

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**

**JOSIANE AIMON DE FREITAS**

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADO PROTEICO DE  
SUBPRODUTOS DO BENEFICIAMENTO DE PALOMETTA (*Serrasalmus  
spilopleura*)**

**Itaqui  
2017**

**JOSIANE AIMON DE FREITAS**

**PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADO PROTEICO DE  
SUBPRODUTOS DO BENEFICIAMENTO DE PALOMETTA (*Serrasalmus  
spilopleura*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Graciela Salete Centenaro

Coorientador: Valcenir Júnior Mendes Furlan

**Itaqui  
2017**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos  
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do  
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

d866p de Freitas, Josiane Aimon  
PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADO PROTEICO DE  
SUBPRODUTOS DO BENEFICIAMENTO DE PALOMETA (Serrasalmus  
spilopleura) / Josiane Aimon de Freitas.  
31 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade  
Federal do Pampa, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2017.  
"Orientação: Graciela Salete Centenaro".

1. Solubilidade. 2. Alcalase. 3. Hidrólise enzimática. 4.  
Características Funcionais . 5. Pescado de baixo valor  
comercial. I. Título.

JOSIANE AIMON DE FREITAS

PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADO PROTEICO DE  
SUBPRODUTOS DO BENEFICIAMENTO DE PALOMETA (*Serrasalmus  
spilopleura*)

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Ciência e  
Tecnologia de Alimentos da Universidade  
Federal do Pampa, como requisito parcial  
para obtenção do Título de Bacharel em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 30 de junho de 2017.

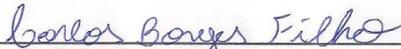
Banca examinadora:



Prof. Dr<sup>a</sup>. Graciela Salete Centenaro  
Orientador  
UNIPAMPA



Prof. Dr. Valcenir Júnior Mendes Furlan  
UNIPAMPA



Prof. Dr. Carlos Bórges Filho  
UNIPAMPA

## **AGRADECIMENTO**

Primeiramente agradeço a Deus por me conceder esta dádiva de realizar o curso e me sustentar em cada momento vivenciado durante esses 4 anos.

A minha orientadora Graciela Salete Centenaro pela dedicação a mim prestada, seu comprometimento, prontidão em ajudar sempre que lhe procurei. Não poderia deixar de agradecer ao coorientador Valcenir Júnior Mendes Furlan por todas as instruções e tempo dedicado para que este trabalho se realizasse, sem eles esse trabalho não seria possível. Serei eternamente grata por todos os ensinamentos dedicados a mim.

Ao Prof. Carlos Borges Filho por aceitar de bom grado participar da banca examinadora deste TCC.

Aos meus colegas que sempre trabalhamos juntos e com isso vivemos momentos que ficarão sempre marcados em minha lembrança, obrigada Kauan Trindade Mello, Fábio Zacouteguy, Pamela Trindade e principalmente a você Rangieli Carricio Viero, pois passamos muitas horas juntas dividindo nossas preocupações, nossas alegrias e conquistas e neste longo tempo passamos de colegas para grandes amigas.

Ao Clube de Caça e Pesca Martim Pescador de Uruguaiana/RS pela imensa colaboração com este trabalho.

Também não posso deixar de agradecer aos meus familiares e amigos que estiveram presentes durante a minha vida acadêmica sempre com uma palavra de apoio e incentivo, aos meus irmãos que a cada disciplina concluída sempre comemoravam junto comigo e com suas palavras cheias de inocência me encorajam a prosseguir, em especial aos meus pais Maria Aimon de Freitas e Silimar Oliveira de Freitas pela compreensão, paciência, carinho, pelo inesgotável apoio e por cada esforço feito a mim, muito obrigada. Essa conquista é nossa!!

## APRESENTAÇÃO

Este trabalho de conclusão de curso (TCC) está apresentado na forma de um artigo científico, conforme as normas do Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos.

FREITAS, J. A.; CENTENARO, G. S. **Propriedades Funcionais de Hidrolisado Proteico de Subprodutos do Beneficiamento de Palometa (*Serrasalmus spilopleura*)**. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. 2015.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui, RS (e-mail: josii80@hotmail.com).

