



Área: Engenharia de Alimentos

AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE HIDROLISADO DE CMS DE FRANGO SECO POR *SPRAY DRYER*

Ana Luiza Lira^{1*}, Alessandro Lima Sbeghen¹, Ilizandra Aparecida Fernandes¹, Bruna Maria Saorin Puton¹,
Natália Ambrósio¹, Jamile Zeni¹, Juliana Steffens¹

¹Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, URI,
Erechim, RS

*E-mail: analuizalira8@gmail.com

RESUMO – O setor de produção de carne de frango vem se desenvolvendo cada vez mais na busca em agregar valor às matérias-primas. Um dos subprodutos que pode ser obtido é a Carne Mecanicamente Separada (CMS), a qual serve de fonte proteica para produção de hidrolisados. A enzima Alcalase® é muito eficiente na hidrólise enzimática, porém esse processo precisa ser feito em condições adequadas para garantir a qualidade do produto final. Para poder aplicar os peptídeos desses hidrolisados, geralmente é necessário convertê-lo em pó e os processos de secagem por pulverização são os mais indicados, como por exemplo o *spray dryer*. Nos processos de secagem, a água livre dos alimentos é reduzida, permitindo maior concentração da matéria seca e menos danos ao produto. A partir dessas técnicas, é possível realizar diversas análises, como a de rendimento, armazenagem e capacidade antioxidante, que entre diversos métodos está o de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). O objetivo desse trabalho foi de avaliar o rendimento e atividade antioxidante de hidrolisado de carne mecanicamente separada (CMS) de frango seco por *spray dryer* logo após o processo de hidrólise (0 dias) e após 21 dias de armazenamento do hidrolisado (freezer a -18°C) antes do processo de secagem.

Palavras-chave: DPPH. Armazenamento. Alcalase.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como o maior exportador e o terceiro maior produtor de carne de frango a nível mundial. Essa indústria vem se desenvolvendo a partir de novos produtos e expandindo seus segmentos com ofertas diversificadas que busquem agregar valor às matérias-primas (TREMEEA e SILVA, 2020).

Além dos mais diversos cortes e subprodutos possíveis de serem obtidos através da carne de frango, é possível citar a Carne Mecanicamente Separada (CMS). Se trata da carne residual dos ossos que passa por separação manual ou mecânica, assim é possível aproveitar a maior parte da carne evitando desperdícios e gerando lucros (TASIĆ et al., 2017). A CMS pode servir de fonte proteica para obtenção de hidrolisados, os quais são de grande interesse industrial e podem ser utilizados dentro de diversas áreas e formulações, sendo a hidrólise enzimática um dos métodos mais vantajosos para essa finalidade (OLIVEIRA et al., 2014).

A hidrólise enzimática, se feita em condições adequadas, garante a qualidade nutricional dos hidrolisados e define um perfil peptídico, pois ela é capaz de modificar as características funcionais das proteínas através da formação de peptídeos e aminoácidos livres, os quais têm capacidade antioxidante, antimicrobiana e anti-hipertensiva. A enzima Alcalase® é muito eficiente para transformar esses hidrolisados. Ela é produzida pela fermentação do microrganismo *Bacillus licheniformis*, sendo utilizada em temperatura alta e alcalinidade moderada (SCHMIDT et al., 2020).

Geralmente, é necessário converter esses hidrolisados de peptídeos alimentares em pó para poder utilizá-los em outras aplicações e os processos de secagem por pulverização são os mais indicados. Porém, deve-se levar em consideração o efeito da secagem sobre as propriedades funcionais, a temperatura de entrada e saída, o teor de umidade, validade e controle de odor/sabor (WANG e SELOMULYA, 2019).

Nos processos de secagem, a água livre dos alimentos é reduzida, promovendo a concentração da matéria seca, sem danificar o produto, sendo assim ela é vista como vantajosa pois minimiza os custos de embalagem, armazenamento e transporte, podendo ser conduzida por processos tecnológicos, como secagem por *spray dryer*, ao ar quente, a vácuo e liofilização. A secagem através desses métodos é alcançada por meio de radiação, convecção, condução ou uma combinação de mecanismos de transferência de calor, sendo que todos eles podem afetar parcial ou totalmente a qualidade do produto. (OYINLOYE e YOON, 2020).

