

AValiação Peptídica de Hidrolisados Proteicos de Resíduos de Tilápia: Fracionamento, Composição e Viabilidade de Uso em Dietas para Peixes**PEPTIDE EVALUATION OF PROTEIN HYDROLYSATE FROM TILAPIA WASTE: FRACTIONATION, COMPOSITION, AND FEASIBILITY OF USE IN FISH DIETS** <https://doi.org/10.63330/aurumpub.012-045>**Ligia Maria Neira**

Instituto Municipal de Ensino Superior de Bebedouro "Victório Cardassi"
Taquaral, São Paulo, Brasil
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/4172348756813111>

Luiz Flávio José dos Santos

Faculdade de Tecnologia de Ribeiro Preto – São Paulo
Jaboticabal, São Paulo, Brasil
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/5888302973425312>

Adriano Marques Gonçalves

Universidade de Araraquara
Araraquara, São Paulo, Brasil
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/5448203595628074>

João Martins Pizauro Junior

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus Jaboticabal
Jaboticabal, São Paulo, Brasil
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/3958124498479090>

Dalton José Carneiro

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus Jaboticabal
Jaboticabal, São Paulo, Brasil
LATTES: <http://lattes.cnpq.br/4172348756813111>

RESUMO

Atualmente, a aquicultura necessita de ingredientes sustentáveis que sejam viáveis e possam competir nutricionalmente com a farinha de peixe. Os objetivos deste trabalho foram produzir, avaliar e caracterizar as silagens dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo. O experimento foi realizado segundo um delineamento inteiramente casualizado com doze tratamentos em esquema fatorial 2x2x3 com três repetições. Foram utilizados dois tipos de matéria-prima (vísceras ou resíduos totais: cabeça, espinha, nadadeiras e vísceras), dois processos de hidrólise (ácida e fermentada), com três metodologias para interrupção dos processos (aquecimento, congelamento ou neutralização). As amostras de cada silagem; nos diferentes tipos de matérias-primas e diferentes processos de hidrólise, foram coletadas durante 636 horas. Os resultados experimentais mostraram que a hidrólise ocorreu em tempos diferentes para as diferentes matérias-primas e processos de hidrólise. Portanto, após caracterização das bandas proteicas nos géis (SDS-PAGE) e cromatografia em papel das silagens produzidas por diferentes matérias-primas, processamentos e métodos de interrupção, apresentaram fracionamento proteico diferente com o aumento do tempo de hidrólise. A produção das silagens foi viável e apresentou características nutricionais favoráveis para serem incorporadas em dietas para peixes.

Contribuições Multidisciplinares Para o Conhecimento Atual

AValiação Peptídica de Hidrolisados Proteicos de Resíduos de Tilápia: Fracionamento, Composição e Viabilidade de Uso em Dietas para Peixes



Palavras-chave: Peptídeos; SDS-PAGE; Tilápia.

ABSTRACT

Aquaculture currently requires a sustainable, viable ingredient that can compete nutritionally with fishmeal. The objectives of this study were to produce, evaluate, and characterize silages from Nile tilapia filleting residues. The experiment was conducted in a completely randomized design with twelve treatments in a 2x2x3 factorial arrangement with three replicates. Two types of raw material (viscera or total residues: head, spine, fins, and viscera), two hydrolysis processes (acid and fermented), and three process interruption methodologies (heating, freezing, or neutralization) were used. Samples of each silage, from the different types of raw materials and hydrolysis processes, were collected over a period of 636 hours. The experimental results showed that hydrolysis occurred at different times for the different raw materials and hydrolysis processes. Therefore, after characterizing the protein bands in gels (SDS-PAGE) and paper chromatography of silages produced with different raw materials, processing methods, and interruption methods, protein fractionation differed with increasing hydrolysis time. Silage production was viable and presented favorable nutritional characteristics for incorporation into fish diets.

Keywords: Peptides; SDS-PAGE; Tilapia.



1 INTRODUÇÃO

Com o aumento mundial na demanda por alimentos e a crescente produção da aquicultura, espera-se também o aumento na disponibilidade de dietas comerciais de alta qualidade para acompanhar esse desenvolvimento. Uma alternativa para o aumento na disponibilidade de alimentos é o aproveitamento de resíduos ou a utilização de subprodutos.

A utilização de resíduos de peixe tem sido de interesse crescente nos últimos anos (ROSLAN et al., 2014; SILVA et al., 2014; SRICHANUN et al., 2014; NEIRA et al., 2024). Este subproduto é considerado um material seguro, apresentando alto teor de proteína e valor biológico, além de muitos benefícios nutricionais, devido ao padrão de aminoácidos essenciais (VENUGOPAL et al., 1985; GUERARD et al., 2001). A maioria dos resíduos da aquicultura são ricos em proteínas e enzimas proteolíticas. A proteólise da carne aderida ao esqueleto de tilápia é um processo alternativo para obtenção de silagens, utilizadas como fontes de proteína animal (SILVA et al., 2010) que podem ser utilizadas como ingredientes em dietas.

A hidrólise pode ocorrer por meio de enzimas proteolíticas já presentes nos peixes. As proteases digestivas são as principais enzimas das vísceras e do trato digestivo. As enzimas presentes nas células musculares também contribuem para a quebra proteolítica. Não há necessidade de adição de enzimas exógenas, e a produção da silagem de resíduo de peixe não requer equipamentos para o processamento, sendo uma operação simples (SHAHIDI et al., 1995).

