

Estudo bromatológico de concentrados proteicos obtidos a partir da *Sardinella Aurita* e da *Tilapia Melanopleura*

I. - Ensaio das proteínas

FRANCO M. LAJOLO*, SÉRGIO M. ZUCAS* e JOÃO B. DOMINGUES*
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Brasil

RESUMO

Os autores ensaiaram as proteínas de concentrados proteicos de Sardinha e de Tilápia, obtidos com isopropanol e dirigidos para consumo humano, por métodos químicos e biológicos.

O cômputo químico em relação à metionina (fator limitante principal) foi de 74, 69, 58, 100, para os concentrados de Tilápia, Sardinha, Caseína e ovo respectivamente.

O valor biológico foi ensaiado nos níveis de 10 e 20% de proteína na ração com e sem suplementação mineral.

O C.E.P. (10% de proteína na ração) foi de 3,37 para o concentrado de Tilápia, 3,56 para o de sardinha e 3,00 para Caseína. O NPU aparente foi na mesma ordem de 64.57, 58.55, 51.29. Os grupos sem suplementação mineral tiveram aproveitamentos biológicos menores do que os da Caseína.

INTRODUÇÃO

Um dos mais sérios problemas resultantes do binômio população produção de alimentos é representada pela deficiência de proteínas alimentares de alto valor biológico.

Dentre as principais fontes dessas proteínas, destacam-se os peixes e pescados, cujo potencial, infelizmente, sofre profundas perdas como decorrência da perecibilidade desses produtos. Esse desperdício, é acompanhado de graves implicações econômicas, e de Saúde Pública.

* Profs. do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.
Recibido: 14-11-73.

Uma das formas de equacionar o problema, seria a obtenção de concentrados proteicos, produzidos a partir de peixes inteiros ou de resíduos de sua industrialização, pelas características fundamentais que esses concentrados apresentam de: elevado valor biológico, baixo custo, fácil conservação e aproveitamento de alimentos potencialmente condenados à destruição.

Para melhor atender às exigências do consumo humano, existem dois tipos principais de CPP (Concentrados proteicos de pescado) que podem ser obtidos (6): tipo A, desengordurado e desodorizado contendo no máximo 0,7% de lípides e que se destinaria às pessoas que não apreciam o sabor de peixe; tipo B, com um teor de até 3% de gorduras, mais adequado àqueles que estão habituados a esse sabor e odor.

No Brasil em razão dos hábitos tradicionais da população, a preferência seria o tipo A. Este concentrado, além do mais, não apresenta o inconveniente de rancificação e conseqüente desenvolvimento de odores estranhos e formação de compostos nocivos.

A maior parte dos métodos utilizados na produção de concentrados do tipo A, baseia-se no emprêgo de solventes para a desidratação e desengorduramento do material. Neste sentido, trabalhos foram desenvolvidos seja empregando o 1,2 dicloroetano (9) ou o isopropanol (21), seja utilizando misturas de hexano-etanol ou apenas etanol (4) (22): o método do isopropanol não foi porém testado com peixes gordurosos. Devem ser ainda citados os métodos autolíticos (17) e a produção de "isolados proteicos" de peixes (12).

Em 1967, o Food and Drug Administration aprovou dois processos para a obtenção de concentrados proteicos (20), um deles baseado na extração com o 1,2-dicloroetano e, o outro com isopropanol.

Morrison e Murno (16) estudaram comparativamente concentrados obtidos com hexano, etanol isopropanol e dicloroetano, constatando que este último causava extensa destruição, da cistina e da histidina, diminuindo além disso, a capacidade de liberação por hidrólise enzimática desses dois tipos de amino-ácidos e também a da metionina. Recentemente Dubrow e Stillings (5) estudaram a influência do calor seco e do calor úmido sobre concentrados proteicos.

