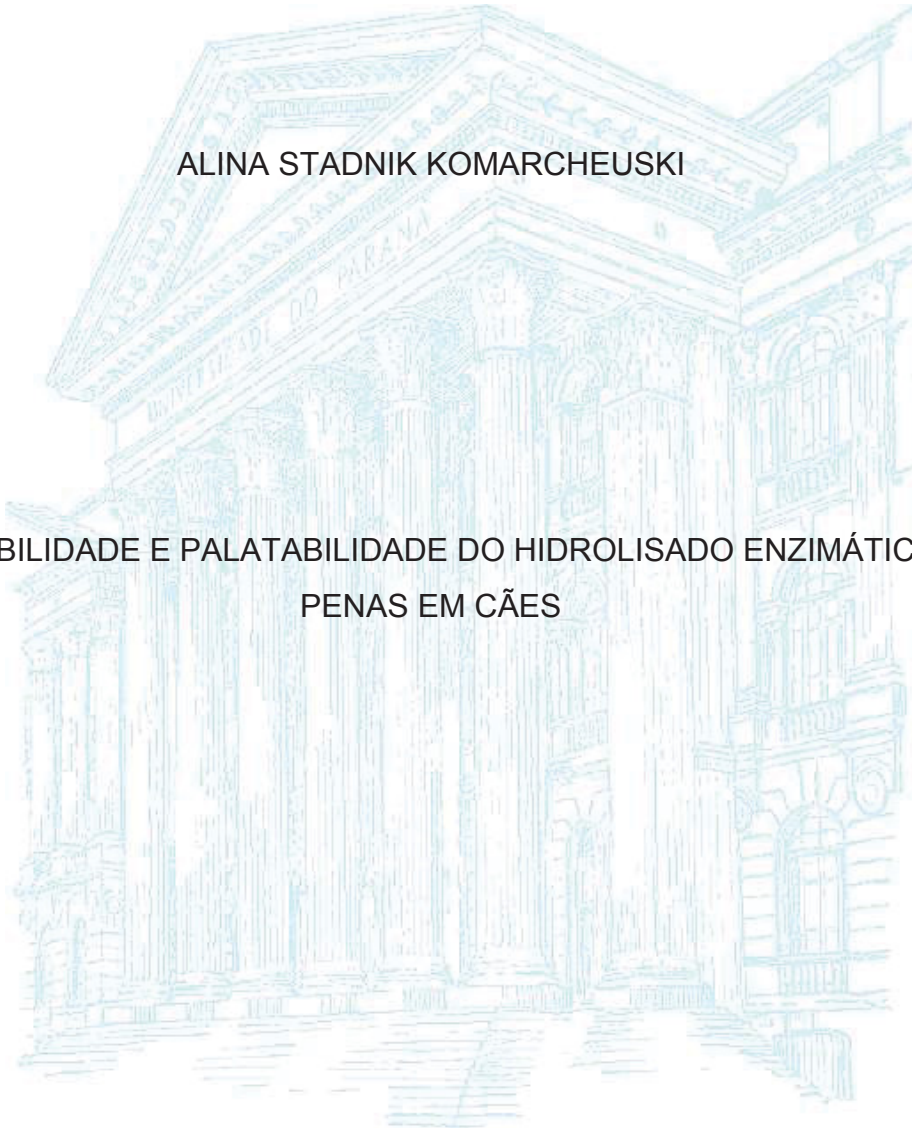


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINA STADNIK KOMARCHEUSKI

DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DO HIDROLISADO ENZIMÁTICO DE  
PENAS EM CÃES



CURITIBA

2020

ALINA STADNIK KOMARCHEUSKI

DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DO HIDROLISADO ENZIMÁTICO DE  
PENAS EM CÃES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, ofertado no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como um dos requisitos à obtenção de Título de mestre.

Orientador: Prof. Dra. Simone Gisele de Oliveira

CURITIBA

2020

Komarcheuski, Alina Stadnik

Digestibilidade e palatabilidade do hidrolisado enzimático de penas em cães. / Alina Stadnik Komarcheuski. - Curitiba, 2020.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Orientador: Simone Gisele de Oliveira.

1. Hidrolisados de proteína. 2. Cães - Alimentação e rações. 3. Animais - Subprodutos. 4. Fezes - Análise. I. Oliveria, Simone Gisele de. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA -  
40001016082P0

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ALINA STADNIK KOMARCHEUSKI** intitulada: **Digestibilidade e palatabilidade do hidrolisado enzimático de penas em cães**, sob orientação da Profa. Dra. **SIMONE GISELE DE OLIVEIRA**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua *aprovação* no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Fevereiro de 2020.

  
SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

  
MARIANA SCHERAIBER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ)

  
ANANDA PORTELLA FÉLIX

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ SETOR  
DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS COMISSÃO DE ÉTICA  
NO USO DE ANIMAIS**

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 074/2018, referente ao projeto “**Avaliação da digestibilidade e palatabilidade da farinha de penas hidrolisada em cães**”, sob a responsabilidade **Ananda Portella Félix** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau 1 de invasividade, em reunião de 07/11/2018.

Vigência do projeto	Janeiro/2019 até Fevereiro/2019
Espécie/Linhagem	<i>Canis lupus familiaris</i> (cão)
Número de animais	16
Peso/Idade	10 kg/3 anos
Sexo	Macho e fêmea
Origem	Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 074/2018, regarding the project “**Evaluation of the digestibility and palatability of hydrolyzed feather meal in dogs**” under **Ananda Portella Félix** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree 1 of invasiveness, in session of 07/11/2018.

Duration of the project	January/2019 until February/2019
Specie/Line	<i>Canis lupus familiaris</i> (canine)
Number of animals	16
Wheight/Age	10 kg/3 years
Sex	Male and female
Origin	Sector of Agricultural Sciences, Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil

Curitiba, 07 de novembro de 2018

  
Chayane da Rocha

**Coordenadora CEUA-SCA**

*Dedico:*

Aos meus amados pais

e irmão, Ana Sônia,

José e Jonata.

**“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”**

José de Alencar

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Ana Sônia e José, pela educação, compreensão, amor e apoio incondicional. Ao meu irmão, Jonata, pelo carinho e amizade. Vocês são meus exemplos de vida e a base do meu crescimento. Sem vocês essa conquista não seria possível!

À toda minha família que mesmo não entendendo muito bem o que faço, sempre me apoiaram e procuraram me incentivar da melhor forma possível.

A minha orientadora, professora Simone Gisele de Oliveira, pela oportunidade e ensinamentos. Agradeço imensamente por toda a confiança e paciência em todas as etapas desse trabalho.

A professora Ananda Portella Félix por todos os ensinamentos, paciência, atenção e incentivo ao longo dessa jornada.

Aos presentes que a UFPR me trouxe em forma de queridos amigos: Suellen, Marley, Tais, Wlad, Gis, Cami e Dani. Vocês tornaram os dias muito mais leves e divertidos. Só posso agradecer por todos os momentos de aprendizagem incríveis que passamos juntos. Faltam palavras para descrever o quão grata e feliz sou por vocês estarem na minha vida.

A todos outros amigos presentes nessa caminhada, por ouvirem meus lamentos e me aguentarem em momentos difíceis. Obrigada pelas doces palavras de incentivo durante essa caminhada.

A todo o grupo LNUCAN por todo o auxílio durante os experimentos e companheirismo ao longo dos anos.

Ao pessoal do LNA Rui, Marcelo, Tai, os estagiários e em especial à Cleusinha, Aldo e Hair por sempre estarem de prontidão para ajudar e darem apoio em todas as análises.

Aos meus amorzinhos caninos: Olívia, Paçoca, Amarula, Cacau, Chanel, Babalu, Tequila, Amora, Bud, Toddy, Xuxo, Scooby, Thor, Cookie, Bexiga e Solução. Vocês tornaram meus dias cheio de alegria e minhas roupas de pelos. Todos vocês foram os verdadeiros protagonistas desse trabalho.

À Deus por iluminar sempre os meus caminhos!

À empresa BRF pelo apoio na execução dos experimentos.

À CAPES pela concessão da bolsa.

**Muito obrigada por fazerem parte da minha vida e dessa história. Levarei todos comigo!**

Alina Stadnik Komarcheuski



## RESUMO

O hidrolisado enzimático de penas (HEP) é um coproduto que pode ser gerado em grande quantidade a partir do processo de beneficiamento de frangos para consumo humano. Esse ingrediente pode ser utilizado como fonte proteica na alimentação animal, pois possui elevado teor de proteína de até 90%. Objetivou-se determinar, por meio do método de regressão, os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e a energia metabolizável (EM) do HEP em cães. Além disso, avaliou-se as características fecais e a preferência alimentar de cães alimentados com dietas contendo HEP. Foram avaliadas quatro dietas contendo 0%, 4%, 8% e 12% de HEP, em substituição à fórmula da dieta controle. Para digestibilidade e características fecais, foram utilizados 12 cães adultos da raça Beagle, distribuídos em blocos (períodos) ao acaso. Os cães foram alimentados durante 10 dias com as dietas experimentais, durante dois períodos, totalizando seis repetições. As características fecais avaliadas foram o teor de matéria seca fecal, produção de fezes, escore de consistência e odor fecal, pH, concentração de amônia, ácidos graxos de cadeia curta, ácidos graxos de cadeia ramificada, ácido siálico, fenóis e indóis. No teste de palatabilidade foram utilizados 16 cães, sendo comparadas as dietas: 0% vs. 12% HEP. O teste foi realizado por um período de dois dias, totalizando 32 repetições. A análise de regressão permitiu estimar os CDA do HEP, que apresentou CDA para proteína bruta (PB) e energia bruta (EB) de 86,2% e 87,33%, respectivamente. A EM do HEP foi estimada em 5189,65 kcal/kg de matéria seca. A inclusão de HEP não alterou os CDA e a EM das dietas, assim como as características fecais dos animais. Desta forma, conclui-se que a inclusão de HEP possui um potencial uso na alimentação de cães.

Palavras-chave: Características fecais. Coproduto. Processamento.

## **ABSTRACT**

Enzymatic hydrolyzate feathers (EHF) is a co-product that can be generated in large quantities from the process of processing chickens for human consumption. This ingredient can be used as protein source in animal feed, because it has a high protein content of up to 90%. The objective of this study was to determine the apparent digestibility coefficients (ADC) of the nutrients and the metabolizable energy (ME) of EHF in dogs using the regression method. In addition, fecal characteristics and feeding preference of dogs fed diets containing EHF were evaluated. Four diets containing 0%, 4%, 8% and 12% of EHF, were substituted for the control diet formula. For digestibility and fecal characteristics, 12 beagle adult dogs were randomly distributed in blocks (periods). The dogs were fed for 10 days with the experimental diets, during two periods, totaling six replicates. The fecal characteristics evaluated were the fecal dry matter content, feces production, fecal consistency and odor score, pH, ammonia concentration, short-chain fatty acids, branched-chain fatty acids, sialic acid, phenol and indole. In the palatability test, 16 dogs were used, and the diets were compared: 0% vs. 12% EHF. The test was performed for a period of two days, totaling 32 replications. The regression analysis allowed to estimate the ADC of the EHF, which presented ADC for crude protein (CP) and crude energy (CE) of 86.2% and 87.33%, respectively. The ME of the EHF was estimated at 5189.65 kcal / kg of dry matter. The inclusion of EHF did not alter the ADC and EM of the diets, as well as fecal characteristics of the animals. Thus, it is concluded that the inclusion of EHF has a potential use in dog feeding.