<sup>2</sup> Doutora em Engenharia e Ciência em Alimentos, Professora, Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui, RS (e-mail: gracielaacentenaro@unipampa.edu.br).

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo produzir um hidrolisado proteico a partir do subproduto do processamento de palometa (*Serrasalmus spilopleura*) utilizando a enzima Alcalase, bem como realizar a caracterização físico-química e avaliar suas propriedades funcionais. O grau de hidrólise (GH) do hidrolisado foi 17,10% e o conteúdo proteico  $59,82 \pm 0,86\%$  (b.s). O hidrolisado apresentou elevada solubilidade em diferentes pHs (entre 68,51 e 90,09%), capacidade de retenção de água máxima (5%) em pH 5,0 e 7,0, capacidade de formação de espuma de 8,16%, com estabilidade de espuma de 85% após 60 minutos. O hidrolisado proteico de palometa apresentou baixa capacidade de formar emulsão e o teor de brancura (W) do produto foi de  $84,04 \pm 0,32$ . Os resultados demonstram que o hidrolisado proveniente do subproduto do beneficiamento da palometa produzido no presente estudo, apresentou boas propriedades de solubilidade e de formação de espuma, indicando possível uso em diferentes formulações alimentícias.

Palavras-chave: Alcalase, características funcionais, hidrólise enzimática, pescado de baixo valor comercial, solubilidade.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Tratamento da matéria-prima e obtenção do subproduto de pescado.

Figura 2 - Obtenção dos hidrolisados proteicos dos subprodutos da palometa.

Figura 3 - Grau de hidrólise do hidrolisado do subproduto de palometa.

Figura 4 - Solubilidade do hidrolisado do subproduto de palometa.

Figura 5 - Valores de cra do hidrolisado do subproduto de palometa.

Figura 6 - Gráfico da estabilidade espumante do hidrolisado.

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Composição química do subproduto de palometa.

Tabela 2 - Composição química do hidrolisado proteico de subproduto de palometa.

Tabela 3 - Capacidade emulsificante do hidrolisado de palometa.

Tabela 4 - Avaliação da cor do hidrolisado.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	11
2.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DO SUBPRODUTO DE PESCADO.....	11
2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MATÉRIA-PRIMA.....	12
2.3 OBTENÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DE SUBPRODUTO DE PALOMETA.....	12
2.4 CARACTERIZAÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DOS SUBPRODUTOS DE PALOMETA.....	13
2.5 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO .....	13
2.5.1 Solubilidade.....	13
2.5.2 Capacidade de Retenção de Água.....	14
2.5.3 Capacidade Emulsificante .....	14
2.5.4 Capacidade de Formação de Espuma e Estabilidade de Espuma.....	14
2.6 AVALIAÇÃO DA COR DO HIDROLISADO .....	15
<b>3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS</b> .....	15
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	15
4.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MATERIA-PRIMA E DO HIDROLISADO DE SUBPRODUTO DE PALOMETA.....	15
4.2 GRAU DE HIDRÓLISE.....	17
4.3 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO DE SUBPRODUTO DE PALOMETA.....	18
4.3.1 Solubilidade.....	18
4.3.2 Capacidade de Retenção de Água.....	19
4.3.3 Capacidade Emulsificante .....	20
4.3.4 Capacidade de Formação de Espuma e Estabilidade de Espuma.....	21
4.4 AVALIAÇÃO DA COR DO HIDROLISADO .....	22
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	23
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	24
<b>ANEXOS</b> .....	30

## 1 INTRODUÇÃO

O pescado é definido como todos os organismos aquáticos (animal e vegetal) de origem fluvial, marinha ou estuarina, destinados para a alimentação humana. O mesmo é um produto extremamente importante na dieta da população, pois é fonte de nutrientes, como as proteínas, lipídios, minerais e vitaminas. Diante disso, a indústria de pescado tem contribuído para o desenvolvimento de uma grande variedade de produtos e subprodutos para o consumo humano, em que o pescado é o componente principal. No entanto, ela é responsável por gerar um elevado volume de subprodutos, considerado um sério problema a nível mundial, principalmente para os países que estão em desenvolvimento, pois se não forem aproveitados tornam-se poluentes, provocando danos ao meio ambiente (GONÇALVES, 2011).

