



APLICAÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO PROVENIENTE DE DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) COMO ANTIOXIDANTE NATURAL NA CONSERVAÇÃO DE CARNE BOVINA MOÍDA

C.C. Quadros¹, K.O. Lima², J.M. Latorres³, M. Rocha⁴, C. Prentice⁵ (*In memoriam*)

1,2,3,5- Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos - Escola de Química e Alimentos - Universidade Federal do Rio Grande – CEP: 96203-900 – Rio Grande – RS – Brasil, Telefone: (53)3233.6500– Fax: (53)3233.6500– e-mail: 1-(camiilah@ymail.com); 2-(karinah_ol@hotmail.com); 3- (julatorres@yahoo.com.br); 5-(dqmprent@furg.br).

4- Escola de Química e Alimentos - Universidade Federal do Rio Grande – Campus Santo Antônio da Patrulha – CEP: 95500-000 – Santo Antônio da Patrulha – RS – Brasil, Telefone: (51)3662.7800 – email: (meritaine@gmail.com)

RESUMO – O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade antioxidante, de hidrolisado proteico de carne mecanicamente separada de tambaqui, na estabilidade lipídica de carne bovina moída. O hidrolisado proteico foi obtido por hidrólise enzimática com Protamex, posteriormente foi adicionado e homogeneizado na carne bovina moída nas quantidades de 1 e 2 mg/g de carne bovina, as amostras foram embaladas e armazenadas a 4 °C. A estabilidade lipídica da carne bovina moída e as mudanças na coloração foram determinadas nos tempos 0, 1, 3 e 7 dias de armazenamento. As amostras contendo hidrolisado proteico foram capazes de reduzir em até 60,9% a oxidação lipídica quando comparadas ao controle no sétimo dia de armazenamento. E estas não apresentaram modificação na coloração natural da carne bovina moída. Assim, conclui-se que este pode ser utilizado como fonte alternativa de antioxidante para a conservação de carnes refrigeradas.

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the capacity antioxidant, of protein hydrolysate of meat mechanically separated from tambaqui, in the lipid stability of ground beef. The protein hydrolysate was obtained by enzymatic hydrolysis with Protamex, later it was added and homogenized in the ground beef in the quantities of 1 and 2 mg.g⁻¹ of beef, the samples were packaged and stored at 4 °C. The lipid stability of ground beef and changes in color were determined at 0, 1, 3 and 7 days of storage. The samples containing protein hydrolysate were able to reduce lipid oxidation by up to 60.9% when compared to control on the seventh day of storage. And these did not show any change in the natural color of the ground beef. Thus, it is concluded that it can be used as an alternative source of antioxidants for the conservation of refrigerated meat.

PALAVRAS-CHAVE: carne mecanicamente separada; hidrólise enzimática; oxidação lipídica.

KEYWORDS: mechanically separated meat; enzymatic hydrolysis; lipid oxidation.



1. INTRODUÇÃO

A vida útil dos alimentos pode ser influenciada por diferentes fatores, tais como ingredientes, embalagem, condições de armazenamento, entre outros. A qualidade dos alimentos é muitas vezes modelada matematicamente em torno de múltiplos parâmetros, como físico-químico, microbiológico e colorimétrico, avaliados durante o armazenamento (Granato et al., 2010). A oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração de alimentos com alto conteúdo de lipídeos, especialmente aqueles com alto grau de insaturação são mais suscetíveis à deterioração. Este processo desenvolve nos alimentos *flavours* indesejáveis, típico do ranço, tornando o produto inadequado para consumo humano, devido a formação de aldeídos tóxicos e a perda de qualidade nutricional pela degradação dos ácidos graxos poli-insaturados (Ganiari et al., 2017).

A oxidação lipídica é prevenida ou retardada na indústria de produtos cárneos por meio de aditivos sintéticos com propriedades antioxidantes, porém seu uso, quando em grandes quantidades podem apresentar possíveis riscos a saúde (Nantitanon et al., 2010). Os antioxidantes sintéticos tais como butil hidroxianisol (BHA) e butil hidroxitolueno (BHT) são comumente utilizados comercialmente com o objetivo de aumentar a vida útil de alimentos, entretanto podem ser tóxicos e carcinogênicos (Oliveira et al., 2014). Devido a isso, e a necessidade de retardar a oxidação lipídica em produtos alimentícios durante o armazenamento, têm-se estudado a obtenção de compostos antioxidantes provenientes de fontes naturais (Zhuang et al., 2013).

