

## Área: Tecnologia de Alimentos

# ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PEPTÍDEOS SELECIONADOS DE HIDROLISADOS DE RESÍDUOS DE BIJUPIRÁ (*Rachycentron canadum*)

Giordan Fernandes da Rosa\*, Renata Aline dos Santos Fonseca, Carolina Moroni Silva,  
Carlos Prentice-Hernández

Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Escola de Química e Alimentos  
Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS.

E-mail: unicgio@gmail.com

**RESUMO:** A necessidade de reaproveitamento de subprodutos gerados nos mais diversos processos vem ganhando um papel de alta importância na sociedade. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar a atividade antioxidante dos peptídeos obtidos a partir dos hidrolisados de resíduos de bijupirá (*Rachycentron canadum*) através da avaliação da peroxidação lipídica do ácido linoléico. Para a obtenção dos hidrolisados foi utilizado o resíduo (cabeça e vísceras) sem pele e ossos do bijupirá com suas enzimas endógenas inativadas termicamente (85 °C/15 min), que foi submetido à ação das enzimas alcalase, flavourzyme e protamex, em condições ótimas, na proporção de 1U:10 g de proteína. Foi acompanhado a peroxidação do ácido linoléico por 6 dias (a cada 24h) pelo método de Osawa e Namiki (1985) em que os hidrolisados foram comparados com um branco e controles de vitamina C e E. Durante um tempo de 6 dias, os hidrolisados proteicos que apresentaram menor valor de absorvância foram os que utilizaram as enzimas Alcalase (0,478) e Protamex (0,525), com o pior desempenho da enzima Flavourzyme (0,593), com todas as amostras resultando valores menores que os Controles C (0,611) e E (0,766) e o Branco (1,111). A atividade antioxidante foi considerada satisfatória para um tempo maior, o que significa que há um alto potencial de inibição da peroxidação lipídica pelos hidrolisados obtidos dos resíduos gerados pelo bijupirá.

**Palavras-chave:** Hidrólise Enzimática. Peroxidação Lipídica. Proteólise.

## 1 INTRODUÇÃO

Entre os vários peixes marinhos nativos do Brasil, o bijupirá (*Rachycentron canadum*), é considerado uma espécie de grande potencial para a criação intensiva, já que apresenta características de interesse para a criação, como facilidade de reprodução em cativeiro, rápido crescimento e produção de filés de qualidade adequados ao consumo na forma de *sashimi* (LIAO, et al. 2007).

Segundo a Organização de Agricultura e Alimentos (FAO), acredita-se que cerca de 20 mil toneladas de resíduos do processamento de pescado são descartadas diariamente, fazendo-se necessário encontrar melhores

meios de aproveitamento dessa matéria prima (MARTINS, COSTA & PRENTICE-HERNANDEZ, 2009). Tais resíduos apresentam uma quantidade valiosa de proteínas e lipídios, assim como vitaminas e minerais, e um dos métodos mais eficientes para recuperar o valor comercial desse descarte de pescado é a hidrólise enzimática (NGUYEN, et al. 2011). Hidrolisados de pescado têm mostrado um grande potencial tanto nutricional quanto farmacêutico (WERGEDAHL, et al. 2004).

A utilização de proporções adequadas de enzima/substrato e o controle dos tempos de reação permitem a produção de hidrolisados com diferentes peptídeos e, conseqüentemente, propriedades funcionais variadas que podem encontrar aplicações em várias formulações alimentícias (SANTOS, et al. 2009), como novas fontes de atividades antioxidante, antitumoral, anti-hipertensivo, entre outros (GUÉRARD et al., 2010).

Alguns antioxidantes sintéticos como butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) vêm sendo suprimidos no mercado, devido a diversos estudos realizados com animais que mostram possíveis efeitos cancerígenos de tais substâncias, além de outros problemas à saúde. (RAMALHO & JORGE, 2006).

O objetivo desse trabalho foi analisar se o potencial antioxidante dos peptídeos obtidos a partir da hidrólise dos resíduos do bijupirá é satisfatória, para posterior avaliação da substituição de antioxidantes sintéticos por estes.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Matéria prima

A matéria prima utilizada neste trabalho foi o resíduo do bijupirá. Os espécimes foram obtidos por despesca em tanques de cultivo, e cedidos pela Aqualíder Maricultura Ltda localizada em Recife-PE, e pela Fazenda Aqüicultura localizada em Angra dos Reis-RJ. O material foi transportado em recipientes térmicos com gelo na proporção 1:1 até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), onde foi realizado o processamento. Assim, o pescado foi, imediatamente, lavado com água clorada 5 ppm, descabeçado, eviscerado e filetado. Os filés foram triturados (HIGH TECH HT/2500-Brasil), assim como a cabeça e vísceras a fim de separar os ossos e a pele para obtenção do resíduo. Logo após, foram acondicionados em embalagens plásticas de polietileno e armazenados sob congelamento a  $-18 \pm 2$  °C (CONSUL CHB/53) até a utilização.

