



PROPIEDADES BIOACTIVAS DE HIDROLIZADOS DE PLUMA OBTENIDOS POR FERMENTACIÓN MICROBIANA

Sommer, Sofía Belén

Cátedras de Microbiología y Biotecnología, Departamento de Tecnología de los Alimentos y Biotecnología – FIQ – UNL; Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC-UNL-CONICET)

Director/a: Dr. Spontón Pablo Gabriel
Codirector/a: Dr. Manzo, Ricardo Martín
Área: Ciencias Biológicas

Palabras clave: pluma, revalorización, actividad biológica

INTRODUCCIÓN

La biotecnología permite la bioconversión de residuos o subproductos del sector agroindustrial en formulaciones con valor agregado de interés comercial mediante procesos de extracción enzimática o microbiológica, lo que lleva a incrementar su poder biológico y nutricional. La industria avícola genera una gran cantidad de subproductos los cuales en su mayoría son descartados, mal tratados o incluso utilizados sin lograr un incremento en su valor económico, nutricional y biológico. La búsqueda de alternativas biotecnológicas de alto impacto para su aprovechamiento es de vital interés para todos los sectores de la comunidad productiva. Las plumas de pollo son uno de los residuos más significativos de la industria avícola debido a su dificultad para degradarse. Sin embargo, las plumas de pollo son excelentes reservorios de biomoléculas de queratina. En la actualidad, métodos biotecnológicos han sido empleados para degradar biológicamente queratina, siendo estos considerados de bajo costo y amigables con el medio ambiente. La hidrólisis de plumas de desecho por ciertos microorganismos no solo reduce la contaminación ambiental sino también aumenta su valor nutricional. Varios microorganismos que producen enzimas queratinasas, incluyendo mohos, actinomicetos y especies de *Bacillus*, son conocidos por degradar plumas de pollo. Dichos microorganismos pueden producir así hidrolizados de proteína (queratina), los cuales serán materias más baratas y útiles, por ejemplo, para la alimentación animal, para películas compostables, para fertilizantes ricos en nitrógeno o como materiales biodegradables. Además, se pueden emplear como componentes de detergentes, en tratamientos médicos contra la psoriasis y el acné (aplicaciones cosméticas), entre otros usos (Prajapati *et al.*, 2021).

Título del proyecto: Diseño de alimentos funcionales utilizando como ingredientes alimentarios encapsulados de subproductos de la industria avícola modificados enzimáticamente

Instrumento: Investigación Orientada (IO-2019-0076)

Año convocatoria: 2019

Organismo financiador: ASACTEI

Director/a: Ricardo M. Manzo



100



UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL LITORAL

OBJETIVOS

- Producir hidrolizados de plumas de pollo utilizando la capacidad queratinolítica de bacterias aisladas de la industria avícola.
- Caracterizar preliminarmente en forma fisicoquímica y funcional a los diferentes hidrolizados obtenidos.
- Evaluar sus potenciales bioactividades, como ser actividad antimicrobiana, actividad antioxidante y actividad antiacetilcolinesterasa.

METODOLOGÍA

En primer lugar, se realizó el aislamiento de bacterias de cama de pollo y de plumas de pollo crudas provenientes de una industria avícola de la localidad de Santa Fe. Posteriormente, se evaluó la capacidad queratinolítica de las distintas cepas aisladas y se seleccionaron 4 cepas. Para la producción de hidrolizados se empleó un medio basal salino a pH 7,5 más 10% (m/v) de pluma de pollo. El cultivo para cada una de las cepas seleccionadas se realizó en dos condiciones: estática por 30 días, y con agitación por 7 días, ambas a 37°C. Pasado este tiempo, cada cultivo se centrifugó y los sobrenadantes obtenidos se esterilizaron por filtración y se conservaron a -20°C hasta su posterior utilización.

A los hidrolizados, se les realizó una caracterización preliminar de cada extracto determinándose: • la cantidad de proteína por los métodos de Bradford (1976) y del ácido bicinconínico (Fujimoto *et al.*, 1985); • realizando perfiles cromatográficos por HPLC y por electroforesis SDS-PAGE; • evaluando cantidad de nitrógeno según Kjeldahl (1883) y • el contenido de aminoácidos libres presentes.

Con respecto al análisis de las actividades biológicas de los hidrolizados, se determinó la actividad antimicrobiana utilizando el ensayo de difusión en agar (Tagg and Given, 1971) frente a las siguientes cepas: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Bacillus cereus* DBFIQ B28, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogenes* DTUNLu 328, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Lactiplantibacillus plantarum* DBFIQ LP31, *Lactiplantibacillus plantarum* DBFIQ LP7, *Lactocaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* DBFIQ LB92, todas pertenecientes a la colección de las Cátedras de Microbiología y Biotecnología (FIQ-UNL). Los extractos fueron concentrados diez veces, esterilizados por filtración y llevados a pH 4 y 5,5.

