

Estado de São Paulo
BIBLIOTECA
Entrada no dia 7/10

ANO XXXIV—N.º 3

BOLETIM PECUÁRIO

1966

DETERMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA
DOS ÁCIDOS AMINADOS
NA FARINHA DE PEIXE

Por

MANUEL FRANCISCO FERREIRA

Este trabalho foi realizado em 26 amostras de farinhas de peixe de proveniência nacional entradas no Laboratório da Estação Zootécnica Nacional durante os anos de 1961 e 1962.

Usámos métodos microbiológicos para o doseamento dos seguintes ácidos aminados: arginina («*Lactobacillus casei* ϵ » — ATCC ⁽¹⁾ 7469), cistina, fenilalanina, isoleucina, leucina, triptofano e valina («*Lactobacillus arabinosus*» 17/5 — ATCC 8014), histidina e lisina («*Leuconostoc mesenteroides*» P. 60 — ATCC 8042) e treonina («*Streptococcus faecalis*» R, — ATCC 8043).

M É T O D O S

Os microrganismos são mantidos no meio gelosado de Johnson (ADRIAN, 1959) com repicagens mensais.

Nas vésperas da sementeira dos tubos contendo, além do meio, as doses crescentes do padrão e dos extractos, fazem-se 2 ou 3 repicagens seguidas em meio líquido. A estirpe está bem activada quando, 2 a 4 horas após a colocação dos tubos na estufa (36°C), o meio líquido apresenta turvação (A. O. A. C., 1960).

Para a sementeira, deitam-se V a X gotas de inoculum (em regra VIII) num tubo contendo 10 cc de soro fisiológico esterilizado no autoclave 10' a 120°C, que se agita convenientemente, e uma gota do inoculum lavado é lançada em cada um dos tubos a semear.

(¹) American Type Culture Collection, (Washington, DC.

Hidrólise da proteína

2 g de cada amostra moída e desengordurada são hidrolizados com 40 cc de ClH 6N no autoclave a 120°C durante 6 horas para dosear os ácidos aminados referidos, com excepção do triptofano. Para este a hidrólise é feita com OHNa 5N nas mesmas condições e, para proteger este ácido aminado da oxidação e bloquear uma possível acção catalítica do cobre e doutros minerais, adicionam-se a cada balão 100 mg de cloridrato de L-cisteína (KUIKEN e col., 1947).

Meios

O meio sintético de Adrian (1958 e 1960) é usado para a fenilalanina, isoleucina, leucina, metionina, treonina e valina (A); o meio de Adrian adicionado duma solução de piridoxal-piridoxamina para a arginina e histidina (B); o meio de Adrian enriquecido com a solução de piridoxal-piridoxamina + cisteína + asparagina + cloreto de amónio para a lisina (C); o meio da peptona oxidada para a cistina e triptofano (D) (quadro I). A peptona é preparada segundo a técnica descrita por BARTON-WRIGHT (1952).

QUADRO I

QUANTIDADE PARA 100 TUBOS

COMPONENTES	MEIO A	MEIO B	MEIO C	MEIO D
Glucose (g)	25	25	25	15
Fosfato monopotássico (g)	0,5	0,5	0,5	0,5
» bipotássico (g)	0,5	0,5	0,5	0,5
Sulfato de Mg hidratado (mg)	200	200	200	200
» de Mn hidratado (mg)	20	20	20	20
» de Fe hidratado (mg)	20	20	20	20
ClNa (mg)	20	20	20	20
ClNH ₄ (mg)	—	—	600	—
Acetato de Na hidratado (g)	10	10	10	10
Vit. B ₁ (µg)	20	20	20	20
Vit. B ₂ (µg)	200	200	200	200

QUADRO I— (Continuação)

QUANTIDADE PARA 100 TUBOS

COMPONENTES	MEIO A	MEIO B	MEIO C	MEIO D
Vit. PP (μ g)	300	300	300	300
Pantotenato de Ca (μ g)	100	100	100	100
Piridoxina (μ g)	200	200	200	200
Piridoxal (μ g)	—	300	300	—
Piridoxamina (μ g)	—	300	300	—
Ácido p-a-benzoico (μ g)	100	100	100	100
Ácido fólico (μ g)	10	10	10	10
Biotina (μ g)	0,4	0,4	0,4	0,4
Adenina (mg)	10	10	10	10
Uracilo (mg)	10	10	10	10
Guanina (mg)	10	10	10	10
L—Asparagina (mg)	—	—	40	—
Ácido L—aspártico (g)	0,4	0,4	0,4	—
Ácido L—Glutâmico (g)*	0,4	0,4	0,4	—
L—alanina (mg)	100	100	100	—
L—arginina (mg)**	100	100	100	—
L—cisteína (mg)	—	—	10	—
L—cistina (mg)**	100	100	100	100
Glicocola (mg)	100	100	100	100
L—histidina (mg)**	100	100	100	—
L—hidroxiprolina (mg)	100	100	100	—
L—isoleucina (mg)**	100	100	100	—
L—leucina (mg)**	100	100	100	—
L—lisina (mg)**	100	100	100	—
L—metionina (mg)**	100	100	100	100
L—norleucina (mg)	100	100	100	—
L—norvalina (mg)	100	100	100	—
L—fenilalanina (mg)**	100	100	100	—
L—prolina (mg)	100	100	100	—
L—serina (mg)	100	100	100	—
L—treonina (mg)**	100	100	100	—
L—triptofano (mg)**	100	100	100	100
L—tirosina (mg)	100	100	100	100
L—valina (mg)**	100	100	100	100
Peptona oxidada (g)	—	—	—	3,75

