



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

MARIBEL CÁRDENAS BALDERRAMA

**PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE
PROTEÍNAS E PEPTÍDEOS OBTIDAS A PARTIR DAS VÍSCERAS
DO PEIXE PEROÁ BRANCO (*Balistes capriscus*)**

VITÓRIA, ES

2021

MARIBEL CÁRDENAS BALDERRAMA

**PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE
PROTEÍNAS E PEPTÍDEOS OBTIDAS A PARTIR DAS VÍSCERAS
DO PEIXE PEROÁ BRANCO (*Balistes capriscus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Martins Costa Santos

VITÓRIA, ES

2021

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

B176p Balderrama, Maribel Cárdenas, 1992-
Purificação e caracterização físico-química de proteínas e peptídeos obtidas a partir das vísceras do peixe peroá branco (*Balistes capriscus*) / Maribel Cárdenas Balderrama. - 2021. 116 f. : il.

Orientador: Alexandre Martins Costa Santos.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Serina proteinases. 2. Peptídeos. 3. Peixes marinhos. 4. Físico química. 5. Biotecnologia marinha. 6. Cromatografia a líquido. I. Santos, Alexandre Martins Costa. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

MARIBEL CÁRDENAS BALDERRAMA

**PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE
PROTEÍNAS E PEPTÍDEOS OBTIDAS A PARTIR DAS VÍSCERAS
DO PEIXE PEROÁ BRANCO (*Balistes capriscus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Apresentada em 30 de agosto de 2021.

Prof. Dr. Alexandre Martins Costa Santos

Universidade Federal do Espírito Santo

Orientador

**Prof. Dr. Marco Cesar Cunegundes
Guimarães**

**Universidade Federal do Espírito Santo
(Membro interno)**

Prof. Dr. Lucas Bleicher

**Universidade Federal de Minas Gerais
(Membro externo)**

Prof. Dr. Jose Aires Ventura

**Universidade Federal do Espírito Santo
(Membro suplente interno)**

Profa. Dra. Rita Gomes Wanderley Pires

Universidade Federal do Espírito Santo

(Membro suplente externo)

VITÓRIA, ES

2021

DEDICATÓRIA

À minha querida avó **Angela Martinez Zubieta** (In memoriam)
Por ser um exemplo de amor e paz em minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar a força para continuar neste processo de obtenção de um dos alvos mais desejados da minha vida, por me guiar ao longo da minha existência, sendo o suporte e a força nos momentos de dificuldade e fraqueza.

Aos meus pais, Carlos e Amália que com o seu amor, paciência e esforço me permitiram realizar mais um sonho hoje, obrigado por me dar esse exemplo de esforço e coragem, de não temer as adversidades porque Deus está sempre comigo.

Aos meus irmãos, Juan, José e Lucas pelo amor e apoio incondicional, ao longo deste processo, por estarem comigo em todos os momentos, obrigada. A toda a minha família porque com suas orações, conselhos e palavras de encorajamento me fizeram uma pessoa melhor e de uma forma ou de outra me acompanham em todos os meus sonhos e objetivos.

Ao meu orientador, Prof.Dr. Alexandre Martins Costa Santos, principal colaborador ao longo deste processo, que com sua direção, conhecimento, ensino, paciência e colaboração permitiu o desenvolvimento desta dissertação. Muito obrigada pela oportunidade de fazer parte do Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LBAA) e ao Laboratório de Bioquímica e Biofísica de Proteínas (LBBMP).

À Prof.Dra. Patrícia Machado Bueno Fernandes, que com o ensino de seus valiosos conhecimentos me permitiu crescer dia a dia como profissional, agradeço sua paciência, dedicação e apoio incondicional.

Aos professores Prof.Dr. Antonio A. R. Fernandes e Prof.Dr. José A. Ventura agradeço por todo o conhecimento compartilhado.

Aos meus queridos amigos e colegas do Laboratório de Bioquímica e Biofísica de Proteínas (LBBMP), Antônio, Dayanne, Evaldo, Fabiano, Isabella, Ivis, Marielly e

Monique, que me ajudaram de forma altruísta, infinito obrigado por toda sua ajuda, amizade e boa vontade.

A toda equipe do Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LBAA) que me recebeu com os braços abertos, me ensinou e me tornou uma profissional melhor. Aos doutores Tathiana e Oeber pela amizade, por compartilhar seus conhecimentos e experiências valiosas comigo.

Aos laboratórios que colaboraram no desenvolvimento do meu projeto como Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LBAA), Laboratório de Bioquímica e Biofísica de Proteínas (LBBMP), Laboratório de Processamento do pescado e Laboratório de análise de alimentos e bromatologia do campus Piúma, IFES. Em especial a minha colega Monique, pelo constante apoio no desenvolvimento dos experimentos.