### 2.2 Enzimas e Reagentes

As enzimas utilizadas neste trabalho foram: Alcalase (endopeptidase de *Bacillus licheniformis*), doadas pela Novozymes Latin America, representante Tovani Benzaquem Rep. Ltda (Araucária, Brasil), Flavourzyme (mistura de endoprotease e exopeptidase de *Aspergillus oryzae*), doadas pela Novozymes Latin America, representante Tovani Benzaquem Rep. Ltda (Araucária, Brasil) e enzima Protamex (mistura de endo e

exopeptidase, de *Bacillus* sp.), obtida do pâncreas bovino, foi fornecida pela Sigma-Aldrich Co (St. Louis, MO, EUA). Os demais reagentes foram de grau analítico (P.A.).

### 2.3 Obtenção dos Hidrolisados enzimáticos

Os hidrolisados enzimáticos foram obtidos a partir do resíduo do pescado, baseado no processo típico sugerido por Kristinsson e Rasco (2000), sendo também, desengordurado por centrifugação (9.000 g por 30 min). Primeiramente, as matérias primas foram homogeneizadas em água destilada utilizando as condições de concentração de enzima e substrato proteico 1:10, de acordo com a atividade específica de cada enzima, sendo que U corresponde a  $\mu\text{mol}$  de tirosina livre/min, determinado através do método descrito por Sigma (1999) e a proteína através de Lowry et al. (1951).

Para a obtenção dos hidrolisados foram utilizadas 3 enzimas em separado, Alcalase (99,75 U/g de enzima, pH 8,0 e temperatura de 50 °C), Flavourzyme (2,07 U/g de enzima, pH 7,0 e temperatura de 50 °C) e Protamex (8,41 U/g de enzima, pH 7,0 e temperatura de 40 °C) (JUNG et al., 2006). A reação ocorreu em um reator de vidro, de parede dupla, conectado a um banho termostatizado (BROOKFIELD TC/102 – EUA). Antes do início das hidrólises, as enzimas endógenas foram inativadas a 85 °C por 15 min. O GH foi determinado pelo método do pH-stat, segundo Adler-Nissen (1986), com modificações, sendo utilizada uma solução alcalina padronizada de NaOH 0,2 M para ajuste do pH constantemente. As hidrólises foram interrompidas quando o grau de hidrólise (GH) se tornou constante. Após, foi realizada a inativação da enzima (90 °C/10 min) em banho termostatizado (QUIMIS, modelo 218.2 – Brasil). Os hidrolisados foram arrefecidos e centrifugados (3.500 x g por 20 min) (BIOSYSTEMS MPW-350/350-R – Brasil) e os sobrenadantes liofilizados (LIOBRAS, modelo L108) e armazenados a  $-18 \pm 2$  °C para posteriores análises de atividade antioxidante.

### 2.4 Medição da atividade antioxidante dos hidrolisados e frações peptídicas: sistema modelo do ácido linoléico

A atividade antioxidante foi medida segundo Osawa e Namiki (1985) empregando um sistema modelo contendo ácido linoléico. Foram dissolvidos 5 mg de hidrolisado em 10 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 7,0). Adicionou-se 0,13 mL de ácido linoléico e 10 mL de etanol 99,5%. A suspensão foi homogeneizada em agitador de soluções (PHOENIX AP56 – São Paulo) e seu volume elevado até 25 mL. O conjunto foi incubado em estufa BIOPAR 5150/BA, no escuro, a 40 °C, sendo então analisado a cada 24 h durante 6 dias. A análise diária consistiu em medir a oxidação do ácido linoléico. Assim, 100  $\mu\text{L}$  de amostra incubada foram misturadas com 4,7 mL de etanol 75%, 100  $\mu\text{L}$  de tiocianato de amônio 30% e 100  $\mu\text{L}$  de cloreto ferroso 0,02 M em HCl 3,5% em frascos âmbar. Esta mistura foi deixada em repouso durante 3 minutos e lida em espectrofotômetro (BIOSPECTRO SP/22) a 500 nm. Foram utilizados como padrão o antioxidante comercial  $\alpha$ -tocoferol e o ácido ascórbico diluídos em etanol 99,5%, na mesma concentração.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

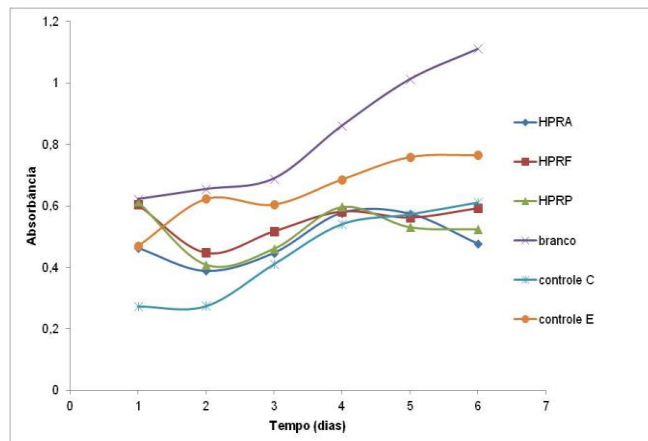
O sistema modelo ácido linoléico funciona de modo a comparar a peroxidação dos lipídeos a um branco, onde não há antioxidantes, e a alguns antioxidantes comerciais, ou, controles (vitaminas C e E).

