



Utilização de resíduos de processamento de tilápia para a produção de hidrolisado proteico de peixe

SILVA, J. F. X. ^{*1}, CAHÚ, T. B. ², SILVA, J. F. ², SOUZA, K. S. ², RIBEIRO, K. ³, SPANGHERO, D. B. N. ¹, SANTOS, J. F. ⁴, SANTOS, J. C. P. ⁴, BEZERRA, R. S. ²

¹ UFAL, Av. Beira Rio, s/n - Centro Histórico CEP 57200-000 Penedo/AL, *email: juliettpesca@yahoo.com.br, ²UFPE, ³EAJ/UFRN, ⁴UAST/UFRPE.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de resíduos de processamento de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), como fonte de proteínas e proteases para produzir hidrolisado proteico de peixe (HPP). Foram avaliados três condições de produção de HPP: duas condições com enzimas extraídas do intestino tilápia, com diferentes concentrações e a terceira, uma preparação com protease comercial utilizando Alcalase. O conteúdo de proteínas e aminoácidos foram calculados como base na MS. Após 4 h de reação, as percentagens máximas de hidrólise do HPP_{com}, HPP₁₀₀, e HPP₆₀₀ foram 34,73 ± 1,44%, 29,21 ± 0,79%, e 41,66 ± 1,33%, respectivamente. O teor de proteína nos HPPs foram 584,8 g/kg, 492,3 g/kg e 508,2 g/kg no HPP_{com}, HPP₁₀₀, e HPP₆₀₀, respectivamente. Foram encontrados níveis de metionina e lisina de 32,0 e 77,0 g /kg (HPP_{com}), 31,0 e 64,0 g/kg (HPP₁₀₀), e 33,0 e 69,0 g/kg (HPP₆₀₀), respectivamente. A composição de aminoácido e o escore de aminoácidos sugerem que todos os HPPs experimentais podem ser empregados como fonte proteica em dietas para organismos aquáticos.

Palavra-chave: Hidrólise enzimática, Proteases, *Oreochromis niloticus*

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the use of processing waste from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as a source of protein and proteases to produce FPH. Three FPH production conditions were evaluated: two conditions used enzymes extracted from the tilapia intestine at different concentrations and Alcalase, a commercial protease preparation. Protein and amino acids content were calculated as DM basis. After a 4-h reaction, maximum hydrolysis percentages from FPH_{com}, FPH₁₀₀, and FPH₆₀₀ systems were 34.73±1.44%, 29.21±0.79%, and 41.66±1.33%, respectively. The protein content in the resulting FPS was 584.8 g/kg, 492.3 g/kg, and 508.2 g/kg for FPH_{com}, FPH₁₀₀, and FPH₆₀₀, respectively. Methionine and lysine were found at levels of 32.0



and 77.0 g/kg (FPH_{com}), 31.0 and 64.0 g/kg (FPH₁₀₀), and 33.0 and 69.0 g/kg (FPH₆₀₀), respectively. Amino acid composition and amino acid score suggested that all of the experimental FPHs could be employed as a protein source in diets for aquatic organisms.

Key-words: Enzymatic hydrolysis, Proteases, *Oreochromis niloticus*

INTRODUÇÃO

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), é uma das espécies de peixe de água doce mais cultivada no mundo. O filé é o principal produto processado, com rendimento de 30-40% do peso do animal sendo o restante (60-70%) considerado resíduo e com baixo valor comercial (restos de carne, cabeça, pele, ossos, escamas e vísceras). Enquanto a carcaça do peixe tem alto teor de proteína, as vísceras são importantes fonte de proteases (Bezerra et al, 2005) e podem ser utilizadas para hidrolisar as proteínas e produzir peptídeos de baixo peso molecular e aminoácidos livres, além de aumentar a digestibilidade de produtos (Bezerra et al, 2005). Assim, a hidrólise enzimática é uma alternativa para a recuperação de proteína de resíduos da indústria pesqueira, resultando em um produto solúvel conhecido como hidrolisado proteico de peixe (HPP). Neste estudo, avaliou-se a utilização de resíduos de processamento de tilápias como fonte de proteína e proteases para produzir HPPs. Os HPPs também foram caracterizados quanto ao seu grau de hidrólise; peso molecular dos peptídeos; composição centesimal e de aminoácidos e escore químico. Adicionalmente, as atividades proteolíticas dos extratos de intestino de tilápia foram comparadas com um extrato de enzima comercial (Alcalase).