A produção de silagens também pode empregar um processo autolítico utilizando ácidos ou bases. Na hidrólise ácida, o ácido clorídrico e o fosfórico acidificam a mistura de resíduos moídos para um pH menor que 4 e reagem com as proteínas dos peixes (RAA; GILDBERG, 1982), que são completamente hidrolisadas a diferentes graus, em diferentes temperaturas. A silagem é então neutralizada no pH 7,0, concentrando-se como um líquido viscoso; sua propriedade principal é a elevada solubilidade (THAKAR et al., 1991).

A produção de silagens pode ocorrer, também por meio de bactérias ácidas lácticas como agentes da hidrólise (DONG et al., 1983; VAN WYK; HEYDENRYCH, 1985). A fermentação bacteriana é iniciada após a moagem dos resíduos e a adição de um açúcar fermentável à mistura, que favorece o crescimento de bactérias produtoras de ácido láctico, o que é vantajoso porque essas bactérias produzem fatores antimicrobianos que inibem bactérias concorrentes (RAA; GILDBERG; 1982).

A massa molecular da proteína hidrolisada é um dos fatores mais importantes na produção de silagens (ROSSI et al., 2009). Acompanhar a hidrólise e interromper os processos antes de obter maior proporção de aminoácidos livres pode aumentar o aproveitamento das silagens pelos peixes e viabilizar a utilização deste produto em dietas práticas. Portanto, faz-se necessário analisar suas características nutricionais e metabólicas, e várias técnicas podem ser aplicadas na obtenção destas informações.

A cromatografia pode ser utilizada para a identificação de compostos (por comparação com padrões previamente existentes), para a purificação de compostos e para a separação dos componentes de uma mistura. A cromatografia em papel é uma técnica de partição líquido-líquido que se baseia na diferença de solubilidade das substâncias em questão entre duas fases imiscíveis, sendo a água, geralmente, um dos líquidos. O solvente é saturado em água e a partição ocorre devido à presença de água em celulose (papel de filtro). Este método é muito útil para a separação de compostos polares, sendo largamente usado em bioquímica (COLLINS et al., 1993).

O estudo da viabilidade do fracionamento da proteína de silagens de resíduos da filetagem de tilápias para produção de um ingrediente sustentável, com potencial nutricional a ser incorporado em dietas para peixes está sendo proposto. Portanto, o objetivo deste trabalho foi produzir, avaliar e caracterizar a composição física e química das silagens dos resíduos da filetagem de tilápia do Nilo, com diferentes graus de hidrólise.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O ensaio foi desenvolvido no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista e no Laboratório de Enzimologia Aplicada do Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

2.1 PRODUÇÃO DAS SILAGENS

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com doze tratamentos em esquema fatorial 2x2x3, correspondendo a dois tipos de matéria-prima (somente vísceras ou resíduo total da filetagem de tilápia: cabeça, vísceras, restos de musculatura, espinhas e nadadeiras, sem a pele), dois processos de hidrólise (ácida ou fermentada), e três metodologias para interromper os processos de hidrólise (aquecimento, congelamento ou neutralização), com três repetições.

As matérias-primas foram adquiridas *in natura* diretamente de um abatedouro, para obter maior representatividade e uniformidade, e foram transportadas em caixas térmicas com gelo. Após serem moídas em moinho de carne e homogeneizadas, foram destinadas aos dois processos de hidrólise. Foram utilizados 36 recipientes plásticos com tampa e capacidade de três litros, cada um compondo uma parcela experimental. A silagem ácida, para as duas matérias-primas, foi produzida pela adição de 2% (p/v) de ácido fosfórico e 3% (p/v) de ácido acético. Para a produção da silagem fermentada, foram adicionados 15% (p/p) de melaço de cana-de-açúcar, 5% (p/p) de *Lactobacillus sp.*, e foram armazenados à temperatura ambiente (28 – 32°C) (NEIRA et al., 2024).

Três amostras (de cinco ml) de cada silagem foram coletadas diariamente, de 30 em 30 minutos; cada uma delas foi interrompida por meio de aquecimento, congelamento ou neutralização. O aquecimento dos tubos das amostras coletadas ocorreu por meio de imersão (banho-maria) em água fervente a 100°C durante 15 minutos. O congelamento foi realizado em nitrogênio líquido (-196°C) e a neutralização ocorreu com adição de hidróxido de sódio (NaOH) 1M. Todas as amostras foram armazenadas em ultrafreezer (-80°C) para posteriores análises laboratoriais.

2.1.1 Avaliação e caracterização das silagens

A determinação da massa molecular das cadeias proteicas e peptídicas das duas matérias-primas e das amostras das silagens foi realizada por eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE, *Sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis* - NaDodSO₄), Laemmli (1970).

Na preparação, todas as amostras foram liofilizadas, desengorduradas e homogeneizadas em homogeneizador tipo Potter® com tampão TRIS.HCl 0,13M pH 6,8, (1:10 fermentadas e 1:5 ácidas) e foram centrifugadas a 10.000xg por 10 minutos, à 4°C. As amostras das silagens ácidas que foram interrompidas por aquecimento e congelamento foram neutralizadas antes da aplicação em SDS-PAGE, pois o ácido interfere no sistema. Para retirada do sal, formado após a neutralização, as amostras foram dialisadas em membrana de diálise *cut off* 2.000 Da, por 24 horas a 8°C e os sobrenadantes foram armazenados em ultrafreezer (-80°C).

Os sobrenadantes foram padronizados nas mesmas concentrações proteicas de 257,18 µg, após quantificação, segundo Hartree (1972), para que fossem aplicadas no gel as mesmas quantidades de proteína de cada silagem. A migração na eletroforese ocorre de acordo com tamanho, carga ou massa molecular das amostras utilizadas. Com o intuito de separar as proteínas somente por sua massa molecular, foi utilizado o mercaptoetanol, que reduz as pontes de dissulfeto que mantêm a estrutura terciária das proteínas, e o SDS (detergente aniônico) que se liga fortemente à proteína, desnaturando-a.

