

ESTUDO DO PAPEL DAS PROTEÍNAS MICROBIANA E DO SORO DE QUEIJO NO CRESCIMENTO DE ALEVINOS DE TABARANA (*Salminus hilarii*)

Beatriz de Oliveira¹; Gabriel I. H. de Souza²; Elisa Esposito³

Estudante do Curso de Ciências Biológicas; e-mail: beatrizoliveira_bio@yahoo.com.br¹

Estudante de Mestrado em Biotecnologia (UMC), email: gabrinacio@gmail.com²

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: elisa@umc.br³

Área do Conhecimento: Biotecnologia / Nutrição Animal

Palavras-chaves: soro de queijo; proteína microbiana; proteínas do soro; quitosana; *Salminus hilarii*

INTRODUÇÃO

O soro de queijo é um resíduo produzido em grande quantidade pela agroindústria e, embora, apresente um alto potencial nutritivo, é largamente descartado no meio ambiente onde provoca sérios impactos ambientais. Destacamos duas formas de utilização do soro de queijo: 1º) como substrato fermentativo da levedura *Kluyveromyces marxianus*. Essa levedura apresenta a β -galactosidase, enzima capaz de degradar a lactose presente no soro, obtendo energia para produção de biomassa rica em proteína (SABRA, 2004); 2º) utilização das proteínas do soro isoladas, representadas principalmente pelas frações α -lactoalbumina e pela β -lactoglobulina (CAPITANI, 2004). Tanto a proteína unicelular quanto as proteínas do soro podem ser utilizadas na alimentação animal, reduzindo custos de produção, sem, no entanto, comprometer a qualidade nutricional das rações.

OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho é substituir parcialmente a principal fonte protéica das rações comerciais, a farinha de peixe, por proteína microbiana obtida a partir da fermentação do soro de queijo por *Kluyveromyces marxianus*, e por proteínas isoladas do soro de queijo obtidas após separação por quitosana e ultrafiltração, avaliando a eficiência dessas proteínas no crescimento e aumento de biomassa de alevinos de tabarana (*Salminus hilarii*).

METODOLOGIA

As fermentações foram conduzidas em um fermentador BIOFLO III, e as condições foram: pH entre 6,5-7,0, temperatura de 30 °C, aeração de 4 L de ar.min⁻¹, e após centrifugação do fermentado a 3500 rpm durante 10 minutos foi possível a obtenção de uma biomassa rica em proteína microbiana (SABRA, 2004). Já as proteínas isoladas do soro de queijo foram obtidas após reação de interação com quitosana a diferentes concentrações (0,1 %, 0,3 %, 0,6 % e 0,9 % - p/v) e faixas de pH, conforme metodologia descrita por Capitani (2004) e a partir da separação por ultrafiltração. As proteínas microbianas e do soro substituíram cerca de 40 % da proteína animal nas rações experimentais, I e II, respectivamente. Os alevinos de *Salminus hilarii* foram divididos em dois grupos, sendo que o grupo controle receberia durante dois meses a ração convencional e o grupo experimental receberia no primeiro mês a ração contendo as proteínas do soro e no segundo mês a ração contendo a proteína microbiana. As

biometrias devem ser realizadas a cada 15 dias e os resultados analisados estatisticamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros de crescimento de *K. marxianus* em soro de queijo foram similares a outros previamente reportados. O processo inicial de fermentação em biorreator foi realizado em batelada, porém, foi observada uma melhora no rendimento de proteína unicelular quando se passou a trabalhar com o processo semi-contínuo, sendo que após 72 horas foram produzidas $167,4 \pm 10,3$ g/L de massa úmida de células (MUC). Essa biomassa foi enviada ao Laboratório de Química Biológica no Instituto de Química da UNICAMP para ser liofilizada e após esse processo foi acrescida sem nenhum tratamento à ração formulada. A recuperação das proteínas do soro de queijo foi feita através do processo de coacervação com o polissacarídeo quitosana, onde um complexo insolúvel entre as moléculas foi formado. Diferentes concentrações do polissacarídeo foram testadas, visando a máxima recuperação das frações protéicas do soro de queijo. O pH foi outro parâmetro testado a fim de verificar sua influência no processo. A Figura 1 demonstra os resultados obtidos após a realização dos ensaios.