MATERIAL E MÉTODOS

Intestinos de peixes foram coletados, homogeneizados em água destilada em concentrações de 100 e 600 mg de tecido/mL e centrifugados a 10000 × g durante 15 min a 4°C, onde o sobrenadante (extrato em bruto) foi nomeado ONp₁₀₀ e ONp₆₀₀, respectivamente. A dosagem de proteína solúvel foi determinada pelo método de Lowry et al. (1951).

A atividade proteolítica total foi determinada utilizando azocaseína e as atividades proteolíticas específicas de tripsina, quimotripsina e



leucinoaminopeptidase foram determinadas utilizando BApNA 8mM, SApNA 8mM e Leu-p-Nan 8mM, respectivamente (BEZERRA et al., 2005). Os HPPs (n=3) foram produzidos de acordo com o método descrito por Silva et al., (2014). O grau de hidrólise (GH) foi calculado de acordo com o método descrito por Hoyle and Merritt (1994). Utilizou-se para SDS-PAGE a metodologia descrita por Laemmli (1970). A composição centesimal e de aminoácidos foram elaborados de acordo com AOAC (2005). O índice de aminoácidos indispensáveis (IAAI) e o escore químico de aminoácidos (EQ) foram calculados de acordo com o perfil de AA essenciais da proteína do ovo (Hardy e Barrows, 2002) em relação as necessidades nutricionais de camarão. Dados das atividades proteolíticas foram analisados mediante Anova e Tuckey através do Programa Microcal Origin 8.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Três extratos contendo proteases incluindo Alcalase, ONp₁₀₀ e ONp₆₀₀ foram empregados na hidrólise da carcaça de tilapia. A Atividade proteolítica total (azocaseína como substrato) mostrou diferença entre ONp₆₀₀ ($6,92 \pm 0,01$ U/mg) > ONp₁₀₀ ($5,71 \pm 0,04$ U/mg) > Alcalase ($5,55 \pm 0,09$ U/mg) ($P < 0,05$). Nos extratos experimentais, tripsina (BApNA como substrato) e leucinominopeptidase (Leu-p-Nan como substrato), as atividades diferiram significativamente ($P < 0,05$), ao passo que ONp₆₀₀ ($8,18 \pm 0,14$ e $6,10 \pm 0,04$ mU/mg) apresentou maior atividade específica, seguido por ONp₁₀₀ ($2,59 \pm 0,06$ e $1,85 \pm 0,02$ mU/mg) e Alcalase ($0,70 \pm 0,03$ e $0,32 \pm 0,02$ mU/mg). Quimotripsina (SApNA como substrato) não mostrou diferença significativa entre Alcalase ($2,62 \pm 0,02$ mU/mg) e ONp₁₀₀ ($2,75 \pm 0,08$ mU/mg) ($P > 0,05$), entretanto o ONp₆₀₀ ($9,64 \pm 0,13$ mU/mg) diferiu dos demais ($P < 0,05$). A presença de endo e exoproteases promoveu uma maior eficiência da hidrólise, pois clivam peptídeos de cadeia longa em peptídeos menores e aminoácidos livres, aumentando, assim, a hidrólise proteica. Após 240 minutos de reação, os HPP_{com}, HPP₁₀₀, e HPP₆₀₀ apresentaram GH máximo de $34,73 \pm 1,44\%$, $29,21 \pm 0,79\%$, e $41,66 \pm 1,33\%$, respectivamente. O ONp₆₀₀ teve maior capacidade para hidrolisar a carcaça, quando comparado com ONp₁₀₀ e Alcalase, provavelmente devido a diferenças no conteúdo e diversidade de enzimas. Estas enzimas proteolíticas solubilizam ou quebram proteínas



musculares residual de peixes, resultando em duas frações distintas, solúveis e insolúveis. A fração insolúvel compreende os ossos e outros componentes não digeridos, enquanto o solúvel contém proteína hidrolisada, que pode ser convertido e incorporado em alimentos para animais. Ao final de 240 min. os padrões eletroforéticos revelaram a eficiência dos tratamentos para a produção dos HPPs, onde HPP_{com} (54 kDa), o HPP₆₀₀ (53 e 20 kDa) e HPP₁₀₀ (190 e 20 kDa) mostraram bandas de pesos moleculares menores em relação ao controle (carcaça sem enzima) (20-200 kDa), evidenciando a hidrólise do substrato.