Os sobrenadantes das amostras foram totalmente desnaturados por aquecimento na presença do tampão da amostra (TRIS.HCl 0,125 mol.L⁻¹, pH 6,8, β-mercaptoetanol 100 g.L⁻¹, glicerol 100 g.L⁻¹, azul de bromofenol 2 g.L⁻¹ e SDS 15 g.L⁻¹). Neste tratamento, as cadeias proteicas adquiriram uma forma alongada cercada de várias moléculas de SDS ao longo da cadeia. Estas estruturas são mantidas pelas repulsões entre as cargas negativas que rodeiam a cadeia polipeptídica, o que impede qualquer dobra da proteína de volta à sua estrutura tridimensional.

O gel de SDS-PAGE foi preparado com 15% de acrilamida, e durante o processo foi utilizada uma corrente elétrica de 120V (LAEMMLI, 1970). A separação no gel ocorre pela diferença das massas moleculares das cadeias proteicas (ALFENAS et al., 1999).



2.1.2 Cromatografia em papel

Baseado nos SDS-PAGE realizados anteriormente, as amostras em diferentes tempos de hidrólise foram comparadas às migrações de aminoácidos e peptídeos de baixa massa molecular. As amostras das silagens de vísceras e de resíduos totais, ácidas e fermentadas, em diferentes tempos de hidrólise, juntamente com os padrões leucina 1%, lisina 1% e triptofano 1%, foram aplicadas na parte inferior do papel de cromatografia (parte estacionária), que posteriormente foi mergulhado no solvente metanol, ácido acético e n-butanol (parte móvel).

2.1.3 Análises laboratoriais

As amostras das silagens foram analisadas segundo AOAC (2000) para determinação dos teores de umidade, pelo método gravimétrico, em estufa a 105°C até peso constante, de cinza pelo método gravimétrico em mufla a 550°C, de extrato etéreo pelo método de Soxhlet no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do CAUNESP.

As análises de energia bruta foram realizadas em bomba calorimétrica de Parr e de proteína bruta pelo analisador de nitrogênio LECO FP-428 no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

As análises de aminoácidos totais foram realizadas por hidrólise ácida e cromatografia de troca iônica (HPLC), no Laboratório de Fontes Proteicas do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP/ Campinas.

2.1.4 Análises estatísticas

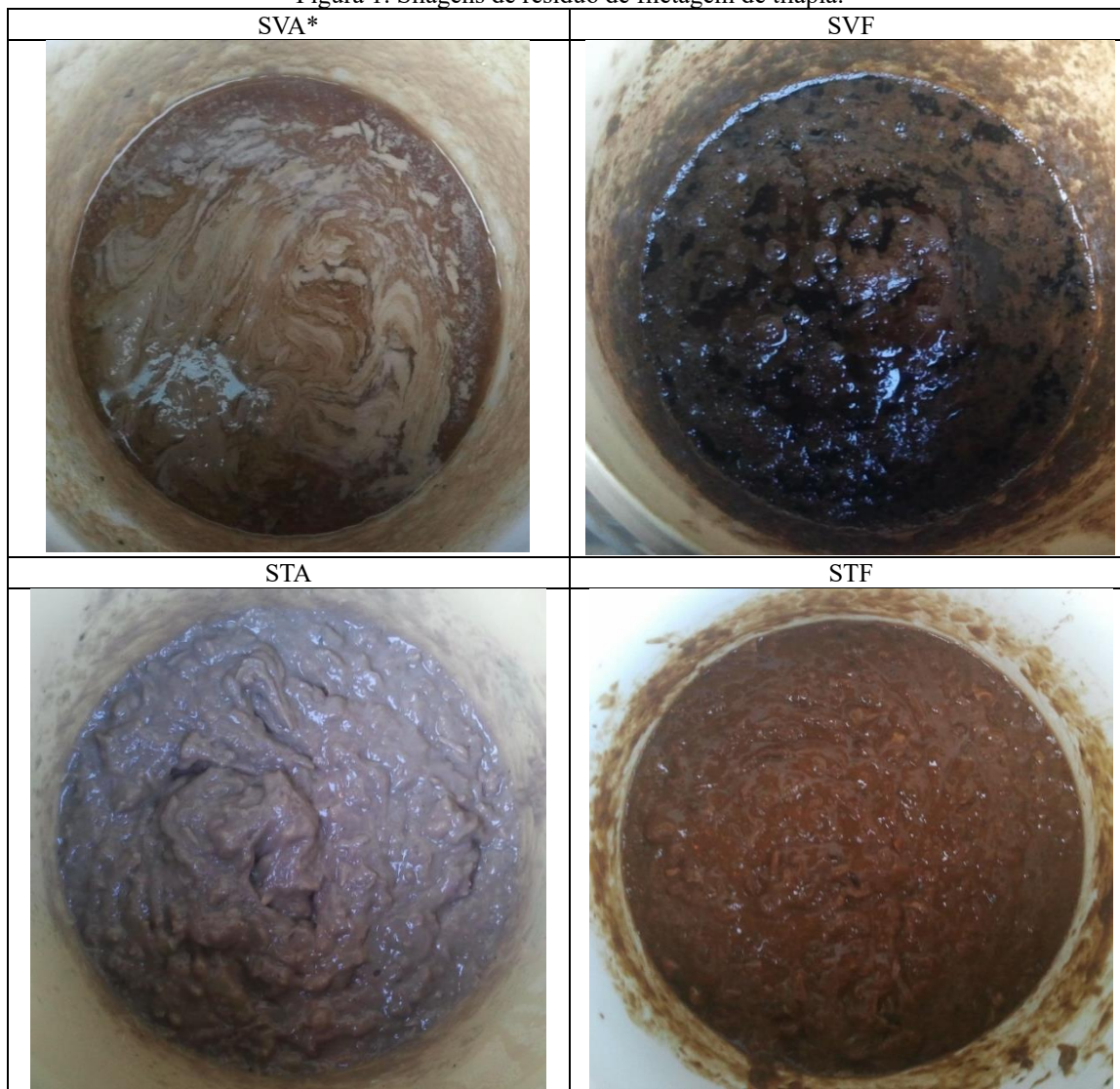
Para os resultados experimentais, foi avaliada a normalidade dos erros e também a homogeneidade da variância; atendidas as pressuposições, foi realizada análise de variância (ANOVA). Encontrando interação significativa entre os efeitos dos fatores estudados, foi realizado o desdobramento dos tratamentos. Observando diferenças significativas entre as variáveis analisadas, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *Statistical Analysis System* (SAS) versão 9.2.