Por outro lado, comparativamente aos trabalhos efetuados sobre concentrados de peixes marinhos, poucos estudos existem sobre os peixes de água doce, podendo ser citados os de De (1), De e Hannam (2) e March e col. (11). Uma excelente revisão bibliográfica sobre concentrados proteicos até 1970 foi publicada pela Library of Congress Whashington (10).

O objetivo do nosso trabalho foi o de estudar as possibilidades nutricionais de concentrados proteicos obtidos a partir de duas espécies brasileiras de peixes, uma de água doce, a *Tilápia melanopleura* e a outra de água salgada, a *Sardinella aurita*. A Tilápia aparece como "subproduto" devido à necessidade do desbaste periódico em tanques de criação necessário para obtenção de peixes maiores.

MATERIAL E MÉTODOS

Material utilizado

As tilápias foram obtidas nos tanques de criação da Estação Experimental de Piscicultura de Pirassununga e mediam de 9 a 16 cm de comprimento. No mesmo dia da captura foram lavadas com água, trituradas em moedor de carne, adicionadas de isopropanol e processadas no dia seguinte. As sardinhas foram adquiridas no comércio local, medindo de 13 a 18 cm de comprimento e sofreram tratamento idêntico.

A ração básica fornecida aos animais tinha em sua composição 76% de Amido de milho, 10% de Sacarose, 8% de Oleo de Soja, 1% de Mistura vitamínica, 4% de Mistura salina, 1% de Celulose e 0,1% de Acido benzóico como conservador.

A mistura vitamínica e a mistura salina foram descritas anteriormente (24).

A partir da ração de base preparamos as rações experimentais adicionando as fontes proteicas às expensas do amido e da mistura salina, de forma a obter o nível desejado de proteína e de minerais.

Os grupos foram designados por T, T₁, e T₂ (tilápia), S, S₁, e S₂ (Sardinha) e C₁ e C₂ (caseína). As de índices 1 e 2 referem-se aos níveis de proteína utilizados, respectivamente 10 e 20%; nos grupos T e S, os níveis de proteína também foram de 10% mas continham exclusivamente os concentrados

TABELA 1
COMPOSIÇÃO DAS RAÇÕES, RESULTADOS PERCENTUAIS (g/100 g)

RAÇÃO	UMIDADE	PROTEÍNA	LÍPIDES	CINZA	FIBRA	GLÍCIDES*
C ₁	9,21	9,68	8,11	3,45	0,96	68,59
C ₂	8,19	19,08	8,90	3,58	1,02	59,23
T	8,69	10,58	8,29	1,66	1,01	69,77
T ₁	8,57	9,60	8,65	3,70	0,93	68,38
T ₂	8,77	18,35	8,93	3,94	0,86	58,83
S	7,88	11,76	8,80	1,41	1,09	69,06
S ₁	8,82	10,05	7,54	3,56	0,94	69,09
S ₂	5,18	20,00	7,59	4,04	1,12	62,07

* Resultados obtidos por diferença.

de peixe como fontes de minerais, sem qualquer suplementação. A análise das rações encontra-se na Tabela 1.

Como proteína padrão, usamos a caseína alimentar (80% de proteína 5,3% de minerais, 11,2% de umidade e 3,5% de lípidos + glícidos).

MÉTODOS

Preparação dos concentrados proteicos

No preparo dos concentrados proteicos, procedemos à desidratação, desengorduramento e desodorização dos peixes triturados, por extrações sucessivas com isopropanol, segundo o método preconizado pelo "Bureau of Commercial Fisheries" (21), segundo o esquema seguinte: cerca de 20 quilos de peixe foram tratados com 30 litros de isopropanol a 91% durante 12 horas, após o que a mistura foi agitada por uma hora e centrifugada. A torta foi então extraída com 15 litros de isopropanol a 91% a 70°C por uma hora, em recipiente com camisa de vapor sob agitação e a seguir a micela foi centrifugada, mantendo-se a temperatura. Nas duas extrações seguintes, utilizamos isopropanol a 99% à mesma temperatura, sendo que na terceira extração utilizamos 12 litros e na quarta, 8 litros do solvente.