Ao LABIOM/UFES (Laboratório Multiusuário de Análises Biomoleculares da Universidade Federal do Espírito Santo), por proporcionar os instrumentos e equipamentos necessários para a realização deste projeto.

A todas as pessoas, amigos e amigas do Brasil e da Bolívia que me apoiaram e fizeram com que o trabalho fosse bem-sucedido.

À Organização de Estados Americanos (OEA) por me selecionar para fazer o mestrado. Ao Governo do Brasil e a CAPES pelo financiamento da bolsa. Muito obrigado pela oportunidade.

À Universidade Federal do Espírito Santo por receber-me e fornecer-me gratuitamente a infraestrutura, a educação de qualidade e as ferramentas necessárias para desenvolver este projeto acadêmico.

A todas as autoridades, professores e pessoal que compõe a Universidade Federal do Espírito Santo, por confiar em mim, ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia por abrir as portas e me permitir realizar todo o processo investigativo

dentro de seu estabelecimento de ensino e às agências de fomento: CAPES, CNPq e FAPES que viabilizaram o desenvolvimento deste trabalho.

À banca examinadora por aceitar o convite.

Aos Peroás que deram suas vidas para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos a todos!

“Mantenha seus sonhos vivos. Entenda que realizar qualquer coisa requer crença em você mesmo, visão, trabalho duro, determinação e dedicação. Lembre-se de que todas as coisas são possíveis para aqueles que acreditam ”.

(Gail Devers)

RESUMO

CÁRDENAS, M. **Purificação e caracterização físico-química de proteínas e peptídeos obtidas a partir das vísceras do peixe peroá branco (*Balistes capriscus*)**. 2019. 116f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFES, Espírito Santo. Brasil.

Peroá branco (*Balistes capriscus*) é um peixe que apresenta uma ampla distribuição em toda a costa atlântica, sendo valorizado tanto pela pesca comercial como recreativa. Sua carne é considerada de excelente qualidade e caracteriza-se por possuir um elevado teor nutricional. Porém cerca de 30% do seu corpo (vísceras, pele e escamas) não é aproveitado pelas indústrias beneficiadoras de pescado, gerando um resíduo de alto teor proteico. É de interesse biotecnológico a aplicação dessas proteínas e, para isso, é necessário o estudo das suas características físico-químicas para um melhor aproveitamento industrial. Nesse estudo, as proteínas obtidas das vísceras do peixe peroá branco foram extraídas e purificadas, quanto à diferença de massa molecular e carga, caracterizadas em relação à sua atividade amidásica, esterásica e estado conformacional. As proteínas foram extraídas por meio de extração química com hidróxido de sódio e ácido clorídrico, seguida de cromatografia de exclusão molecular usando coluna de gel de Sephadex G-200. As massas moleculares das frações foram determinadas por SDS-PAGE e ficaram na faixa de 160 kDa até 16 kDa. As frações de proteína purificada “E” e “F” foram ativas em pH alcalino com um ótimo em pH 7,5, usando BApNA as mesmas frações catalisaram o substrato TAME no pH 6,0 e 8,0. Um perfil similar de atividade enzimática foi observado com as frações de proteínas purificadas por cromatografia de troca iônica (catiônica). O controle de qualidade “half-life” do extrato proteico bruto demonstrou que armazenado a 4°C, mantém suas atividades biológicas pelo menos seis meses. A metodologia de purificação e caracterização das proteínas e peptídeos das vísceras de peixe peroá branco (*Balistes capriscus*) mostrou-se satisfatória, pois foi possível purificar quantidades elevadas de extrato proteico bruto de 18 mg até 150 mg com separação em frações de proteínas e peptídeos com uma resolução satisfatória.

Palavras-chave: *Balistes capriscus*. Resíduos de peixe. Purificação. Caracterização.

ABSTRACT

CÁRDENAS, M. **Purification and physicochemical characterization of proteins and peptides obtained from fish waste of peroá branco (*Balistes capriscus*).** 2019. 116p. Dissertation (Master in Biotechnology) - Post Graduation Biotechnological Programme, UFES, Espírito Santo. Brazil.

Peroá branco (*Balistes capriscus*) is a fish that presents a wide distribution throughout the Atlantic coast, being valued for both commercial and recreational fishing. Its meat is considered of excellent quality and is characterized by having a high nutritional theory. For about 30% of the body (viscera, skin and scales) is not used by the fish processing industries, generating a high protein residue. It is of biotechnological interest to the application of proteins and, for this, it is necessary or studied of their physical-chemical characteristics for a better industrial use. We have studied the proteins obtained from fish waste, but they are extracted and purified, as they differ in molecular mass and charge, characterized in relation to their amidase, esterase and conformational state activity. Proteins were extracted by chemical extraction with sodium hydroxide and hydrochloric acid, followed by molecular exclusion chromatography using Sephadex G-200 gel column. As molecular masses of the fractions determined by SDS-PAGE and stayed in the range of 160 kDa and 16 kDa. As the purified protein fractions "E" and "F" form at least in alkaline pH at pH 7.5, using BApNA as same fractions catalyzed or TAME substrate no pH 6.0 and 8.0. A similar profile of enzymatic activity was observed as fractions of purified proteins by ionic exchange (cationic) chromatography. Or check the "half-life" quality of the gross protein extract, which, at 4°C, maintains its biological activities for less than six months. A method of purification and characterization of proteins and peptides from fish waste peroá branco (*Balistes capriscus*) showed satisfactory, it was possible to purify high quantities of crude protein extract of 18 mg até 150 mg with separation in protein and peptide fractions as a satisfactory resolution.

