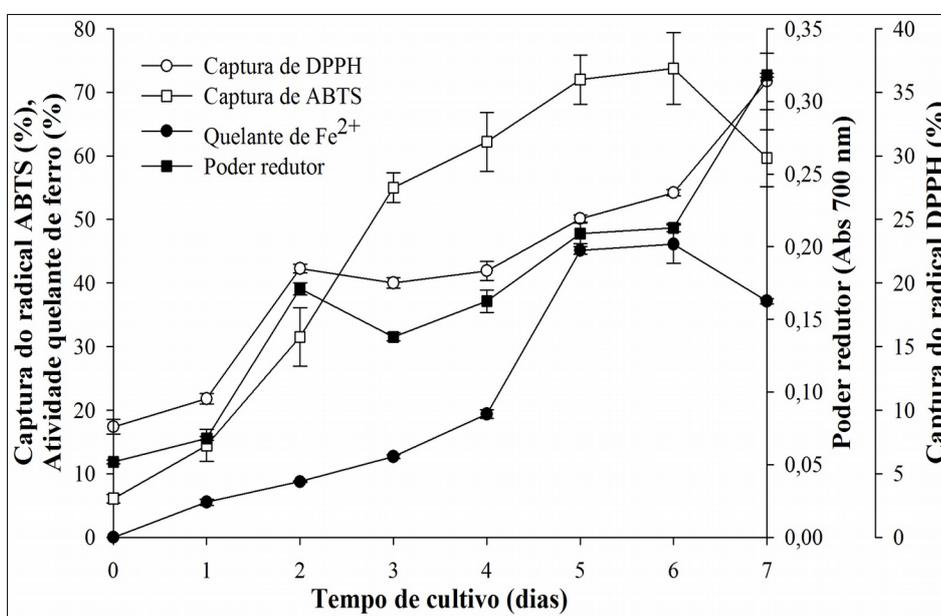
Figura 1. Degradação de penas, liberação de proteína solúvel e produção de proteases por *Bacillus* sp. CL18 durante os cultivos submersos em Caldo Pena.



Considerando a composição proteica das penas, a degradação por microrganismos depende da

produção de proteases (Lasekan et al., 2013). Neste sentido, a produção de proteases foi incrementada do início até o 5º dia de cultivo (Fig. 1). A atividade proteolítica diminuiu a partir do 5º dia, resultado da indisponibilidade de penas nos cultivos (Fontoura et al., 2014). A degradação das penas foi acompanhada da liberação de proteínas solúveis (Fig. 1). Além de suprir as necessidades nutricionais bacterianas, houve acúmulo de proteínas solúveis no meio, atingindo maior concentração (4,6 mg/mL) no 5º dia de cultivo. A partir do 5º dia houve diminuição do teor de proteínas solúveis, efeito da indisponibilidade de substrato e do consumo das proteínas solubilizadas pela bactéria (Fontoura et al., 2014). O pH inicial do CP (7,0) foi elevado para 8,6 no 5º dia de cultivo (não mostrado), reforçando a eficiência queratinolítica bacteriana. A alcalinização indica que houve liberação de amônia através da desaminação de aminoácidos/peptídeos liberados pela hidrólise (Brandelli et al., 2010). O potencial antioxidante de hidrolisados proteicos vem recebendo crescente atenção, devido aos efeitos benéficos de moléculas antioxidantes em sistemas biológicos e alimentares. Tais hidrolisados podem demonstrar potencial antioxidante através da captura de radicais livres, quelação e/ou redução de íons metálicos (Fakhfakh et al., 2013). A transferência de elétrons ou hidrogênio estabiliza os radicais DPPH e ABTS. A captura de DPPH pelos HPs foi incrementada até o 2º dia de cultivo, mantendo-se estável até o 4º dia; contudo, a captura máxima (37%) foi observada em HPs obtidos no 7º dia de cultivo (Fig. 2).

Figura 2. Potencial antioxidante dos hidrolisados de pena, mensurado pela captura dos radicais DPPH e ABTS, atividade quelante de Fe^{2+} e poder redutor.



Pelo método ABTS, a capacidade antioxidante dos HPs foi elevada com o tempo de cultivo,



com máxima captura (73,7%) no 6º dia (Fig. 2). HPs produzidos por *Chryseobacterium* sp. kr6 apresentaram captura dos radicais DPPH (74%) e ABTS (78%) (Fontoura et al., 2014).

Os HPs apresentaram a habilidade de quelar Fe^{2+} , especialmente aqueles obtidos aos 5-6 dias de cultivo, com atividade quelante de 45-46%. Após 7 dias de cultivo, os HPs demonstraram maior poder redutor (Fig. 2), ou seja, maior capacidade de transferir elétrons ao Fe^{3+} , reduzindo-o a Fe^{2+} . Além da captura de radicais, HPs produzidos por *Kocuria rhizophila* p3-3 apresentaram poder redutor (Łaba et al., 2018) e hidrolisados de resíduos de lã produzidos por *Bacillus pumilus* A1 exibiram capacidade quelante (Fakhfakh et al., 2013).

O potencial antioxidante dos HPs variou conforme os métodos utilizados, visto que diferentes peptídeos podem apresentar atividades antioxidantes distintas. Ainda, as bioatividades dependem dos peptídeos contidos nos HPs. Logo, o comportamento das bioatividades durante os cultivos sugere que os peptídeos bioativos são liberados pela proteólise e que estes peptídeos podem ser hidrolisados e perder o potencial antioxidante (Fontoura et al., 2014), como exemplificado pelos resultados de captura de radicais no 7º dia de cultivo (Fig. 2).

5 Conclusão

A bioconversão resultou em HPs com atividades antioxidantes. Particularmente, HPs obtidos no 5º e 6º dias de cultivo apresentaram, no geral, potencial antioxidante mais promissor. Este bioprocessamento apresenta-se como estratégia para a reciclagem e valorização de penas de frango.

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.
- FAKHFAKH, N., et al. Wool-waste valorization: production of protein hydrolysate with high antioxidative potential by fermentation with a new keratinolytic bacterium, *Bacillus pumilus* A1. *Journal of Applied Microbiology*, v. 115, p. 424-433, 2013.
- 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.
- ŁABA, W., et al. New keratinolytic bacteria in valorization of chicken feather waste. *AMB Express*, v. 8, article 9, 2018.
- 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: subprodutos; bioconversão; hidrolisados proteicos; potencial antioxidante.

Financiamento

CNPq - Apoio financeiro (Universal MCTI/CNPq N° 01/2016) e Bolsa de Iniciação Científica (IC-CNPq).