

Evento: VII SEMINÁRIO DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

**UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES ENZIMAS NA OBTENÇÃO DO
HIDROLISADO PROTEICO DO FILÉ DA CARPA HÚNGARA (CYPRINUS
CARPIO, L.)¹**

**USE OF DIFFERENT ENZYMES TO OBTAIN THE PROTEIN HYDROLYZATE
OF THE FILLET OF THE HUNGARIAN CARP (CYPRINUS CARPIO, L.)**

**Camila Hammarstrom Goi², Carolina Almeida Bragato³, Eilamaria
Libardoni Vieira⁴, Raul Vicenzi⁵, Fernanda Da Cunha Pereira⁶**

¹ Estudo vinculado a pesquisa Institucional "Desenvolvimento de novos produtos alimentícios a base de carne de peixe", Grupo de pesquisa Alimentos e Nutrição da UNIJUI.

² Aluna do curso de Graduação em Engenharia Química da UNIJUI, bolsista iniciação científica PIBITI/CNPQ, camilahgoi@hotmail.com

³ Aluna do curso de Graduação em Engenharia Química da UNIJUI, bolsista de iniciação científica PIBIC/UNIJUI, carolbragato@hotmail.com

⁴ Professora Mestre do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI, eilamaria.vieira@unijui.edu.br

⁵ Professor Doutor do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI, rvicenzi@unijui.edu.br

⁶ Professora Doutora do Departamento de Ciências Exatas e Engenharias da UNIJUI, Orientadora, fernanda.cunha@unijui.edu.br

INTRODUÇÃO

O consumo *per capita* de peixes no Brasil é baixo quando comparado ao consumo de pescado em outros países do mundo (SONODA, 2006). Em 2015, segundo estimativa divulgada pelo Ministério da Pesca e Agricultura (MPA), o consumo de pescado no Brasil foi de apenas 10,6 quilos de pescado *per capita*, o que está abaixo do recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que é de 12 quilos *per capita* por ano (SNA, 2015).

A partir disso e visando estimular o aumento do consumo de pescado, foi elaborado o projeto "Desenvolvimento de novos produtos alimentícios a base de carne de peixe" na Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI) em parceria com a Cooperativa de Piscicultores de Ajuricaba e Nova Ramada (COPRANA). Este projeto conta com financiamento externo da Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência e Tecnologia do estado do Rio Grande do Sul.

A qualidade do pescado como alimento é um fator indiscutível, pois sabe-se que é uma importante fonte de proteínas e lipídios. De modo geral, o pescado vem sendo cada vez mais procurado, já que pode estar presente nos mais variados tipos de dietas e possui qualidades nutricionais para combater dois problemas contemporâneos, a fome e a obesidade (FAO, 2012).

O uso do pescado de baixo valor comercial ou fora de tamanho padrão, pode ser utilizado como fonte para a obtenção de produtos com maior valor agregado, tais como hidrolisados proteicos, sendo uma alternativa bastante interessante para o setor de pesca. A hidrólise das proteínas pode

Evento: VII SEMINÁRIO DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

ser realizado utilizando enzimas, ácidos e álcalis. Entretanto, a hidrólise enzimática é mais indicada do que a que utiliza químicos para a produção de hidrolisados com aplicações nutricionais, já que não proporciona a formação de produtos nocivos. Outro fator deve-se ao maior controle da hidrólise realizada com enzimas, melhorando as propriedades do produto final, além deste método ser mais simples, eficiente, envolvendo condições alcalinas moderadas que não destroem as proteínas recuperadas por racemização e outras reações químicas (FONKWE, 2005 citado por SCHMIDT E MELLADO, 2009).

A Flavourzyme® é uma exopeptidase fúngica complexa produzida pela fermentação submersa de uma linhagem selecionada de *Aspergillus oryzae*. A Alcalase® é uma endopeptidase produzida por fermentação submersa do microrganismo de *Bacillus licheniformis*, e tem-se provado por muitos pesquisadores como sendo uma das melhores enzimas utilizada na preparação de hidrolisados proteicos (KRISTINSSON, 2000).