Por otra parte, se evaluó la actividad antioxidante mediante las técnicas del radical ABTS (Re *et al.*, 1999) y del radical DPPH (Choi *et al.*, 2002); finalmente, se determinó también la actividad inhibitoria frente a la enzima acetilcolinesterasa (AChE) el cual se llevó a cabo empleando el método espectrofotométrico descrito por Ellman *et al.* (1961) y adaptado para microplacas.

RESULTADOS

En este trabajo se pudo aislar, conservar y evaluar diferentes bacterias, principalmente del género *Bacillus*, a partir de subproductos o productos de desecho de la industria avícola. Dichas bacterias presentaron, en su mayoría, actividad queratinolítica considerable. Se obtuvieron hidrolizados de pluma de pollo empleando 4 cepas en condiciones estática por 30 días y en agitación por 7 días.

La cuantificación de proteínas, por ambos métodos, permitieron la detección de cantidades significativas de las mismas en cada extracto libre de célula. Además, las determinaciones de Nitrógeno dieron como resultado porcentajes que oscilaron entre 5

y 18%. Esto permite deducir que luego de dicha hidrólisis, péptidos o polipéptidos fueron liberados al medio, lo cual fue corroborado por análisis en cromatografía por HPLC y por electroforesis SDS-PAGE.

Se observó actividad antioxidante con valores de TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox) que oscilaron entre 93 y 217 μmol Trolox/mg de muestra, empleando al radical ABTS y los valores de TEAC empleando al DPPH oscilaron entre 6 y 21 μmol Trolox/mg de muestra; sugiriendo la potencial presencia de péptidos o polipéptidos con propiedades antioxidantes.

Con respecto al ensayo de inhibición de AChE, se evaluaron diferentes diluciones de cada uno de los extractos libres de célula. Se observaron valores importantes de actividad, principalmente para las concentraciones más altas evaluadas (25 y 50 mg/ml), estando comprendidos dichos valores entre 50 y 100% de inhibición. La actividad antiacetilcolinesterasa fue mayor para los extractos obtenidos con agitación.

Por el lado de la actividad antimicrobiana, se observó inhibición únicamente frente a dos cepas, *Lactiplantibacillus plantarum* y *Bacillus subtilis*, con halos de inhibición de 14mm y 16mm, respectivamente.

CONCLUSIÓN

En este trabajo se pudo aislar y conservar diferentes bacterias, principalmente del género *Bacillus*, a partir de subproductos o productos de desecho de la industria avícola. Dichas bacterias presentaron, en su mayoría, actividad queratinolítica considerable. Se determinó la potencial presencia de péptidos o polipéptidos en cada extracto obtenido por transformación microbiana de las cepas aisladas a partir de pluma. Además, se encontró una importante actividad antioxidante y actividad inhibitoria frente a la enzima acetilcolinesterasa de los extractos evaluados como así también actividad antimicrobiana frente a dos cepas blancas.

Estos resultados indicarían que las bacterias aisladas son altamente efectivas en la valoración de desechos avícolas gracias a la producción de hidrolizados de queratina de pluma con propiedades bioactivas importantes. De esta manera podemos predecir que estos extractos peptídicos poseerían un alto potencial aprovechable, por ejemplo, para diversas industrias de alimentos, farmacéuticas o cosmética, además de ser una alternativa económica y sustentable.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Schagger, Hermann.** 2006. Tricine-SDS-PAGE. Nature Protocols, Vol 1, N° 1, pp 1622.
- Schagger, H. and Von Jagow, G.** Tricine-Sodium Dodecyl Sulfate- Polyacrylamide Gel Electrophoresis for the Separation of Proteins in the Range from 1 to 100 KDa. 1987. Analytical Biochemistry, 166, pp 368-379.
- Walker, J. M.** (2002). "The Bicinchoninic Acid (BCA) Assay for Protein Quantitation". Pp. 11-14. En: Walker, J. M. (ed.) "The Protein Protocols Handbook", Second edition. Humana Press, Inc., Totowa, New Jersey.
- Bradford, M.** (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry, 72, 248-254.
- Re, r., Pellegrini, n., Proteggente, a., Pannala, a., yang, m., & rice-evans, c.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine, 26(9), 1231-1237.

Ellman et al. (1961). "A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity". *Biochem Pharmacol.* 7:88-95.

Tagg J. R., Mc Given A. R. (1971) "Assay systems for bacteriocins".. *Appl. Environ. Microbiol.* 21: 943-947.

Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC (1985): Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem* 150: 76-85.

Prajapati, S.; Koirala, S. and Kumar Anal, A. (2021). "Bioutilization of chicken feather waste by newly isolated keratinolytic bacteria and conversion into protein hydrolysates with improved functionalities". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 193:2497–2515.

Choi, C. W., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., et al. (2002). Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*, 163,1161e1168.

Kjeldahl, J. (1883). A new method for the determination of nitrogen in organic matter. *Analytical Chemistry*, 22(1): 366-382.