Keywords: *Balistes capriscus*. Fish waste. Purification. Characterization



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

**Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações
Eletrônicas.**

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação, autorizo a Universidade Federal do Espírito Santo a publicar em ambiente digital institucional, sem ressarcimento dos direitos autorais previstos na Lei nº 9.610/98 e em outras que regulem ou vierem a regular a matéria, o texto integral da obra abaixo citada, conforme permissões assinaladas, para fins de leitura e/ou impressão, a título de divulgação da produção científica brasileira.

| |
|--|
| Tipo de documento: (x) Dissertação () Tese |
| |
| Nome autor: Maribel Cárdenas Balderrama |
| Vínculo empregatício: Sem vínculo empregatício |
| Identificador único de autor (https://orcid.org/signin - cadastramento gratuito): ORCID https://orcid.org/0000-0002-7903-3045 |
| Telefone para contato: (27)996687735-(591)79963008 |
| E-mail: maribelcardenasbalderrama@gmail.com Pode ser disponibilizado? (x) sim () não |
| |
| Título: "Purificação e caracterização físico-química de proteínas e peptídeos obtidas a partir das vísceras do peixe peroá branco (<i>Balistes caprisucus</i>)". |
| Nome do programa de pós-graduação: Pós-Graduação em Biotecnologia |
| Nome Orientador: Prof. Dr. Alexandre Martins Costa Santos ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8801-8875 |
| Nome Co-orientador: ORCID: |

| |
|--|
| Nome Co-orientador: ORCID: |
| Membro da banca: Prof. Dr. Marco Cesar Cunegundes Guimarães |
| Membro da banca: Prof. Dr. Lucas Bleicher |
| Membro da banca: |
| Membro da banca: |
| Membro da banca: |
| Data de Defesa: 30/08/2021 |
| Área do conhecimento (conforme tabela do CNPq - http://www.cnpq.br/documents/10157/186158/TabeladeAreasdoConhecimento.pdf) |
| Palavras-chave (máximo 5): <i>Balistes capriscus</i> . Resíduos de peixe. Purificação. Caracterização. |



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS**

**Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações
Eletrônicas.**

| |
|--|
| Agência de Financiamento: (x) CAPES () CNPq () FAPES () Outra: _____ |
| Tipo de acesso: () Livre ¹ () Restrito ² (x) Embargo ³ - __3__ anos. |
| Orientações: 1 Não existe restrições quanto ao acesso. 2 O acesso está condicionado à identificação (login) no repositório. 3 Documentos com acesso embargado por tempo determinado. Informe o período de embargo na lacuna. |

Tipo de Licença Creative Commons (CC). Este tipo de licença permite que o próprio autor sem intervenção de intermediários (ex.: advogados) informe às pessoas como elas devem utilizar a sua obra sem pedir autorização prévia.

Se você adotar a Licença Creative Commons marque uma das opções abaixo:

| X | ESQUEMA | CONTEÚDO |
|---|---|---|
| |  | Atribuição – CC BY. Sem reservas em relação ao uso, inclusive para comercialização. |
| |  | Atribuição-Compartilha Igual – BY-SA. Permite a remixagem, adaptação e criação a partir do seu trabalho. Para fins comerciais e não comerciais deve ser atribuído crédito e licença sob termos idênticos do original. |
| |  | Atribuição- SemDerivações – CC BY-ND. Permite a redistribuição comercial e não comercial desde que não seja alterado no seu todo e o crédito seja atribuído ao autor. |
| |  | Atribuição-NãoComercial – CC BY NC. Permite remixagem, adaptação e criação para fins não comerciais, com atribuição de crédito aos novos trabalhos que não precisam ser licenciados nos mesmos termos. |
| x |  | Atribuições-SemDerivações-SemDerivados – CC BY-NC-ND. Mais restritiva da licenças, só permite o download dos trabalhos e o compartilhamento com atribuição de crédito do autor. |

Local: Vitória, Espírito Santo Data: 02 / 09 / 2021.

Assinatura do autor:





UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
ALEXANDRE MARTINS COSTA SANTOS - SIAPE 1698543
Departamento de Ciências Fisiológicas - DCFI/CCS
Em 08/09/2021 às 15:51

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/263878?tipoArquivo=O>