Key words: Fecal characteristics. Co-product. Processing.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da pena de aves.....	18
Figura 2. Estrutura da $\alpha$ -queratina e $\beta$ -queratina.....	20

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química do hidrolisado enzimático de penas.....	35
Tabela 2. Ingredientes e composição química analisada das dietas experimentais.....	35
Tabela 3. Perfil de aminoácidos do hidrolisado enzimático de penas.....	36
Tabela 4. Média dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %), energia metabolizável (EM, kcal/kg) e características fecais de cães alimentados com dietas contendo hidrolisado enzimático de penas.....	42
Tabela 5. Média ( $\mu\text{mol/g}$ ) dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR) das fezes de cães alimentados com dietas contendo níveis crescentes de hidrolisado enzimático (HEP).....	43
Tabela 6. Porcentagem média de área de pico de compostos orgânicos voláteis mais abundantes presentes nas fezes de cães.....	44
Tabela 7. Medianas e distância interquartil do odor fecal de cães alimentados com dieta controle (0% hidrolisado enzimático de penas), 4% e 12% de hidrolisado enzimático de penas (HEP).....	44
Tabela 8. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) do hidrolisado enzimático de penas.....	44
Tabela 9. Tabela 8. Primeira escolha da dieta A (n) e razão de ingestão (RI +/- erro padrão) das dietas controle (CO) e 12% de hidrolisado enzimático de penas (HEP).....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC – Ácido graxo de cadeia curta

AGCR – Ácido graxo de cadeia ramificada

CDA – Coeficiente de digestibilidade aparente

EB – Energia bruta

EE – Extrato etéreo

EEHA – Extrato etéreo em hidrólise ácida

EM – Energia metabolizável

EPM – Erro padrão da média

MO – Matéria orgânica

MS – Matéria seca

MSf – Matéria seca fecal

NEM – Necessidade de energia metabolizável

P – Probabilidade

PB – Proteína bruta

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I – HIDROLISADO ENZIMÁTICO DE PENAS COMO FONTE PROTEICA NA ALIMENTAÇÃO DE CÃES</b> .....	<b>14</b>
1. Introdução.....	14
2. Revisão de Literatura.....	16
2.1 Fontes proteicas para cães.....	16
2.2 Coprodutos de origem animal da indústria avícola.....	17
2.2.1 Penas.....	18
2.2.2 Estrutura da queratina.....	19
2.3 Obtenção do hidrolisado de penas.....	20
2.4 Utilização do hidrolisado de penas na nutrição animal.....	22
3. Considerações finais.....	25
4. Referências bibliográficas .....	26
<b>CAPÍTULO II – DIGESTIBILIDADE E PALTABILIDADE DO HIDROLISADO ENZIMÁTICO DE PENAS EM CÃES</b> .....	<b>32</b>
1. Introdução .....	34
2. Material e métodos.....	35
2.1 Experimento I: Ensaio de digestibilidade e características fecais.....	35
2.1.1 Dietas.....	35
2.1.2 Animais e instalações.....	37
2.1.3 Ensaio de digestibilidade.....	37
2.1.4 Características fecais.....	38
2.1.5 Cálculos e análises estatísticas.....	40
2.2 Experimento II: Palatabilidade.....	41
2.2.1 Animais e instalações.....	41
2.2.2 Dietas.....	41
2.2.3 Ensaio de palatabilidade.....	41
2.2.4 Cálculo e análises estatísticas.....	41
3. Resultados.....	42
3.1 Experimento I: Ensaio de digestibilidade e características fecais.....	42
3.2 Experimento II: Palatabilidade.....	45
4. Discussão.....	45
4.1 Experimento I: Ensaio de digestibilidade e características fecais.....	45
4.2 Experimento II: Palatabilidade.....	48

5. Conclusões.....	48
6. Referências bibliográficas .....	49

**REFERÊNCIAS**

1. Referências.....	52
---------------------	----

## **CAPÍTULO I – HIDROLISADO ENZIMÁTICO DE PENAS COMO FONTE PROTEICA NA NUTRIÇÃO DE CÃES**

### **1. Introdução**

O Brasil é um grande produtor de carne de frango, sendo que no ano de 2018 cerca de 5,7 bilhões de frangos foram abatidos em frigoríficos brasileiros inspecionados, totalizando 13,51 milhões de toneladas de carcaças (IBGE, 2019). A indústria avícola gera grande quantidade de coprodutos, tais como ossos, vísceras, unhas, pele e penas. Dentre estes resíduos, as penas estão entre os mais abundantes (ZHU et al., 2010), uma vez que estas correspondem de 5 a 10% do peso corporal de aves adultas (BRANDELLI et al., 2010). As penas possuem grande interesse do ponto de vista nutricional, devido à sua composição apresentar alto potencial nutritivo. A pena é composta por mais de 90% de proteína, sendo o principal componente a queratina, uma proteína fibrosa e insolúvel com resíduos de cisteína e ligações dissulfureto, além de outras ligações, como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre suas cadeias (BRANDELLI et al., 2010). Essa estrutura e conformação molecular confere a queratina alta rigidez e estabilidade.

As penas possuem potencial para serem utilizadas como fonte de proteína e aminoácidos para a alimentação animal. Entretanto, a queratina em seu estado natural não é degradável por enzimas endógenas de animais não ruminantes, como tripsina e pepsina (KIM et al., 2001). Para sua melhor utilização esse coproduto deve ser processado em hidrolisado de penas (também conhecido como farinhas de penas hidrolisada), podendo ser produzido a partir de diferentes processamentos. O processamento convencional é através da cocção sob alta temperatura e pressão, o que exige elevado consumo de energia. Além disso, essa forma de processamento pode afetar a qualidade nutricional do produto final, uma vez que pode desnaturar aminoácidos termolábeis e complexar outros aminoácidos em compostos que não podem ser absorvidos pelo organismo do animal (BRANDELLI, 2008). Diante dessa limitação outras formas de processamento foram desenvolvidas a fim de melhorar a qualidade do hidrolisado de penas. O emprego de enzimas exógenas no processamento é uma das alternativas para amenizar os efeitos do aquecimento excessivo e possui vantagens como a preservação dos aminoácidos e a facilidade de controlar o grau de hidrólise ao longo do processo (CALLEGARO et al., 2019). Processos combinados, como a combinação de tratamento térmico aliados ao uso de enzimas, também tem sido explorados a fim de



melhorar a qualidade nutricional do hidrolisado de penas (PACHECO et al., 2016) e também melhorar o custo de produção, economizando energia ao longo do processamento (CONSIDINE, 2000).

A produção de hidrolisados de penas utilizando enzimas durante seu processamento representa um método alternativo que pode melhorar o valor nutricional das penas, porém ainda pouco se sabe sobre o valor nutricional deste ingrediente em dietas para cães. O conhecimento da digestibilidade dos nutrientes presentes no ingrediente permite melhorar a sua utilização na formulação de alimentos comerciais, permitindo maiores inclusões nas formulações ou ainda complementar ou substituir outras fontes convencionais. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito da adição de níveis crescentes de hidrolisado enzimático de penas, processada com protease, em dietas extrusadas para cães, sobre a digestibilidade dos nutrientes, energia metabolizável, características fecais e a palatabilidade em cães.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Fontes proteicas para cães**

As proteínas são componentes essenciais nas dietas dos animais, pois possuem papel essencial nos componentes estruturais e funcionais do organismo (BOYE et al., 2012). Por esse motivo os cães são exigentes quanto à qualidade e quantidade das proteínas utilizadas em sua dieta. Alguns fatores como teor de proteína, digestibilidade e perfil de aminoácidos biodisponíveis são determinantes na eficiência de utilização proteica da dieta (CASE et al., 2011). Fontes de alta qualidade proteica com valores altos na sua digestibilidade permitem estimativas mais baixas da necessidade da proteína na formulação de alimentos comerciais. Os cães, assim como outras espécies, não possuem capacidade para armazenar o excesso de aminoácidos. Desse modo, os aminoácidos excedentes são utilizados nas vias gluconeogênicas para formação de energia ou transformados em gordura, nos tecidos adiposos (CASE et al., 2011). O aumento no fluxo de resíduos de aminoácidos que chegam ao intestino fornecem substratos fermentativos a microbiota e podem gerar compostos como amônia, aminas biogênicas, ácidos graxos de cadeia ramificada, fenóis e indóis (SWANSON et al., 2002), que podem afetar a funcionalidade intestinal de maneira negativa. Sendo assim, a qualidade da proteína é um aspecto a ser considerado para o atendimento das exigências nutricionais dos animais e manutenção da funcionalidade intestinal (BOYE et al., 2012; SWANSON et al., 2002).

As fontes proteicas podem ser de origem vegetal e animal. As fontes proteicas vegetais incluem os grãos e farelos provenientes de coprodutos de processos industriais de grãos. Já as fontes proteicas de origem animal são provenientes, principalmente, de coprodutos da indústria de carnes de frango, bovinos, suínos, peixes e ovinos (SEIXAS et al., 2003). Os fabricantes de alimentos para animais de companhia utilizam em suas formulações grandes quantidades de coprodutos de origem animal e vegetal, embora são poucos os estudos que avaliam o potencial desses ingredientes em alimentos para animais de companhia (REBAFKA & KULSHRESTHA, 2009; SÁ, 2011; FÉLIX et al., 2012). A escassez de dados precisos disponíveis sobre a digestibilidade e energia metabolizável de coprodutos é uma limitação para maiores inclusões de coprodutos em formulações.

## 2.2. Coprodutos de origem animal da indústria avícola

O uso de coprodutos de origem animal para animais de companhia tem se tornado cada vez mais frequente com o objetivo principal de baratear o custo de produção e diminuir a competitividade no mercado de alimentos. O mercado brasileiro dispõe de uma variedade de coprodutos agropecuários, que se processado corretamente, podem fornecer quantidades satisfatórias de nutrientes e energia às dietas (BUTOLO, 2010).

A indústria avícola gera uma grande quantidade de coprodutos, tais como ossos, vísceras, unhas, pele e penas (ZHU et al., 2010). Estes materiais orgânicos são formados basicamente por proteínas estruturais insolúveis e devido às suas propriedades são considerados materiais de difícil degradação (LANGE et al., 2016). Além disso, os coprodutos gerados representam uma quantidade enorme de resíduos sólidos que devem ser gerenciados adequadamente para evitar danos ambientais e perda de matérias-primas importantes para a nutrição animal ou como recursos biológicos (LASEKAN et al., 2013). Olivo et al. (2006) relatam que a maior quantidade de resíduos gerados no abate de frango são penas (8,5%) e vísceras (6,5%), enquanto que os demais resíduos representam quantidades inferiores.

O Brasil é um grande produtor de carne de frango, tendo um papel importante como exportador. No ano de 2018, cerca de 5,7 bilhões frangos foram abatidos em frigoríficos brasileiros inspecionados, totalizando 13,51 milhões de toneladas de carcaças (IBGE, 2019). As penas correspondem de 5 a 10% do peso corporal de aves adultas (BRANDELLI et al., 2010), o que significa a produção de pelo menos 680 mil toneladas de penas geradas como resíduo da indústria avícola brasileira no ano de 2018.

As indústrias de processamento de coprodutos de origem animal processam os resíduos transformando-os em farinhas com valor agregado utilizadas na nutrição animal e que essas matérias-primas apresentam custo relativamente baixo, além de serem boas fontes de nutrientes quando bem processadas (SINHORINI, 2013).

### 2.2.1. Penas

As penas são constituídas de aproximadamente 1% de gordura, 9% água e 90% de proteínas estruturais, sendo estas as queratinas (DAROIT & BRANDELLI, 2014). Devido a sua composição, as penas podem ter um grande potencial como fonte de proteína e aminoácidos para a alimentação animal. Estruturalmente as penas são compostas por 41-67% de  $\alpha$ -queratinas, 33-38% de  $\beta$ -queratinas e queratinas amórficas que estão presentes em quantidades menores (LANGE et al., 2016). A composição molecular da pena resulta em estabilidade mecânica e resistência a enzimas proteolíticas endógenas, como a tripsina e pepsina (BRANDELLI, 2008).

Morfologicamente, as penas de frango possuem como particularidade a presença da raque, que consiste na estrutura central da pena e nela estão ligadas as barbas e bárbulas, conhecidas como as estruturas secundárias e terciárias, respectivamente. A raque compreende metade do peso da pena e é extremamente rígida, enquanto as barbas e bárbulas são constituídas por fibras proteicas de baixa densidade, sendo essa característica que a torna leve e mais acessível ao ar ou aos fluídos, além de conceder alta resistência à compressibilidade (TESFAYE et al., 2017). A figura 1 apresenta estrutura completa da pena.

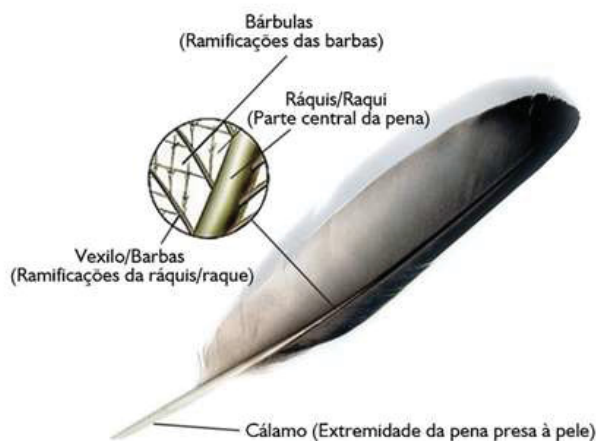


Figura 1. Estrutura da pena de aves.

Fonte: Planeta Biologia (2015).

### 2.2.1.1. Estrutura da queratina

A queratina é uma proteína estrutural fibrosa presente na epiderme e nos apêndices epidérmicos dos vertebrados, como penas, pele e unhas, e é rica em resíduos de cisteína e ligações dissulfeto (MEYERS et al., 2008; WANG et al., 2016). A função dessa proteína é resultado de sua composição química e do arranjo espacial das cadeias polipeptídicas, que justificam sua insolubilidade e rigidez estrutural, fornecendo suporte mecânico e diversas funções de proteção na adaptação de vertebrados ao ambiente externo (WANG et al., 2016). Sua conformação compacta e alta estabilidade são determinadas, em grande parte, por pontes dissulfeto, formadas entre resíduos de cisteína (produzindo cistina), que ocorrem tanto dentro como entre os polipeptídeos de queratina (BRANDELLI et al., 2010). Ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas também contribuem para a estabilidade da queratina.

