

INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE PROCESSO NA CINÉTICA DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PENAS DE AVES.

T. KNAUL¹, D.S.CHIELLA¹ e A.M. VELEZ¹

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Toledo. Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

E-mail para contato: anaescallon@utfpr.edu.br

RESUMO - A influência da temperatura, pH e razão enzima substrato são fatores fundamentais nas condições do processo de cinética de hidrólise enzimática. Neste trabalho utilizou-se um coquetel de enzimas “Super Enzymes” no qual contém as enzimas papaína, amilase, protease, lipase, bromelina, protease, papaína, celulase entre outras, da empresa Now e conduziu-se os experimentos mantendo a temperatura entre 15°C, 25 °C, e 35 °C, pH inicial entre 7, 8 e 9 e concentração da razão enzima substrato 0,1g, 0,2g e 0,3g. Foram anotados os resultados da variação do pH em cada experimento e obteve-se o grau de digestibilidade de cada amostra determinando a concentração de proteína hidrolisada da amostra que apresentou melhor resultado no grau de digestibilidade. Pode-se perceber que o coquetel de enzimas foi significativo no processo de hidrólise das penas, porém as variáveis que apresentaram melhor resultado estatístico foram temperatura e pH.

1. INTRODUÇÃO

Em 2015, o Brasil ultrapassou a China e se tornou segundo maior produtor mundial de carne de frango, atrás apenas dos Estados Unidos (EUA). Os números do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) indicam que a produção brasileira chegou a 13,14 milhões de toneladas no ano passado, volume 5,4% superior ao de 2014 e o maior já registrado na história do país (CAMPOS et al, 2016). Com a ampla aceitação da carne de frango no mercado mundial surgem as preocupações com a destinação dos subprodutos gerados por essa produção, como as vísceras e as penas.

A principal fonte de estudo do presente trabalho são as penas de frango, que representam cerca de 5 a 7 % do peso total do frango (MARTELLI et al, 2006). Também cabe ressaltar que o Brasil é o segundo produtor mundial dessa ave, sendo interessante a obtenção de subprodutos a partir das penas. Estas contém alto teor de proteína bruta, e cerca de 85% a 90% dessa proteína é a queratina muito resistente às enzimas proteolíticas (MOORE et al, 2006).

Geralmente, as penas são cozidas em vapor sob pressão e/ou quimicamente tratadas para a obtenção de hidrolisados proteicos. O aproveitamento industrial das penas de frango como suplemento em ração animal aumenta o valor agregado deste subproduto como fonte de carbono para a produção de peptidases (ONIFADE et al, 1998).

O processamento biotecnológico de degradação das penas em contraposição ao seu processamento sob altas temperaturas, oferece vantagens relacionadas ao enriquecimento proteico das penas, baixo custo e a preservação de aminoácidos essenciais tais como metionina, lisina, histidina, que são encontrados em ótimas concentrações. Deve-se ressaltar que a utilização de restos de penas constitui uma solução ecológica, evitando seu acúmulo no meio ambiente e o desenvolvimento de vários tipos de patógenos. O processamento industrial de aves podem acarretar problemas de contaminação ambiental pela disposição inadequada de resíduos, podendo trazer problemas graves, como o comprometimento do ecossistema. Todas as etapas do processamento industrial contribuem para a carga de resíduos possivelmente impactantes ao meio ambiente.

O objetivo deste trabalho é estabelecer as melhores condições temperatura, pH e concentração de enzima substrato em que a cinética enzimática favorece o processo de hidrólise da pena bem como qual variável apresentou resultado mais satisfatório utilizando métodos estatísticos.

