



**OBTENÇÃO DE HIDROLISADO ENZIMÁTICO DE RESÍDUO DE TAMBAQUI
(*Colossoma macropomum*) E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE
INIBITÓRIA DA ENZIMA CONVERSORA DA ANGIOTENSINA**

*COSTA, Elizabete Lourenço^{1,2}; YAMAMURA, Hirochi^{1,2}; GARCIA, Gabriel Pierry²;
YAMAMURA, Elsa Tiemi Hojo²

¹Centro de Ciências da Saúde - Universidade Católica de Santos - AV. Conselheiro Nébias
300, 11015-002 Santos, São Paulo

²Hexalab – Consultoria em Análises Químicas Ltda.

* email: bete@unisantos.br

RESUMO: O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um peixe amazônico rico em ômega: 3, onde os subprodutos de seu processamento são normalmente descartados no meio ambiente. Neste trabalho amostras de resíduo de tambaqui foram coletadas em uma indústria da cidade de São Paulo, submetidas à análise de metais pesados, avaliação da qualidade físico-química e microbiana e em seguida hidrolisadas pelas enzimas Protamex e Flavourzyme. Após a centrifugação e liofilização a inibição da Enzima Conversora da Angiotensina (ECA) foi avaliada. O resíduo do tambaqui demonstrou ser livre de patógenos, rico proteína e lipídeos. O pH do músculo do pescado (6,5) apresentou uma correlação com atributos de frescor. O estudo dos metais pesados (Hg, Pb e Cd) indicou concentrações abaixo dos níveis admissíveis legislação brasileira. Após reação enzimática o grau de hidrólise foi de $6,6 \pm 0,5\%$, este material foi capaz de inibir a ECA com um IC_{50} de 0,20 mg/mL. Estes resultados indicam que os resíduos tambaqui são seguros para consumo humano, consistindo em uma fonte potencial de peptídeos antihipertensivos. Além dos benefícios para a saúde a produção industrial desses hidrolisados também pode minimizar problemas ambientais.

Palavras-chave: subprodutos, pescado, inibição da ECA, hidrólise enzimática.

ABSTRACT: The tambaqui fish (*Colossoma macropomum*) is an Amazonian fish rich in omega:3, where its by-products generated are usually discarded in the environment. Although in this work tambaqui residues were collected in a factory, some heavy metals were determined. After the physicochemical and microbial quality assessment of samples, Protamex and Flavourzyme were used to obtain the hydrolysate preparation. After centrifugation, freeze dried hydrolysed materials were studied in terms of their Angiotensin Converting



Enzyme (ACE) inhibition activity. The tambaqui fish residue demonstrated to be a pathogen free, rich in protein, and lipids. The pH of fish muscle (6.5) presented a correlation with fish freshness. The study of heavy metals (Hg, Pb and Cd) indicated concentrations below the permissible Brazilian Legislation levels. After enzymatic reaction the hydrolysis degree was about $6.6 \pm 0.5\%$. These results show that tambaqui fish residues are safe to human consumption and are a potential source of ACE-inhibitory peptides. When hydrolyzed with Protamex and Flavourzyme the peptides released inhibited ACE activity with IC_{50} of 0.20mg/mL. Among health benefits its industrial manufacturing would also reduce environmental disposal problems.

Keywords: by-products, fish, ACE-inhibition, enzymatic hydrolysis.

INTRODUÇÃO: O desenvolvimento de alimentos funcionais significa uma maneira eficaz de incrementar os benefícios terapêuticos de muitos nutrientes convencionais encontrados em baixas concentrações nos alimentos, além de manter seu nível de aceitação como produto natural, ou aproveitar nutrientes presentes em frações de baixo ou nenhum valor comercial, destinados ao descarte. Dentro desse contexto, encontram-se as porções proteicas presentes na carcaça dez pescados após a filetagem, onde uma das formas de aproveitamento consiste na hidrólise proteica.