Após a operação de extração, as tortas obtidas foram secas a 60°C durante 10 horas em corrente de ar, e finalmente, 4 horas a 80°C. A seguir o material foi pulverizado em moinho de bolas e tamizado em peneira (malha de 0,177 mm). O pó obtido constitui-se no concentrado proteico utilizado para o preparo das rações experimentais, o que foi feito seguindo técnica já descrita.

Análises

As determinações de umidade, minerais, lípidos e proteínas foram feitas pelos métodos convencionais, o triptofano foi determinado pela técnica de Miller (13) após hidrólise alcalina e outros aminoácidos após hidrólise ácida e em analisador Beckmam 120 C.

Avaliação do aproveitamento biológico

O animal usado foi o *Rattus norvegicus*, var. *albinus* de raça Wistar, macho, idade entre 23 e 25 dias mantidos em

gaiolas do tipo metabólico, testados anteriormente em nosso Departamento (24). Após 28 dias de experiência os animais foram sacrificados, sendo eliminados o estômago e os intestinos. A carcaça foi pesada, subdividida, desecada em estufa a 105°C, desengordurada e conservada para análises posteriores.

Um grupo "G" de animais foi sacrificado no início da experiência, sofrendo o mesmo tratamento referido e servindo como controle.

Na avaliação do aproveitamento biológico, utilizamos: Coeficiente de eficácia alimentar (C.E.A.), aumento de peso por g de ração ingerida, Coeficiente de eficácia proteica (C.E.P.), aumento de peso por g de proteína ingerida e a relação nitrogênio retido na carcaça/Nitrogênio ingerido (NPU aparente).

Na comparação das médias dos resultados obtidos em cada grupo, valemo-nos do teste "T" de Student e Fisher. A significância foi testada ao nível de 5% e de 1%. Cada grupo era composto de seis ratas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica utilizada com o uso de isopropanol permitiu obter concentrados proteicos de sardinha e de tilápia inodoros, insípidos e com teor mínimo de lípidos residuais (Tabela 2) sendo portando do tipo A, (6) para consumo humano. Essas características se mantiveram por dois anos nos concentrados guardados em sacos plásticos.

Com relação ao aminograma, o concentrado de Tilápia mostrou relação E/T (aminoácidos essenciais/aminoácidos totais), superior ao da sardinha (Tabela 3) ambos porém semelhantes aos aminogramas obtidos para outros concentrados (7). tais), superior ao da sardinha (Tabela 3) ambos porém semelhantes aos aminogramas obtidos para outros concentrados (7). Os aminoácidos sulfurados, especialmente no concentrado de sardinha mostraram-se baixos, inferiores aos dos peixes frescos e refletindo sua labilidade termica (3) (5).

TABELA 2
COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS CONCENTRADOS PROTEICOS
RESULTADOS MÉDIOS, EXPRESSOS EM g/100 g.

Fração	Concentrado	
	Tilápia	Sardinha
UMIDADE RESIDUAL	6,43	3,40
PROTEINA (Nx6,25)	80,75	86,34
EXTRATO ETÉREO	0,26	0,10
CINZA	12,10	10,19
INDETERMINADOS POR DIFERENÇA	0,86	—

TABELA 3
COMPOSIÇÃO EM AMINO-ACIDOS ESSENCIAIS DOS CONCENTRA-
DOS PROTEICOS. RESULTADOS EXPRESSOS EM g/100g DE
PROTEINA

Amino - Ácido	Concentrado	
	Tilápia	Sardinha
ISOLEUCINA	4,705	3,733
LEUCINA	7,296	6,050
LISINA	8,810	7,753
FENINALANINA	3,978	3,448
TIROSINA*	3,305	3,013
1/2 CISTINA*	1,045	0,576
METIONINA	2,273	2,176
TREONINA	4,528	3,581
TRIPTOFANO	1,560	1,569
VALINA	4,390	4,708

* Aminoácido não considerado essencial.