2. METODOLOGIA

2.1 Lavagem das penas

Em uma bacia com água morna, em torno de 60 °C adicionou-se as penas a fim de ficarem de molho. Em seguida em uma torneira com água corrente, conduziu-se as penas em pequenas porções e retiraram-se impurezas. As penas já lavadas foram previamente enxugadas com o auxílio de papel toalha e levadas em uma estufa com circulação de ar em uma temperatura de 30 °C e retiradas após perceber-se a total secagem das mesmas. Seguidamente, separaram-se as penas e fez-se a trituração em pedaços muito menores com o auxílio de uma tesoura, armazenando-as em sacos ziplock e dispondo em um congelador para que possam apresentar longa duração.

2.2 Método Lowry

Foram realizados os testes de determinação de proteína dos produtos cedidos pela empresa Astrea, conforme o método de análise de proteínas (LOWRY, 1951). Primeiramente foi realizado o teste com o padrão de BSA (Albumina sérica bovina). Seguidamente foram preparadas as soluções contendo amostras de hidrolisado de penas com as concentrações de (a) 1% (1 grama para cada 100 mL de água destilada), (b) 2% (2 gramas para cada 100 mL de água destilada) e (c) 5% (5 gramas para cada 100 mL de água destilada). As absorbâncias foram lidas em um espectrofotômetro a 600 nm, e as mesmas foram anotadas em tabela e realizado a quantificação da proteína.

2.3 Hidrólise Enzimática

Determinação da amostra padrão: Determinou-se a amostra padrão de proteína a partir da clara de ovo. Pesou-se 1,45 g de clara de ovo e completou-se com 50 mL de água destilada. O béquer contendo a solução padrão foi agitado com auxílio de um agitador magnético. Deixou-se a solução em temperatura ambiente, pH inicial 8,0 e adicionou-se 0,2

gramas de enzima/substrato (0,01 gramas de enzima diluída em 50 mL de água) controlando e anotando a cada 5 segundos a variação do pH em um intervalo de 5 minutos.

Determinação do grau de hidrólise: (HSU et al, 1977) Calculou-se a hidrólise enzimática a partir do cálculo da digestibilidade este é um procedimento de controle de qualidade que tenta proporcionar informação em relação ao valor nutricional verdadeiro das fontes de proteína especialmente as de origem animal. Como mostra a Equação 1.

$$D = [\Delta\text{pH (amostra problema)} / \Delta\text{pH (amostra padrão)}] \times 100 \quad (1)$$

Planejamento experimental para a hidrólise das penas: Na realização das amostras para a hidrólise relativa, preparou-se a partir das penas já bem trituradas, onze amostras em seus respectivos Béquer com cerca de 312,5 mg de proteína (0,58 gramas de pena que foi quantificada a partir do método lowry) em seguida completou-se com 50 mL de água destilada. Levou-se cada béquer em um agitador magnético controlando a temperatura e o pH inicial, após adicionou-se a quantidade de razão enzima-substrato desejada e controlou-se em intervalos de quinze segundos a variação do pH em um período de 5 minutos.

Estes experimentos foram realizados com o coquetel enzimático “super enzymes” para a determinação da hidrólise proteolítica das penas. O procedimento experimental realizado é mostrado na tabela 1.

Tabela 1 - Ensaio para o planejamento experimental, variando os parâmetros temperatura (T), razão enzima substrato (E/S), e pH.

Amostra	pH inicial	T	E/S
1	-1	-1	-1
2	-1	1	-1
3	-1	-1	1
4	1	1	1
5	1	-1	-1
6	1	1	-1
7	1	-1	1
8	1	1	1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0

Neste procedimento experimental determinou-se os parâmetros das variáveis independentes tais como podem ser visualizado na tabela 2 a seguir:

Tabela 2 - Parâmetros das variáveis independentes

Parâmetros	-1	0	1
pH	7	8	9
T	15	25	35
(%) E/S	0,1	0,2	0,3

2.4 Determinação dos parâmetros nutricionais a partir da espectrometria de infravermelho próximo (NIRS)

Após a identificação da amostra que apresentou um grau de digestibilidade mais elevado fez-se a filtração da mesma. Levou-se a pena hidrolisada sólida a empresa Astrea e fez-se a verificação dos padrões nutricionais.