De acordo com Wang e Selomulya (2019), deve-se tomar cuidado para equilibrar o consumo de energia durante o processo de secagem, ficando atento na seleção da temperatura de entrada/saída e a qualidade final do produto. É necessário levar em consideração o efeito da secagem nas propriedades de bioatividade e biodisponibilidade de peptídeos, assim como o estado das partículas após a secagem, incluindo conteúdo de umidade, prazo de validade, solubilidade, facilidade de uso e controle de sabor/odor.



O objetivo deste trabalho foi avaliar o rendimento e atividade antioxidante de hidrolisado de carne mecanicamente separada (CMS) de frango seco por *spray dryer* logo após o processo de hidrólise (0 dias) e após 21 dias de armazenamento do hidrolisado (freezer a -18°C) antes do processo de secagem.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia utilizada para o processo de hidrólise enzimática foi a de Sbeghem et al. (2020). Utilizou-se a carne mecanicamente separada de frango (CMS) fornecida por uma empresa da região norte do Rio Grande do Sul, Brasil. Inicialmente, o material foi homogeneizado manualmente, e então colocou-se 40 g do CMS e 120mL de água destilada em um erlenmeyer, sendo necessário executar essas amostras de acordo com a quantidade que se espera obter de hidrolisado, visto que é seguido um padrão de 1:3 e o rendimento final do hidrolisado é proporcional a quantidade de água adicionada. Então, regulou-se o pH utilizando hidróxido de sódio (NaOH) até se obter pH próximo a 9,0, devido a enzima Alcalase 2.4L (Novozymes, Bagsvaerd, Dinamarca) de atividade 2,4 U/g que foi utilizada.

Na adição da enzima manteve-se uma relação entre enzima/substrato de 4,62% em relação a proteína presente no CMS. Prosseguiu-se fazendo o uso de papel alumínio nos frascos de erlenmeyer para evitar perdas por evaporação no processo e as amostras foram conduzidas até o Incubador Shaker Series onde permaneceram por um período de três horas, a uma temperatura de 58°C, visando a inativação da Alcalase.

Decorrido esse período, as amostras foram acondicionadas na geladeira a uma temperatura de 4°C, por 12 h, para reduzir a temperatura e favorecer a separação da fração lipídica durante o processo de centrifugação e, então, foram centrifugadas em “Centrifuge MPW-351R” para uma melhor separação das fases ficando prontas para uso posterior.

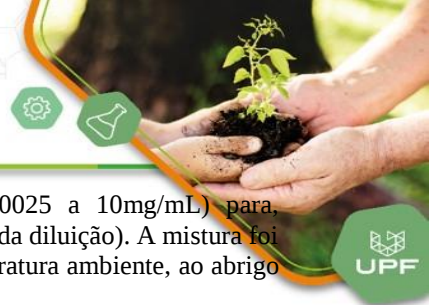
Realizaram-se secagens do hidrolisado logo após o processo de hidrólise (0 dias) e após 21 dias de congelamento do hidrolisado, processo que foi realizado através do equipamento Spray Dryer LabPlant (SD-05) (Figura 1). As quatro amostragens foram preparadas da mesma forma: duas contendo 200mL de hidrolisado bruto puro e duas com os mesmos 200mL mais 5% de maltodextrina, o equivalente a 10 g. As amostras puras foram conduzidas diretamente ao equipamento, já as outras, com a adição de maltodextrina, precisaram passar pelo agitador por trinta minutos até ficarem homogêneas e então serem conduzidas ao processo de secagem. Encaminhou-se uma amostra de cada tipo ao *spray dryer* em cada processo.



Figura 1: secagem de hidrolisado através de *spray dryer* em temperatura de 160°C. Fonte: O autor.

As amostras que passaram por processo de secagem após 21 dias de congelamento, se mantiveram congeladas, em freezer Brastemp, sob temperatura constante de -18°C e foram descongeladas em geladeira Brastemp, a 4°C, ficando ali, em média, 20 h. No *spray dryer*, utilizou-se 160°C como temperatura de entrada para ambas, de acordo com Rossi (2007) com modificações, e fluxo de ar 12 m³/h (0 dias e após 21 dias).

As análises das atividades antioxidantes foram realizadas através do método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (CARBONARI, 2005 adaptada). Na preparação das amostras, pesou-se 0,1 g do hidrolisado seco e realizou-se a diluição em 10mL de água (sendo a concentração utilizada de 10mg/mL). Esse procedimento foi realizado doze vezes (seis para as amostras de hidrolisado bruto puro e seis para o hidrolisado + maltodextrina), uma vez que cada análise foi feita em triplicata.