O aproveitamento de subprodutos de pescado pelas indústrias brasileiras é considerado baixo, destinando-se, principalmente, ao preparo de farinha e óleo de pescado. Porém, a transformação dos mesmos em produtos viáveis para a alimentação humana pode ser uma opção de renda para as indústrias, podendo aumentar sua lucratividade (VIDAL et al., 2011). Além disso, a captura de algumas espécies de pescado de alto valor comercial, tais como o camarão-rosa-oceânico e o camarão-sete-barbas, tem sido responsável pelo aumento do descarte de peixes com baixo e/ou sem valor comercial, proveniente de sua fauna acompanhante (FAO, 2012). A captura de pescado vem diminuindo nos últimos anos em decorrência da pesca mais seletiva e à estrita regulamentação, mas ainda existem muitas oportunidades de reduzir as perdas durante o processamento do mesmo (MARTINS et al., 2009).

Em torno de 50% dos subprodutos do processamento são descartados sem qualquer tentativa de recuperação ou são utilizados na produção de farinha de peixe, adicionada na alimentação animal (CHANG-BUM et al., 2012). Portanto, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas a fim de possibilitar a transformação desse material em produtos mais nobres como os hidrolisados proteicos.

A palometa (*Serrasalmus spilopleura*) é encontrada em grandes cardumes na região oeste do Rio Grande do Sul, e embora seja considerada uma espécie magra, é pouco consumida pela população, é de difícil filetagem devido a sua estrutura corporal e seu rendimento é baixo, apresentando menor valor comercial (CAMARGO et al., 2013) frente a outras espécies.

O processo de hidrólise enzimática é considerado uma alternativa de aproveitamento eficiente, que possibilita recuperar as proteínas a partir dos subprodutos de pescado (CHANG-BUM et al., 2012). As proteínas hidrolisadas podem ser obtidas através de processos enzimáticos, em que o princípio básico envolve a quebra hidrolítica das longas cadeias de moléculas proteicas, através da ação de enzimas vegetais ou por proteases microbianas. As enzimas mais comumente empregadas nesse processo são as proteases, relatadas como eficientes para a hidrólise de proteínas de pescado (MARTINS et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2015). Os métodos biológicos que utilizam adição de enzimas são mais promissores quando se deseja produtos com alta funcionalidade e valor nutritivo. Furlan e Oetterer (2002) relatam que a matéria-prima atualmente utilizada para elaboração de hidrolisados de pescado são os descartes comestíveis do processamento, visto que espécies com alto teor de gordura promovem o desenvolvimento de aromas intensos no produto obtido.

Os hidrolisados assim obtidos são compostos de peptídeos de vários tamanhos, ou seja, produtos com propriedades funcionais agregadas, podendo ser

utilizados em uma ampla variedade de formulações alimentícias, incluindo substitutos de leite, suplementos proteicos, realçadores de sabor e estabilizadores em bebidas, bem como na composição de ração animal, entre outros (MARTINS et al., 2009). Porém, para que esses produtos possam ser aplicados com êxito, é necessário conhecer as propriedades funcionais, que estão diretamente relacionadas com as características sensoriais dos alimentos (KRISTINSSON; RASCO, 2000).

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo produzir um hidrolisado proteico por via enzimática a partir do subproduto do processamento de palometa (*Serrasalmus spilopleura*), bem como realizar a caracterização físico-química e avaliar as propriedades funcionais do hidrolisado obtido.

