

## Tecnologia de Alimentos

# OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE HIDROLISADO PROTEICO DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

**Camila da Costa de Quadros\*, Caio Hendrix Luz Bueno, Karina Oliveira Lima, Meritaine da Rocha, Carlos Prentice**

*Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS*

*\*E-mail: camiilah@ymail.com*

**RESUMO** – O objetivo deste estudo foi a obtenção e avaliação da atividade antioxidante de hidrolisado proteico proveniente da carne mecanicamente separada de Tambaqui (*Colossoma macropomum*). A obtenção do hidrolisado foi realizada através da reação de hidrólise com a enzima, Alcalase, em sua condição ótima (pH: 8,0; T: 50 °C) durante 240 min. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e atividade de eliminação do radical hidroxila nas seguintes concentrações de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 e 10 mg de hidrolisado/mL de solução. O hidrolisado apresentou atividade antioxidante para os dois métodos testados com características dose-dependente, sendo mais eficaz na eliminação do radical hidroxila. Após a obtenção do hidrolisado, concluiu-se que este apresentou capacidade antioxidante nos dois testes analisados. Assim, sugere-se a aplicação deste hidrolisado em alimentos suscetíveis a oxidação lipídica e avaliação de sua eficácia para conservação dos mesmos.

**Palavras-chave:** carne mecanicamente separada; Alcalase; hidrólise enzimática, oxidação

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria está utilizando a ciência e a tecnologia para agregar valor aos subprodutos de origem animal, além de sua rentabilidade de costume. Independentemente do destino do produto final é necessário empregar técnicas atualizadas e eficazes para analisar esses subprodutos, quanto as suas propriedades nutricionais, substâncias ativas presentes que podem ser capazes de garantir a segurança dos alimentos ou aplicar em outros campos como a medicina e os cosméticos, desenvolvendo novas tecnologias (TOLDRÁ et al., 2012). As indústrias de pescado geram em seu processamento, como resíduos ou subprodutos, mais de 30% do total da matéria-prima, sendo estes ossos, pele, cabeça, barbatanas e vísceras (GHALY et al., 2013; SUWAL et al., 2017).

Os subprodutos de pescado são ricos em proteínas que podem ser utilizadas no desenvolvimento de produtos de alto valor agregado, tais como os hidrolisados proteicos (SILVA; FONSECA; PRENTICE, 2014). A hidrólise enzimática pode ser uma alternativa para a produção de hidrolisados proteicos, os quais são fonte de peptídeos bioativos que possuem propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antidiabética, anti-hipertensiva, entre outras (LI-CHAN, 2015). Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que retardam o

aparecimento de alterações oxidativas, através de um ou mais mecanismos, como a inibição de radicais livres e complexação de metais. Estes podem ser sintéticos ou naturais, porém para serem aplicados em alimentos, fármacos ou suplementos nutricionais, não podem oferecer qualquer tipo de risco à saúde (JE et al., 2009).

Os antioxidantes podem atuar na redução de radicais livres (antioxidante primário) ou por um mecanismo que não envolve a redução direta dos radicais livres (antioxidante secundário) (BORGES et al., 2011). A atividade antioxidante dos peptídeos provenientes de proteínas de pescado está relacionada com a composição, tamanho, sequência e hidrofobicidade dos aminoácidos constituintes. Os peptídeos identificados como antioxidantes geralmente são de massa molecular baixa, apresentam cadeia curta entre 5 e 16 aminoácidos, o que os tornam mais ativos para doar elétrons e reagirem com os radicais livres. Estes peptídeos antioxidantes contêm aminoácidos hidrofóbicos, tais como Valina e Leucina, no N-terminal e Prolina, Histidina ou Tirosina em suas sequências (HALIM; YUSOF; SARBON, 2016; LASSOUED, et al. 2015).

A produção nacional de pescado da piscicultura brasileira foi de 507,12 mil toneladas em 2016. Destes, o tambaqui foi a segunda espécie mais produzida em 2016, com uma despesca de 136,99 mil toneladas, correspondendo a 27,0% da produção total nacional, sendo a Região Norte sua principal região produtora (IBGE, 2016). Neste contexto, o tambaqui torna-se uma matéria-prima interessante para avaliação, devido a escassez de estudos que verifiquem as propriedades bioativas de seus subprodutos. Assim, o objetivo deste estudo foi a obtenção e avaliação da atividade antioxidante de hidrolisado proteico proveniente da carne mecanicamente separada de Tambaqui (*Colossoma macropomum*).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Matéria-prima

A matéria-prima utilizada foi a carne mecanicamente separada de tambaqui fornecida pela Embrapa Meio Norte, localizada em Parnaíba/PI.