O alto teor de cisteínas diferencia a queratina de outras proteínas fibrosas, como o colágeno e elastina (KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA & BOHACZ, 2011). A presença de ligações dissulfeto entre cisteínas inter e intracadeias são determinantes para gerar uma cadeia proteica fortemente estabilizada. Como consequência disso, as  $\alpha$ -queratinas oferecem maior rigidez e resistência do que as  $\beta$ -queratinas, em função da ocorrência de maior conteúdo de cisteína e, com isso, mais ligações dissulfeto (DAROIT & BRANDELLI, 2014). A  $\alpha$ -queratina é encontrada em mamíferos e é o constituinte primário de lã, cabelos, unhas, cascos, chifres e estrato córneo e a forma  $\beta$ -queratina é o principal componente de tecidos de aves e répteis, como bicos, penas, garras e escamas (CHEN et al., 2012).

Com base na estrutura secundária dominante, a cadeia polipeptídica da queratina pode ser constituída de configurações denominadas  $\alpha$ -hélice ( $\alpha$ -queratina) e  $\beta$ -folha ( $\beta$ -queratina) (DAROIT & BRANDELLI, 2014), conforme esquematizado na figura 2.

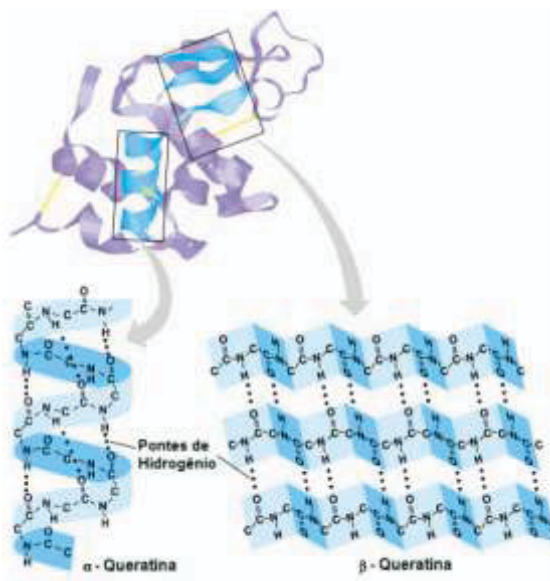


Figura 2. Estrutura da  $\alpha$ -queratina e  $\beta$ -queratina

Fonte: Marzzoco & Torres (1999).

### 2.3. Obtenção do hidrolisado de penas

As penas *in natura* não são utilizadas na alimentação animal devido a uma baixa disponibilidade de nutrientes e contaminação por microrganismos (MACHADO, 2018). No entanto, no hidrolisado de penas (também conhecido como farinha de penas hidrolisada) quando previamente processado, a fração proteica se torna mais susceptível às enzimas endógenas digestivas.

Os hidrolisados de proteínas são misturas complexas de peptídeos e aminoácidos resultantes da clivagem de ligações peptídicas dentro uma cadeia polipeptídica. Geralmente, a escolha de uma estratégia de hidrólise depende das características do substrato proteico, a disponibilidade de agentes de hidrólise adequados, a qualidade do produto final e as aplicações desejadas do hidrolisado (HOU et al., 2017; STIBOROVA et al., 2016).

As penas são difíceis de hidrolisar ou degradar devido a composição da queratina. Para utilizar a proteína das penas como um ingrediente para a nutrição animal, estas devem ser hidrolisadas através de processamento, no qual pode ser físico, químico ou através de processos enzimáticos (MAZOTTO et al., 2017).

No processamento convencional, ou tratamento físico, as penas são convertidas em hidrolisado de penas por meio da cocção hidrotérmica sob alta pressão e temperatura, o que

requer elevado gasto energético. Além disso, a alta temperatura e pressão pode levar a perda de aminoácidos termolábeis (como lisina, metionina e triptofano) e a formação de aminoácidos não disponíveis, como a lantionina e lisinoalanina (BRANDELLI, 2008; FAKHFAKH et al., 2011). A lantionina e a lisinoalanina são provenientes de ligações cruzadas de proteínas, geralmente envolvendo a cistina, no qual as ligações covalentes não naturais entre as cadeias polipeptídicas reduzem a digestibilidade e a biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais que estão envolvidos na ligação cruzada ou próximos a ela (FENNEMA et al., 2019). Jhonson et al. (1998) determinaram a digestibilidade de nove ingredientes de origem animal utilizados em alimentos para cães e verificaram que o processamento com alta temperatura afetou negativamente a digestibilidade dos aminoácidos dos ingredientes. Os autores recomendaram temperaturas mais baixas para evitar a redução do valor nutricional dos ingredientes. A principal limitação no uso de temperaturas baixas é devido a segurança alimentar, uma vez que a utilização de altas temperaturas ao longo do processamento são justificadas pela inibição de atividades microbiológicas de microrganismos patogênicos na matéria prima.

O tratamento com produtos químicos pode ser realizado aplicando ácido forte, álcalis ou outros reagentes (como agentes redutores) para degradar as penas. No entanto, com esse tratamento a hidrólise ocorre de maneira inespecífica, levando a potencial destruição de aminoácidos e produtos com alto teor de cinzas (ADLER et al., 2018; SINKIEWICZ et al., 2018).

O tratamento enzimático pode envolver microrganismos queratinolíticos ou queratinases isoladas capazes de realizar a quebra das ligações estruturais da queratina (GUPTA & RAMNANI, 2006). A queratinase isolada é obtida a partir do cultivo de microrganismos capazes de produzir enzimas com atividades proteolíticas. As principais vantagens da hidrólise enzimática são condições moderadas do processo, especificidade da ação e preservação dos aminoácidos (CALLEGARO et al., 2019). As queratinases distinguem-se das outras proteases por uma maior capacidade de degradação de substratos compactos (GUPTA & RAMNANI, 2006).

Tiwary & Gupta (2012) observaram efeito linear na degradação das penas utilizando queratinase. À medida que a concentração das enzimas aumentou, maior foi a quebra das pontes dissulfeto da queratina. Neste estudo, 60% das penas foram hidrolisadas com a

inclusão de 600 a 900 U de enzima e aumentou para 90% quando 1200 a 1500 U de enzima foram adicionadas para 2,5 g de penas.

Em processos de hidrólise mediada por microrganismos, a hidrólise da proteína depende do crescimento microbiano e secreção de proteases extracelulares. Considerando a complexa estrutura das penas e a sua composição proteica, a biodegradação por microrganismos ocorre por meio de mecanismos colaborativos que envolvem a ação de enzimas proteolíticas e sistemas sulfitolíticos (CALLEGARO et al., 2019). A sulfitólise corresponde à redução de ligações dissulfeto realizada por enzimas (dissulfeto redutases), liberação de sulfito/tiosulfato por sistemas redox associados às células microbianas, enquanto que a proteólise indica a clivagem de ligações peptídicas do substrato realizada por proteases (DAROIT & BRANDELLI, 2014). A redução das ligações dissulfeto tem influência significativa para a degradação de penas, na medida em que desestabiliza a conformação compacta da queratina presente nestes materiais, facilitando o acesso das proteases para a atuação sobre o substrato (BRANDELLI et al., 2010).

Processos empregando hidrólises sequenciais termo-químico-enzimáticas, também são exploradas. Um processo termo-químico inicial de hidrólise permite maior acesso à ação subsequente de proteínas proteolíticas e enzimas para o substrato queratinoso (CHEONG et al., 2018; MOKERJS et al., 2010). A diminuição da temperatura, pressão e tempo de cocção combinado com a utilização de enzimas pode também trazer melhorias ao hidrolisado, melhorando sua qualidade nutricional (PACHECO et al., 2016) e também melhorar o custo de produção, economizando energia ao longo do processamento (CONSIDINE, 2000).

#### **2.4. Utilização do hidrolisado de penas na nutrição animal**

A utilização de penas é assunto de interesse entre os nutricionistas, devido ao seu potencial como fonte alternativa de proteína (BERTSCH & COELLO, 2005). Os hidrolisados de penas podem ser utilizados em substituição parcial ou total às fontes proteicas convencionais para diferentes espécies de hábito carnívoro e onívoro (PACHECO et al., 2016). Nas formulações comerciais destinadas a cães e gatos, cerca de 15,6% possuem hidrolisado de penas em sua composição (ABPA, 2014).

Um fator limitante é devido as queratinas das penas serem deficientes em aminoácidos como histidina, lisina, metionina e triptofano (GRAZZIOTIN et al., 2006). Nesse



sentido, o processamento com microrganismos queratinolíticos pode melhorar a digestibilidade das proteínas das penas, além de enriquecer os hidrolisados com aminoácidos limitantes devido à síntese microbiana (SAARELA et al., 2017). Bertsch & Coello (2005) ao compararem três tipos de farinha de penas (penas *in natura*; penas processadas de maneira convencional, sob alta temperatura e pressão; e penas tratadas com microrganismos queratinolíticos), observaram melhora significativa no perfil de aminoácidos, com aumento em alguns aminoácidos essenciais para penas tratadas com microrganismos queratinolíticos, em relação às demais. Portanto, a hidrólise microbiana é capaz de melhorar o perfil de aminoácidos do hidrolisado de penas. Além disso, outra maneira de contornar o problema com a deficiência de aminoácidos seria através da suplementação de aminoácidos sintéticos na formulação do alimento (MACIEL et al., 2017).

Em estudo avaliando a inclusão de mistura enzimática (protease e lipase) em hidrolisado de pena, combinada com diminuição da temperatura e pressão durante o processamento, Pacheco et al. (2016) observaram aumento de 600 kcal de EM/kg de MS a partir das penas em comparação ao hidrolisado sem adição de enzimas. Esse resultado indica que o pré-tratamento enzimático melhorou a qualidade do hidrolisado de penas como fonte de proteína nas dietas para cães adultos.

Rebefka & Kulshrestha (2009) avaliaram o efeito da inclusão do hidrolisado de penas na alimentação de cães adultos e observaram que a inclusão de 9% e 14% de hidrolisado de pena não apresentou diferença significativa para a digestibilidade aparente da proteína da dieta. Contudo, os autores observaram que a inclusão do hidrolisado de penas prejudicou a qualidade de fezes e resultou em baixos escores fecais.

Em estudo Scapim et al. (2003) avaliaram o impacto do tempo de processamento e temperatura durante o processamento do hidrolisado de penas em relação ao seu valor nutricional. Os parâmetros investigados foram tempos diferentes de processo e secagem, em pressão constante. O maior conteúdo energético e os maiores coeficientes de digestibilidade para os aminoácidos foram obtidos com o menor tempo de processo de secagem. Outros trabalhos também relacionam o tempo de processamento térmico das penas e suas influências na qualidade final das farinhas (ROCHA & SILVA, 2004; HOLANDA, 2009). O processamento térmico excessivo pode gerar um produto com baixo teor proteico, no

entretanto, um processamento insuficiente resultará na hidrólise incompleta da pena, que não serão digeridas pelos animais (ABÉ, 1981; ALBINO et al., 1992; FIALHO et al., 1983).

Outro fator interessante do hidrolisado de pena é seu baixo peso molecular. Pacheco et al. (2016) verificaram que hidrolisados de penas, processados de modo convencional combinados ou não com complexo enzimático, possuem baixo peso molecular, com aproximadamente 95% das moléculas menores do que 10.000 Da e 50% menores do que 500 Da. De modo geral, moléculas proteicas com peso molecular maior que 10.000 Da estão relacionadas com a ocorrência de hipersensibilidade alimentar em animais sensíveis (SAMPSON, 1993), sendo assim, o hidrolisado de penas apresenta baixo potencial antigênico quando compondo dietas de cães e gatos, o que confere um grande potencial de uso para este ingrediente.

### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil produz grandes quantidades de resíduos provenientes da indústria avícola, entre eles a pena representa uma expressiva quantidade e possui disponibilidade para ser utilizada como fonte proteica na nutrição animal. Entretanto, quando utilizada em sua forma natural a pena possui baixa disponibilidade de nutrientes, uma vez que a queratina possui ligações dissulfeto, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas que dificultam a ação de enzimas endógenas do sistema digestivo de animais não ruminantes. A composição nutricional e a biodisponibilidade de nutrientes do hidrolisado de penas possui relação direta com o tipo de processamento. Existem métodos diferentes para a obtenção desse produto, onde cada um apresenta particularidades. O processamento convencional, utilizando alta temperatura e pressão, é o mais utilizado para a elaboração de hidrolisados de penas empregados pela nutrição animal, no entanto processamentos combinados vem sendo estudados. A adição de enzimas pode ser uma alternativa para melhorar o valor nutricional desse coproduto.

O aumento da disponibilidade de nutrientes do hidrolisado de penas pode permitir maiores inclusões deste ingrediente em formulações para diferentes espécies. A utilização de hidrolisados de penas na indústria de alimentos para animais de estimação representa um nicho interessante e em expansão a ser explorado. São escassos os trabalhos avaliando essa fonte proteica na formulação de dieta para cães, bem como efeitos na digestibilidade e energia metabolizável, palatabilidade e ainda possíveis alterações nas características fecais, avaliando produtos de fermentação intestinal como parâmetros de funcionalidade intestinal.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABÉ, P. T. Avaliação Energética e Nutritiva da Farinha de Pena e sua Utilização na Alimentação de Frangos de Corte e Poedeiras. Viçosa: UFV, 1981. 70 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa 1981.