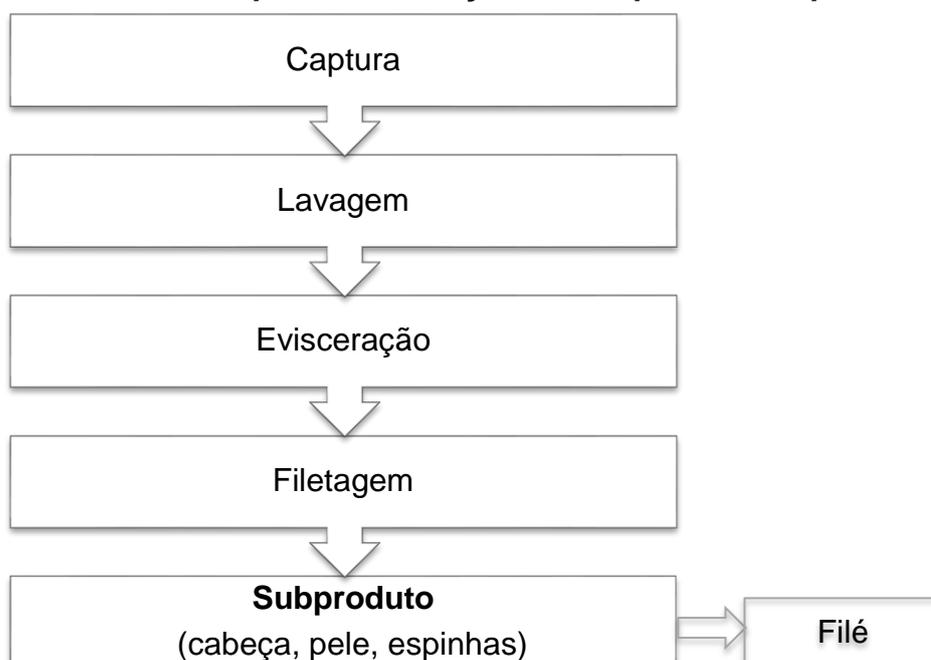
## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DO SUBPRODUTO DE PESCADO

Os exemplares de palometa (*Serrasalmus spilopleura*) utilizados para a produção dos hidrolisados, foram provenientes da Barragem Sanchuri, localizada no 5º distrito do município de Uruguai/RS, sendo capturados com o apoio do Clube de Caça e Pesca Martin Pescador, no mês de março de 2016.

O subproduto (cabeça, pele e espinhas) da palometa foi obtido conforme o fluxograma que pode ser observado na Figura 1. Após a captura, a matéria-prima foi lavada com solução de hipoclorito de sódio na concentração de 5 ppm, com agitação manual por 2 minutos, e a mesma foi acondicionada em embalagens de polietileno e armazenada sob congelamento em freezer a temperatura de -18 °C, até sua utilização. Para realizar as reações enzimáticas, os subprodutos foram descongelados e triturados em moedor de carne (G. Paniz, MCR 10) a fim de se obter uma massa homogênea.

**Figura 1. Tratamento da matéria-prima e obtenção do subproduto de pescado.**



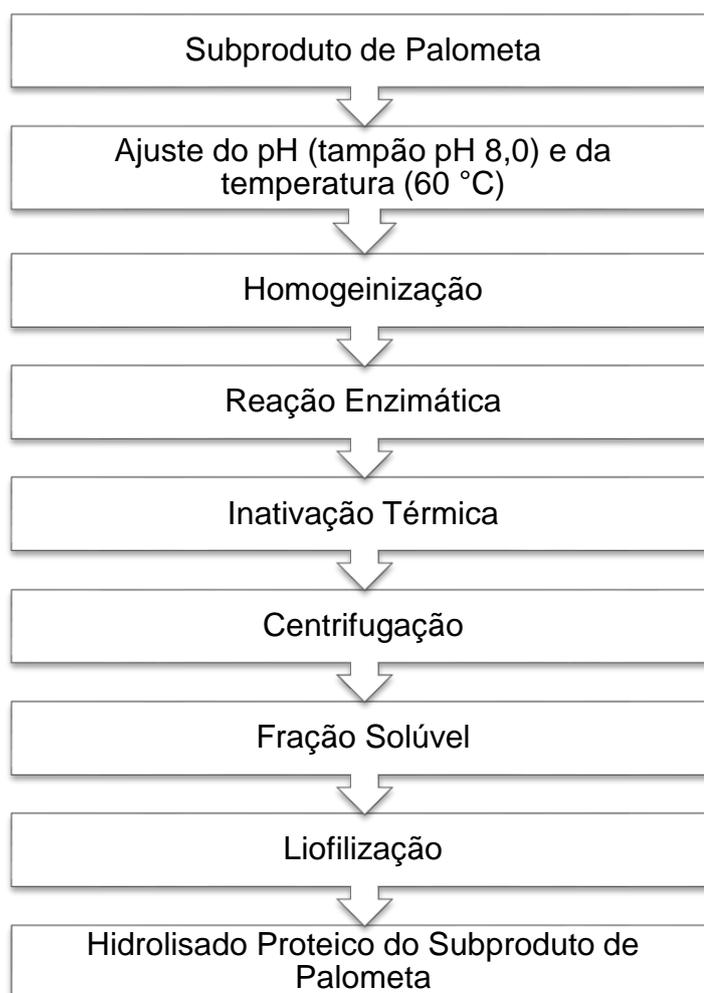
## 2.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MATÉRIA-PRIMA

