

A formação de biofilme contribui para a degradação de farinha de pena por bactérias queratinolíticas?

Élen Klein¹, Danielle Campiol Arruda¹, Alexandre José Macedo^{1,2} (orient.)

¹Centro de Biotecnologia (UFRGS); ²Faculdade de Farmácia (UFRGS).

Introdução

A indústria aviária produz cerca de 700mil ton/ano de penas, resíduo de difícil degradação composto por queratina, cujo tratamento atual faz uso de altas temperaturas e pressões. Um tratamento alternativo é o uso de bactérias queratinolíticas que utiliza condições mais brandas, mantendo assim o potencial valor nutricional deste resíduo após tratado. A pena por ser um material insolúvel, pode servir como substrato para a formação de biofilme microbiano capaz de degradá-lo (Fig 1). O objetivo deste trabalho é entender como a degradação de farinha de pena, a atividade queratinolítica e a formação de biofilme estão interligados na tentativa de aprimorar este processo.

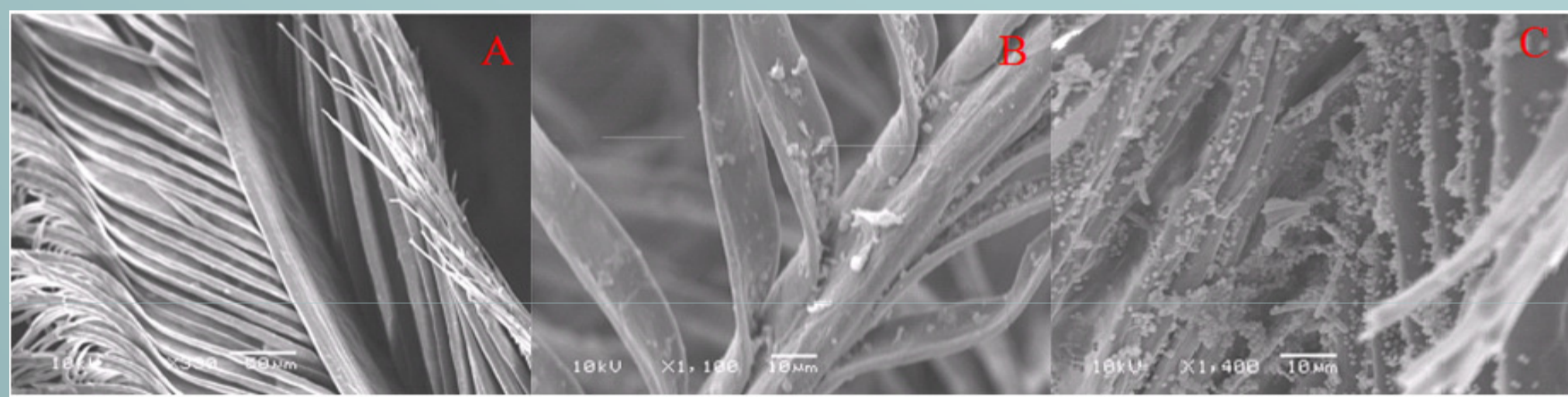


Fig. 1 – Microscopia eletrônica de varredura: (A) Pena sem inóculo (B) Pena inoculada com as quatro bactérias no tempo zero (C) Pena após três dias de inoculação

Materiais e Métodos

As bactérias utilizadas (*Bacillus subtilis* S14 e NP5, *Bacillus cereus* NP4 e *Macroccoccus caseolyticus* FCA7) foram inoculadas em caldo farinha de pena (isoladas e em comunidade) e colocadas em agitador orbital por 96 horas, sendo coletadas amostras a cada 24 horas. Após lavagem, a farinha de pena foi submetida a ultrassom para liberação das enzimas do biofilme, sendo a atividade queratinolítica determinada utilizando azoqueratina como substrato. O percentual de degradação foi determinado utilizando a massa seca da farinha de pena.

Resultados e Discussão

Os resultados discutidos abaixo são referentes as Fig. 2, Fig. 3 e Fig. 4.