ABPA. Brazilian Association of Animal Production. Relatório Anual. São Paulo: [ABPA], p.68, 2017. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/>>.

ALBINO, L. F. T; SILVA, M.A. Determinação dos valores de energia metabolizável aparente e verdadeira de alguns alimentos para aves, usando diferentes métodos. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Viçosa, v. 21, p. 47-58, 1992.

ADLER, S.A., SLIZYTE, R., HONKAPÄÄ, K., LØES, A.K., 2018. In vitro pepsin digestibility and amino acid composition in soluble and residual fractions of hydrolyzed chicken feathers. Poultry Sci. v.97, p.3343–3357.

BERTSCH, A.; COELLO N. 2005. A biotechnological process for treatment and recycling poultry feathers as a feed ingredient. Bioresource Technology, Oxford, v.96, p.1703-1708.

BOYE, J.; BETTONI, R. W.; BURLINGAME, B. Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. British Journal of Nutrition, v.108, p.183-211, 2012.

BRANDELLI, A., 2008. Bacterial keratinases: useful enzymes for bioprocessing agroindustrial wastes and beyond. Food Bioprocess Technol. v.1, p.105–116.

BRANDELLI, A., DAROIT, D.J., RIFFEL, A., 2010. Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. v.85, p.1735–1750.

BUTOLO, J. E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. 2. ed. Campinas, SP: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.273-278, 2010.

CHEN P.Y.; MCKITTRICK J; MEYERS M.A. Biological materials: functional adaptations and bioinspired designs. Prog Mater Sci., v.57(8), p.1492–704, 2012.

CALLEGARO, K., BRANDELLI, A., & DAROIT, D. J. (2019). Beyond plucking: Feathers bioprocessing into valuable protein hydrolysates. Waste Management, v.95, p.399–415.

CASE, L. P.; DARISTOTLE, L.; HAYEK, M. G. AND RAASCH, M. F. 2011. Carbohydrates. In: Canine and feline nutrition: A resource for companion. Animal Professionals. 3rd ed, p.13-79.

CHEONG, C.W., LEE, Y.S., AHMAD, S.A., OOI, P.T., PHANG, L.Y., 2018. Chicken feather valorization by thermal alkaline pretreatment followed by enzymatic hydrolysis for protein rich hydrolysate production. Waste Manage. v.79, p.658–666.

CONSIDINE, M. J. New enzyme technologies for poultry by-products. Australian Poultry Science Symposium, Sydney, v. 12, p.163-165, 2000.

DALEV P, IVANOV I, AND LIUBOMIROVA A (1997). Enzymatic modification of feather keratin hydrolysates with lysine aimed at increasing the biological value. Journal of the Science of Food and Agriculture, v.73, p.242–244.

DAROIT, D.J., BRANDELLI, A., 2014. A current assessment on the production of bacterial keratinases. Crit. Rev. Biotechnol. v.34, p.372–384.

FAKHFAKH, N., KTARI, N., HADDAR, A., MNIF, I.H., DAHMEN, I., NASRI, M., 2011. Total solubilisation of the chicken feathers by fermentation with a keratinolytic bacterium, *Bacillus pumilus* A1, and the production of protein hydrolysate with high antioxidative activity. Process Biochem. v.46, p.1731–1737.

FÉLIX, A.P.; CARVALHO, M.P.; ALARÇA, L.G.; BRITO, C.B.M. et al. Effects of the inclusion of carbohydrases and different soybean meals in diet on palatability, digestibility and faecal characteristics in dogs. Anim. Feed Sci. Technol., v.174, p.182-189, 2012.

FENNEMA, O.R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. Química dos alimentos de Fennema. 8ª ed., p.239-349, 2019.

FIALHO, E. T., ALBINO, L. F. T., THIRÉ, M. C., BENETI, A. Influência da pressão e tempo de cozimento das farinhas de penas sobre a digestibilidade de proteína e energia para suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, XX, Pelotas-RS, 1983. ANAIS. Pelotas: SBZ, 1983.

GUPTA, R., RAMNANI, P. Microbial keratinases and their prospective applications: an overview. Applied Microbiology and Biotechnology., v.70, p.21–33, 2006.

GRAZZIOTIN, A. et al. Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinases. *Animal Feed Science and Technology*, v.126, p.135-144, 2006.

HOU, Y., WU, Z., DAI, Z., WANG, G., WU, G. Protein hydrolysates in animal nutrition: industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, v.8, p.24, 2017.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2019. Estatística da produção pecuária. IBGE, Rio de Janeiro.

LANGE, L., HUANG, Y., BUSK, P.K. Microbial decomposition of keratin in nature – a new hypothesis of industrial relevance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.100, p.2083–2096, 2016.

LASEKAN, A., ABU BAKAR, F., HASHIM, D. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. *Waste Manage.*, v.33, p.552–565, 2013.

KIM, J. M.; LIM, W. J.; SUH, H. J. Feather degrading *Bacillus* species from poultry waste. *Process Biochemistry*, Oxon, v. 37, n. 3, p. 287-291, 2001.

KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA, T., BOHACZ, J. Biodegradation of keratin waste: theory and practical aspects. *Waste Manage.*, v.31, p.1689–1701, 2011.

LODISH H, BERK A, ZIPURSKY SL, MATSUDAIRA P, BALTIMORE D, DARNELL J. *Molecular cell biology*. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2000.

MACHADO, G. Farinha de penas hidrolisadas por micro-organismos como ingrediente alternativo em dietas para cães adultos. Tese (Doutorado). Porto Alegre, RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 139, 2018.

MACIEL J. L., WERLANG P. O., DAROIT D. J. BRANDELLI A. Characterization of Protein-Rich Hydrolysates Produced Through Microbial Conversion of Waste Feathers. *Waste Biomass Valor*, 2017.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. *Bioquímica Básica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 360 p. 1999.

MAZOTTO, A.M., ASCHERI, J.L.R., DE OLIVEIRA GODOY, R.L., TRICHES DAMASO, M.C., COURI, S., VERMELHO, A.B. Production of feather protein hydrolyzed by *B. subtilis* AMR and its

application in a blend with cornmeal by extrusion. *LWT – Food Sci. Technol.*, v.84, p.701–709, 2017.

MEYERS MA, CHEN PY, LIN YM, SEKI Y. Biological materials: structure and mechanical properties. *Prog Mater Sci.*, v.53, p.1-206, 2008.

MILLIGAN B, HOLT LA, CALDWELL JB. The enzymic hydrolysis of wool for amino acid analysis. *Appl Poly Symp.*, v.18, p.113–125, 1971.

MOKREJS, P., SVOBODA, P., HRNCIRIK, J., JANACOVA, D., & VASEK, V. Processing poultry feathers into keratin hydrolysate through alkaline-enzymatic hydrolysis. *Waste Management & Research*, v.29(3), p.260–267, 2010.

SÁ FORTES, C.M.L. Valor nutricional de ingredientes energéticos e proteicos para cães. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SAARELA, M., BERLIN, M., NYGREN, H., LAHTINEN, P., HONKAPÄÄ, K., LANTTO, R., MAUKONEN, J. Characterization of feather-degrading bacterial populations from birds' nests – potential strains for biomass production for animal feed. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, v.123, p.262–268, 2017.

SAMPSON, H. A. Adverse reactions to foods. In: MIDDLETON, E.; REED, C. E.; ELLIS, E. F. et al. (Ed.). *Allergy: Principles and Practice*. St Louis, MO: Mosby-Year Book Inc, p. 1661-1686, 1993.

SEIXAS, J.R.C.; ARAÚJO, W.A.; FELTRIN, C.A. et al. Fontes protéicas para alimentos pet. In: *SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO*. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, Campinas, p.97-116, 2003.

SCAPIM, M. R. S. Avaliação nutricional da farinha de penas e de sangue para frangos de corte submetida a diferentes tratamentos térmicos. *Acta Scientiarum Animal Science*, Maringá, v. 25, n. 1, p. 91-98, 2003.

SWANSON, K.S.; GRIESHOP, C.M.; FLICKINGER, E.A.; BAUER, L.L.; HEALY, H.P.; DAWSON, K.A.; MERCHEN, N.R.; FAHEY, G.C.JR. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrients

digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *Journal of Nutrition*, v.132, p.980-989, 2002

SINHORINI, M. R. Processo de Produção de Farinha de Penas Hidrolisadas: estudos de Otimização do Teor Protéico e do Valor de Digestibilidade da Proteína. 2013. 105 p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2013.

SINKIEWICZ, I., STAROSZCZYK, H., SLIWINSKA, A. Solubilization of keratins and functional properties of their isolates and hydrolysates. *J. Food Biochem.* v.42, 2018.

STIBOROVA, H., BRANSKA, B., VESELA, T., LOVECKA, P., STRANSKA, M., HAJŠLOVA, J., JIRU, M., PATAKOVA, P., DEMNEROVA, K. Transformation of raw feather waste into digestible peptides and amino acids. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, v.91, p.1629–1637, 2016.

TESFAYE, T.; SITHOLE, B.; RAMJUGERNATH, D.; CHUNILALL, V. Valorisation of chicken feathers: characterisation of physical properties and morphological structure. *Journal of Cleaner Production*, v. 149, p. 349-365, 2017.

TIWARY, E.; GUPTA, R. Rapid Conversion of Chicken Feather to Feather Meal Using Dimeric Keratinase from *Bacillus licheniformis* ER-15. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, v.02(04), 2012.

OLIVO, R.; RABELO, R. A.; DEMARTINI, A. C. O Mundo do Frango – Cadeia Produtiva da carne de frango. Criciúma-SC: Imprint. p.567-578, 2006.

ONIFADE, A. A. et al. 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, n.1, p.1-11, 1998.

PACHECO, G. F. E.; PEZZALI, J. G.; KESSLER, A. M.; TREVIZAN, L. Inclusion of exogenous enzymes to feathers during processing on the digestible energy content of feather meal for adult dogs. *R. Bras. Zootec.*, v.45(6), p.288-294, 2016.

WANG B, YANG W, MCKITTRICK J, MEYERS MA. Keratin: structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Prog Mater Sci.*, v.76, p.229–318, 2016.



ZHU, G. Y.; ZHU, X.; WAN, X. L.; FAN, Q.; MA, Y. H.; QIAN, J.; LIU, X. L.; SHEN, Y. J.; JIANG, J. H. Hydrolysis technology and kinetics of poultry waste to produce amino acids in subcritical water. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v.88, p.187-191, 2010.

## **CAPÍTULO II - DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DO HIDROLISADO ENZIMÁTICO DE PENAS EM CÃES**

### **RESUMO**

O hidrolisado enzimático de penas (HEP) é um coproduto que pode ser gerado em grande quantidade a partir do processo de beneficiamento de frangos para consumo humano. Esse ingrediente pode ser utilizado como fonte proteica na alimentação animal, pois possui elevado teor de proteína de até 90%. Objetivou-se determinar, por meio do método de regressão, os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e a energia metabolizável (EM) do HEP em cães. Além disso, avaliou-se as características fecais e a preferência alimentar de cães alimentados com dietas contendo HEP. Foram avaliadas quatro dietas contendo 0%, 4%, 8% e 12% de HEP, em substituição à fórmula da dieta controle. Para digestibilidade e características fecais, foram utilizados 12 cães adultos da raça Beagle, distribuídos em blocos (períodos) ao acaso. Os cães foram alimentados durante 10 dias com as dietas experimentais, durante dois períodos, totalizando seis repetições. As características fecais avaliadas foram o teor de matéria seca fecal, produção de fezes, escore de consistência e odor fecal, pH, concentração de amônia, ácidos graxos de cadeia curta, ácidos graxos de cadeia ramificada, ácido siálico, fenol e indol. No teste de palatabilidade foram utilizados 16 cães, sendo comparadas as dietas: 0% vs. 12% HEP. O teste foi realizado por um período de dois dias, totalizando 32 repetições. A análise de regressão permitiu estimar os CDA do HEP, que apresentou CDA para proteína bruta (PB) e energia bruta (EB) de 86,2% e 87,33%, respectivamente. A EM do HEP foi estimada em 5189,65 kcal/kg de matéria seca. A inclusão de HEP não alterou os CDA e a EM das dietas, assim como as características fecais dos animais. Desta forma, conclui-se que a inclusão de HEP possui um potencial uso na alimentação de cães.

Palavras-chave: Características fecais. Coproduto. Processamento.