A composição proximal do subproduto foi determinada de acordo com a AOAC (2010), sendo proteínas pelo método de Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ), lipídios por Soxhlet, cinzas pelo método gravimétrico em mufla 550-600 °C e umidade por gravimetria em estufa 105 °C. Todos os valores foram obtidos em triplicata e expressos em g/100g.

## 2.3 OBTENÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DE SUBPRODUTO DE PALOMETEA

O processo de obtenção dos hidrolisados proteicos pode ser verificado na Figura 2. Para a hidrólise dos subprodutos da palometea foi empregado a enzima proteolítica Alcalase® 2.4 L U/g (endopeptidase bacteriana produzida pelo *Bacillus licheniformis*) a 1% (v/p), adquirida junto a Sigma-Aldrich.

**Figura 2. Obtenção dos hidrolisados proteicos dos subprodutos da palometea.**



Através de uma revisão bibliográfica na literatura científica foram determinadas as faixas de trabalho ideais, empregando-se condições de pH e temperatura de melhor desempenho da enzima.

A reação enzimática do subproduto moído foi realizada com volume total de 800 mL na proporção de 1:3 (substrato: solução tampão), em reator de vidro encamisado, com auxílio de um agitador tipo eixo-hélice (Fisatom, 711S), a 430 rpm com temperatura de 60 °C durante 120 minutos e pH 8,0 ajustado com tampão fosfato 0,1M (MORITA e ASSUMPÇÃO, 1976). Tomaram-se amostras (6 mL) ao longo da reação nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos, para a medida do grau de hidrólise (GH). Após o término da reação, a enzima foi inativada termicamente a 85 °C durante 15 minutos.

O hidrolisado foi liofilizado (LIOBRAS, L101) e acondicionado em recipiente hermético sob congelamento a -18 °C.

## 2.4 CARACTERIZAÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DOS SUBPRODUTOS DE PALOMETA

Determinou-se os teores de proteína, lipídios, umidade e cinzas no hidrolisado de acordo com a metodologia oficial da AOAC (2010), sendo a proteína pelo método de Kjeldahl (N x 6,25), lipídios por Bligh e Dyer, cinzas pelo método gravimétrico em mufla 550-600 °C e umidade por gravimetria em estufa 105 °C.

A determinação do GH foi realizada nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos conforme Pezoa e Mellado (1979). A reação era interrompida pela adição (4mL) de solução de ácido tricloroacético (TCA 6,25%) e após repouso de 15 minutos, as amostras eram filtradas em papel filtro (Unifil, 70mm). As proteínas solúveis, foram quantificadas no filtrado pelo método de LOWRY et al. (1951), expressando a concentração de proteínas como mg de albumina.

O GH foi expresso como a relação entre as proteínas solubilizadas e as proteínas totais presentes no substrato inicial, quantificadas pelo método de Kjeldhal (N x 6,25) de acordo com a equação 1:

$$\text{GH (\%)} = \frac{\text{proteína hidrolisada (mg)} \times 100}{\text{proteína total (mg)}} \quad \text{Equação (1)}$$

Realizou-se ainda a análise do pH do hidrolisado (BRASIL, 1981) com auxílio de um potenciômetro de bancada (Lutron, pH-221).

## 2.5 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO

Foram avaliadas as propriedades funcionais de solubilidade, capacidade de retenção de água, capacidade de formação de espuma e capacidade emulsificante no hidrolisado.

### 2.5.1 Solubilidade

A solubilidade (S) do hidrolisado foi determinada de acordo com o método descrito por Morr et al. (1985) com variação na medição de pH em 3, 5, 7 e 8. Os teores de proteína total e proteína solúvel no sobrenadante foram determinados pelo método de Kjeldahl (N x 6,25) e Lowry et al. (1951), respectivamente.