Diante da necessidade de aumentar o consumo de pescado no Brasil e visando minimizar seu desperdício, este estudo propõe a realização do método de hidrólise enzimática utilizando filé de Carpa Húngara (*Cyprinus carpio*, L.). Será comparada a utilização de duas enzimas diferentes (Flavourzyme® e Alcalase®), avaliando assim a possibilidade de se obter um produto com alto valor nutricional. Esta pesquisa baseou-se na Carpa Húngara pelo fato da utilização desta na elaboração dos produtos à base de pescado do projeto ao qual este estudo faz parte.

METODOLOGIA

Para a realização deste estudo foi utilizado filé do pescado do tipo Carpa Húngara (*Cyprinus carpio*, L.) proveniente da Cooperativa de Piscicultores de Ajuricaba e Nova Ramada (COPRANA). Após capturados, os peixes foram acondicionados em caixas térmicas com gelo e transportado até o Laboratório de Nutrição da UNIJUI. Depois de abatido e eviscerados, os peixes foram filetados, com o intuito de separar a pele e a carcaça. Os filés foram triturados e armazenados em freezer a -18°C até o momento da realização da hidrólise enzimática.

Os laboratórios da UNIJUI (Laboratório de Pesquisa em Química - LAPEQ, Laboratório de Processamento de Alimentos II e Laboratório de Engenharia Química) foram utilizados para a realização do método de hidrólise e da metodologia de quantificação de proteína solúvel. Todos os procedimentos foram realizados em duplicata.

A obtenção do hidrolisado proteico, teve início com a adição do substrato já triturado em frascos do tipo Erlenmeyer de 250 ml, em seguida foi adicionada água destilada na proporção 1:1, ou seja, 30g de substrato e 30 ml de água destilada. Foram acrescentados aos frascos 5% da enzima Alcalase® 2.4 U/g (Sigma Aldrich) ou Flavourzyme® 500 U/g (Sigma Aldrich). Posteriormente, os frascos contendo as amostras foram acondicionados em uma Incubadora Shaker com Agitação Orbital Refrigerada de Piso SL-221 com temperatura estabilizada em 60°C, a 200 rpm, 30 minutos de estabilização do sistema e duas horas de hidrólise enzimática.

Após transcorrido o tempo de reação, as enzimas foram inativadas termicamente em um Banho Termostatizado 093/CF na temperatura de 85°C durante 10 minutos. Os hidrolisados foram

Evento: VII SEMINÁRIO DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

arrefecidos e centrifugados em uma Centrífuga Refrigerada 9300R durante 10 minutos à 10.000 rpm para a separação da fração insolúvel e retirada de uma alíquota do sobrenadante, para posterior quantificação da proteína solúvel hidrolisada.

A concentração de proteína solúvel foi quantificada seguindo o método de Lowry e Cols (1951) que consiste na utilização do reagente Folin-Ciocalteu que sofre uma redução quando reage com proteínas na presença do catalisador Cobre (II), produzindo um complexo de cor azul com absorção máxima de 750 nm, que foi medido com o auxílio de um espectrofotômetro Spectronic Genesys 20. Para a quantificação da proteína hidrolisada foi realizada uma curva padrão utilizando solução de albumina bovina e água em proporções previamente definidas pelo método. Para a quantificação do Grau de Hidrólise (%GH) foi realizado o seguinte cálculo:

$$\%GH = \frac{\text{proteína solúvel}}{\text{proteína total na amostra}} * 100 \quad (1)$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com os resultados obtidos é possível analisar a eficácia da hidrólise enzimática e comparar a ação das duas enzimas através do Grau de Hidrólise (%GH) obtido, expresso na tabela 1. Para a realização deste cálculo, foram utilizados dados da composição centesimal do filé de Carpa Húngara, expresso na tabela 2, ao qual foram obtidos em outro trabalho realizado para este mesmo projeto. A umidade presente no filé também foi considerada para a realização da quantificação de proteínas solubilizadas no processo de hidrólise, pois sabe-se que esta causa diluição da concentração de proteínas no substrato. Pode-se concluir que a melhor enzima para a realização do hidrolisado proteico do filé de Carpa Húngara foi a Alcalase®, o que já havia sido evidenciado em outros estudos sobre hidrolisado proteico segundo Kristinsson (2000).