## DIGESTIBILITY AND PALATABILITY OF ENZYMATIC HYDROLYZATE FEATHERS IN DOGS

### ABSTRACT

Enzymatic hydrolyzate feathers (EHF) is a co-product that can be generated in large quantities from the process of processing chickens for human consumption. This ingredient can be used as protein source in animal feed, because it has a high protein content of up to 90%. The objective of this study was to determine the apparent digestibility coefficients (ADC) of the nutrients and the metabolizable energy (ME) of EHF in dogs using the regression method. In addition, fecal characteristics and feeding preference of dogs fed diets containing EHF were evaluated. Four diets containing 0%, 4%, 8% and 12% of EHF, were substituted for the control diet formula. For digestibility and fecal characteristics, 12 beagle adult dogs were randomly distributed in blocks (periods). The dogs were fed for 10 days with the experimental diets, during two periods, totaling six replicates. The fecal characteristics evaluated were the fecal dry matter content, feces production, fecal consistency and odor score, pH, ammonia concentration, short-chain fatty acids, branched-chain fatty acids, sialic acid, phenol and indole. In the palatability test, 16 dogs were used, and the diets were compared: 0% vs. 12% EHF. The test was performed for a period of two days, totaling 32 replications. The regression analysis allowed to estimate the ADC of the EHF, which presented ADC for crude protein (CP) and crude energy (CE) of 86.2% and 87.33%, respectively. The ME of the EHF was estimated at 5189.65 kcal / kg of dry matter. The inclusion of EHF did not alter the ADC and EM of the diets, as well as fecal characteristics of the animals. Thus, it is concluded that the inclusion of EHF has a potential use in dog feeding.

Key words: Fecal characteristics. Co-product. Processing.

## 1. Introdução

As penas correspondem de 5 a 7% do peso vivo de frangos adultos e são geradas em grandes quantidades como resíduos pelas indústrias de processamento de aves. A pena é composta por mais de 90% de proteína, sendo o principal componente a queratina, uma proteína fibrosa e insolúvel altamente estabilizada por ligações dissulfureto, ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre suas cadeias (BRANDELLI et al., 2010). Além disso, a queratina em seu estado natural não é degradável por enzimas endógenas do sistema digestório de animais não ruminantes, como tripsina e pepsina (KIM et al., 2001).

Considerando seu alto teor proteico, esse coproduto pode ter um grande potencial como fonte de proteína e aminoácidos para a alimentação animal. Para sua utilização na nutrição animal as penas são convertidas em hidrolisado de penas, produzidas através da cocção sob alta temperatura e pressão, o que exige alto consumo de energia. Além disso, o superaquecimento pode reduzir a solubilidade proteica, impactando negativamente a sua digestibilidade. Diante dessa limitação outras formas de processamento foram desenvolvidos a fim de melhorar a qualidade do hidrolisado de penas. O emprego de enzimas exógenas no processamento é uma das alternativas para amenizar os efeitos do aquecimento excessivo e possui vantagens como a preservação de aminoácidos e a possibilidade de controlar o grau de hidrólise ao longo do processo (CALLEGARO et al., 2019). Processos combinados também tem sido explorados a fim de melhorar a qualidade nutricional do hidrolisado de penas (PACHECO et al., 2016).

O conhecimento da digestibilidade dos nutrientes presentes no ingrediente permite a sua melhor utilização na formulação de alimentos comerciais, permitindo maiores inclusões nas formulações ou ainda complementar ou substituir outras fontes convencionais. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito da adição de níveis crescentes de hidrolisado enzimático de penas, processada com protease, em dietas extrusadas para cães, sobre a digestibilidade dos nutrientes, energia metabolizável, características fecais e a palatabilidade em cães.

## 2. Material e Métodos

Os experimentos foram aprovados pela comissão de ética no uso de animais do setor de Ciências agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, Brasil - protocolo 074/2018.

### 2.1 Experimento I: Ensaio de digestibilidade e características fecais

#### 2.1.1 Dietas

Foram avaliadas quatro dietas contendo crescentes níveis de hidrolisado enzimático de penas: 0%, 4%, 8% e 12%, em substituição à fórmula da dieta basal.

Após a extrusão, as dietas foram secas em secador de triplo deck (100 - 110°C), e recobertas com óleo de vísceras de aves e palatabilizante líquido. As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações nutricionais da FEDIAF (2016). A composição química do hidrolisado enzimático de penas utilizado pode ser observada na Tabela 1. Os ingredientes e a composição química analisada das dietas constam na Tabelas 2.

Tabela 1. Composição química do hidrolisado enzimático de penas.

Componentes (% na MS)	Hidrolisado enzimático de penas
Umidade	3,08
Matéria Mineral	9,62
Proteína Bruta	78,17
Grau de hidrólise (método OPA)	15,28
Digestibilidade proteica 0,0002%	91,94

MS: matéria seca.

Tabela 2. Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

Ingredientes	Hidrolisado enzimático de pena (%)			
	0	4	8	12
Milho	65,900	63,264	60,628	57,992
Farinha de vísceras de aves	20,000	19,200	18,400	17,600
Hidrolisado enzimático de penas	0,000	4,000	8,000	12,000
Gordura de aves	6,000	5,760	5,520	5,280
Palatabilizante	2,000	1,920	1,840	1,760

Polpa de beterraba	3,000	2,880	2,760	2,640
Carbonato de cálcio	1,000	0,960	0,920	0,880
Antioxidante	0,200	0,192	0,184	0,176
Premix mineral e vitamínico	0,500	0,480	0,460	0,440
Cloreto de potássio	0,500	0,480	0,460	0,440
Sal branco comum	0,400	0,384	0,368	0,352
Propionato de cálcio	0,200	0,192	0,184	0,176
Cloreto de colina	0,260	0,250	0,239	0,229
DL-metionina	0,040	0,038	0,037	0,035

---

Composição química (% na MS)

---

Hidrolisado enzimático de pena (%)

---

Item	0	4	8	12
Matéria seca	92,84	91,94	89,88	92,52
Matéria orgânica	95,76	95,64	95,44	95,16
Matéria mineral	4,24	4,36	4,57	4,84
Proteína bruta	22,48	24,99	26,76	29,62
Fibra bruta	1,66	2,18	2,01	1,75
Extrato etéreo hidrólise ácida	13,00	13,97	13,91	14,45
Cálcio	0,87	0,8	0,81	0,87
Fósforo	0,86	0,85	0,83	0,91
Energia Bruta (Kcal/kg)	4160	4123,6	3969,27	4253,11

MS: matéria seca.

O teor dos aminoácidos do HEP está apresentado na tabela 3, segundo dados disponibilizados pelo fabricante do produto.

Tabela 3. Perfil de aminoácidos do hidrolisado enzimático de penas.

Níveis de aminoácidos (%)	
Ácido Aspartico	6,03
Ácido Glutâmico	9,36
Serina	6,98
Glicina	6,63

Histidina	1,10
Taurina	0,31
Arginina	5,11
Treonina	3,66
Alanina	4,20
Prolina	6,36
Tirosina	2,48
Valina	6,14
Metionina	1,08
Cistina	0,96
Isoleucina	3,84
Leucina	6,05
Fenilalanina	3,48
Lisina	3,19
Triptofano	0,22

---

### **2.1.2 Animais e instalações**

Foram utilizados 12 cães da raça Beagle (seis machos e seis fêmeas), com peso de  $12,80 \pm 1,6$  kg e  $4,5 \pm 0,1$  anos de idade. Os animais foram alojados individualmente em baias de alvenaria com solário (2 x 5 metros). Os cães foram vacinados, desverminados e previamente submetidos à exames clínicos que atestaram seu estado de higidez.

### **2.1.3 Ensaio de digestibilidade**

O ensaio de digestibilidade foi realizado pelo método de coleta total de fezes, cada período contou com cinco dias de adaptação e cinco dias de coleta total das fezes, de acordo com as recomendações da Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2010). Os cães foram alimentados duas vezes ao dia (8:30 e 16:00 horas), em quantidade suficiente para atender as necessidades de EM de cães adultos, de acordo com a equação do NRC (2006):  $MJ/dia = 0.54 \times PC^{0.75}$ , sendo PC: peso vivo. A água foi fornecida à vontade.

As fezes foram coletadas pelo menos duas vezes ao dia, pesadas, identificadas por período/animal e armazenadas em freezer (-14°C). Ao final de cada período, as fezes foram

descongeladas, homogeneizadas e secas em estufa de ventilação forçada à 55°C (320-SE, Fanem, São Paulo, Brazil) durante 48 horas até peso constante. Após secas, fezes e dietas foram moídas com peneiras de crivos de 1mm em moinhos de martelo Willey (Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA). Assim como as dietas as fezes foram analisadas para determinação dos teores de MS à 105°C, PB (método 954.01), fibra bruta (FB, método 962.10), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA, método 954.02) e matéria mineral (MM, método 942.05), segundo a Association of the Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). A energia bruta (EB) foi determinada em bomba calorimétrica (Parr Instrument Co. model 1261, Moline, IL, USA).

#### **2.1.4 Características fecais**

As características fecais foram avaliadas no final do estudo por meio da análise do teor de matéria seca (MSf), produção de fezes (g fezes/ g MS ingerida/5 dias), escore de consistência e odor fecal, pH, concentração de amônia, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), ácidos graxos de cadeia ramificada (AGCR) e ácido siálico. O pH fecal e a concentração de amônia foram realizadas em fezes coletadas no máximo 15 minutos após a defecação. O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias e mal formadas; 3 = fezes macias, formadas e úmidas; 4 = fezes bem formadas e consistentes; 5 = fezes bem formadas, duras e secas, de acordo com Carciofi et al. (2009).

O pH fecal foi mensurado por meio de um pHmêtro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste Ltda, São Paulo, SP, Brazil), utilizando 2,0 g de fezes frescas (coletadas no máximo 15 minutos após a defecação) e diluídas com 20 mL de água destilada. O teor de amônia nas fezes foi realizado de acordo com Brito et al. (2010), e calculada como:  $\text{amoníaco-N (g / kg)} = \text{N} \times \text{fator de correção} \times 17 \times (\text{volume de ácido} - \text{em branco}) / \text{peso da amostra (g)}$ . Concentração de amônia fecal foi corrigida para MS fecal.

A avaliação do odor fecal foi realizado no último dia de coleta. As fezes foram coletadas, homogeneizadas e colocadas em quantidades iguais (50 g) em potes do mesmo tamanho e volume. Estes potes foram cobertos com filme plástico contendo o mesmo número e tamanho de furos. A análise sensorial foi realizada nas fezes frescas (até 30 minutos após defecação) por 14 avaliadores.



Os potes foram classificados como: Padrão (0% HEP, dieta controle), A (dieta 4% HEP) e B (dieta 12% HEP), de modo que os participantes não soubessem sobre os tratamentos. A avaliação foi realizada comparando a amostra da dieta controle em relação as dietas A e B (4% HEP e 12% HEP, respectivamente), no qual foram atribuídos valores em relação ao odor: 1 – melhor que padrão, 2 – igual a padrão e 3 – pior que a padrão.

Para determinação de AGCC e AGCR, foram coletadas fezes frescas (até 15 minutos após a defecação). Em um recipiente plástico devidamente etiquetado com tampa, 10 g de amostra fecal foram pesados e misturados com 30 ml de ácido fórmico a 16%. Esta mistura foi homogeneizada e armazenada a 4 ° C durante um período de 3 a 5 dias. Antes da análise, essas soluções foram centrifugadas a 5000 rpm (2K15, Sigma, Osterodeam Hans, Alemanha) durante 15 minutos. Cada amostra foi submetida a três centrifugações e ao final da última, parte do sobrenadante foi transferido para eppendorffs devidamente identificado para posterior congelamento. Posteriormente, as amostras foram descongelados e novamente centrifugados a 14.000 rpm durante 15 minutos (Rotanta 460 Robotic, Hettich, Tuttlingen, Alemanha). AGCC fecal e AGCR foram analisados por cromatografia gasosa (SHIMADZU, modelo GC-2014, Kyoto, Japão) usando uma coluna de vidro (Agilent Tecnologias, HP INNO cera-19091N, Santa Clara, EUA) de 30 m de comprimento e 0,32 mm de largura. O nitrogênio foi utilizado como gás carreador a uma vazão de 3,18 mL / min. Temperaturas de trabalho foram 200 ° C na injeção, 240 ° C na coluna (a uma taxa de 20 ° C / min), e 250 ° C no detector de ionização de chama.

Os fenóis e os indóis foram analisados por cromatografia, GCMS2010 Plus (Shimadzu®), acoplado a um espectrômetro de massa TQ8040 com um amostrador automático AC 5000 e um injetor sem divisão. As separações cromatográficas foram obtidas na coluna SH-Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm - Shimadzu®) com uma vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup> e hélio como gás de arraste na taxa 5,0. As temperaturas da linha de transferência e da fonte de ionização foram mantidas em 40 ° C e 220 ° C, respectivamente, o volume de injeção de 1 L no modo dividido (taxa de 1:10). A temperatura do forno de GC foi mantida a 220 ° C (5 min), com aumento de 40 ° C min<sup>-1</sup> para 280 ° C (5 min). O tempo total de análise foi de 31 minutos e o espectrômetro de massa operou nos modos de varredura completa (m / z = 40 a 400) e monitoramento seletivo de íons (SIM), ionização eletrônica a 70 eV. GCMSsolution® foi o software utilizado na análise dos dados.