3 RESULTADOS

Dentre as características organolépticas das silagens, as colorações apresentaram-se bem distintas entre os processamentos ácidos e fermentados, nos quais o primeiro apresentou coloração cinza e o segundo, marrom (Figura 1). O odor ácido, principalmente do ácido acético, foi predominante dos SVA e STA. Nos SVF e STF, o odor de melaço foi o predominante. Nas primeiras 24 horas a gordura dos SVA e SVF se liquefizeram totalmente. Nos STA e STF a gordura se liquefez a partir das 72 horas e terminou entre 120 e

152 horas. Os SVA e SVF apresentaram aspecto líquido em dois dias, enquanto os STA e STF apresentaram aspecto pastoso e ao longo do tempo se tornaram viscosos.

Figura 1. Silagens de resíduo de filetagem de tilápia.



*SVA = silagem de vísceras ácida, SVF = silagem de vísceras fermentada, STA = silagem total ácida e STF = silagem total fermentada.

Fonte: Próprio autor

Houve efeito dos tipos de matéria-prima, dos tipos de processamento e dos três métodos de interrupção dos processos de hidrólise (Tabela 1). Houve também a interação entre os três fatores, influenciando diretamente os teores de proteína bruta (PB) e energia bruta (EB) das silagens, apresentando diferentes características (Tabela 2).



Tabela 1. Resultados das análises de variância e dos testes de comparação das médias para os parâmetros de produção das silagens de resíduo de filetagem de tilápias.

Valores de F para:	PB (%)	EB(Kcal.kg⁻¹)
Tipo de processamento (AF)	453,15*	2023,89*
Tipo de matéria-prima (VT)	11753,13*	12025,88*
Tipo de interrupção (ACN)	647,00*	1694,61*
AFxVT	39,98*	3486,67*
AFxACN	874,79*	3587,63*
VTxACN	279,95*	610,18*
AFxVTxACN	365,23*	988,34*
<i>Coefficiente de variação</i>	8,28	22,49
Processamento	Médias	
Ácido (A)	19,24	5619
Fermentado (F)	17,51	5985
Matéria-prima		
Visceras (V)	13,97	6249
Total (T)	22,78	5355
Interrupção		
Aquecimento (A)	19,43	5564
Congelamento (C)	16,30	5717
Neutralizado (N)	19,39	6126

* - significativo ao nível de 5%

Fonte: Próprio autor

Tabela 2. Desdobramento dos tratamentos para as médias de proteína bruta (PB) e energia bruta (EB) das silagens de vísceras (V) ou total (T), ácida (A) ou fermentada (F), após interrupção dos processos de hidrólise por aquecimento, congelamento e neutralização (n=3).

Análise	Silagens	Interrupção²		
		Aquecimento	Congelamento	Neutralização
PB	SVA	15,30±0,34 ^{Ac1}	14,85±0,13 ^{Bc}	13,78±0,11 ^{Bc}
	STA	28,84±0,34 ^{Aa}	20,63±0,12 ^{Ca}	22,26±0,11 ^{Ba}
	SVF	12,24±0,27 ^{Bd}	9,40±0,44 ^{Cd}	18,40±0,20 ^{Ab}
	STF	21,38±0,19 ^{Bb}	20,40±0,13 ^{Cb}	23,21±0,24 ^{Aa}
EB	SVA	5185±30,14 ^{Cc}	6507±12,06 ^{Ba}	7258±13,87 ^{Aa}
	STA	4613±48,58 ^{Cd}	5147±15,63 ^{Bd}	5227±11,37 ^{Ad}
	SVF	6559±13,01 ^{Aa}	5748±34,69 ^{Cc}	6303±12,53 ^{Bb}
	STF	5695±37,45 ^{Bb}	5917±14,05 ^{Ab}	5715±8,54 ^{Bb}

¹Médias seguidas de mesma letra (maiúscula na linha e minúscula na coluna) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p>0.05$). (Média±erro padrão da média).

²Tempo de 72 horas de hidrólise

Fonte: Próprio autor

As médias dos resultados de proteína bruta (PB) foram maiores nas silagens produzidas pelos resíduos totais da filetagem de tilápia (STA e STF). Comparando estas silagens, o maior teor de PB (28,84%) foi encontrado no STA, interrompido por aquecimento, e o menor teor (9,40%) no SVF. Nas médias dos resultados para energia bruta (EB), o maior teor foi encontrado no SVA (7258 kcal), interrompido pela neutralização, e o menor no STA (4613 kcal), interrompido pelo aquecimento. O STA interrompido por aquecimento apresentou o maior teor de PB e o menor de EB.