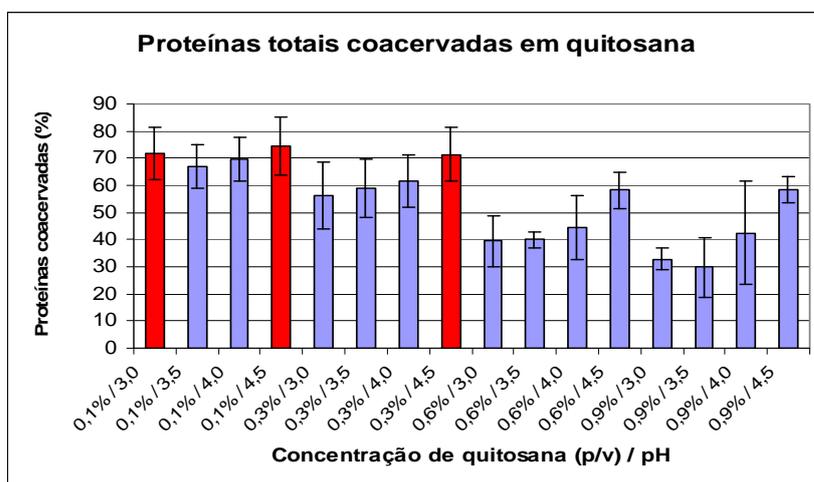


Figura 1: Concentração de proteína bruta do soro de queijo após complexação e precipitação das frações a diferentes pHs e concentrações de quitosana.

Os melhores resultados foram alcançados quando se utilizou a concentração 0,1 % (p/v) nos pHs 3,0 e 4,5 e a concentração 0,3 % (p/v) em pH 4,5, obtendo, respectivamente, $71,57 \% \pm 9,64 \%$, $74,36 \% \pm 10,74 \%$ e $71,38 \% \pm 9,85 \%$ de proteínas precipitadas. Com relação à concentração do polissacarídeo, esses resultados corroboram os de Capitani (2004) que utilizou em seu trabalho a carboximetilcelulose.

A análise estatística comparando os grupos de melhor complexação com os demais grupos, houve diferença significativa quanto ao teor de proteínas coacervadas em quitosana. O grupo que apresentou resultados mais satisfatórios não mostrou diferença significativa ($p = <0,05$) entre as três concentrações, assim sendo optou-se por repetir os experimentos com esse grupo de 0,3 % (p/v) de quitosana, pois o precipitado apresentou maior consistência, facilitando o manuseio. O pH 4,5 e 3,0 apresenta-se abaixo do ponto isoelétrico (pI) dos diferentes grupos de proteínas do soro (Tabela 3), fator essencial para que as interações eletrostáticas do processo de coacervação ocorram. Estes valores de pH estão mais próximos ao pI das frações protéicas predominantes no soro de queijo, β -Lg e α -La, contudo, devido a presença de grupos aminos na superfície da quitosana,