As amostras foram diluídas em água através de diferentes concentrações (0,0025 a 10mg/mL) para, posteriormente, serem misturadas com o DPPH (1mL de DPPH unido a 1mL de amostra de cada diluição). A mistura foi agitada em agitador magnético (K40-10208) e permaneceu em repouso por 30 min em temperatura ambiente, ao abrigo da luz.

Realizaram-se, também, as soluções denominadas “controle” e “branco”. Na solução controle, utilizou-se 1mL de etanol com 1mL de DPPH e para o branco utilizou-se 1mL de etanol. Ao final desse tempo, as amostras passaram por centrifugação na centrífuga (Zentrifugen D-78532 Tuttlingen) por um minuto. A leitura da absorbância foi feita em um espectrofotômetro UV-visível (UV-1600 Spectrophotometer) com comprimento de onda de 515 nm. A solução denominada “branco” foi utilizada para zerar o equipamento e a “controle” serve como base na leitura das amostras.

A atividade de captura de radicais pelas amostras é expressa como percentual de inibição de DPPH e calculada através da Equação (1):

$$AA\% = 100 - \{[(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco}) \times 100] \div \text{Abs. controle}\} \quad (1)$$

No resultado final das amostras com maltodextrina, aplicou-se uma diferença no valor final de absorbância, considerando o volume do carreador utilizado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a secagem das amostras em *spray dryer*, em temperatura de 160°C, notou-se dificuldade em passar as duas amostras sem adição de maltodextrina pela mangueira que a leva até o atomizador, ocorrendo formação de bolhas de ar e pingos de água no atomizador, sendo necessário aumentar o fluxo de ar inicial para 16m³/h e após a passagem de 50% do volume da amostra o fluxo de ar foi novamente reduzido a 12m³/h. A temperatura de saída observada em ambas amostras apresentaram-se na faixa entre 72°C e 89°C.

Rossi (2007) também utilizou temperatura de entrada de 160°C e fez uso da maltodextrina, porém adicionou à mistura 1% de carbonato de cálcio e como fluxo de ar manteve 160mL.h⁻¹, o que equivale a 16m³/h, obtendo como temperatura de saída valores entre 97°C e 100°C.

Nesse trabalho, preferiu-se utilizar um fluxo de ar menor visando reduzir a temperatura de saída para que o produto final não ficasse tanto tempo exposto a altas temperaturas de forma que prejudicasse suas propriedades. James et al. (2018) cita que o aumento da vazão faz com que a temperatura de saída seja mais elevada, pois ocorre maior fornecimento de energia para o sistema, favorecendo a não preservação do núcleo.

Segundo Lorenzo (2018), os compostos antioxidantes possuem dois mecanismos principais para exercer suas atividades: por transferência de hidrogênio e doação de elétrons. O estudo a partir de DPPH é um dos métodos utilizados, mas ainda existem vários outros, os quais servem para revelar e facilitar a ação do suposto antioxidante em soluções complexas. Centenaro et al. (2011) diz que quando o DPPH encontra uma substância doadora de prótons (H⁺) o radical é eliminado e então ocorre uma troca de cores nas amostras, variando do roxo ao amarelo (Figura 2) e então a absorbância é reduzida.



Figura 2: soluções prontas para leitura de atividade antioxidante. Fonte: O autor.

Centenaro et al. (2011) realizou um estudo com hidrolisado de peixe e ossos de galinha, obtendo os melhores resultados com a enzima Flavourzyme. Eles utilizaram DPPH com leitura de absorbância em 517 nm, obtendo os melhores valores em 5,0mg/mL. Sarbon (2011) observou diferentes métodos antioxidantes em hidrolisados de gelatina com pele de frango, se tratando do uso de DPPH a amostra foi concentrada em 10mg/mL para sofrer posteriores diluições, com leitura de absorbância em 517nm e IC₅₀ final de 16,68mg/mL.

Na Tabela 1, é possível visualizar as diferenças obtidas no que diz respeito à atividade antioxidante e rendimento das amostras em função da temperatura e fluxo de ar na secagem através de *spray dryer*.



Tabela 1: Rendimento e atividade antioxidante das amostras de pó do hidrolisado de CMS de frango com e sem maltodextrina como agente carreador.