### 2.2 Obtenção do hidrolisado proteico

O hidrolisado proteico foi obtido por meio de hidrólise enzimática utilizando-se a enzima Alcalase, em sua condição ótima (pH: 8,0; T: 50 °C), segundo método descrito por Chi et al. (2015) com modificações e pH-stat (Adler–Nissen, 1986). Primeiramente, a CMS de tambaqui foi homogeneizada em água destilada na proporção de 10% (p/v; proteína/água destilada) e após foi submetida a banho-maria (Quimis, Q214M2, Brasil) a 85 °C durante 15 min para inativação das enzimas endógenas. Logo após, colocou-se em reator de vidro encamisado (Uniglás, 190.901) acoplado de banho termostático (Quimis, Q214M2, Brasil), com agitação constante de agitador (Fisatom, 715) a 500 rpm, até completar a homogeneização da amostra. Então, as condições ótimas de pH e temperatura da enzima foram ajustadas e iniciou-se a hidrólise enzimática com adição da enzima na proporção de 2% (E/S), a reação foi acompanhada durante 240 min. Ao final, a enzima foi inativada a 85 °C durante 15 min em banho maria. Então, o hidrolisado foi centrifugado a 14.308 x g durante 20

min a 4 °C, a fração solúvel foi filtrada em tecido de algodão para total retirada da fração insolúvel. A fração solúvel foi submetida a congelamento em ultrafreezer (Indrel, IULT 90-D, Brasil) a -80 °C por 48 h e seca em liofilizador (Liotop, L108, Brasil) a -55 °C e 50 µHg durante 48 h. O hidrolisado liofilizado foi armazenado em frascos de vidro a -18 °C.

### 2.3 Avaliação da atividade antioxidante

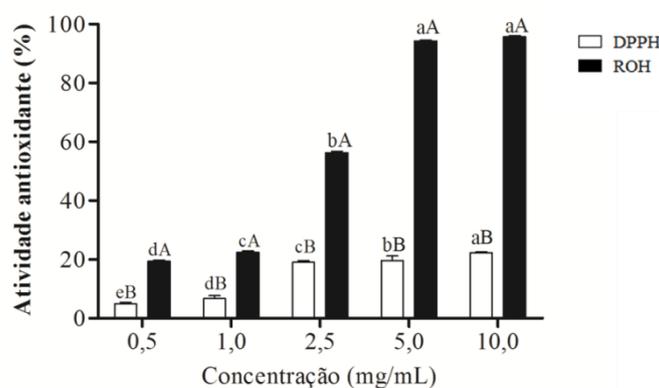
O sequestro do radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) pelo hidrolisado proteico foi determinado segundo o método descrito por Girgih et al. (2015). Uma alíquota de 100 µL de amostra, dispersa em tampão fosfato (pH 7,0; 0,1 M) foi homogeneizada em 100 µL de DPPH (0,1 mM) em metanol e mantida em repouso no escuro durante 30 min a temperatura ambiente. A absorbância foi mensurada a 515 nm em leitor de microplacas Polaris (Celer, ELISA).

A atividade de eliminação do radical hidroxila foi determinada segundo o método descrito por Jin et al. (2016) com adaptações. Uma alíquota de 2 mL de solução de hidrolisado proteico em água destilada, foi homogeneizada com 0,5 mL de sulfato de ferro (9 mM), 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (9 mM) e 6,5 mL de água destilada. Então, a dispersão foi homogeneizada e incubada durante 10 min à 25°C. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL de ácido salicílico (9 mM) e a solução foi incubada a 30 min à 25 °C. A absorbância da solução foi mensurada a 510 nm em espectrofotômetro UV/VIS (Kasuki, IL 592).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a atividade antioxidante do hidrolisado proteico obtido a partir da carne mecanicamente separada (CMS) de tambaqui pelos dois métodos avaliados, sequestro do radical livre DPPH e atividade de eliminação do radical hidroxila.