onde a mesma confere propriedades policatiônica quando abaixo de seu PI (6,5), ocorre a provável interação entre as cargas positivas do carboidrato e, preferencialmente, proteínas com pI < 6,5, o que explicaria a maior concentração de proteínas precipitadas nesses valores de pHs. As rações experimentais I e II, contendo inicialmente 28 % de proteína animal receberam suplementação com mais 17 %, ou seja, um acréscimo de 40 %. Os alevinos foram, inicialmente, retirados de tanques existentes na Barragem Ponte Nova, Salesópolis, SP e direcionados para aquários de 60x35x30 cm dispostos no Laboratório de Química Biológica e Biotecnologia da Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, SP. Os peixes passaram por um período de aclimação às condições do laboratório, sendo alimentados nesse período com a ração controle, contendo 45 % de proteína animal. Os aquários foram mantidos em condições estáveis de temperatura (26 °C), à oxigenação constante, e diariamente cerca de 1/3 da água era substituída. A alimentação era fornecida uma vez ao dia aos finais da tarde. No entanto, observou-se grande acúmulo de ração não consumida no fundo dos aquários, tornando turva a água. A qualidade da água é influenciada pela frequência de alimentação, uma vez que o excesso de ração no tanque provoca diminuição do oxigênio dissolvido na água, prejudicando os peixes. Tendo em vista que a quantidade de ração oferecida diariamente era inferior à necessária para a saciedade de peixes carnívoros, acredita-se que o estresse provocado pela mudança de ambiente tenha contribuído para que os peixes não se alimentassem devidamente. Como resultado disso, antes que terminasse o período de aclimação cerca de 85 % dos peixes morreram. Segundo Sussel (2008), o estresse provocado nos peixes aumenta concentrações de cortisol plasmático, hormônio que induz imunossupressão e reduz a resistência dos animais a infecções bacterianas e fungais, efeito explicado em parte pela diminuição da quimiotaxia, da fagocitose e da produção de óxido nítrico por leucócitos, atividades importantes nas respostas inflamatórias. No entanto, à água substituída nos aquários era adicionado um antimicrobiano, o que reduz ou elimina a possibilidade dos peixes terem morrido por algum tipo de infecção. Poucos trabalhos foram realizados com *Salminus hilarii* e nenhum deles relata sobre manutenção da espécie em aquário. Contudo, a não adaptação da espécie pode ser explicada pelo fato de tratar-se de uma espécie típica de águas movimentadas, que dependem da correnteza para manterem-se na região pelágica para se oxigenarem e serem dispersos. Trabalhos realizados por Melo (2006) e Honji (2007) citam a manutenção da tabarana em cativeiro. Assim, o processo de alimentação de alevinos utilizando proteína microbiana e proteínas do soro de queijo será reiniciado optando-se pela manutenção em tanques da Barragem Ponte Nova em Salesópolis, SP, onde as condições são mais favoráveis.

CONCLUSÃO

As proteínas microbianas foram obtidas satisfatoriamente, bem como a extração das proteínas do soro de queijo, ambas empregadas na composição da ração. Entretanto não foi possível avaliar a eficiência das mesmas no crescimento e aumento de biomassa de alevinos de tabarana (*Salminus hilarii*), devido ao fato destes animais não terem se adaptado às condições experimentais no laboratório. A última parte do experimento será refeita em tanques de cultivo da Barragem Ponte Nova em Salesópolis, SP, onde as condições são mais favoráveis para esta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAPITANI, C.D. **Interação de proteínas do soro de leite com polissacarídeo: fracionamento e estudo das propriedades funcionais dos complexos.** Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos Campinas, SP, 2004.

HONJI, R. M. **Caracterização endócrina durante o ciclo reprodutivo da tabarana *Salminus hilarii* (Characiformes: Characidae), em três ambientes distintos: natural, impactado e cativo.** Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2007.

MELO, R. G. **Caracterização da expressão do RNAm das gonadotropinas de *Salminus hilarii* (Characiformes: Characidae) ao longo do ciclo reprodutivo: Efeitos do bloqueio reprodutivo.** Dissertação (mestrado) – Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, SP, 2006.

SABRA, G.E. **Aproveitamento biotecnológico do soro de queijo para produção de proteína microbiana por *Kluyveromyces marxianus*.** Dissertação de Mestrado, Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, SP, 87p., 2004.

SUSSEL, F. R. **Alimentação na criação de peixes em tanques-rede.** APTA (Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios), Médio Paranapanema, Nutrição de Peixes, Assis, SP, 2008.