Na Indústria de alimentos, as proteínas mais comumente usadas para a produção de hidrolisados protéicos são as derivadas do leite (caseína e as proteínas do soro), soja, carne e pescado, onde a principal aplicação é o emprego na alimentação enteral, pela presença de peptídios de baixo peso molecular, que possuem excelente absorção gastrointestinal por sua baixa osmolalidade (NEVES, MIRA; MARQUEZ, 2004).

Outro campo de estudo e de aplicação para os hidrolisados protéicos é a obtenção de peptídios, biologicamente ativos, os quais podem desempenhar várias funções, regulando ou inibindo a atividade enzimática, atuando como antibióticos, hormônios, agentes antivirais e antibacterianos ou imunomoduladores. Recentemente alimentos hidrolisados direcionados para portadores de hipertensão arterial têm sido pesquisados a partir de proteínas



de várias fontes (BYUN, KIM; 2001; FUGITA, YAMAGAMI, OHSHIMA, 2001), incluindo a proteína de pescado. Esses peptídeos podem possuir a capacidade de inibir a Enzima Conversora da Angiotensina, uma das principais responsáveis pela regulação da tensão arterial no organismo.

MATERIAIS E MÉTODOS: As amostras de Tambaqui foram coletadas em uma indústria na cidade de São Paulo e encaminhadas para análises microbiológicas que constaram da contagem total de bactérias aeróbias, pesquisa de *Staphylococcus aureus*, pesquisa de *Salmonella* sp., contagem de coliformes totais e coliformes fecais seguindo os procedimentos recomendados por Vanderzant e Splittstoesser (1992). A higienização de porções com soluções de hipoclorito 50ppm ou ácido acético 1% foi empregada com o objetivo de reduzir a carga microbiana inicial. Para caracterização química do pescado, o pH do músculo foi aferido em pHmetro digital, a determinação da composição centesimal (AOAC, 1990) e a pesquisa de metais pesados por espectrofotometria de absorção atômica. Na sequência as amostras foram submetidas à hidrólise enzimática com as enzimas Protamex 0,8% e Flavorzyme 0,5% em reator encamisado, a 50°C e pH 7,0, mantido constante pela titulação de KOH. O hidrolisado obtido foi centrifugado, liofilizado e testado quanto a sua capacidade de inibir a ECA de acordo com a metodologia descrita por Li et al. (2005).



RESULTADOS E DISCUSSÃO: A contagem média de bactérias heterotróficas no Tambaqui foi de $8,03 \times 10^5$ UFC/g, a higienização da carcaça com hipoclorito reduziu a contagem para $1,47 \times 10^5$ UFC/g, sendo a higienização com ácido acético mais eficiente, com uma contagem de $1,66 \times 10^4$ UFC/g, valores concordantes com o ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods, 1986).

Não foi detectada a presença de *Salmonella* sp. nem *Staphylococcus aureus* nas amostras. Os coliformes termotolerantes quando presentes mostraram-se dentro dos níveis permitidos pela Legislação Brasileira.

As amostras apresentaram um pH médio de 6,5, indicando bom estado de frescor. A Tabela 1 apresenta os resultados da composição centesimal do resíduo de Tambaqui e valores de concentração de metais pesados atendendo aos limites estabelecidos em Legislação Brasileira (BRASIL, 1997).

Tabela 1 – Caracterização do resíduo do Tambaqui

COMPOSIÇÃO		METAIS PESADOS	
PROTEÍNA	15,1±0,6%	MERCÚRIO	<0,5mg/L
UMIDADE (105°C/2h)	63,8±0,7%	CHUMBO	1 mg/L
LIPÍDEO	17,9±0,3%	CÁDMIO	1 mg/L

Na Figura 1 observa-se uma curva de hidrólise proteolítica do Tambaqui, com a obtenção de um produto de baixo grau de hidrólise, essa característica pode ser desejável do ponto de vista sensorial, pela menor concentração de peptídeos com sabor amargo.