Os antioxidantes naturais são substâncias com a capacidade de retardar ou inibir a oxidação lipídica que podem ser extraídas de alimentos, ou de plantas desde que consideradas seguras para ingestão. Os hidrolisados proteicos derivados de pescado tornaram-se uma fonte natural com potencial para aplicação na conservação de alimentos devido a sua capacidade antioxidante. Estes podem ser incorporados em produtos de origem animal e/ou vegetal para aumento da vida útil, substituindo o uso de aditivos sintéticos (Girgih et al., 2015; Wang et al., 2016). Assim, a aplicação de antioxidantes naturais em carne moída torna-se interessante por ser um produto amplamente consumido com elevado teor de lipídeos e submetido somente à refrigeração durante o armazenamento. O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie nativa da bacia amazônica e tem sido uma das espécies mais cultivada no Brasil (IBGE, 2016). Entretanto, não há estudos que tenham verificado suas propriedades bioativas. Desta forma, o objetivo deste estudo foi aplicar hidrolisado proteico da carne separada mecanicamente (CMS) de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em carne bovina moída e avaliar a capacidade como antioxidante na estabilidade lipídica da carne.

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/BR. A carne moída crua proveniente do corte do bovino, denominado Acém, utilizada para avaliação da peroxidação lipídica foi adquirida em comércio local da cidade de Rio Grande/RS/BR. Imediatamente, após ser moída foi transportada em caixa térmica contendo gelo até o Laboratório de Tecnologia de Alimentos da FURG, em Rio Grande/RS/BR. A enzima utilizada foi a Protamex adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis/MO, EUA).

2.2 Obtenção do hidrolisado proteico de Tambaqui

O hidrolisado proteico foi obtido por meio de hidrólise enzimática utilizando-se a enzima Protamex (pH: 7,0; T: 60 °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) a 85 °C durante 15 min para inativação das enzimas endógenas. Logo após, colocou-se em reator de vidro encamisado acoplado de banho termostático (Quimis, Q214M2), com agitação constante de agitador (Fisatom, 715) a 500 rpm, até completar a homogeneização da amostra. Ajustou-se as condições ótimas de pH com NaOH (1M) e temperatura da enzima e iniciou-se a hidrólise enzimática com adição da enzima na proporção de 2% (E/S), a reação foi acompanhada

durante 240 min para obtenção de grau de hidrólise constante. Ao final, a enzima foi inativada pela imersão em banho-maria a 85 °C durante 15 min. 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) a -80 °C por 48 h e seca em liofilizador (Liotop, L108) a -55 °C e 50 µHg durante 48 h. O hidrolisado liofilizado foi armazenado em frascos de vidro a -18 °C até o momento do uso.

2.3 Aplicação como antioxidante em carne bovina moída

O hidrolisado proteico foi adicionado e homogeneizado diretamente na carne bovina moída, nas quantidades de 1 e 2 mg/g de carne moída, para posterior avaliação de sua capacidade como antioxidante natural. Uma amostra de carne sem adição de hidrolisado foi utilizada como controle. Em seguida da adição, as amostras foram embaladas separadamente em filmes de policloreto de vinila (PVC) e armazenadas a 4 °C.

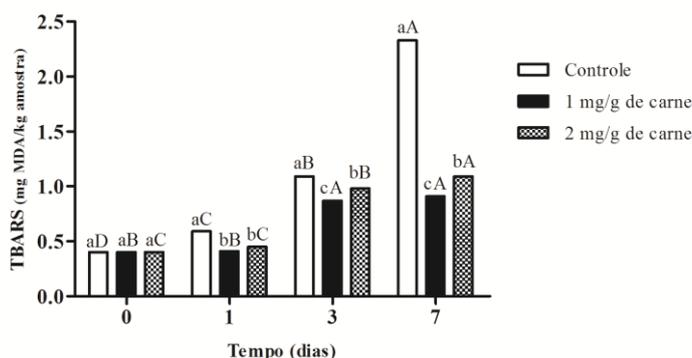
A estabilidade lipídica da carne bovina moída foi determinada pelo ensaio de TBARS segundo o método descrito por Crackel et al. (1988) e as mudanças na coloração da carne foram determinadas, em triplicata, utilizando colorímetro (Minolta, CR-400) nos tempos 0, 1, 3 e 7 dias de armazenamento refrigerado a 4 °C.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estabilidade lipídica

Segundo Sarmadi e Ismail (2010), a atividade antioxidante dos peptídeos pode ser atribuída à sua capacidade de eliminação de radicais livres, quelação de íons metálicos e poder redutor. Essa capacidade pode estar relacionada a inibição da peroxidação lipídica em alimentos. A Figura 1 apresenta a avaliação da estabilidade lipídica da carne bovina moída adicionada de hidrolisado proteico. A partir do primeiro dia de armazenamento, a amostra controle apresentou maior conteúdo de TBARS (0,59 mg MDA/kg de amostra), em relação as demais amostras analisadas e este comportamento se manteve ao longo dos sete dias de armazenamento.