3. RESULTADOS

3.1 Resultados do planejamento experimental

O planejamento experimental da hidrólise das penas e o resultado da digestibilidade podem ser visualizados na tabela 3 a seguir:

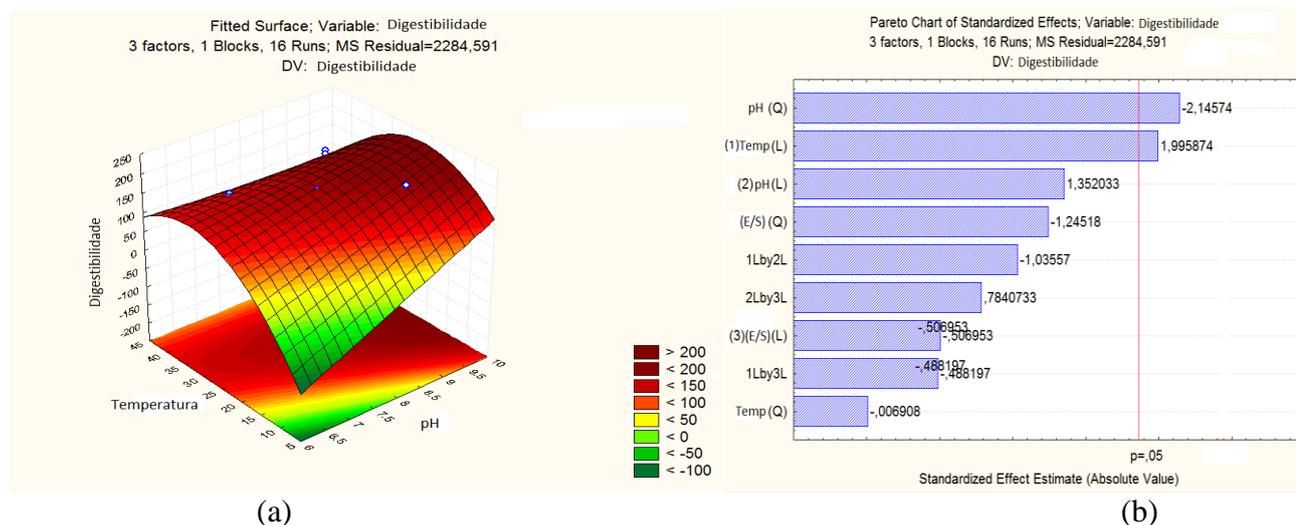
Tabela 3 - Planejamento experimental e digestibilidade relativa das penas de frango a partir do coquetel de enzimas.

Amostra	pH inicial	T (°C)	(%) E/S	Digestibilidade
1	7	15	0,1	80
2	7	35	0,1	50
3	7	15	0,3	159
4	7	35	0,3	152
5	9	15	0,1	201
6	9	35	0,1	108
7	9	15	0,3	180
8	9	35	0,3	170
9	8	25	0,2	180
10	8	25	0,2	170
11	8	25	0,2	180

Verificou-se que a amostra que apresentou maior índice de digestibilidade foi a amostra 5 com pH inicial de 9, temperatura constante em 15 °C e porcentagem de enzima-substrato de 0,1 gramas.

Realizou-se uma análise estatística com o software Statistics os resultados mais relevantes são apresentados na figura 1, no qual analisou-se as variáveis pH, temperatura sendo que a variável resposta é a digestibilidade e foram encontrados valores significativos para a temperatura e o pH como pode ser visto no diagrama de Pareto a baixo (imagem 1b). A relação enzima-substrato não foi significativa para este estudo, o que significa que a faixa de concentrações desta variável deve ser ampliada para futuros estudos.

Figura 1 – (a) Superfície de resposta que relaciona o grau de hidrólise com as variáveis mais levantadas no estudo (temperatura e pH), e (b) o diagrama de Pareto.



