

## Área: Tecnologia de Alimentos

# APROVEITAMENTO DO RESÍDUO DO BIJUPIRÁ (*Rachycentron canadum*) NA OBTENÇÃO DE HIDROLISADOS PROTÉICOS: ACOMPANHAMENTO CINÉTICO E TEOR DE TIROSINA

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

*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: re\_aline.ea@hotmail.com*

**RESUMO** – Os subprodutos da indústria pesqueira ainda são atualmente considerados rejeitos e pouco aproveitados, porém são ricos em nutrientes podendo ser utilizados como matéria prima para a produção de uma ampla gama de ingredientes que apresentem um alto valor de mercado e diversas aplicações. Um forma de se aproveitar este é a modificação a partir de hidrólise enzimática para a produção de peptídeos que podem apresentar diversas características, para isso é interessante o estudo do processo. Dessa forma o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento cinético de hidrolisados protéicos do resíduo do bijupirá (*Rachycentron canadum*) através do grau de hidrólise (GH) e determinar o teor de tirosina livre (TL). Foi utilizado para a obtenção dos hidrolisados o resíduo do bijupirá (cabeça e vísceras) sem ossos e pele com suas enzimas endógenas inativadas termicamente (85 °C/15 min) e desengordurado por centrifugação (9.000 g por 30 min) submetido a ação das enzimas Alcalase, Flavourzyme e Protamex, em condições ótimas, na proporção de 1U:10 g de proteína. Foi acompanhado GH até constância pelo método do pHstat e o teor de TL determinado pela reação da proteína com o reagente de Folin-Cicalteaul e curva padrão de tirosina. Concluiu-se que foi possível obter hidrolisados proteicos do resíduo do bijupirá utilizando diferentes enzimas, acompanhar a cinética através do GH e determinar o teor de TL. O hidrolisado protéico com protamex foi o que apresentou maior GH (31,1%) e o com Alcalase maior teor de TL (8,46%).

**Palavras-chave:** Grau de hidrólise. Proteínas. Enzimas.

## 1 INTRODUÇÃO

Acreditava-se que o pescado era uma fonte de alimento inesgotável, com seus subprodutos resultantes do processamento vistos como um rejeito inútil e descartado sem uma tentativa de recuperação (BHASKAR & MAHENDRAKAR, 2008). Dos estimados 140 milhões de toneladas de pescado produzidos a cada ano no

mundo, apenas uma parte é utilizada para consumo humano direto. O restante inclui carcaças, ossos, pele, órgãos intestinais e uma grande quantidade de peixes comestíveis, que representa até mais de 50% do total das capturas, é descartado como resíduo do processamento ou subproduto. Estes subprodutos são muitas vezes rejeitados ou utilizados sem tratamento para a alimentação animal (farinha) ou como fertilizante. No entanto, o reconhecimento da limitação de recursos biológicos, o declínio mundial das populações de peixes e o aumento da poluição ambiental tem ressaltado a necessidade de uma melhor utilização das capturas suplementares e dos subprodutos da pesca (JE, PARK & KIM, 2005; FAO, 2008; JE et al, 2009; GUÉRARD et al., 2010).

Dessa forma uma interessante forma de aproveitar as proteínas presentes nestes resíduos é a hidrólise, capaz de clivar-las por via química ou enzimática em peptídeos de vários tamanhos e aminoácidos, e podem ser utilizados em ampla variedade de produtos alimentícios. Obter hidrolisados através de processos biológicos que utilizam enzimas são mais promissores quando se deseja produtos com alta funcionalidade e valor nutritivo, onde é possível produzir hidrolisados com perfil peptídico bem definido (MARTINS, COSTA & PRENTICE-HERNÁNDEZ., 2009).

A hidrólise enzimática das proteínas musculares é caracterizada por uma rápida fase inicial, durante a qual, várias ligações peptídicas são rompidas. A seguir, esta taxa de hidrólise decresce e atinge uma fase estacionária, na qual nenhuma hidrólise aparente ocorre (KRISTINSSON & RASCO, 2000).

Os hidrolisados podem ser classificados conforme o grau de hidrólise (GH) e sua aplicação, agrupando-se em três blocos: com baixo GH, entre 1 e 10%, para a melhoria das propriedades funcionais; com GH variável, geralmente alto, para a utilização como aromatizante; altamente hidrolisados, com GH superior a 10% para uso em alimentos para fins especiais (PEDROCHE et al., 2004).