Figura 1 – Avaliação da estabilidade lipídica da carne bovina moída pelo método TBARS



Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre as amostras para o mesmo dia de análise ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa ao longo dos dias de armazenamento para a mesma amostra ($p < 0,05$). (1mg/g: 1 mg de hidrolisado proteico/g de carne moída; 2mg/g: 2 mg de hidrolisado proteico/g de carne moída).

A partir do terceiro dia, a amostra em que foram adicionados 2 mg de hidrolisado/g de carne moída apresentou menor oxidação quando comparada ao controle, porém maior quando comparada a de 1 mg de hidrolisado/g de carne. Isso pode ocorrer porque a partir de determinada concentração de hidrolisado pode resultar em um efeito pró-oxidante, favorecendo assim a oxidação segundo o que foi observado por Centenaro et



al. (2014). No sétimo dia de armazenamento os hidrolisados nas concentrações de 1 e 2 mg de hidrolisado/g de carne moída inibiram 60,9% e 53,2% da formação das TBARS em relação ao controle, respectivamente.

Os hidrolisados de diversas fontes têm sido aplicados com o objetivo de conferir estabilidade a produtos alimentícios através da inibição da peroxidação lipídica. Zhang et al. (2010) analisaram três frações de hidrolisados proteicos incorporados em carne moída para determinar a inibição na peroxidação lipídica durante o armazenamento em refrigeração por 15 dias e com duas frações obtiveram resultados de redução da oxidação de 20,1% e 12,9%, respectivamente. Oliveira et al. (2014) estudaram a oxidação lipídica em carne de porco e salmão adicionadas de hidrolisado proteico de soja nas concentrações de 2 e 10 mg/mL. Esses autores verificaram que a presença dos hidrolisados diminuiu a oxidação lipídica das carnes de porco e salmão em relação o tratamento controle, no qual não foi adicionado hidrolisado. Na carne de porco a inibição foi de 46 e 62% das TBARS, enquanto que para o salmão as inibições foram de 12 e 65% das TBARS, nas concentrações de 2 e 10 mg/mL, respectivamente. De acordo com Ganiari et al. (2017) a oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração de alimentos e essa pode ser retardada pela adição de antioxidantes naturais, substituindo os aditivos químicos.

3.2 Cor

O acompanhamento nas mudanças de coloração da carne foi realizado durante os sete dias de armazenamento em refrigeração a 4 °C, como apresenta a Tabela 1.

Tabela 1 – Mudanças na coloração da carne moída embalada durante o armazenamento

Croma	Tempo (dias)	Controle	1 mg de hidrolisado /g carne	2 mg de hidrolisado /g carne
L*	0	36,19±0,16 ^{aA}	36,19±0,16 ^{aA}	36,19±0,16 ^{aA}
	1	36,71±1,05 ^{aA}	36,54±2,97 ^{aA}	34,21±2,10 ^{aA}
	3	36,01±0,10 ^{aA}	34,55±3,48 ^{aA}	32,35±1,42 ^{aA}
	7	36,16±1,45 ^{aA}	34,22±0,66 ^{aA}	36,08±5,12 ^{aA}
a*	0	21,07±0,20 ^{aA}	21,07±0,20 ^{aA}	21,07±0,20 ^{aA}
	1	22,07±1,49 ^{aA}	22,96±0,12 ^{aA}	22,69±1,77 ^{aA}
	3	15,06±1,06 ^{aB}	15,94±2,36 ^{aB}	14,80±1,85 ^{aB}
	7	11,70±0,39 ^{aC}	10,97±0,17 ^{aC}	11,85±1,95 ^{aB}
b*	0	10,52±0,37 ^{aB}	10,52±0,37 ^{aB}	10,52±0,37 ^{aB}
	1	12,38±0,65 ^{aA}	11,56±0,44 ^{abA}	10,75±0,42 ^{bA}
	3	9,61±0,11 ^{aB}	9,46±1,15 ^{aB}	8,52±0,89 ^{aB}
	7	7,81±0,32 ^{aC}	6,55±0,31 ^{aC}	7,55±1,02 ^{aB}

Média±desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma linha indica diferença significativa entre as amostras para o mesmo dia de armazenamento ($p < 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indica diferença significativa para cada amostra ao longo dos dias de armazenamento ($p < 0,05$).

De forma geral, todos os parâmetros de cor apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) ao longo dos dias de armazenamento, indicando mudanças na coloração, exceto para o parâmetro de luminosidade (L*). Entretanto, os tratamentos aplicados não influenciaram nos parâmetros de cor da carne moída, pois comparando as amostras não foi verificada diferença significativa ($p > 0,05$), demonstrando que a adição do hidrolisado proteico não alterou a cor característica da carne.