Contribuições Multidisciplinares Para o Conhecimento Atual

AValiação PEPTÍDICA DE HIDROLISADOS PROTEICOS DE RESÍDUOS DE TILÁPIA: FRACIONAMENTO, COMPOSIÇÃO E VIABILIDADE DE USO EM DIETAS PARA PEIXES



Os teores de aminoácidos totais das silagens são compatíveis com as matérias-primas utilizadas (Tabela 3). Dentre os métodos de processamento, os teores dos aminoácidos foram diferentes mesmo sendo produzidos com a mesma matéria-prima. As silagens que foram produzidas pelo processamento ácido apresentaram maiores teores de aminoácidos totais que os produzidos por processamento fermentado, independentemente da matéria-prima utilizada.

Tabela 3. Composição em aminoácidos das silagens de resíduos de vísceras ou total após processamento de hidrólise ácida ou fermentada (%).

Aminoácidos	HVA	HVF	HTA	HTF
ASP	1,15	0,86	2,04	0,98
GLU	1,60	1,52	2,84	1,95
SER	0,17	0,16	2,21	2,53
HPR	0,60	0,38	1,32	0,95
GLY	0,69	0,59	2,57	2,34
HIS	0,23	0,15	0,52	0,30
TAU	0,56	0,43	0,54	0,42
ARG	0,96	0,89	3,43	2,81
THR	0,48	0,37	0,86	0,69
ALA	0,71	0,61	2,05	1,92
PRO	0,57	0,49	2,30	2,17
TYR	0,44	0,32	0,76	0,57
VAL	0,61	0,53	1,27	1,09
MET	0,36	0,24	0,81	0,62
CYS	0,09	0,06	0,11	0,04
ILE	0,58	0,40	1,09	0,74
LEU	1,04	0,82	1,91	1,41
PHE	0,60	0,40	1,29	0,93
TRP	0,03	0,06	0,04	0,07
LIS	1,11	0,95	2,39	1,74
Total	12,58	10,23	30,35	24,27

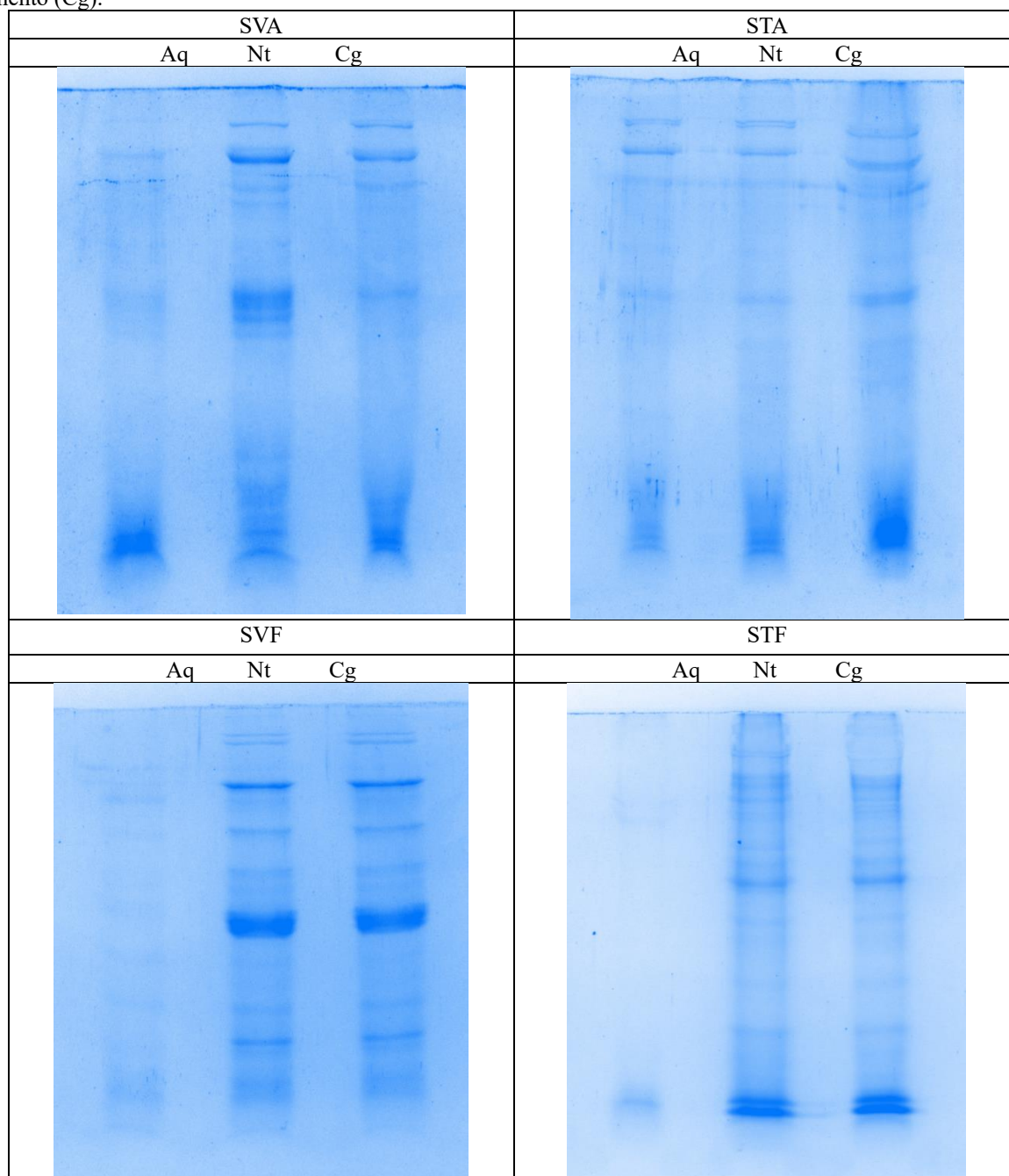
SVA = silagem de vísceras ácida, SVF = silagem de vísceras fermentada, STA = silagem total ácida e STF = silagem total fermentada

Fonte: Próprio autor

3.1 AVALIAÇÃO PEPTÍDICA DAS SILAGENS E TEMPOS DE INTERRUÇÃO

Foram produzidos quatro géis, um para cada tipo de silagem (SVA, SVF, STA e STF) nos três métodos de interrupção (Figura 2).