Amostra	0 dia do hidrolisado			21 dias do hidrolisado congelado		
	Rendimento (g)	IC ₅₀ (mg/mL)	R ²	Rendimento (g)	IC ₅₀ (mg/mL)	R ²
Hidrolisado bruto sem maltodextrina	3,91	2,94	99%	1,44	3,27	99%
Hidrolisado bruto com maltodextrina	6,10	1,71	99%	5,273	5,02	99%

No estudo em questão, observou-se menor rendimento e redução da atividade antioxidante, devido ao aumento de IC₅₀, nas amostras que foram armazenadas congeladas por 21 dias antes da secagem. A faixa de absorbância utilizada de 515 nm está dentro do aceitável para leitura em DPPH, já que sua banda máxima é 517 nm (APAK et al., 2018).

Kurozawa (2009) testou o armazenamento dos hidrolisados em pó, após processo de secagem, com e sem carreadores, em diferentes temperaturas e umidades relativas, concluindo que o hidrolisado puro, em temperatura ambiente de 25°C e umidade relativa do ar maior que 10%, sofrerá alterações estruturais devido a sua alta higroscopicidade, já a amostra contendo maltodextrina demonstrou um aumento da estabilidade em umidade relativa de até 50%. Esses dados estimulam outros estudos, podendo-se armazenar as amostras por mais tempo na forma de pó em vez dos hidrolisados congelados.

Acredita-se que na primeira amostra contendo maltodextrina, o carreador pode ter auxiliado na encapsulação e estabilização dos peptídeos, já que ela influencia o desempenho da secagem, reduzindo a viscosidade e higroscopicidade dos pós hidrolisados (WANG e SELOMULYA, 2019).

Nos processos de secagem, a água livre dos alimentos é reduzida, promovendo a concentração da matéria seca sem danificar o produto. Essa prática possui diferentes métodos, os quais são direcionados para alcançar uma capacidade de armazenamento estendida, reduzindo a atividade de água e assim a taxa de deterioração, mantendo a qualidade dos alimentos (OYINLOYE e YOON, 2020).

O fato da amostra ser altamente higroscópica como citou Kurozawa (2009) também pode ser motivo dos resultados obtidos após 21 dias de armazenamento, mesmo fazendo o uso de maltodextrina, já que Soyer et al. (2010) cita que apesar de o congelamento ajudar a prevenir reações químicas indesejáveis, ele promove a formação de cristais de gelo e assim pode ocorrer a oxidação de lipídios, modificação de proteínas e perda de partículas devido a desidratação na hora do descongelamento.

Segundo Oliveira (2013), a centrifugação que ocorre durante o processo de hidrólise remove grande parte dos lipídios e proteínas insolúveis, fazendo com que aumente a estabilidade durante seu armazenamento. Isso também pode ser sugestivo de que tenha restado maior fração lipídica na amostra depois de ter passado pela centrífuga, fazendo com que inicie um processo oxidativo mais rápido, ou até mesmo devido as propriedades presentes na própria matéria-prima utilizada para hidrólise, da qual não se tem informações suficientes sobre todo seu histórico de armazenamento e manipulação até a chegada para realização das análises.

4 CONCLUSÃO

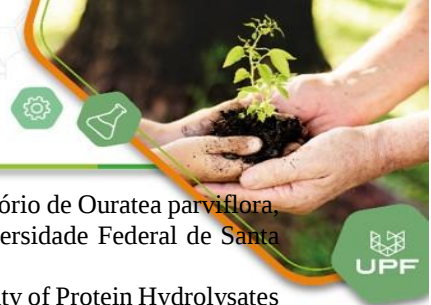
Foi possível observar uma resposta positiva do processo de secagem em *spray dryer* do hidrolisado de CMS de frango com uso maltodextrina como carreador (0 dias), o qual demonstrou promover estabilidade sobre os peptídeos da amostra, exibindo boa capacidade antioxidante e aumentando também o rendimento final. Já, para o hidrolisado congelado por 21 dias antes do processo de secagem, observou-se menores rendimentos e menores atividades antioxidantes, indicando que o ideal é realizar o processo de secagem do hidrolisado logo após o processo de hidrólise.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001 e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - Brasil (FAPERGS).

6 REFERÊNCIAS

APAK, R.; CAPANOGLU, E.; SHAHIDI, F. - **Measurement of Antioxidant Activity & Capacity Recent Trends and Applications**. Wiley, 2018. 341 p.