O croma a* apresentou um decréscimo ao longo do tempo de armazenamento resultando em uma diminuição da coloração vermelha. Segundo Ordoñez (2005), essa coloração ocorre devido a presença da mioglobina, pois a mesma quando é oxidada passa da coloração vermelho púrpura para marrom, denominada metamioglobina. Esse processo de oxidação da mioglobina é favorecido por diferentes condições como: a presença de íons metálicos, aumento na temperatura, exposição às radiações ultravioleta, elevadas concentrações salinas e o desenvolvimento microbiano. Geralmente, a carne mantém sua coloração atrativa por 3 dias, desde que seja realizada uma manipulação adequada, com condições higiênicas e temperaturas de refrigeração ou congelamento. Os valores de croma b* mostraram que houve alterações nas amostras

ocasionando mudanças na coloração na região do amarelo para próximo ao cinza. Não foram encontrados na literatura relação entre a incorporação de hidrolisado proteico diretamente em carne moída com os parâmetros de cor avaliados durante o armazenamento (Oliveira et al., 2014; Piotrowicz, 2012; Zhang et al., 2010).

4. CONCLUSÃO

O hidrolisado proteico aplicado na carne bovina moída foi capaz de inibir aproximadamente 60,9% da oxidação lipídica durante sete dias de armazenamento refrigerado a 4 °C. Assim, conclui-se que o hidrolisado proteico proveniente da carne mecanicamente separada de tambaqui pode ser utilizado como fonte alternativa de antioxidante natural para a conservação de carnes refrigeradas.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA MEIO-NORTE).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler-Nissen, J. (1986). *Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins*. London: Elsevier.
- Centenaro, G. S., Salas-Mellado, M., Pires, C., Batista, I., Nunes, M. L., & Prentice, C. (2014). Fractionation of protein hydrolysates of fish and chicken using membrane ultrafiltration: Investigation of antioxidant activity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(6), 2877–2893.
- Chi, C. F., Hu, F. Y., Wang, B., Ren, X. J., Deng, S. G., & Wu, C. W. (2015). Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolyzate of croceine croaker (*Pseudosciaena crocea*) muscle. *Food Chemistry*, 168, 662–667.
- Crackel, R. L., Gray, J. I., Pearson, A. M., Booren, A. M., & Buckley, D. J. (1988). Some Further Observations on the TBA Test as an Index of Lipid Oxidation in Meats. *Food Chemistry*, 28, 187–196.
- Ganiari, S., Choulitoudi, E., & Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science and Technology*, 68, 70–82.
- Girgih, A. T., He, R., Hasan, F. M., Udenigwe, C. C., Gill, T. A., & Aluko, R. E. (2015). Evaluation of the in vitro antioxidant properties of a cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysate and peptide fractions. *Food Chemistry*, 173, 652–659.
- Granato, D., Masson, M. L., & de Freitas, R. J. S. (2010). Stability studies and shelf life estimation of a soy-based dessert. *Estudos de estabilidade e estimativa de vida de prateleira de sobremesa à base de soja*, 30(3), 797–807.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção Pecuária Municipal*. (2016). Rio de Janeiro: IBGE, v. 44, p. 1–51.
- Nantitanon, W., Yotsawimonwat, S., & Okonogi, S. (2010). Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. *LWT - Food Science and Technology*, 43(7), 1095–1103.
- Oliveira, C. F., Coletto, D., Correa, A. P. F., Daroit, D. J., Toniolo, R., Cladera-Olivera, F., & Brandelli, A. (2014). Antioxidant activity and inhibition of meat lipid oxidation by soy protein hydrolysates obtained with a microbial protease. *International Food Research Journal*, 21(2), 775–781.
- Ordoñez, J. A. (2005). *Tecnologia de Alimentos: Vol.2: Alimentos de Origem Animal* (2. ed). Porto Alegre: Artmed, Org.
- Piotrowicz, I. B. . (2012). *Hidrolisados protéicos de anchoita (Engraulis anchoita): Obtenção, atividade antioxidante e aplicação em embutido emulsionado*. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande.
- Sarmadi, B. H., & Ismail, A. (2010). Peptides Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*, 31(10), 1949–1956.



REALIZAÇÃO
sbCTA-RS

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020

ONLINE

**7º Simpósio de
Segurança Alimentar**
Inovação com sustentabilidade

Wang, Q., Huang, Y., Qin, C., Liang, M., Mao, X., Li, S., Zou, Y., et al. (2016). Bioactive Peptides from *Angelica sinensis* Protein Hydrolyzate Delay Senescence in *Caenorhabditis elegans* through Antioxidant Activities. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–10.

Zhang, L., Li, J., & Zhou, K. (2010). Chelating and radical scavenging activities of soy protein hydrolysates prepared from microbial proteases and their effect on meat lipid peroxidation. *Bioresource Technology*, 101(7), 2084–2089.

Zhuang, H., Tang, N., & Yuan, Y. (2013). Purification and identification of antioxidant peptides from corn gluten meal. *Journal of Functional Foods*, 5(4), 1810–1821.