Figura 2. SDS-PAGE das amostras dos SVA, SVF, STA e STF após interrupção por aquecimento (Aq), neutralização (Nt) e congelamento (Cg).

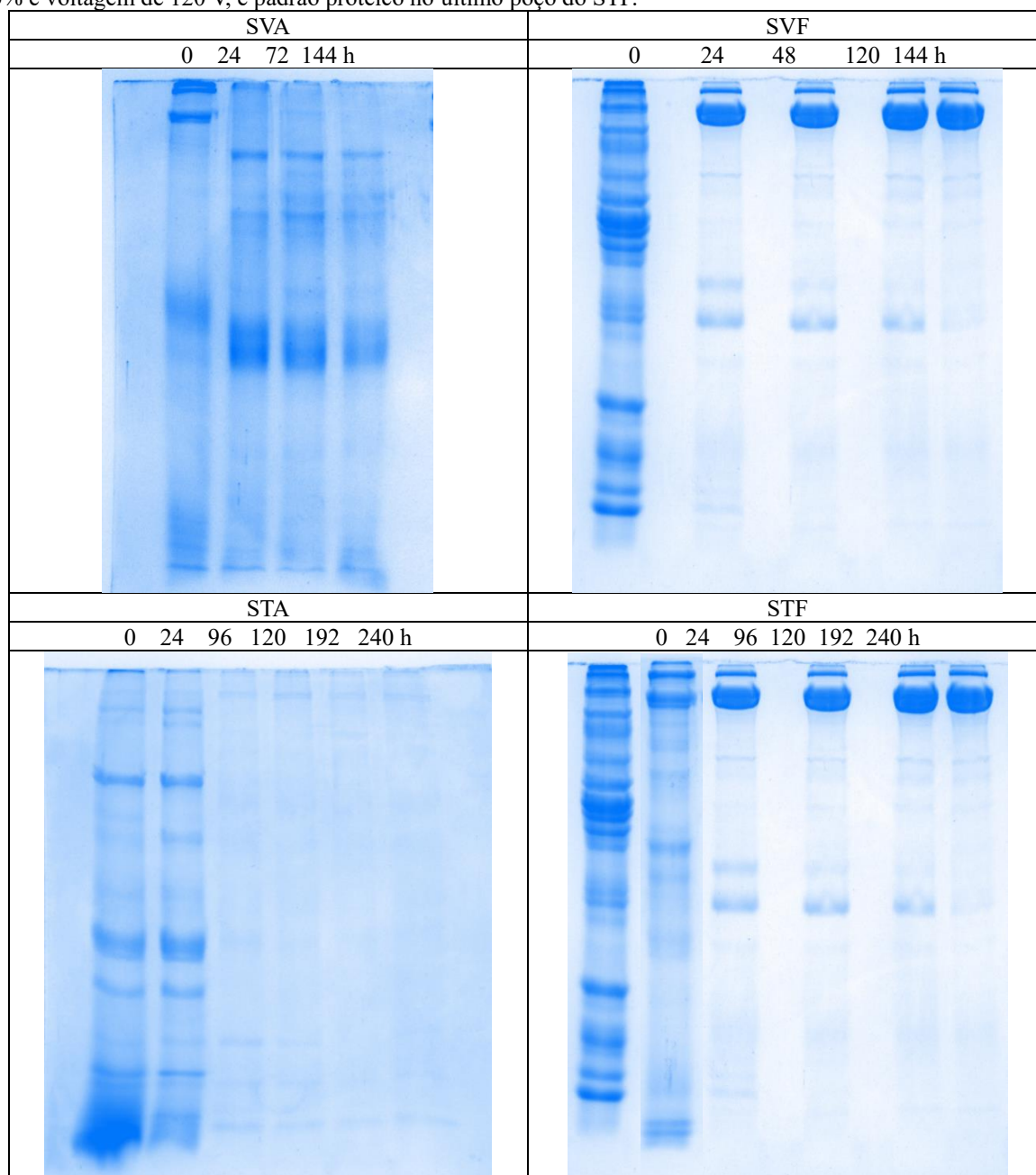


Fonte: Próprio autor

Os diferentes tipos de matérias-primas, vísceras ou resíduos totais, e os processamentos, ácido ou fermentado, apresentaram diferentes padrões nas bandas proteicas nos diferentes métodos de interrupção nos processos de hidrólise. Estes resultados mostram que mesmo as silagens apresentando concentração proteica igual (padronizadas 257,18µg), os métodos de interrupção modificaram as proteínas das silagens e o aquecimento foi o que mais alterou o perfil das bandas proteicas.

Os resultados de SDS-PAGE das silagens em diferentes tempos de hidrólise são apresentados na Figura 3.

Figura 3. SDS-PAGE das amostras das silagens em diferentes tempos de hidrólise, sendo aplicados 136,36 µg de proteína em gel de 15% e voltagem de 120 V, e padrão proteico no último poço do STF.