Para análise do ácido siálico, as fezes foram liofilizadas (Alpha 1-4 LO plus, Christ, Osterodeam Hans, Alemanha) e analisadas de acordo com o método descrito por Jourdian et al. (1971).

### 2.1.5 Cálculos e análises estatísticas

Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da MS, PB, EEA, EB e EM das dietas experimentais:

$$\text{CDA\%} = ((\text{g nutriente ingerido} - \text{g nutriente excretado}) / \text{g nutriente ingerido}) \times 100$$

$$\text{A EM foi estimada de acordo com a AAFCO (2004): EM (MJ/dia) = 0.54 \times \text{PV}^{0.75}$$

$$\text{EM (MJ/g)} = \{ \text{kJ/g EB ingerida} - \text{kJ/g EB das fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB das fezes}) \times 1.25 \text{kJ/g}] \} / \text{g ração ingerida.}$$

Para determinação da digestibilidade isolada dos nutrientes do HEP foi utilizada a seguinte equação, propostas por Fan e Sauer (1995):

$$\text{CDATi (\%)} = \text{CDAT} + (\text{CDAB} - \text{CDAT}) \times \text{CONTB}$$

Na qual:

CDATi = CDA (%) do nutriente na dieta teste i;

CDAB = CDA (%) do nutriente na dieta basal;

CDAT = CDA (%) do nutriente no ingrediente teste;

CONTB = contribuição (% 100) do nutriente da dieta basal na dieta teste.

O experimento seguiu delineamento em blocos casualizados, sendo o período o fator de blocagem. O experimento foi composto por quatro tratamentos repetidos em dois períodos com 12 cães em cada período (sendo três cães por tratamento), totalizando seis repetições por tratamento. Foi realizada análise de regressão, em função dos níveis de inclusão do hidrolisado enzimático de penas e os CDA e EM.

Os dados foram previamente analisados quanto à normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Os dados com distribuição normal foram submetidos à análise de regressão. Os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, à 5% de significância. A

frequência das pontuações para o odor fecal foi analisada pelo teste Qui-quadrado, à 5% de significância.

## **2.2 Experimento II: Palatabilidade**

### **2.2.1 Animais e instalações**

Foram utilizados 16 cães da raça Beagle (oito machos e oito fêmeas), com peso de 12,80 ± 1,6 kg e idade de 4,5 ± 0,1 anos. Os cães foram alojados em baias de alvenaria com solário de 2 x 5 metros de comprimento.

### **2.2.2 Dietas**

As dietas avaliadas foram: dieta sem inclusão de hidrolisado enzimático de penas (0% HEP) e a dieta com 12% de hidrolisado enzimático de penas (12% HEP).

### **2.2.3 Ensaio de palatabilidade**

A cada alimentação, os animais receberam as necessidades energéticas diárias mais 30%, com base na fórmula para cães adultos em manutenção do NRC (2006), assegurando assim a presença de sobras. A palatabilidade foi determinada por meio da mensuração da razão de ingestão e primeira escolha entre as rações ofertadas aos cães. As quantidades fornecidas e as sobras foram quantificadas para se calcular a razão de ingestão e a primeira escolha definida pelo registro do primeiro pote que o animal se aproximou durante a oferta simultânea dos alimentos. A posição dos potes foi alternada no segundo dia de teste para se evitar preferências por posição de alimentação.

A palatabilidade foi mensurada comparando-se as dietas em pares (Griffin, 2003). Foi realizada a comparação entre 0% HEP vs. 12% HEP. O teste de palatabilidade foi realizado por dois dias consecutivos, nos quais foram fornecidos aos cães, uma vez ao dia, dois potes contendo as duas diferentes dietas a serem comparadas, durante um período de 30 minutos.

### **2.2.4 Cálculo e análise estatística**

O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado. A razão de ingestão foi calculada com base no consumo (fornecido – sobras) relativo das dietas (A e B), sendo:

$$\text{Razão de ingestão (\%)} = \left[ \frac{\text{g ingeridas da dieta A ou B}}{\text{g total consumido (A + B)}} \right] \times 100$$

Previamente, os dados foram submetidos à análise de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade, e se atendido a essas premissas, os dados de razão de ingestão foram analisados pelo teste t-Student e a primeira escolha pelo teste Qui-quadrado, ambos a 5% de probabilidade.

### 3. Resultados

#### 3.1 Experimento I: Ensaio de digestibilidade e características fecais

Os cães consumiram as dietas sem recusa alimentar e não foram observadas sobras nos comedouros durante todo o período experimental. Não foram observados episódios de vômito ou diarreia.

Não houve diferença entre os CDA das dietas ( $P > 0,05$ , Tabela 4). Para as características fecais, não houve alteração nos parâmetros avaliados ( $P > 0,05$ ). Entretanto, houve efeito quadrático para a EM com a inclusão do HEP ( $P < 0,05$ , Tabela 4).

Tabela 4. Média dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %), energia metabolizável (EM, kcal/kg) e características fecais de cães alimentados com dietas contendo hidrolisado enzimático de penas.

Item	Hidrolisado enzimático de penas (%)				EPM	P	
	0	4	8	12		L	Q
CDA (%)							
Matéria seca	84,76	85,16	84,78	86,16	0,330	0,935	0,980
Matéria orgânica	86,83	87,20	86,87	87,87	0,281	0,525	0,989
Proteína bruta	85,33	85,25	84,52	85,91	0,380	0,339	0,949
Extrato etéreo	88,85	89,89	88,6	90,61	0,381	0,939	0,928
Energia bruta	87,06	87,39	86,65	88,13	0,217	0,956	0,213
EM (kcal/kg)	3877,03	3893,04	3798,04	4019,52	19,704	0,002	<0,001
Características fecais							

Matéria seca (%)	36,96	37,96	34,06	33,65	0,370	0,731	0,863
Produção fecal	0,41	0,40	0,45	0,40	0,001	1,000	0,607
pH	6,76	6,32	6,10	6,55	0,081	0,882	0,065
Nitrogênio amoniacal (%)	0,091	0,109	0,115	0,127	0,001	0,069	0,980
Ácido Siálico ( $\mu\text{mol/g}$ )	2,777	3,417	3,058	3,131	0,116	0,761	0,521
Escore	4,00	4,00	4,00	4,00	-	-	-

EPM: Erro padrão da média; P: probabilidade; L: linear; Q: quadrático; Escore fecal (1 = fezes sem forma a 5, fezes bem formadas). Produção fecal = g de fezes produzidas na matéria natural/g matéria seca consumida/dia. Medianas do escore fecal pelo teste de Kruskal-Wallis (P=0,241).

Os níveis crescentes de inclusão de HEP não afetou a produção de ácidos graxos de cadeia curta e cadeia ramificada, assim como a área média da produção de fenol e indol (P>0,05, Tabela 5 e 6).

Tabela 5. Média ( $\mu\text{mol/g}$ ) dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR) das fezes de cães alimentados com dietas contendo níveis crescentes de hidrolisado enzimático (HEP).

Item	HEP (%)				EPM	Probabilidade	
	0%	4%	8%	12%		L	Q
AGCC ( $\mu\text{mol/g}$ )							
Acético	28,039	26,726	25,959	25,936	0,695	0,87	0,979
Propiônico	15,459	19,080	16,480	14,940	0,630	0,223	0,493
Butírico	6,252	4,943	5,002	5,022	0,244	0,395	0,587
Total de AGCC	49,750	50,748	47,440	45,898	1,286	0,924	0,973
AGCR ( $\mu\text{mol/g}$ )							
Isobutírico	0,791	0,597	0,768	0,866	0,033	0,998	0,136
Isovalérico	1,090	0,873	1,089	1,334	0,075	0,889	0,493
Valérico	0,178	0,178	0,239	0,397	0,044	0,405	0,784
Total de AGCR	3,148	2,521	3,185	3,932	0,214	0,831	0,430

EPM: Erro padrão da média; P: probabilidade; L: linear; Q: quadrático.

Tabela 6. Porcentagem média de área de pico de compostos orgânicos voláteis mais abundantes presentes nas fezes de cães.

Item	Hidrolisado enzimático de penas (%)				EPM	P	
	0	4	8	12		L	Q
Fenol	2,077	2,437	2,553	2,835	0,212	0,297	0,916
Indol	3,277	3,342	3,610	4,038	0,199	0,291	0,665

EPM: Erro padrão da média; P: probabilidade; L: linear; Q: quadrático.

Na análise sensorial de odor não foi observada diferença entre as dietas controle, 4% e 12% de hidrolisado enzimático de penas ( $P > 0,05$ , Tabela 7).

Tabela 7. Medianas e distância interquartil do odor fecal de cães alimentados com dieta controle (0% hidrolisado enzimático de penas), 4% e 12% de hidrolisado enzimático de penas (HEP).

	4% HEP	Controle	12% HEP	P
Odor	2,0 (2/2)	2,0 (2/2)	3,0 (3/3)	0,1311

P: probabilidade.

Os CDA do nutrientes e EM do hidrolisado enzimático de penas estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM, kcal/kg) do hidrolisado enzimático de penas.

Item	CDA
Matéria Seca (%)	89,8
Matéria Orgânica (%)	95,6
Proteína Bruta (%)	86,2
Extrato Etéreo Ácido (%)	90,4
Energia Metabolizável (kcal/kg)	5189,6

### 3.2 Experimento II: Palatabilidade

Não houve diferença na razão de ingestão e para a primeira escolha pelos cães entre as dietas controle (0% HEP) e 12% HEP ( $P > 0,05$ , Tabela 9).

Tabela 9. Primeira escolha da dieta A (n) e razão de ingestão (RI +/- erro padrão) das dietas controle (CO) e 12% de hidrolisado enzimático de penas (HEP).

Dieta A x B	n <sup>a</sup>	RI da dieta A <sup>b</sup>	P <sub>RI</sub>
CO x 12%HEP	16	0,53 ± 0,32	0,366

Primeira escolha analisada pelo teste de qui-quadrado e RI pelo teste t-Student; <sup>a</sup>Número de visitas ao pote com a dieta B é obtida como 32-n; <sup>b</sup>RI: [g da dieta A ou B/g total consumido (A+B)] x 100.

## 4. Discussão

### 4.1 Experimento I: Ensaio de digestibilidade e características fecais

O fato da inclusão do HEP não ter afetado o CDA e a EM das dietas permite inferir que a sua adição não alterou o aproveitamento dos nutrientes da dieta padrão utilizada, independente dos níveis de substituição. Resultados distintos foram encontrados por Pacheco et al. (2016), no qual observaram que ao aumentar a inclusão de hidrolisado de penas de 7,5% para 15% reduziu o CDA da PB, EB, assim como, a EM das dietas.

O método descrito por Fan & Sauer (1995) permitiu isolar o CDA dos nutrientes e EM do HEP. A EM apresentou efeito quadrático com a inclusão do HEP e o valor mais alto (4019,5 kcal/kg) foi encontrado com a inclusão de 12% de HEP. Esse resultado indica que a adição de enzimas durante o processamento do ingrediente avaliado teve efeito positivo em sua qualidade, uma vez que a queratina, principal proteína estrutural da pena, em seu estado natural possui alta resistência às enzimas endógenas de animais não ruminantes, tais como tripsina e pepsina (KIM et al., 2001). A queratina é estabilizada fortemente por ligações de pontes de dissulfeto, pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas entre suas cadeias (BRANDELLI et al., 2010), o que lhe confere alta rigidez e estabilidade. A energia disponibilizada pelo HEP é proveniente da fração proteica do ingrediente, isso se deve a sua composição ser principalmente proteína, possuindo um teor de 78,18% de PB na MS. Em estudos com cães avaliando hidrolisados de pena tratados com complexo enzimático

(protease e lipase) e de maneira convencional, Pacheco et al. (2016) observaram que a utilização de enzimas disponibilizou cerca de 600 kcal/kg em relação ao hidrolisado processado de maneira convencional e esse aumento é um indicativo da atividade enzimática.

Em estudo avaliando diferentes fontes proteicas para cães, Cavalari et al. (2006) encontraram para a farinha de penas, hidrolisadas de modo convencional, valores de CDA de 76% de MS, 82,3%, de PB e 4219 kcal/kg de EM. Esses valores são inferiores aos encontrados para o HEP (89,8% MS, 86,2% PB e 5189,6 kcal/kg). Contudo, ao comparar esses valores de CDA com o da farinha de vísceras de frango (88,1% MS, 88,9% PB e 4379 kcal/kg), reportado por Cavalari et al. (2006), observa-se que o HEP se assemelha com esse ingrediente. A farinha de vísceras possui ampla utilização na formulação de dietas para cães (CARCIOFI et al., 2006) e o HEP, devido à alta sua digestibilidade, possui potencial para ser utilizado como fonte proteica na alimentação de cães. A composição nutricional e a biodisponibilidade de nutrientes do hidrolisado de penas possui relação direta com o tipo de processamento (CALLEGARO et al., 2019).