A composição centesimal dos HPPs foram baseados na matéria seca e revelou um teor de proteína de 584,8 g/kg para HPP_{com}, 492,3 g/kg para HPP₁₀₀ e 508,2 g/kg para HPP₆₀₀. O teor de lipídeos (g/kg) foi de 374,7 para HPP_{com}, 407,0 para HPP₁₀₀ e 445,1 para HPP₆₀₀. Lipídeos exercem uma grande influência no crescimento e desenvolvimento de peixes e camarões, este último requer níveis de 5-6% de inclusão na sua dieta (NRC, 2011). O teor de cinzas (g/kg) foi de 26,70 (HPP_{com}), 52,10 (HPP₁₀₀) e 30,40 (HPP₆₀₀). Uma dieta de boa qualidade para os organismos aquáticos deve conter teor de cinzas inferior a 13% (NRC, 2011).

Metionina e lisina foram encontrados em níveis de 32,0 e 77,0 g/kg (HPP_{com}), 31,0 e 64,0 g/kg (HPP₁₀₀) e 33,0 e 69,0 g/kg (HPP₆₀₀), respectivamente, o que supre os valores recomendados pela FAO (1989) para camarões carnívoros (10, 4 e 28,3 g/kg) e onívoros (7,6 e 20,6 g/kg). Com base no conteúdo de AA, o EQ e o IAAI são usados para avaliar o valor nutritivo de uma fonte proteica, onde EQ próximo a 100% é considerado de alto valor nutritivo. O EQ do HPP_{com} variou de 50.65 a 137.87%; HPP₁₀₀ (40.25 a 100%) e HPP₆₀₀ (45.97 a 109.09%). O IAAI atingiu um valor de 1066.07% no HPP_{com}, 688.4% no HPP₁₀₀ e 738.51% no HPP₆₀₀. O valor nutritivo de uma proteína, depende sobretudo de sua capacidade de fornecer aminoácidos em quantidades adequadas, para suprir as necessidades do organismo. Os HPPs produzidos demonstraram suprir as exigências nutricionais de camarões, o que evidencia que estes produtos podem constituir uma boa fonte de proteínas em ração para camarão.

CONCLUSÕES



O uso de proteases de tilapia (600mg/mL) demonstrou maior eficiência na hidrólise proteica de peixe que a enzima comercial Alcalase. HPPs produzidos a partir de resíduos de tilapia podem servir como uma boa fonte de AA e tem aplicações potenciais na produção de ração aquícola.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (2005). In Official Methods of Analysis of AOAC, 18th ed. AOAC International, Gaithersburg.
- BEZERRA, R.S., LINS, E.J.F., ALENCAR, R.B., PAIVA, P.M.G., CHAVES, M.E.C., COELHO, L.C.B.B., CARVALHO JR., L.B. (2005) Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Proc. Biochem. 40, 1829–1834.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATION. (1989). Yearbook of fishery statistics: summary tables. FAO, Roma (obtained by internet, <http://www.fao.org>).
- LAEMMLI, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. Nature 227, 680–685.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 267–275.
- HARDY, R.W., BARROWS, F. T. (1970). Diet Formulation and Manufacture. In: Fish Nutrition. J. E. Halver and R. W. Hardy (eds), 3rd edition. London Academic Press. PP 587. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. Nature 227, 680–685.
- HOYLE, N.T., MERRITT, J.H. (1994). Quality of fish protein hydrolysate from Herring (*Clupea harengus*). J. Food Sci. 59, 76–79.
- NUTRIENT REQUIREMENTS OF FISH COMMITTEE ON ANIMAL NUTRITION BOARD ON AGRICULTURE. (2011). *National Research Council* NATIONAL ACADEMY PRESS Washington, D.C.
- SILVA, J.F.X., RIBEIRO, K., SILVA, J.F., CAHÚ, T.B., BEZERRA, R.S. (2014). Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. Animal Feed Science and Technology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.06.010>.