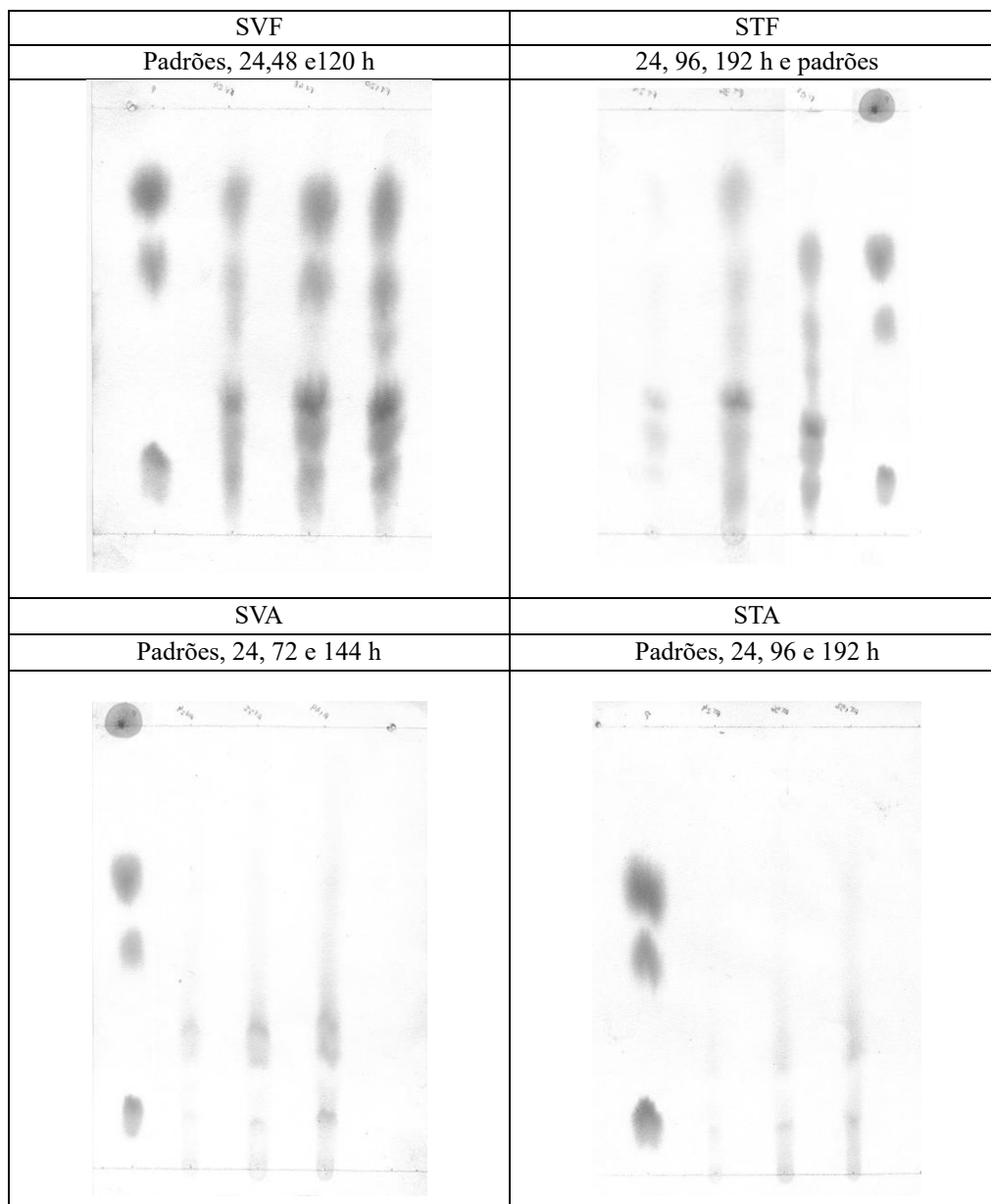


Fonte: Próprio autor

3.1.1 Cromatografia em papel

Os resultados das cromatografias em papel são apresentados na Figura 4.

Figura 4. Cromatografia em papel das amostras SVF com 24, 48 e 120 horas de hidrólise, STF com 24, 96 e 192 horas de hidrólise, SVA com 24, 72 e 144 horas de hidrólise, STA com 24, 96 e 192 horas de hidrólise, padrões leucina 1%, lisina 1% e triptofano 1%).



Fonte: Próprio autor

Foi possível observar que o aumento no tempo de hidrólise promoveu também um aumento no halo de dispersão dos aminoácidos, mostrando que há maiores teores de aminoácidos livres nos maiores tempos de hidrólise.

4 DISCUSSÃO

A produção das silagens por processamento ácido e fermentado foi viável e de fácil desenvolvimento. Nos diferentes pilotos experimentais executados anteriormente, foi confirmada a



repetibilidade dos resultados dos teores de PB e o aparecimento das mesmas bandas proteicas nos SDS-PAGE.

As análises de caracterização peptídica dos SDS-PAGE apresentaram resultados diferentes dos encontrados na análise do teor de proteína bruta. O maior teor de PB foi encontrado no STA (28,84%) após interrupção com aquecimento. Por outro lado, esta amostra no SDS-PAGE apresentou bandas proteicas menos evidentes, mesmo as amostras apresentando concentrações proteicas iguais (257,18µg). Esta diferença pode estar ligada aos diferentes métodos utilizados na interrupção das silagens. O método de dosagem de nitrogênio pelo LECO é baseado na quantidade de nitrogênio total. Portanto, as amostras deveriam apresentar teores de PB bruta similares quando utilizada a mesma matéria-prima no processamento.

Os resultados dos teores de aminoácidos totais foram diferentes entre as matérias-primas e o tipo de processamento na produção da silagem. Os menores teores de aminoácidos presentes nas silagens fermentadas podem ser devidos à presença de microrganismos acidoláticos que provavelmente os utilizaram como fonte de energia.