O aumento na inclusão de HEP nas dietas não aumentou a produção fecal. Resultados semelhantes foram encontrados por Machado (2018), no qual testou dietas contendo hidrolisado de penas processadas com queratinases e de maneira convencional, sob alta temperatura e pressão, e encontrou que a inclusão de 10% do ingrediente não alterou a produção fecal de cães.

Outras características fecais, como a MS das fezes e o escore fecal, não foram afetados pelos níveis de inclusão do HEP. O escore fecal possui grande interesse comercial e as diferenças devem ser levadas em consideração. O escore se manteve no intervalo entre 3,5 e 4,5, sendo estes valores considerados como ideais para cães (CASE et al., 2011). Estes resultados estão de acordo com os valores de umidade e escore fecal encontrados por Pacheco et al. (2016), no qual avaliaram dietas para cães com inclusão de 7,5 e 15% de hidrolisado de penas processadas com complexo enzimático. Além disso, a inclusão de até 12% de HEP em dietas para cães não prejudicou as características fecais analisadas.

Alimentos contendo alto teor proteico podem levar à fermentação de aminoácidos não digestíveis no cólon por microrganismos proteolíticos. Essa fermentação gera compostos putrefativos, como a amônia, aminas biogênicas, ácidos graxos de cadeia ramificada, fenóis e



indóis (SOUZA et al., 2018). Entretanto, no presente estudo não foram observadas diferenças na produção desses compostos e isso pode ser associado à alta digestibilidade do HEP, uma vez que fontes proteicas de elevada digestibilidade podem reduzir a fermentação de compostos nitrogenados no cólon (SOUZA et al., 2018). Além disso, as baixas concentrações de compostos provenientes da fermentação proteolítica no intestino indicam que o HEP não favorece a sobrevivência de populações de bactérias intestinais com potencial patogênico.

Os fenóis e indóis são produzidos a partir da fermentação de aminoácidos, tirosina e triptofano, respectivamente (Garner et al., 2007) e podem ser encontrados em fezes frescas (LE et al., 2005). A inclusão de HEP não aumentou a quantidade desses compostos nas fezes dos cães. Resultados semelhantes foram reportados por Van Heugten e Van Kempen (2002), onde a inclusão de 4% e 8% de hidrolisado de penas em dietas para suínos resultaram na baixa concentração de fenóis e indóis nas fezes frescas dos animais.

O odor fecal é proveniente de substâncias geradas por bactérias endógenas e de substratos não digeridos da degradação de proteínas. Uma proteína de baixa qualidade e digestibilidade pode estar associada a pior odor fecal, pois sua fermentação resultará na formação de compostos putrefativos e estes ainda podem também afetar a funcionalidade intestinal (CELI et al., 2019). Quanto maior a quantidade de proteína indigestível que chega ao intestino grosso, maior é sua disponibilidade para a microbiota (HESTA et al., 2003), o que pode resultar por consequência no aumento da concentração de nitrogênio amoniacal nas fezes. Contudo, nesse estudo não foi observada diferença na concentração de nitrogênio amoniacal e para a análise sensorial os tratamentos não diferiram entre si.

Os AGCC são produzidos principalmente por *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp., como resultado da fermentação de carboidratos e são rapidamente absorvidos pelos colonócitos, sendo os principais ânions responsáveis pela reabsorção de água no intestino por osmose (GUARNER e MALAGELADA, 2003). A concentração de AGCC nas fezes não foi alterada com os diferentes níveis de inclusão de HEP. Isso pode ser devido à rápida taxa de absorção dos AGCC pela mucosa intestinal (SWANSON et al., 2002).

A ausência de alteração na concentração de ácido siálico fecal é indicativa de que o HEP não apresenta efeito irritante sobre a mucosa intestinal. A concentração de ácido siálico no intestino tende a aumentar quando há infecções bacterianas ou fragilidade osmótica

(PIRGOZLIEV et al., 2007). Desse modo, é possível inferir que a inclusão de HEP não alterou a produção de mucina no intestino dos cães.

#### **4.2 Experimento II: Ensaio de palatabilidade**

Peptídeos e aminoácidos são reconhecidos como importantes precursores de palatilizante para cães (VAN BOEKEL, 2006) e esses compostos estão presentes em farinhas de origem animal. Ao testar a dieta controle, sem inclusão de HEP, com dieta contendo 12% de HEP não foi observada diferença para a razão de ingestão e primeira escolha feita pelos cães. Em estudo, Rebafka e Kulshrestha (2009) observaram que a inclusão de 14% de hidrolisado de penas foi bem aceita por cães. Resultado similar foi observado por Kienzle et al. (1991), onde uma mistura de carne fresca com hidrolisado de penas (adição de 30% na matéria seca) foi consumida imediatamente por gatos. A percepção da palatabilidade de um alimento é complexa e é influenciada por diversos fatores, como a interação entre os ingredientes da dieta, tipo de palatilizante utilizado ou a textura do alimento (ZANATTA et al., 2016).

#### **5. Conclusões**

A inclusão de até 12% de HEP não altera a digestibilidade aparente dos nutrientes da dieta e nem as características fecais dos animais. O HEP apresenta elevada digestibilidade da proteína, podendo ser utilizado em dietas para cães.

## 6. Referências Bibliográficas

AAFCO, Dog and Cat Nutrient Profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated (AAFCO), Oxford, IN, USA, 2010.

AOAC, Association of the Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1995.

BRANDELLI, A., DAROIT, D.J., RIFFEL, A. Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.85, p.1735–1750, 2010.

BRITO, C.B.M, FÉLIX, A.P., JESUS, R.M., FRANÇA, M.I, OLIVEIRA, S.G., KRABBE, E.L., MAIORKA, A. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. *Animal Feed Science Technology*, v.159, p.150-155, 2010.

CALLEGARO, K., BRANDELLI, A., & DAROIT, D. J. Beyond plucking: Feathers bioprocessing into valuable protein hydrolysates. *Waste Management*, v.95, p.399–415, 2019.

CARCIOFI, A.C., PONTIERI, R., FERREIRA, C.F. et al. Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p.754-760, 2006.

CARCIOFI, A.C., OLIVEIRA, L., VALÉRIO, A., BORGES, L.L., CARVALHO, F., BRUNETTO, M.A., VASCONCELLOS, R.S. Comparison of micronized whole soya to common protein sources in dry dog and cat diets. *Animal Feed Science Technology*, v.151, p.251-260, 2009.

CELI P.; VERLHAC V.; CALVO E.P.; SCHMEISSER J.; KLUENTER A.M. Biomarkers of gastrointestinal functionality in animal nutrition and health. *Anim Feed Sci Technol*, v.250, p.9–31, 2019.

CONSIDINE, M. J. New enzyme technologies for poultry by-products. *Proceedings Australian Poultry Science Symposium*, v.12, 2000.

FAN, M. Z., SAUER, W. C. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in barley and canola meal for pigs with the direct, difference, and regression methods. *Journal of Animal Science*, v.73 (8), p.2364–2374, 1995.

FEDIAF. The European pet food industry. Dog and cat nutritional guideline. 2016.

GARNER C.E.; SMITH S.; LACY C.B.; WHITE P.; SPENCER R.; PROBERT C.S.; RATCLIFFE N.M. Volatile organic compounds from faeces and their potential for diagnosis of gastrointestinal disease. *The FASEB J*, v.21, p.1675–88, 2007.

GRAZZIOTIN, A., F.A. PIMENTEL, E.V. DE JONG, A. BRANDELLI. Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinase. *Animal Feed Science Technology*, v.126, p.135–144, 2006.

GUARNER F.; MALAGELADA, J.R. Flora intestinal na saúde e na doença. *The Lancet*, v.361, p.512–19, 2003.

GRIFFIN, R.W. Palatability testing: parameters and analysis that influence test conclusions. In: Kvamme, J.L., Phillips, T.D. (Eds.), *Petfood Technology*. Watt Publishing, Mt. Morris, p.187-193, 2003.

HESTA, M., G. P. J. JANSSENS, S. MILLET, R. DE WILDE. Fecal odor components in dogs: nondigestible oligosaccharides and resistant starch do not decrease fecal emission. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, Washington, v1, 2003.

KIENZLE, E.; MEYER, H.; SCHNEIDER, R. Investigations on palatability, digestibility and tolerance of low digestible food components in cats. *Journal of Nutrition*, v.121, p.56-57, 1991.

KIM, J. M., W. J. LIM, SUH, H. J. Feather-degrading *Bacillus* species from poultry waste. *Process Biochemistry*, v.37, p.287-291, 2001.

LE, P.D.; AARNINK, A.J.A.; OGINK, N.W.M.; BECKER, P.M.; VERSTEGEN, M.W.A. Odour from animal production facilities: its relationship to diet. *Nutrition Research Reviews*, v.18(01), p.3, 2005.

MACHADO, G. Farinha de penas hidrolisadas por micro-organismos como ingrediente alternativo em dietas para cães adultos. Tese (Doutorado). Porto Alegre, RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 139, 2018.

PACHECO G. F. E., J. G. PEZZALI, A. M. KESSLER, L. TREVIZAN. Inclusion of exogenous enzymes to feathers during processing on the digestible energy content of feather meal for adult dogs. *Revista Brasileira Zootecnia*, v.45(6), p.288-294, 2016.

PARSONS, C.M.; CASTANON, F.; HAN, Y. Protein and amino acid quality of meat and bone meal. *Poultry Science*, v.61, p.2241-2246, 1997.

REBAFKA, F. P; KULSHRESTHA, A. Adding Value to Feather Goldmehl: A new potential for the petfood industry. Disponível em: <http://www.petfoodindustry.com/uploadedFiles/PetfoodIndustry/Articles/1003PETnovel%20feather%20meal.pdf>.

PIRGOZLIEV, V.; ODUGUWA, O.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Effects of dietary phytase on performance and nutriente metabolismo in chickens. *British Poultry Science*, 2007.

SOUZA, C. M. M.; LIMA, D.C.; KAELE, G. C. B.; OLIVEIRA, S. G.; KURITZA, L. N.; FÉLIX, A. P. Associação de mananoligossacarídeos e yucca como promotor da saúde intestinal e características fecais em cães. *Archives of Veterinary Science*, v.23, n.1, 2018.

SWANSON, K.S.; GRIESHOP, C.M.; FLICKINGER, E.A.; BAUER, L.L.; HEALY, H.P.; DAWSON, K.A.; MERCHEN, N.R.; FAHEY, G.C.JR. Supplemental frutooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrients digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *Journal of Nutrition*, v.132, p.980-989, 2002.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnology Advances*, v.24(2), P.230–233, 2006.

VAN HEUGTEN, E.; & VAN KEMPEN, T. A. T. G. Growth performance, carcass characteristics, nutrient digestibility and fecal odorous compounds in growing-finishing pigs fed diets containing hydrolyzed feather meal. *Journal of Animal Science*, v.80(1), p.171–178, 2002.

ZANATTA, C.P.Z.; FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A. Fatores que regulam o consumo e a preferência alimentar em cães. *Scientia Agraria Paranaensis*. ISSN: 1983-1471 – Online. <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n2p109-114> 2016.

## REFERÊNCIAS

ABÉ, P. T. Avaliação Energética e Nutritiva da Farinha de Pena e sua Utilização na Alimentação de Frangos de Corte e Poedeiras. Viçosa: UFV, 1981. 70 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa 1981.

ABPA. Brazilian Association of Animal Production. Relatório Anual. São Paulo: [ABPA], p.68, 2017. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/>>.

AAFCO, Dog and Cat Nutrient Profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated (AAFCO), Oxford, IN, USA, 2010.

ADLER, S.A., SLIZYTE, R., HONKAPÄÄ, K., LØES, A.K., 2018. In vitro pepsin digestibility and amino acid composition in soluble and residual fractions of hydrolyzed chicken feathers. *Poult. Sci.* v.97, p.3343–3357.

ALBINO, L. F. T; SILVA, M.A. Determinação dos valores de energia metabolizável aparente e verdadeira de alguns alimentos para aves, usando diferentes métodos. *Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, v. 21, p. 47-58, 1992.

AOAC, Association of the Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, DC, USA, 1995.

BERTSCH, A.; COELLO N. 2005. A biotechnological process for treatment and recycling poultry feathers as a feed ingredient. *Bioresource Technology*, Oxford, v.96, p.1703-1708.

BOYE, J.; BETTONI, R. W.; BURLINGAME, B. Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *British Journal of Nutrition*, v.108, p.183-211, 2012.

BRANDELLI, A. Bacterial keratinases: useful enzymes for bioprocessing agroindustrial wastes and beyond. *Food Bioprocess Technol.* v.1, p.105–116, 2008.

BRANDELLI, A., DAROIT, D.J., RIFFEL, A. Biochemical features of microbial keratinases and their production and applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v.85, p.1735–1750, 2010.