O computo proteico, calculado a partir do aminograma, segundo proposto pela FAO (8) mostrou que os sulfurados são o fator limitante principal, com valores de 74, 69, 58, 100, respectivamente para os concentrados de Tilápia, Sardinha, Caseína e Ovo.

A existencia de um fator limitante representado pelos ulfurados não surpreende e já foi verificada por outros autores (15) (17) (18) (22) (23). A lisina por outro lado está em excesso em relação à proteína padrão considerada (ovo), fato importante para uma possível utilização na suplementação de farinhas de cereais.

Os resultados relativos aos ensaios com animais estão na Tabela 4; verifica-se que o crescimento dos animais submetidos a rações com 20% de proteína, eliminaram possíveis indicações de toxicidade, apresentando maior consumo de ração e logo maior CEA.

Comparando os grupos que receberam 10% de proteínas, vemos que o consumo de ração dos grupos T₁, e S₁ foi superior ao do grupo C, (P<0,01) tendo-se verificado, em correspondência que o C.E.A. dos animais alimentados com os concentrados era superior ao dos animais alimentados com a caseína. Tal fato indica a superioridade dos concentrados sobre a caseína, não se evidenciando, porém superioridade de um sobre outro.

Comparando os mesmos índices com as rações contendo 20% de proteína, apesar de os ratos submetidos às dietas de caseína ingerirem menos ração (P<0,01) do que os que a recebiam com os concentrados, não se verificou diferença significativa no peso da carcaça seca e desengordurada (em grammas os Pesos foram de: 44,75 ± 0,91; 46,02 ± 1,83 e 43,94 ± 0,73 respectivamente para os grupos C₂, T₂, e S₂). C.E.A. porém foi superior para a ração contendo caseína.

O C.E.P., medido ao nível de 10% de proteína na ração, nas rações balanceadas, mostrou serem as proteínas dos concentrados de qualidade superior à da caseína (P<0,01), resultado que concorda com o obtido para o C.E.A. Não foi, porém, evidenciada, superioridade significativa de um concentrado sobre outro, ao nível estatístico registrado.

Como a medida do valor biológico de uma proteína pelo C.E.P. baseia-se apenas no aumento de peso, também deter-

TABELA 4
AUMENTO DO PÉSO, CONSUMO DE RAÇÃO, C.E.A., C.E.P., N RETIDO %

GRUPO	P E S O (g)		RAÇÃO INGERIDA (g)	C.E.A.	C.E.P.	N RETIDO %
	INICIAL	FINAL				
C ₁	± 40,6	± 131,3	± 312,2	± 0,291	± 3,003	± 51,29
	± 1,0	± 4,6	± 8,9	± 0,007	± 0,076	± 2,00
C ₂	± 41,0	± 189,6	± 330,2	± 0,450	± 2,357	± 36,69
	± 1,0	± 4,5	± 2,9	± 0,013	± 0,068	± 1,00
T	± 34,7	± 106,3	± 251,1	± 0,286	± 2,703	± 55,06
	± 0,7	± 2,8	± 5,4	± 0,010	± 0,096	± 1,27
T ₁	± 39,7	± 165,8	± 350,7	± 0,359	± 3,376	± 64,57
	± 1,6	± 5,6	± 9,1	± 0,008	± 0,081	± 0,66
T ₂	± 40,8	± 195,8	± 371,3	± 0,417	± 2,273	± 42,86
	± 1,2	± 7,2	± 11,0	± 0,005	± 0,02	± 0,55
S	± 34,8	± 110,9	± 247,9	± 0,307	± 2,607	± 48,99
	± 0,7	± 3,7	± 6,3	± 0,005	± 0,048	± 0,82
S ₁	± 41,6	± 172,8	± 365,9	± 0,358	± 3,567	± 58,55
	± 1,3	± 6,7	± 9,9	± 0,007	± 0,007	± 1,03
S ₂	± 41,4	± 188,2	± 357,2	± 0,415	± 2,074	± 36,55
	± 1,3	± 3,8	± 4,1	± 0,009	± 0,045	± 0,31