Estudos recentes realizados por Schmidt e Mellado (2009), ao analisarem o grau de hidrólise (%GH) do peito e da coxa de frango utilizando as enzimas Alcalase® e Flavourzyme®, em quantidades até 9,1% de enzima e tempo de até 140 minutos, obtiveram a melhor resposta ao grau de hidrólise para a enzima Alcalase®, utilizando como substrato a carne de peito de frango. Destacam também que uma matéria-prima contendo elevada quantidade de lipídios resultada em um hidrolisado com menor quantidade de proteína solubilizada.

Tabela 1 - Grau de Hidrólise do filé de Carpa Húngara

Enzima	Tempo (min)	Concentração (g/ml)	%GH
Flavourzyme®	120	9,2675x10 ⁻³	7,65
Alcalase®	120	13,151x10 ⁻³	10,86

Evento: VII SEMINÁRIO DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

Tabela 2 - Composição Centesimal do filé de Carpa Húngara

Parâmetro Químico	Valor (%)
Umidade	72,82±3,21
Lipídios Totais	6,80±2,40
Resíduo Mineral	1,14±0,44
Proteína Bruta	21,19±2,79

Fonte: DIDONET, F. P. *et al*, 2015

Investigando o método de hidrólise de proteína por proteases, a temperatura e a proporção enzima-substrato influenciaram na clivagem das ligações peptídicas do substrato proteico. O grau de hidrólise depende da enzima utilizada e a Alcalase® quando comparada com a Flavourzyme®, apresentou maior grau de hidrólise, por ser uma endo-enzima, a qual consegue uma hidrólise mais efetiva (DINIZ E MARTIN,1996).

De acordo com Kristinsson e Rasco (2000), a elevação da concentração de proteases aumenta significativamente o grau de hidrólise, embora os custos também se elevem em função da utilização de maiores volumes desse produto. Além do aumento da concentração de enzima, outra variável que aumentará o GH é o tempo de reação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para este estudo preliminar, os resultados obtidos para o grau de hidrólise são pouco expressivos. No entanto, há potencial para que este hidrolisado seja produzido e vendido como ingrediente de uma suplementação alimentar, devido a quantidade de proteína disponível no filé. Sugere-se para estudos posteriores a realização de um planejamento experimental aprofundado, testando novos valores para o tempo de hidrólise, temperatura, concentração de substrato e, principalmente, o percentual de enzima utilizados, visando otimizar e alcançar um maior rendimento do processo de hidrólise.

Palavras-Chaves: Peixe; Hidrólise Enzimática; Engenharia Química;

Keywords: Fish; Enzymatic Hydrolysis; Chemical Engineering;

REFERÊNCIAS

DIDONET, F. P. *et al*. Composição centesimal da Carpa Húngara (*Cyprinus carpio*, L.). In: Simpósio de Alimentos para a Região Sul, 9., 2015. Passo Fundo Anais... Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2015. v.9, p. 1-4.

Evento: VII SEMINÁRIO DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

DINIZ, F. M.; Martin, A. M. Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 31, p. 419-426. 1996.

FAO. The state of world fisheries and aquaculture (SOFIA): 2012. Rome, 2012. p. 209

KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A.; Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 40:1, p. 43-81. 2000. DOI: 10.1080/10408690091189266

LOWRY, O. H.; *et al.* PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 193, p. 265-275, 1951.

SCHMIDT, C.G.; SALLAS-MELLADO, M. Influência da ação das enzimas alcalase e flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. *Química Nova*, v. 32:5, p. 1144-1150. 2009.

SOCIEDADE NACIONAL DE AGRICULTURA. Consumo de pescado no Brasil está abaixo do recomendando pela OMS. São Paulo, SP, 2015. Disponível em: <<http://sna.agr.br/consumo-de-pescado-no-brasil-esta-abaixo-do-recomendado-pela-oms/>>. Acesso em: 11 de junho de 2017.

SONODA, D. Y. Demanda por pescado no Brasil entre 2002 e 2003. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2006.