A análise dos resultados da atividade antioxidante pelo sistema modelo ácido linoléico (Figura 1) mostra que nenhum dos hidrolisados apresentou absorvância maior que o branco durante os 6 dias de acompanhamento.

Foi possível verificar que todos os hidrolisados forneceram valores de absorvância menores que os controles com vitamina C e E no sexto dia. As amostras HPRA, HPRF e o HPRP apresentaram redução da peroxidação lipídica em 56,9, 43,4 e 52,7%, quando comparados com o branco no último dia de análise. Esses são comparáveis ao que encontrou Centenaro (2011) uma inibição de 58,5% para o hidrolisado de músculo de frango com  $\alpha$ -Quimotripsina.

Os valores indicam que todos os hidrolisados obtidos foram capazes de inibir a peroxidação lipídica do ácido linoléico, podendo ser utilizado como uma alternativa aos antioxidantes avaliados como comparativo, as vitaminas E com redução de 31,1% e C de 45,0%.

**Figura 1:** Acompanhamento da peroxidação lipídica. Onde: HPRA hidrolisado protéico do resíduo com alcalase, HPRF – hidrolisado protéico do resíduo com flavourzyme, HPRP – hidrolisado protéico do resíduo com protamex.



## 4 CONCLUSÃO

Todas as amostras são promissoras para o desenvolvimento de novos antioxidantes naturais, já que mostraram valores baixos de absorvância para consideráveis períodos de tempo. Além disso, os números foram melhores que as vitaminas C e E, o que significa que a atividade antioxidante foi satisfatória.

## 5 AGRADECIMENTOS

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

À FAPERGS – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul.

## 6 REFERÊNCIAS

- ADLER-NISSEN, J. 1986. Enzymatic hydrolysis of food proteins. Elsevier Applied Science Publishing, London.
- CENTENARO, G. S. **Obtenção de peptídeos com atividade antioxidante a partir de proteínas de origem animal**. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011.
- FAO, **Food and Agriculture Organization of the United Nation. Fishery & Aquaculture Statistics**, 2008. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/statistics/global-capture-production/query/en>>. Acesso em: 29/10/2010.
- GUÉRARD, F.; DECOURCELLE, N.; SABOURIN, C.; FLOCH-LAIZET, C.; LE GREL, L.; LE FLOCH, P.; GOURLAY, F.; LE DELEZIR, R.; JAOUEN, P.; BOURSEAU, P. Recent developments of marine ingredients for food and nutraceutical applications: a review. **Le Journal des Sciences Halieutique et Aquatique**, v. 2, p. 21-27, 2010.
- KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, no. 1, p. 43-81, 2000.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265–275, 1951.
- MARTINS, V. G. J.; COSTA, A. V.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Hidrolisado protéico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*), **Química Nova**, v. 32, no. 1, p. 61-66, 2009.
- NGUYEN, H. T. M.; SYLLA, K. S. B.; RANDRIAMAHATODY, Z.; DONNAY-MORENO, C.; MOREAU, J.; TRAN, L. T.; BERGÉ, J. P. Proteolysis of Tuna By-Products, **Food Technology and Biotechnology**, v. 49, no. 1, p. 48–55, 2011.
- OSAWA, T., NAMIKI, M. Natural antioxidant isolated from eucalyptus leaf waxes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 33, p. 770–780, 1985.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N.; Antioxidants used in oils, fats and fatty foods, **Química Nova**, v.29, no.4, p. 755-760, 2006.
- SANTOS S. D.; GUIMARÃES V. M.; SALAS-MELLADO M. E PRENTICE C., Evaluation of functional properties in protein hydrolysates from Bluewing searobin (*Prionotus punctatus*) obtained with different microbial enzymes, **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 1399–1406, 2009.
- SIGMA QUALITY CONTROL TEST PROCEDURE, product information, SSCASE01.001, 1999.
- WERGEDAHL, H.; LIASET, B.; GUDBRANDSEN, O. A.; LIED, E.; ESPE, M.; MUNA, Z.; MØRK, S.; BERGE, R. K. Fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of HDL

---

cholesterol, and lowers acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activity in liver of Zucker rats. **The Journal of Nutrition**, v. 134, no. 6, p. 1320-1327, 2004.