minamos a retenção de nitrogênio; para este fim, o exame de carcaça pode dar informações sobre a utilização proteica líquida aparente, aparente pois a retenção do nitrogênio foi estabelecida pela diferença entre o nitrogênio final-inicial obtido do grupo G a não por análise da carcaça de animais mantidos sob dieta aprroteica, normalmente usada para a determinação da utilização proteica líquida (14).

Os valores obtidos para o aproveitamento do nitrogênio, comparados aos do cômputo proteico, confirmam as indicações fornecidas pela análise dos aminoácidos (Tabela 3).

Na Tabela 5, estão representados os valores do cômputo e do aproveitamento do nitrogênio, calculados em relação à caseína fixada como 100, ilustrando a correspondência existente. Isto confirma a superioridade dos concentrados sobre a caseína e permite considerarmos o concentrado de tilápia superior ao da sardinha, superioridade que o C.E.P. não evidenciara.

TABELA 5
COMPARAÇÃO ENTRE CÔMPUTO QUÍMICO E NPU APARENTE

Método	Fonte Proteica		
	Caseína	Sardinha	Tilápia
CÔMPUTO PROTEICO	100	119	127
APROVEITAMENTO % DO N (10% DE PROTEINA NA RAÇÃO)	100	114	126

A Tabela mostra ainda a correspondência entre o cômputo químico e o aproveitamento do nitrogênio (NPU aparente). As rações que continham apenas os concentrados de peixes como fontes de minerais mostraram valor biológico inferior, indicando alguma deficiência mineral.

CONCLUSÕES

O uso de isopropanol para a desidratação, desengorduramento e desodorização de *Sardinella aurita* e de *Tilápia melanopleura*, peixes de alto teor de gordura, permitiu a obtenção de concentrados proteicos inodoros e insípidos, com baixo teor de lípidos residuais e boa estabilidade.

O cômputo proteico, calculado em relação à proteína do ovo foi de 74 para a tilápia e de 69 para a sardinha e correspondeu ao valor biológico obtido pelo NPU aparente, sendo que a fator limitante principal é representado pela metionina.

O valor biológico da proteína, medido pelo C.E.P. e NPU aparente mostrou-se superior ao da Caseína.

SUMMARY

Bromatological study of protein concentrates from *Sardinella aurita* and *Tilapia melanopleura*. I.-Assay of the protein

The authors studied the protein from Fish Protein Concentrates (FPC) obtained by isopropanol extraction of *Sardinella aurita* and *Tilapia melanopleura*.

Data from amino acid analysis are presented and the Chemical Score in relation to methionine was 74; 69; 58; 100 for Tilápia, Sardine, casein and egg protein and agreed with NPU, the PER was 3.73 for the tilapia concentrate, 3.56 for Sardine and 3.00 for casein; the NPU in the same order was 64.57; 58.55; 51.29. The minerals of FPC, without any supplementation did not support the normal growth of young rats.

BIBLIOGRAFIA

1. De, H. N. A note on the relative nutritive value and the total and "available" methionine, Tryptophane and histidine in some fish flours. *Pakistan J. Sci. Ind. Res.*, Karachi, 6: 299-301., 1963.
2. De, H. N. & A. Hannan. Fish flour its biochemical and nutritional studies I. Yield and chemical composition of fish protein concentrate (FPC) and fish meal (FM) prepared from various freshwater fish of East Pakistan by application of improved techniques. *Sci. Res. (Dacca, Pakistan)* 2 (3): 85-94, 1965.
3. Donoso, G. et alii. Effect of heat treatment on the nutritive value of proteins: chemical and balance studies. *J. Sci. Fd. Agric. London*, 13: 192-196, 1962.
4. Dreosti, G. M. Fish flour. Technological developments in South Africa. In: Heen, E. & R. Kreuzer (ed.) *Fish in Nutrition*, London, Fishing News (Books) Ltd., 1962, p. 425-431.
5. Dubrow, D. L. e B. R. Stillings. Effect of heat on the chemical and nutritive stability of fish protein concentrate (F.P.C.). *J. Food Sci.* 35 (5) 677, 1970.
6. F.A.O./Nutrition Division. The use of fish flour as human food *Proc. Nutr. Soc. Cambridge*, 17(2): 153-160, 1958.
7. F.A.O./Nutrition Division-Food Consumption and Planning Branch. *Amino acids contents of foods and biological data on proteins*. Rome, 1968, 280 p.