BRITO, C.B.M, FÉLIX, A.P., JESUS, R.M., FRANÇA, M.I, OLIVEIRA, S.G., KRABBE, E.L., MAIORKA, A. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. *Animal Feed Science Technology*, v.159, p.150-155, 2010.

BUTOLO, J. E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. 2. ed. Campinas, SP: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.273-278, 2010.

CALLEGARO, K., BRANDELLI, A., & DAROIT, D. J. Beyond plucking: Feathers bioprocessing into valuable protein hydrolysates. *Waste Management*, v.95, p.399–415, 2019.

CARCIOFI, A.C., PONTIERI, R., FERREIRA, C.F. et al. Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, p.754-760, 2006.

CARCIOFI, A.C., OLIVEIRA, L., VALÉRIO, A., BORGES, L.L., CARVALHO, F., BRUNETTO, M.A., VASCONCELLOS, R.S. Comparison of micronized whole soya to common protein sources in dry dog and cat diets. *Animal Feed Science Technology*, v.151, p.251-260, 2009.

CASE, L. P.; DARISTOTLE, L.; HAYEK, M. G. AND RAASCH, M. F. 2011. Carbohydrates. In: *Canine and feline nutrition: A resource for companion. Animal Professionals*. 3rd ed, p.13-79.

CELI P.; VERLHAC V.; CALVO E.P.; SCHMEISSER J.; KLUENTER A.M. Biomarkers of gastrointestinal functionality in animal nutrition and health. *Anim Feed Sci Technol*, v.250, p.9–31, 2019.

CHEN P.Y.; MCKITTRICK J; MEYERS M.A. Biological materials: functional adaptations and bioinspired designs. *Prog Mater Sci.*, v.57(8), p.1492–704, 2012.

CHEONG, C.W., LEE, Y.S., AHMAD, S.A., OOI, P.T., PHANG, L.Y., 2018. Chicken feather valorization by thermal alkaline pretreatment followed by enzymatic hydrolysis for protein rich hydrolysate production. *Waste Manage.* v.79, p.658–666.

CONSIDINE, M. J. New enzyme technologies for poultry by-products. *Australian Poultry Science Symposium, Sydney*, v. 12, p.163-165, 2000.

DALEV P, IVANOV I, AND LIUBOMIROVA A (1997). Enzymatic modification of feather keratin hydrolysates with lysine aimed at increasing the biological value. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.73, p.242–244.

DAROIT, D.J., BRANDELLI, A., 2014. A current assessment on the production of bacterial keratinases. *Crit. Rev. Biotechnol.* v.34, p.372–384.

FAKHFAKH, N., KTARI, N., HADDAR, A., MNIF, I.H., DAHMEN, I., NASRI, M., 2011. Total solubilisation of the chicken feathers by fermentation with a keratinolytic bacterium, *Bacillus*

pumilus A1, and the production of protein hydrolysate with high antioxidative activity. *Process Biochem.* v.46, p.1731–1737.

FAN, M. Z., SAUER, W. C. Determination of apparent ileal amino acid digestibility in barley and canola meal for pigs with the direct, difference, and regression methods. *Journal of Animal Science*, v.73 (8), p.2364–2374, 1995.

FEDIAF. The European pet food industry. Dog and cat nutritional guideline. 2016.

FÉLIX, A.P.; CARVALHO, M.P.; ALARÇA, L.G.; BRITO, C.B.M. et al. Effects of the inclusion of carbohydrases and different soybean meals in diet on palatability, digestibility and faecal characteristics in dogs. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.174, p.182-189, 2012.

FENNEMA, O.R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. *Química dos alimentos de Fennema*. 8ª ed., p.239-349, 2019.

FIALHO, E. T., ALBINO, L. F. T., THIRÉ, M. C., BENETI, A. Influência da pressão e tempo de cozimento das farinhas de penas sobre a digestibilidade de proteína e energia para suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, XX, Pelotas-RS, 1983. ANAIS. Pelotas: SBZ, 1983.

GARNER C.E.; SMITH S.; LACY C.B.; WHITE P.; SPENCER R.; PROBERT C.S.; RATCLIFFE N.M. Volatile organic compounds from faeces and their potential for diagnosis of gastrointestinal disease. *The FASEB J*, v.21, p.1675–88, 2007.

GRAZZIOTIN, A. et al. Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinases. *Animal Feed Science and Technology*, v.126, p.135-144, 2006.

GRIFFIN, R.W. Palatability testing: parameters and analysis that influence test conclusions. In: Kvamme, J.L., Phillips, T.D. (Eds.), *Petfood Technology*. Watt Publishing, Mt. Morris, p.187-193, 2003.

GUARNER F.; MALAGELADA, J.R. Flora intestinal na saúde e na doença. *The Lancet*, v.361, p.512–19, 2003.

GUPTA, R., RAMNANI, P. Microbial keratinases and their prospective applications: an overview. *Applied Microbiology and Biotechnology.*, v.70, p.21–33, 2006.



HESTA, M., G. P. J. JANSSENS, S. MILLET, R. DE WILDE. Fecal odor components in dogs: nondigestible oligosaccharides and resistant starch do not decrease fecal emission. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, Washington, v1, 2003.

HOU, Y., WU, Z., DAI, Z., WANG, G., WU, G. Protein hydrolysates in animal nutrition: industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, v.8, p.24, 2017.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2019. Estatística da produção pecuária. IBGE, Rio de Janeiro.

KIENZLE, E.; MEYER, H.; SCHNEIDER, R. Investigations on palatability, digestibility and tolerance of low digestible food components in cats. *Journal of Nutrition*, v.121, p.56-57, 1991.

KIM, J. M., W. J. LIM, SUH, H. J. Feather-degrading *Bacillus* species from poultry waste. *Process Biochemistry*, v.37, p.287-291, 2001.

KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA, T., BOHACZ, J. Biodegradation of keratin waste: theory and practical aspects. *Waste Manage.*, v.31, p.1689–1701, 2011.

LANGE, L., HUANG, Y., BUSK, P.K. Microbial decomposition of keratin in nature – a new hypothesis of industrial relevance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.100, p.2083–2096, 2016.

LASEKAN, A., ABU BAKAR, F., HASHIM, D. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. *Waste Manage.*, v.33, p.552–565, 2013.

LE, P.D.; AARNINK, A.J.A.; OGINK, N.W.M.; BECKER, P.M.; VERSTEGEN, M.W.A. Odour from animal production facilities: its relationship to diet. *Nutrition Research Reviews*, v.18(01), p.3, 2005.

LODISH H, BERK A, ZIPURSKY SL, MATSUDAIRA P, BALTIMORE D, DARNELL J. *Molecular cell biology*. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2000.

MACHADO, G. Farinha de penas hidrolisadas por micro-organismos como ingrediente alternativo em dietas para cães adultos. Tese (Doutorado). Porto Alegre, RS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 139, 2018.

MACIEL J. L., WERLANG P. O., DAROIT D. J. BRANDELLI A. Characterization of Protein-Rich Hydrolysates Produced Through Microbial Conversion of Waste Feathers. *Waste Biomass Valor*, 2017.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. *Bioquímica Básica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 360 p. 1999.

MAZOTTO, A.M., ASCHERI, J.L.R., DE OLIVEIRA GODOY, R.L., TRICHES DAMASO, M.C., COURI, S., VERMELHO, A.B. Production of feather protein hydrolyzed by *B. subtilis* AMR and its application in a blend with cornmeal by extrusion. *LWT – Food Sci. Technol.*, v.84, p.701–709, 2017.

MEYERS MA, CHEN PY, LIN YM, SEKI Y. Biological materials: structure and mechanical properties. *Prog Mater Sci.*, v.53, p.1-206, 2008.

MILLIGAN B, HOLT LA, CALDWELL JB. The enzymic hydrolysis of wool for amino acid analysis. *Appl Poly Symp.*, v.18, p.113–125, 1971.

MOKREJS, P., SVOBODA, P., HRNCIRIK, J., JANACOVA, D., & VASEK, V. Processing poultry feathers into keratin hydrolysate through alkaline-enzymatic hydrolysis. *Waste Management & Research*, v.29(3), p.260–267, 2010.

PACHECO, G. F. E.; PEZZALI, J. G.; KESSLER, A. M.; TREVIZAN, L. Inclusion of exogenous enzymes to feathers during processing on the digestible energy content of feather meal for adult dogs. *R. Bras. Zootec.*, v.45(6), p.288-294, 2016.

PARSONS, C.M.; CASTANON, F.; HAN, Y. Protein and amino acid quality of meat and bone meal. *Poultry Science*, v.61, p.2241-2246, 1997.

PIRGOZLIEV, V.; ODUGUWA, O.; ACAMOVIC, T.; BEDFORD, M. R. Effects of dietary phytase on performance and nutriente metabolismo in chickens. *British Poultry Science*, 2007.

SÁ FORTES, C.M.L. Valor nutricional de ingredientes energéticos e proteicos para cães. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SAARELA, M., BERLIN, M., NYGREN, H., LAHTINEN, P., HONKAPÄÄ, K., LANTTO, R., MAUKONEN, J. Characterization of feather-degrading bacterial populations from birds' nests

– potential strains for biomass production for animal feed. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, v.123, p.262–268, 2017.

SAMPSON, H. A. Adverse reactions to foods. In: MIDDLETON, E.; REED, C. E.; ELLIS, E. F. et al. (Ed.). *Allergy: Principles and Practice*. St Louis, MO: Mosby-Year Book Inc, p. 1661-1686, 1993.

SEIXAS, J.R.C.; ARAÚJO, W.A.; FELTRIN, C.A. et al. Fontes protéicas para alimentos pet. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, Campinas, p.97-116, 2003.

SCAPIM, M. R. S. Avaliação nutricional da farinha de penas e de sangue para frangos de corte submetida a diferentes tratamentos térmicos. *Acta Scientiarum Animal Science*, Maringá, v. 25, n. 1, p. 91-98, 2003.

SOUZA, C. M. M.; LIMA, D.C.; KAELE, G. C. B.; OLIVEIRA, S. G.; KURITZA, L. N.; FÉLIX, A. P. Associação de mananoligossacarídeos e yucca como promotor da saúde intestinal e características fecais em cães. *Archives of Veterinary Science*, v.23, n.1, 2018.

SWANSON, K.S.; GRIESHOP, C.M.; FLICKINGER, E.A.; BAUER, L.L.; HEALY, H.P.; DAWSON, K.A.; MERCHEN, N.R.; FAHEY, G.C.JR. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrients digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *Journal of Nutrition*, v.132, p.980-989, 2002

SINHORINI, M. R. Processo de Produção de Farinha de Penas Hidrolisadas: estudos de Otimização do Teor Protéico e do Valor de Digestibilidade da Proteína. 2013. 105 p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2013.

SINKIEWICZ, I., STAROSZCZYK, H., SLIWINSKA, A. Solubilization of keratins and functional properties of their isolates and hydrolysates. *J. Food Biochem.* v.42, 2018.

STIBOROVA, H., BRANSKA, B., VESELA, T., LOVECKA, P., STRANSKA, M., HAJŠLOVA, J., JIRU, M., PATAKOVA, P., DEMNEROVA, K. Transformation of raw feather waste into digestible peptides and amino acids. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, v.91, p.1629–1637, 2016.

TESFAYE, T.; SITHOLE, B.; RAMJUGERNATH, D.; CHUNILALL, V. Valorisation of chicken feathers: characterisation of physical properties and morphological structure. *Journal of Cleaner Production*, v. 149, p. 349-365, 2017.

TIWARY, E.; GUPTA, R. Rapid Conversion of Chicken Feather to Feather Meal Using Dimeric Keratinase from *Bacillus licheniformis* ER-15. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, v.02(04), 2012.

OLIVO, R.; RABELO, R. A.; DEMARTINI, A. C. O Mundo do Frango – Cadeia Produtiva da carne de frango. Criciúma-SC: Imprint. p.567-578, 2006.

ONIFADE, A. A. et al. 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, n.1, p.1-11, 1998.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnology Advances*, v.24(2), P.230–233, 2006.

VAN HEUGTEN, E.; & VAN KEMPEN, T. A. T. G. Growth performance, carcass characteristics, nutrient digestibility and fecal odorous compounds in growing-finishing pigs fed diets containing hydrolyzed feather meal. *Journal of Animal Science*, v.80(1), p.171–178, 2002.

WANG B, YANG W, MCKITTRICK J, MEYERS MA. Keratin: structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration. *Prog Mater Sci.*, v.76, p.229–318, 2016.

ZANATTA, C.P.Z.; FÉLIX, A.P.; OLIVEIRA, S.G.; MAIORKA, A. Fatores que regulam o consumo e a preferência alimentar em cães. *Scientia Agraria Paranaensis*. ISSN: 1983-1471 – Online. <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n2p109-114> 2016.

ZHU, G. Y.; ZHU, X.; WAN, X. L.; FAN, Q.; MA, Y. H.; QIAN, J.; LIU, X. L.; SHEN, Y. J.; JIANG, J. H. Hydrolysis technology and kinetics of poultry waste to produce amino acids in subcritical water. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v.88, p.187-191, 2010.