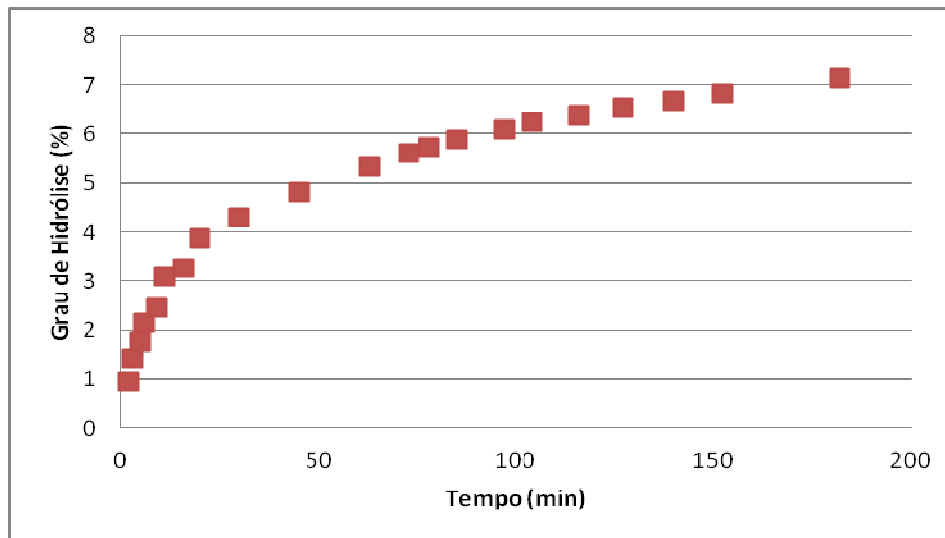


Figura 1 - Hidrólise do Tambaqui com Flavourzyme 0,5% e Protamex 0,8%, pH 7,0/50°C

O hidrolisado obtido mostrou uma atividade inibitória da ECA com um IC_{50} de 0,20 mg/mL, um valor bastante satisfatório, quando comparado ao IC_{50} de um subproduto de atum pesquisado por Hsu, Cheng e Hwang (2007), que foi de 5,85 por mg de proteína por mL, mostrando um potencial emprego como alimento de efeito antihipertensivo.

CONCLUSÃO: Os resultados indicam que o resíduo da filetagem de Tambaqui apresenta qualidade nutricional e microbiológica, sendo seguro para emprego na alimentação humana. A obtenção de hidrolisado proteico mostrou-se viável, além de seu perfil funcional, com a capacidade de inibir a ECA. Futuras análises são necessárias para avaliar os aspectos sensoriais.

REFERÊNCIAS

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL METHODS ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association Chemistry**. 15. ed. Washington, D.C., 1990. 1141 p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 1997. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>>.



BYUN, H.; KIM, S. Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) skin. **Process Biochemistry**, v.36, n.12, p.1155-1162, 2001.

FUJITA H.; YAMAGAMI, T.; OHSHIMA, K. Effects of a ace-inhibitory agent, katsuobushi oligopeptide, in the spontaneously hypertensive rat and in borderline and mildly hypertensive subjects. **Nutrition Research**, v.21, n.8, p.1149-1158, 2001.

ICMSF, International Commission on Microbiological Standard for Foods. **Recommended microbiological limits for seafoods**. Online. 1986. Disponível em: <<http://www.seafood.ucdavis.edu/orgnize/icmsf.htm>>. Acesso em: 08 jul. 2010.

LI, G.H.; LIU, H.; SHI, Y.H.; LE, G.W. Direct spectrophotometric measurement of angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity for screening bioactive peptides. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 37, p. 219-224, 2005.

NEVES, R. A. M.; MIRA, N. V. M., MARQUEZ, U. M. L. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 1, p. 101 – 108, 2004.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3.ed. Washington: APHA, 1992. 1219.p.