CARBONARI, K. A. – Avaliação do Potencial Antioxidante (In vitro e in vivo) e anti-inflamatório de *Ouratea parviflora*, *Polymnia sonchifolia* e *Marlierea obscura*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

CENTENARO, G. S.; MELLADO, M. S.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. - Antioxidant Activity of Protein Hydrolysates of Fish and Chicken Bones. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 3, n. 4, p. 280-288, 2011.

JAMES, N.K.S.; CASTRO, L.P.S.; SOUZA, T.R.; NOGUEIRA R. I.; FREITAS S. P. - Características morfológicas de microcápsulas obtidas por spray dryer: efeito da temperatura e da vazão do ar. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/334233403_CHARACTERISTICAS_MORFOLOGICAS_DE_MICROCAPSULAS_OBTIDAS_POR_SPRAY_DRYER_EFEITO_DA_TEMPERATURA_E_DA_VAZAO_DO_AR>. Acesso em: 11 fev. 2021.

KUROZAWA, L. E. - Estudos dos processos de hidrólise enzimática e secagem por atomização para obtenção de hidrolisado proteico de frango em pó. Disponível em: <<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/255162>>. Acesso em: 10 fev. 2021.

LORENZO, J. M.; MENEKATA, P. E. S.; GÓMES, B; BARBA, F. J.; MORA, L.; SANTAESCOLÁSTICA, C. P.; TOLDRÁ, F. - Bioactive peptides as natural antioxidants in food products – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 79, p. 136-147, 2018.

OLIVEIRA, M. S. R. - Obtenção de hidrolisado proteico de carne mecanicamente separada (CMS) e carcaças manualmente desossadas (CMD) de frango por hidrólise enzimática. Disponível em: <<https://repositorio.ufsm.br/handle/1/3394>>. Acesso em: 11 fev. 2021.

OLIVEIRA, M. S. R.; FRANZEN, F. L.; TERRA, N. N. - Utilização da carne mecanicamente separada de frango para a produção de hidrolisados proteicos a partir de diferentes enzimas proteolíticas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 291-302, 2014.

OYINLOYE, T. M.; YOON, W. B. - Effect of Freeze-Drying on Quality and Grinding Process of Food Produce: A Review. **Processes**. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2227-9717/8/3/354>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

SARBON, N. M. - Nutritional and physico-chemical properties of chicken proteins and peptides. Disponível em: <<http://epubs.surrey.ac.uk/804305/1/Mhd%20Sarbone2011.pdf>>. Acesso em: 11 fev. 2021.

SBEGHEN, A. L.; FERNANDES, I. A.; STEFFENS, C.; VALDUGA, E.; BRIÃO, V. B.; ZENI, J.; STEFFENS, J. - Optimization of enzymatic hydrolysis process of mechanically separated chicken meat. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 67026-67037, 2020.

ROSSI, D. M. - Utilização de carne mecanicamente separada de frango para produção de um hidrolisado protéico a partir de enzimas microbianas. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/10385>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

SCHMIDT, M. M.; FONTOURA, A. M.; VIDAL, A. R.; DORNELLES, R. C. P.; KUBOTA, E. H.; MELLO, R. O.; CANSIAN, R. L.; DEMIATE, I. M.; OLIVEIRA, C. S. - Characterization of hydrolysates of collagen from mechanically separated chicken meat residue. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612020005006203&script=sci_arttext>. Acesso em: 12 fev. 2021.

SOYER, A; OZALP, B.; DALMIS, U.; BILGIN, V. - Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. Elsevier. **Food Chemistry**, V. 120, n. 4, p. 1025 – 1030.

TASIĆ A.; KURELJUSIĆ, J.; NESIĆ. K.; ROKVIĆ, N.; VIĆENTIJEVIĆ, M.; RADOVIĆ, M.; PISINOV, B. - Determination of calcium content in mechanically separated meat. Disponível: <<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/85/1/012056/meta>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

TREMEA, F. T.; SILVA, A. C. - O setor avícola no Brasil e sua distribuição regional. **Economia & Região**, v.8, n.1, p.183-200, 2020.

WANG, Y.; SELOMULYA, C. - Spray drying strategy for encapsulation of bioactive peptides powders for food applications. **Advanced Powder Technology**, V. 31, n. 1, p. 409-415, 2020.