* Deve usar-se de preferência a forma DL destes ácidos aminados visto que as formas L são susceptíveis de estarem contaminadas com resíduos de metionina (Riesen Schweigert e Elvehjem, 1946; A. O. A. C., 1960).

** Omitir do meio o ácido aminado a dosear.

R E S U L T A D O S

No quadro II damos a média e os extremos dos valores dos ácidos aminados nas 26 amostras de farinhas de peixe. Comparam-se estes valores com os resultados obtidos por vários autores.

QUADRO II
 ÁCIDOS AMINADOS DA FARINHA DE PEIXE
 (Em % da proteína)

ÁCIDOS AMINADOS	Trabalho presente (a)	Block e Bolling (1951)	Harvey (1958) (b)	Becker (1931)
Arginina	6,8(4,1-9,4)	6,0*	4,7-8,6	5,9-7,4
Cistina	1,1(0,4-1,8)	1,8**	0,9-2,2	—
Metionina	3,0(1,7-4,3)	2,4*-3,1*	1,7-3,1	—
Cistina + Metionina	—	—	—	3,8-4,7
Fenilalanina	5,4(2,0-11,8)	4,4*-4,8**	3,1-5,3	—
Histidina	3,0(2,0-4,2)	3,1*	0,6-3,1	2,4-2,6
Isoleucina	5,4(3,9-7,1)	6,0*-6,5*	3,3-7,6	5,6-6,0
Leucina	7,1(5,9-9,5)	7,1* 8,5*	4,8-10,8	7,1-7,8
Lisina	8,7(6,7-11,5)	8,8*	4,4-12,2	7,8-9,0
Treonina	5,1(3,3-6,5)	4,1*	3,1-6,1	4,2-4,5
Triptofano	1,1(0,7-1,6)	0,8*-1,3**	0,7-1,6	1,1-1,3
Valina	5,4(3,8-6,3)	5,8*-6,0*	3,8-7,0	5,8-6,0

(a) Entre parêntesis os valores mínimo e máximo.

* Métodos microbiológicos.

** Métodos químicos.

(b) Valores extremos recolhidos das tabelas de Harvey.

Fevereiro, 1965

R E S U M O

É dada através dos métodos microbiológicos a composição em 11 ácidos aminados da proteína de 26 amostras de farinhas de peixe de proveniência nacional.

RESUMÉ

Par des dosages microbiologiques on donne la composition en 11 acides aminés de la protéine de 26 échantillons de farine de poisson d'origine portugaise.

SUMMARY

The composition of 11 amino acids in protein of the 26 portuguese fish meal samples is determined by microbiological assay methods.

BIBLIOGRAFIA

- ADRIAN, J. (1959) — *Le dosage microbiologique des vitamines du groupe B*. «IV Cahiers Techniques du Centre National de Coordination des Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation» — Paris.
- ADRIAN, J. (1960) — *Le dosage des acides aminés par voie microbiologique*. «Cahier n.º 4 — Techniques et Travaux Experimentaux» — A. E. C.
- ADRIAN, J. e RERAT, A. (1958) — *Methodes d'évaluation de la valeur nutritive des proteíns*. «I — Cahiers Techniques du Centre National de Coordination des Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation» — Paris.
- BARTON — WRIGHT, E. C. (1952) — *The Microbiological Assay of the Vitamin B — Complex and Amino Acids*.
- BECKER, M. (1961) — *Análisis y Valoración de Piensos y Forrajes* — Zaragoza.
- BLOCK, R. J. e BOLLING, D. (1951) — *The Amino Acid Composition of Proteins and Foods* — 2.ª edição.
- HARVEY, D. (1958) — *Tables of the Amino Acids in Foods and Feedingstuffs* — Technical Communication n.º 19. Commonwealth Bureau of Animal Nutrition.
- KUIKEN, K. A., LYMAN, C. M. e HALE, F. (1947) — *Factors which influence the stability of tryptophan during the hydrolysis of protein in alkaline solution* — «The Journal of Biological Chemistry», 171:551.
- RIESEN, W. H., SCHWEIGERT, B. S., e ELVEHJEM, C. A. (1946) — *Microbiological determination of methionine in proteíns and foodstuffs* — «The Journal of Biological Chemistry», 165:347.
- Association of official Agricultural Chemists (1960) — «Official Methods of Analysis» — 9.ª edição.