Dentre os aminoácidos que podem ser obtidos, destacamos a tirosina, um aminoácido não essencial encontrado em grandes quantidades em alimentos de origem animal e vegetal, é o precursor metabólico para a síntese dos neurotransmissores catecolamina, norepinefrina e dopamina, no sistema nervoso central e periférico. A disponibilidade de tirosina pode ser um fator limitante para o bom funcionamento do sistema nervoso central. Por conseguinte, a suplementação de tirosina na dieta pode reduzir alguns dos efeitos adversos do estresse e ativação do sistema nervoso central (NERI et al., 1995; THOMAS et al, 1999).

Portanto, o desenvolvimento de pesquisas com diferentes fontes protéicas para a produção de hidrolisados com diferentes características funcionais tecnológicas, nutritivas e bioativas é fundamental. Sendo, o bijupirá (*Rachycentron canadum*), um peixe que vem sendo cultivado em aquicultura devido ao fácil manejo em cativeiro e possuir elevada taxa de crescimento durante os períodos larval e juvenil atingindo até 6 kg em 8 a 12 meses e até 15 kg em 24 meses vem ao encontro deste (CHOU, SU & CHEN, 2001; FAULK & HOLT, 2008; BENETTI, et al., 2010).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho é comparar o grau de hidrólise (GH) e o teor de tirosina livre (TL) apresentado pelos hidrolisados protéicos do resíduo do bijupirá.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A matéria prima utilizada foi o resíduo (cabeça e vísceras) do bijupirá triturado em despulpadeira para separar a pele e os ossos. As enzimas foram: Alcalase e Flavourzyme (Novozymes) e Protamex (Sigma-Aldrich) e os reagentes foram de grau analítico (P.A.).

Os hidrolisados enzimáticos foram obtidos a partir do resíduo, baseado no processo típico sugerido por Kristinsson e Rasco (2000). O resíduo teve seu teor de gordura reduzida 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 1U:10g, de acordo com a atividade específica ( $\mu\text{mol} / \text{min/g}$ ) 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 50 °C), Flavourzyme (2,07 U/g de enzima, pH 7,0 e 50 °C) e Protamex (8,41 U/g de enzima, pH 7,0 e 40 °C). 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. As hidrólises foram interrompidas quando o grau de hidrólise (GH) se tornou constante. O GH foi determinado pelo método de pHStat (Adler-Nissen, 1986), e quando se tornou constante foi inativada a enzima (90 °C/10 min). Os hidrolisados foram centrifugados (3.500 g por 20 min), filtrados e os sobrenadantes liofilizados e armazenados a  $-18 \pm 2$  °C.

O teor de TL (Sigma, 1999) foi determinado pela reação da proteína com o reagente de Folin-Cicalteaul em pH alcalino e os resultados obtidos através de uma curva padrão de tirosina antes e após o processo de hidrólise sendo obtida a sua porcentagem através da diferença.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta o acompanhamento do GH durante o tempo de hidrólise e na Tabela 1 então dispostos os TL para cada hidrolisado.

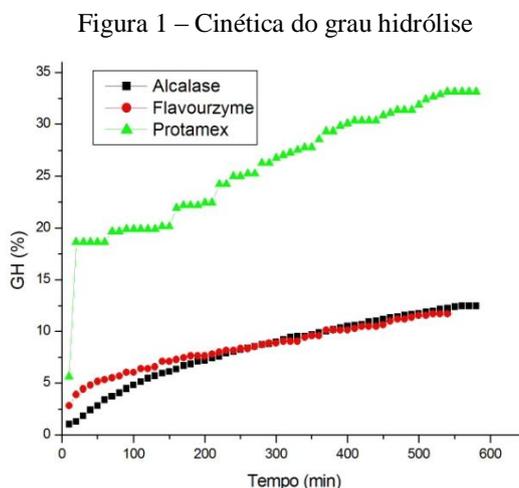


Tabela 1 – Percentual de tirosina livre dos hidrolisados proteicos.

Enzima	Tirosina livre (%)
Alcalase	8,46 ± 0,10 <sup>a</sup>
Flavourzyme	2,63 ± 0,06 <sup>c</sup>
Protamex	6,46 ± 0,33 <sup>b</sup>

É possível verificar na Figura 1 que todas as curvas apresentaram uma hidrólise intensa no início do processo, no entanto, a hidrólise com a enzima protamex apresentou uma reação muito mais pronunciada, passado dos 15% de GH nos primeiros 20 min. Com o tempo, todos os hidrolisados tiveram uma redução na intensidade da reação, porém, ao decorrer do processo as hidrólises com as enzimas Flavourzyme e Alcalase tiveram comportamento semelhantes entre si e comportamentos distintos do hidrolisado com Protamex.