As amostras que foram interrompidas pelo método de aquecimento apresentaram, em geral, valores maiores em relação ao método de congelamento. Contudo, o método da neutralização apresentou valores menores, o que provavelmente está ligado ao fato da mesma, possivelmente, interferir na dosagem de proteína bruta, pela formação de sais. O SDS-PAGE mostrou que quando ocorre interrupção da hidrólise por aquecimento, a desnaturação proteica fica bem evidente, pela menor quantidade de bandas proteicas em relação aos outros métodos de interrupção; certamente o aquecimento acelerou a hidrólise, resultando em moléculas muito pequenas.

A utilização do método de interrupção da hidrólise por congelamento com nitrogênio líquido apresentou os menores valores proteicos. Este método de interrupção foi descartado para os novos estudos de processamento por ser oneroso e menos eficiente.

Com os resultados das análises dos teores de PB e SDS-PAGE, o melhor método para interrupção dos processos de hidrólise foi a neutralização das silagens com hidróxido de sódio (NaOH). O NaOH é um produto simples, facilmente adquirido, e viável, por apresentar baixo valor de comercialização.

5 CONCLUSÃO

A caracterização peptídica das silagens produzidas por diferentes matérias-primas, processamentos e métodos de interrupção apresentou fracionamento proteico diferente com o aumento do tempo de hidrólise. A produção das silagens foi viável e apresentou características favoráveis para utilização deste produto em dietas para peixes.



AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa (Processo 2013/16773-9). Ao Prof. Dr. José Otávio e piscicultura Tuiuiú pela doação dos resíduos para produção das silagens. Ao Prof. Dr. João Pizauro Jr. e aos alunos do laboratório de Enzimologia Aplicada a Agropecuária



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Vicoso, MG: SIF, 1999. 242 p.
- AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 2000.
- COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. Introdução a métodos cromatográficos. 5.ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.
- DONG, F.M.; FAIRGRIEVE, W.T.; SKONBERG, D.I.; RASCO, B.A. Preparation and nutrient analyses of lactic acid bacteria ensiled salmon viscera, Aquaculture, Amsterdam, v.109, p.351, 1993.
- GUERARD, F.; DUFFOSE, L.; DE LA BROISE, D.; BINET, A. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using alcalase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, Amsterdam, v.11, p.1051-1059, 2001.
- HARTREE, E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Analytical Biochemistry, Amsterdam, v.48, p.422-427, 1972.
- KOTZAMANIS, Y.P.; GISBERT, E.; GATESOUBE, F.J.; ZAMBONINO INFANTE, J.; CAHU, C. Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Comparative Biochemistry Physiology, London, v.147A, p.205-214, 2007.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, London, v.227, n.5259, p.680-685, 1970.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. Lehninger: princípios de bioquímica. 4.ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2004.
- NEIRA, L. M.; GONCALVES, A. M.; BUZOLLO, H.; DE SANDRE, L. C. G.; DO NASCIMENTO, T. M. T.; COUTINHO, J. J. O.; PIZAURRO JUNIOR, J. M. PIZAURRO; CARNEIRO, D. J.. Effect of acid and fermented silage hydrolysis time on protein fractionation and digestibility for Nile Tilapia. ANIMAL FEED SCIENCE AND TECHNOLOGY, v. 318, p. 12-pg., 2024-10-09.
- RAA, J.; GILDBERG, A. Fish silage: a review. Critical Review Food Science and Nutrition, Malden, v.16, n.4, p.383-419, 1982.
- ROJAS-GARCÍA, C.R.; RØNNESTAD, I. Assimilation of dietary free amino acids, peptides and protein in post-larval Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Marine Biology, Heidelberg, v.142, p.801-808, 2003.
- ROSLAN, J.; YUNOS, K.F.M.D.; ABDULLAH, N.; KAMAL, S.M.M. Characterization of fish protein hydrolysate from tilapia (*Oreochromis niloticus*) by- product. Agriculture and Agricultural Science Procedia, Amsterdam, v.2, p.312 – 319, 2014.



ROSSI, D.M.; FLÔRES, S.H.; HECK, J.X.; AYUB, M.A.Z. Production of high-protein hydrolysate from poultry industry residue and their molecular profiles. Food Biotechnology, London, v.23, n.3, p.229-242, 2009.

SHAHIDI, F.; HAN, X-Q.; SYNOWIECKI, J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry, London, v.53, p.285, 1995.

SILVA, J.F.X.; RIBEIRO, K.; SILVA, J.F.; CAHÚ, T.B., BEZERRA, R. Utilization of tilápia processing waste for the production offish protein hydrolysate. Animal Feed Science and Technology, New York, v.196, p.96–106, 2014.

SILVA, V.M.; PARK, K.J.; HUBINGER, A. D. Optimization of the enzymatic hydrolysis of mussel meat. Journal of Food Science, Oxford, v.75, n.1, p.36-42, 2010.

SRICHANUN, M.; TANTIKITTI, C.; KORTNER, T.M.; KROGDAHL, A.; CHOTIKACHINDA, R. Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. Aquaculture, Amsterdam, v.428, p.195–202, 2014.

THAKAR, P.N.; PATEL, J.R.; JOSHI, N.S. Protein hydrolysates: a review, Indian Journal of Dairy Science, New Delhi, v.44, n.9, p.557, 1991.

VAN WYK, H.J.; HEYDENRYCH, C.M.S. The production of naturally fermented fish silage using various lactobacilli and different carbohydrate sources. Journal of the Science and Food Agriculture, Chichester, v.36, p.1093, 1985.

VENUGOPAL, V.; CHAWLA, S.P.; NAIR, P.M. Spray-dried protein powder from threadfin beam: preparation, properties and comparison with FPC type B. Journal of Muscle Foods, Malden, v.7, p.55-58, 1985.