•NP5: possui maior percentual de degradação (89%) e atividade enzimática extra celular crescente indicando que altos valores de degradação estão ligados a altas concentrações enzimáticas

•S14: apresentou atividade no biofilme e extracelular próximas (1.05 e 1.6 U.ml⁻¹.h⁻¹, respectivamente) e percentual de degradação alto (86%) indicando a maior importância da presença de enzima no biofilme para a degradação da pena.

•NP4: apresentou alta atividade enzimática no biofilme e no meio extracelular porém baixo percentual de degradação, possivelmente devido a retenção de enzima pelo biofilme.

•FCA7: possui baixo percentual de degradação, porém alta atividade enzimática extracelular, neste caso o biofilme possivelmente atua como uma barreira física que impede a passagem de enzimas.

•Comunidade: a degradação obtida (87%) não foi a esperada, porque acreditava-se que com a associação de mais de uma bactéria que degrade a farinha de pena obteríamos percentuais de degradação superiores aos encontrados com as bactérias isoladas. Acredita-se que o motivo seja a presença da *M. caseolyticus* FCA7 que se adere primeiramente a superfície (Fig 1.) e bloqueia a ação das demais bactérias ou que a formação de um biofilme estável não seja desejável para esta comunidade.

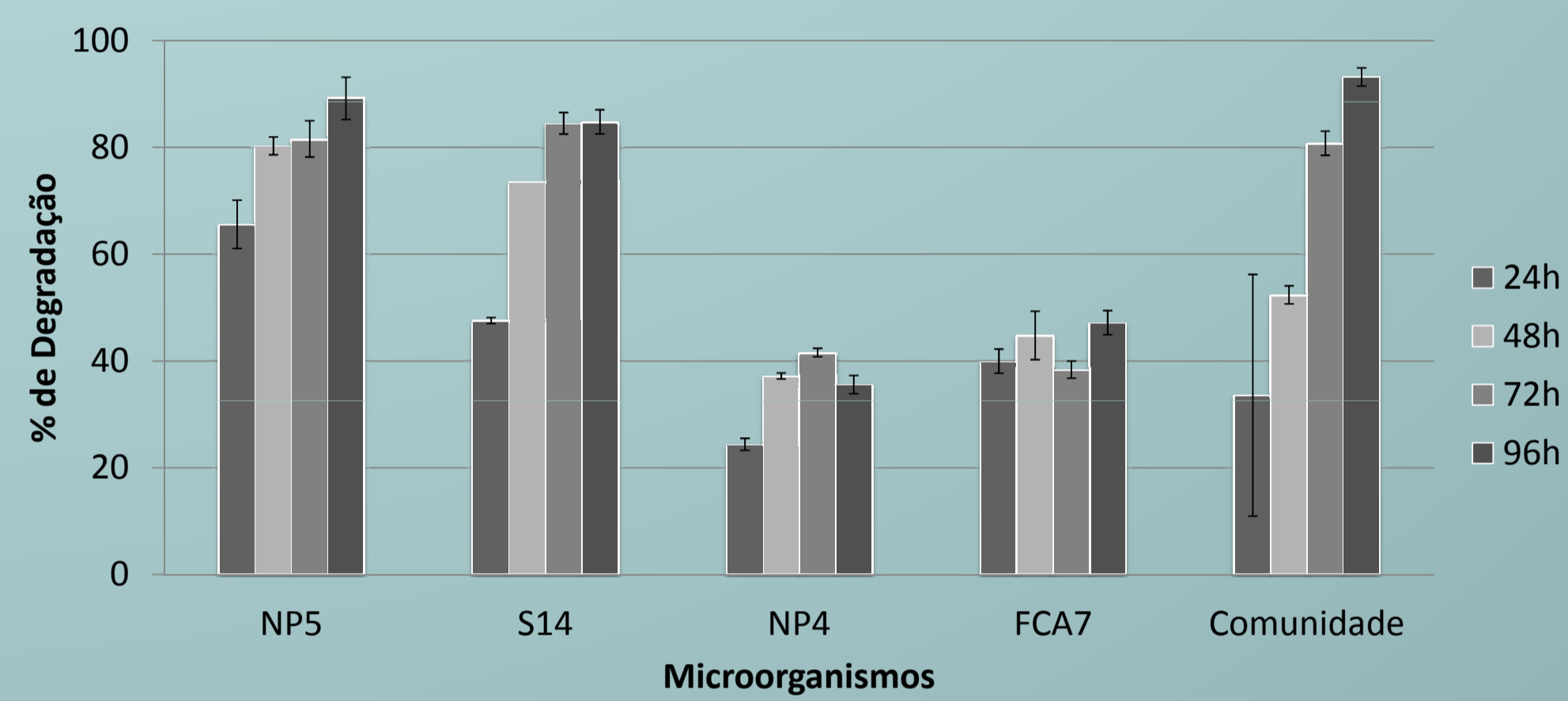


Fig. 2 – Degradação da farinha de pena

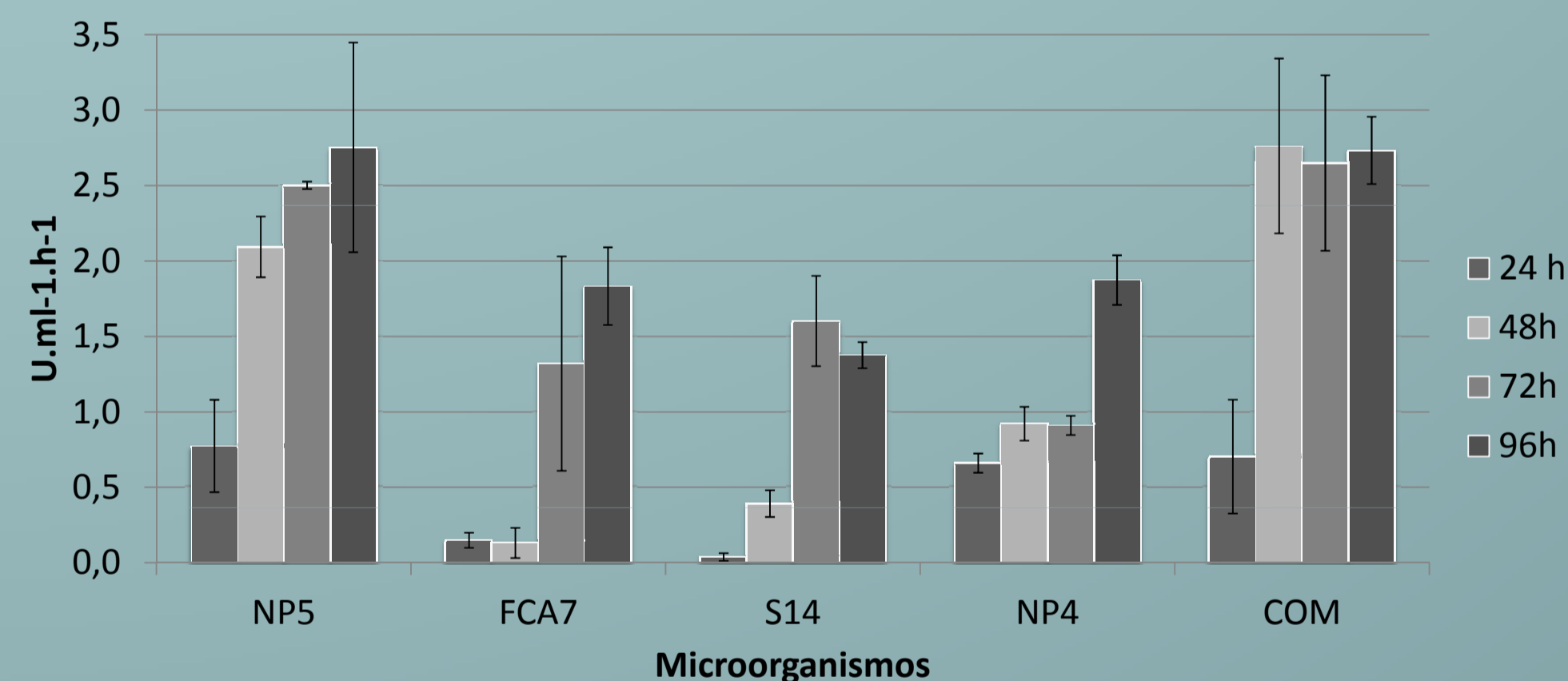


Fig. 3 – Atividade queratinolítica no sobrenadante

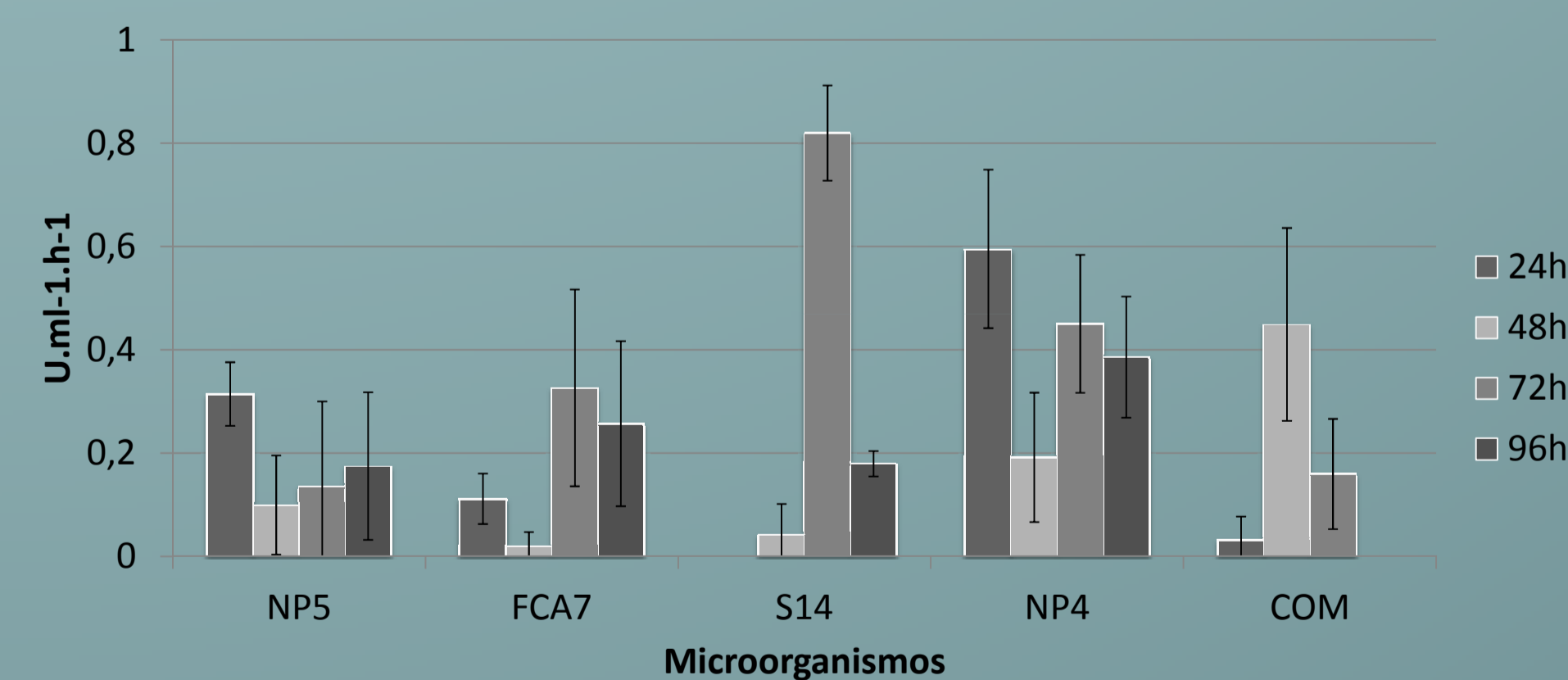


Fig. 4 – Atividade queratinolítica no biofilme

Conclusões

- Existe atividade enzimática no meio extracelular e no interior do biofilme;
- A obtenção de altos percentuais de degradação estão diretamente relacionados com a atividade enzimática extra-biofilme;
- A formação de biofilme sobre as penas tem um papel ambivalente, podendo por vezes contribuir e em outras prejudicar a degradação de penas.