8. F.A.O./W.H.O. Protein Requirement-Report e joint. FAO/WHO Expert Group Rome, 1965/FAO Nutrition Meeting Report Series, N^o 37, WHO Technical Report Series, N^o 301.
9. Guttman, A. & F. A. Vandenheuvel. The production of edible fish protein (Fish flour) from cod na haddock-Fish. Res. Ed. Canada Prog. Rep. Atlant. Coast St. N^o 67: 29-31, 1957.
10. Library of Congress, Washington 1970. Fish Protein Concentrate a Comprehensive Bibliography.
11. March, B. E. et alii. Composition and nutritive value of meals from alewife, sheepshead, maria and tullibee. J. Fish. Res. Bd. Can. Ottawa, 24(6) 1291-1298, 1967.
12. Meinke, W. W. at alii. Some factors influencing the production of protein isolates from whole fish. J. Food Sci. 37(2): 195, 1972.
13. Miller, E. L. Determination of the tryptophan content of feedingstruff with particuar reference to cereals. J. Sci. Fd. Agric. London 18(9) 381-386, 1967.
14. Miller, D. S. & A. D. Bender, The determination of the ent utilization of proteins by a shortened method. Br. J. Nutr. London 9(4): 382-388, 1955.
15. Morrison, A. B. & J. M. McLaughian, Variability in nutritional value of fish flour. Can. J. Biochem. Physiol. Ottawa, 39(3): 511-517, 1961.
16. Morrison, A. B. & I. C. Murno. Factors influencing the nutritional value of fish flour. IV. Reaction between 1,2-dichloroethane and protein. Can J. Biochem. Physiol. Ottawa, 43(1): 33-40.
17. Morrison, A. B. & Z. I. Subry. Factors influencing the nutritional value of fish flour. II. Avaibility of lysine and sulfur amino acids. Cand. J. Biochem. Physiol. Ottawa, 41(3): 649-655, 1963.
18. Stillings, B. R. et alii. Sequence of limiting amino acids in fish protein concentrate produced by isopropyl acohol extraction of red hake (Urophycischuss). J. Nutr. Baltimore, 97(1): 70-78, 1969.
19. Tarky, W. at alii. Protein hidrolizate from fish waste. J. Food Sci. 38(6): 917, 1973.
20. U. S. Department of Health Education and Welfare. Food and Drug Administration Rules and regulations, § 121.1202: whole fish protein concentrate Fed. Reg. Washington, D.C. 32(22): 1174, 1967.
21. U. S. Dept. of the Interior Fish and Wildlife Service. Bureau of Commercial Fisheries-Marine protein concentrate, Washington, 1966, 26 p. Fishery Beaflet, 584.
22. Yánez, E. & Donoso, G. Harina de pescado, aspectos biológicos tecnológicos y económicos. Nutrición Bromatol. Toxicol. Santiago de Chile 3(2): 43-62, 1964.
23. Yanez, E. et alii. The fish protein concentrate story. 6. Quintero fish protein concentrate: protein quality and use in foods. F. Technol. Champaign 21(12): 1604-1610, 1967.
24. Zucas, S. M. et alii. Gaiola metabólica para ratos ensaiada com ⁶⁵Zn (enviado para publicação).