**Figura 1** - Atividade antioxidante apresentada pelo hidrolisado proteico obtido da CMS de tambaqui



DPPH: sequestro do radical livre DPPH; ROH: atividade de eliminação do radical hidroxila. Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as diferentes concentrações para o mesmo teste ( $p < 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os testes para a mesma concentração de amostra ( $p < 0,05$ ).

No ensaio de sequestro do radical livre DPPH• a absorvência é reduzida gradualmente na mudança de coloração do púrpura ao amarelo, a medida que os radicais livres são eliminados ao aceitar um átomo de hidrogênio ou elétron. Este ensaio é utilizado para testar a capacidade de compostos em atuar como eliminadores de radicais livres ou doadores de hidrogênio e assim mensurar a atividade antioxidante (ZHUANG; TANG; YUAN, 2013). A determinação da atividade de eliminação do radical hidroxila pode fornecer informações relevantes sobre a capacidade antioxidante de compostos bioativos (ZHUANG; TANG; YUAN, 2013). Na Figura 1, observou-se que o hidrolisado obtido pela enzima Alcalase apresentou comportamento dose-dependente, pois com o acréscimo da concentração ocorreu um aumento na atividade antioxidante nos dois métodos avaliados. Quando se comparou, os dois métodos entre si em todas as concentrações, o hidrolisado foi mais eficaz na atividade de eliminação do radical hidroxila.

#### 4 CONCLUSÃO

Após a obtenção do hidrolisado proteico proveniente de hidrólise enzimática a partir da carne mecanicamente separada de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) com a enzima Alcalase, concluiu-se que este apresentou capacidade antioxidante nos dois testes analisados. Assim, sugere-se a aplicação deste hidrolisado em alimentos suscetíveis a oxidação lipídica e avaliação de sua eficácia para conservação dos mesmos.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, CNPq, EMBRAPA MEIO-NORTE e FAPERGS.

#### 6 REFERÊNCIAS

- ADLER-NISSEN, J. **Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins**. London: Elsevier Applied Science Publishing, 1986.
- BORGES, L. L.; LÚCIO, T. C.; GIL, E. D. S.; BARBOSA, E. F. Uma abordagem sobre Métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1–20, 2011.
- CHI, C. F.; HU, F. Y.; WANG, B.; REN, X. J.; DENG, S. G.; WU, C. W. Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolyzate of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*) muscle. **Food Chemistry**, v. 168, p. 662–667, 2015.
- GHALY, A., RAMAKRISHNAN, V., BROOKS, M., BUDGE, S., DAVE, D. Fish processing wastes as a potential source of proteins, amino acids and oils: a critical review. **Journal of Microbial and Biochemical Technology**, v. 5, p. 107-129, 2013.
- GIRGIH, A. T.; HE, R.; HASAN, F. M.; UDENIGWE, C. C.; GILL, T. A.; ALUKO, R. E. Evaluation of the in vitro antioxidant properties of a cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysate and peptide fractions. **Food Chemistry**, v. 173, p. 652–659, 2015.

HALIM, N. R. A.; YUSOF, H. M.; SARBON, N. M. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 51, p. 24–33, 2016.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, v. 44, p. 1–51, 2016.

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.

JIN, D. X.; LIU, X. L.; ZHENG, X. Q.; WANG, X. J.; HE, J. F. Preparation of antioxidative corn protein hydrolysates, purification and evaluation of three novel corn antioxidant peptides. **Food Chemistry**, v. 204, p. 427–436, 2016.

LI-CHAN, E. C. Y. Bioactive peptides and protein hydrolysates: research trends and challenges for application as nutraceuticals and functional food ingredients. **Current Opinion in Food Science**, v. 1, p. 28-37, 2015.

SILVA, C. M.; FONSECA, R. A. DOS S.; PRENTICE, C. Comparing the hydrolysis degree of industrialization byproducts of Withemout croaker (*Micropogonias furnieri*) using microbial enzymes. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 5, p. 1757–1761, 2014.

SUWAL, S.; KETNAWA, S.; HUANG, J.; LICEAGA, A. M. Electro-membrane fractionation of antioxidant peptides from protein hydrolysates of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) byproducts. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, *in press*, 2017.

TOLDRÁ, F.; ARISTOY, M. C.; MORA, L.; REIG, M. Innovations in value-addition of edible meat by-products. **Meat Science**, v. 92, p. 290-296, 2012.