3.2 Comparação de resultados entre a hidrólise enzimática e o tratamento térmico.

Realizou-se algumas análises com equipamento NIRS de umidade, cinzas, cálcio, fósforo e proteína de três amostras. A primeira continha penas bruta, a segunda amostra o procedimento padrão realizado na empresa, ou seja, as penas após o tratamento térmico e a terceira as penas hidrolisadas com o coquetel de enzimas. Estes dados podem ser visualizados na tabela a seguir:

Tabela 4 - Parâmetros nutricionais obtidos a partir do NIRS.

(%)	Pena bruta	Penas após o tratamento térmico	Penas após a hidrólise enzimática
Umidade	12,31	12,12	12,21
Cinzas	2,51	2,250	1,150
Cálcio	0,57	0,340	0,550
Fósforo	0,55	0,380	0,520
Proteína	85,71	80,20	85,30

Os resultados obtidos mostram que a porcentagem de umidade entre as duas metodologias não teve uma grande alteração em relação ao valor da pena bruta, já a porcentagem de cinzas foi menor na hidrólise enzimática o que pode-se concluir que houve uma diminuição na concentração de minerais na amostra. Já a concentração de cálcio, fósforo e proteína teve um aumento em relação ao tratamento térmico, o que pode acarretar em condições nutricionais vantajosas para a ração animal.

4. CONCLUSÕES

As variáveis que apresentaram resultado mais significativos foram temperatura e pH pois a faixa de variação da concentração da razão enzima substrato é considerada pequena o que dificulta na análise estatística. O método biotecnológico apresentou resultado satisfatório visto que a concentração de proteína, cálcio e fósforo aumentou-se em relação ao procedimento padrão. A concentração de proteína presente na hidrólise enzimática alcançou 99,4% em relação a proteína presente na pena bruta, já no método realizado com aquecimento alcançou 93,6%. Demonstrando que a hidrólise enzimática das penas apresenta um ganho nutricional tendo uma razão mais rica em proteína, cálcio e fósforo. Porém esse estudo poderá ser otimizado utilizando enzimas específicas como a queratinase.

5. REFERÊNCIAS

CAMPOS A. A industria do frango no Brasil. Monitor#2. Reporter Brasil-Organização de comunicação e projetos sociais. Junho, 2016.

FERNANDES MA. Avaliação de desempenho de um frigorífico avícola quanto aos princípios da produção sustentável. [tese] Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2004.

HSU, H.W., SAVAK, D.L., SATTERLEE, I.D, MILLAR G.A. 1977. A multienzyme technique for stimating protein digestibility. Journal Food Science Vol. 42, no.5, pp.1269-1273.

LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.J.; FARR A.L; RANDALL R.J. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents . Journal biological chemistry. v.193, p 265-275, 1951.

MARTELLI, S.M.; LAURINDO, J.B.; MOORE, G.R.P.; GONDOLFO, C.A.P.; PAES, S.S., LWT-Food Science Technology, v. 39, p. 292-301, 2006.

MOORE, G.R.P.; MARTELLI, S.M; GANDOLFO, C.A.; PIRES, A.T.N.; LAURINDO J.B. Queratina de penas de frango: extração, caracterização e obtenção de filmes. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 26(2): 421-427, abr.-jun. 2006.

OLIVEIRA, MRS; FRANZEN F.R.; TERRA N.N. Utilização de enzimas proteolíticas para produção de hidrolisados proteicos a partir de carcaças de frango desossadas manualmente. Brazilian Journal Food Technology. v.18 no.3 Campinas jul./set. 2015.

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. Bioresource Technology, v. 66, p. 1-11, 1998.

PINTO, L.A.M.; PINTO M.M.; BOVO J; MATEUS G.A.P.M.; TAVRES F.O.; BAPTISTA, A.T.A.; HIRATA A.K. Aspectos ambientais do abate de aves: Uma revisão. Revista Uningá review. v.22, n.3, pp.44-50 (Abr - Jun 2015).