Ao compararmos as diferentes enzimas utilizadas para hidrolisar as proteínas do resíduo é possível verificar que todas tiveram um tempo de hidrólise semelhante e GH variável sendo com alcalase de 560 min e 12,5%, flavourzyme de 520 min e 11,7% e protamex de 540 min e 33,1%, respectivamente.

Ao analisar a Figura 1 e a Tabela 1, verifica-se que o GH e o teor de TL não podem ser diretamente correlacionados. Esses valores são dependentes dos aminoácidos (tipos e posição) presentes no substrato, além da forma como atua cada enzima. As endopeptidases hidrolisam as ligações peptídicas nas moléculas de proteína de forma aleatória para produzir peptídeos relativamente grandes. Exoproteases sistematicamente removem os aminoácidos do N terminal ou no C terminal ou por hidrólise de peptídeos nas ligações terminais (CLEMENTE, 2000).

A Alcalase é uma enzima alcalina que possui especificidade e forte capacidade de hidrólise, onde o principal componente da enzima, Subtilisina A (Subtilisin Carlsberg) é uma endoproteinase sendo capaz de quebrar as ligações peptídicas e, com isso, diminuir o peso molecular e melhorar as propriedades funcionais de proteínas, além da formação de aminoácidos livres em hidrolisados proteicos (YANG et al., 2011). Enquanto a Flavourzyme é um complexo de proteases fúngicas, constituída de exopeptidases e endopeptidases, atuando na hidrólise sob condições neutras ou ligeiramente ácidas, assim como a Protamex é uma protease bacteriana, sendo complexa pela mistura de endo e exopeptidases.

## 4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que diferentes enzimas fornecem diferentes cinética e GH em um mesmo substrato, assim como apresenta diferentes teores de TL. O GH e o teor de TL não podem ser correlacionados. O hidrolisado obtido com a enzima protamex foi a que apresentou um maior GH (31,1%) e o obtido com Alcalase maior teor de TL (8,46%).

## 5 AGRADECIMENTOS

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

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

## 6 REFERÊNCIAS

- ADLER-NISSEN, J. **Enzymatic hydrolysis of food proteins**. London: Elsevier Applied Science Publishing, 1986.
- BENETTI, D.; SARDENBERG, B.; HOENIG, R.; WELCH, A.; STIEGLITZ, J.; MIRALAO, S.; FARKAS, D.; BROWN, P.; JORY, D. Cobia (*Rachycentron canadum*) hatchery-to-market aquaculture technology: recent advances at the University of Miami Experimental Hatchery (UMEH). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 60-67, 2010.
- BHASKAR, N.; MAHENDRAKAR, N. S. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla (Catla catla): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4105–4111, 2008.
- CHOU, R. L., SU, M. S., CHEN, H. Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 193, p. 81-89, 2001.
- CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends food Science Technology**. v. 11, n. 7, p. 254-262, 2000
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fishery & Aquaculture Statistics, 2008. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-capture-production/query/en>. Acesso em: 29 out. 2010.
- FAULK, C. K.; HOLT, G. J. Biochemical composition and quality of captive-spawned cobia *Rachycentron canadum* eggs. **Aquaculture**, v. 279, p. 70–76, 2008.
- 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
- JE, J. Y.; LEE, K. H.; LEE, M. H.; AHN, C. B. Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis. **Food Research International**, v. 42, p. 1266–1272, 2009.
- JE, J. Y.; PARK, P. J.; KIM, S. K. Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate. **Food Research International**, v. 38, p. 45–50, 2005.
- KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 40, n. 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, n. 1, p. 61-66, 2009.

NERI, D. F.; WIEGMANN, D.; STANNY, R. R.; SHAPPELL, S. A.; MCCARDIE, A.; MCKAY, D. L. The effects of tyrosine on cognitive performance during extended wakefulness. **Aviation, Space, and Environmental Medicine**, p. 313–319, 1995.

PEDROCHE, J.; YUST, M. M.; LQARI, H.; GIRÓN-CALLE, J.; VIOQUE, J.; ALAIZ, M.; MILLÁN, F. Production and characterization of casein hydrolysates with a high amino acid Fischer's ratio using immobilized proteases. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 527-533, 2004.

SIGMA QUALITY CONTROL TEST PROCEDURE, product information, SSCASE01.001, 1999.

THOMAS, J. R.; LOCKWOOD, P. A.; SINGH, A.; DEUSTER, P. A. Tyrosine improves working memory in a multitasking environment. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v. 64, n. 3, p. 495–500, 1999.

YANG, B.; YANG, H.; LI, J.; LI, Z.; JIANG, Y. Amino acid composition, molecular weight distribution and antioxidant activity of protein hydrolysates of soy sauce lees. **Food Chemistry**, v. 124, p. 551–55.