A S da proteína foi calculada como a relação entre a proteína no sobrenadante e a proteína total x 100, (Equação 2).

$$S (\%) = \frac{A \times 50}{W \times \frac{P}{100}} \times 100 \quad \text{Equação (2)}$$

Onde: A = Concentração de proteína no sobrenadante (mg/mL);  
W = Peso da amostra (mg);  
P = Quantidade de proteína total.

### 2.5.2 Capacidade de Retenção de Água

A capacidade de retenção de água (CRA) do hidrolisado foi avaliada segundo Regenstein et al. (1979), com adaptações. Foram preparadas dispersões proteicas (1%), com variação de pH na faixa de 3, 5, 7 e 8. Em seguida adicionou-se 2 mL de solução de NaCl 0,1 M. O pH foi ajustado com solução tampão fosfato 0,1M (MORITA e ASSUMPÇÃO, 1976) de acordo com o pH correspondente até o volume total de 40 mL. A dispersão foi agitada por 15 min e centrifugada a 1711 x g por 25 min (Fanem Excelsa II, 206 BL). A CRA foi avaliada como a quantidade de água absorvida em relação a proteína contida na amostra, expressa em mL de água absorvida por grama de proteína, de acordo com a equação 3.

$$CRA = \frac{\text{quantidade de água retida (mL)}}{\text{massa proteína (g)}} \quad \text{Equação (3)}$$

### 2.5.3 Capacidade Emulsificante

A capacidade emulsificante (CE) foi determinada conforme Okezie e Bello (1988). O volume de óleo separado em cada amostra após a centrifugação foi medido diretamente no tubo. A diferença entre a camada de óleo remanescente e a quantidade de óleo inicial foi expressa como a quantidade de óleo emulsificado, por grama de proteína contida na amostra. A CE foi calculada de acordo com a equação 4.

$$CE = \frac{\text{quantidade de óleo emulsificado (mL)}}{\text{massa proteína (g)}} \quad \text{Equação (4)}$$

### 2.5.4 Capacidade de Formação de Espuma e Estabilidade de Espuma

A capacidade de formação de espuma (CFE) foi medida de acordo com um metodologia combinada, por Phillips et al.(1987) e Dipack e Kumar (1986), onde foi preparado uma suspensão de 3 g de amostra com 100 mL de água. A suspensão foi homogeneizada em liquidificador doméstico (Philips Walita, RI2044), por 5 min, transferindo-se a dispersão para uma proveta graduada de 250 mL. A capacidade de formação de espuma foi calculada como a quantidade de espuma formada (%) após o batimento em relação ao volume total da dispersão.

A determinação da estabilidade de espuma (EE) do hidrolisado foi medida através do repouso da amostra à temperatura ambiente (20-25 °C), com leitura do volume após intervalos de 1, 5, 10, 30 e 60 min, e calculada pela equação 5. Sendo V, o volume final de espuma, após cada intervalo de tempo e Vo, o volume inicial da espuma formada (mL).

$$EE = \frac{V}{V_0} \times 100 \quad \text{Equação (5)}$$

Todas as determinações das propriedades funcionais foram realizadas em triplicata.

## 2.6 AVALIAÇÃO DA COR DO HIDROLISADO

A análise de cor foi realizada empregando um colorímetro de medição portátil, (Konica Minolta®, Chroma Meter CR-400) que trabalha no sistema de cor com três escalas: L\*, a\* e b\*. L\* mede a luminosidade e varia de 0, para o preto, e 100, para superfícies perfeitamente brancas. A escala a\* mede a intensidade da cor verde (-) e vermelha (+), enquanto b\* avalia a transição da cor azul (-) para amarela (+) (KONICA MINOLTA, 2013). O colorímetro foi previamente calibrado em superfície branca e as análises foram realizadas em triplicata.

De forma a obter uma melhor avaliação da cor, os parâmetros foram combinados para obter o índice de brancura (*Whiteness-W*) conforme a equação 6.

$$W = 100 - \sqrt{(100-L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Equação (6)}$$

## 3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os resultados foram avaliados estatisticamente através de análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram comparadas através do teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MATERIA-PRIMA E DO HIDROLISADO DE SUBPRODUTO DE PALOMETA

Na Tabela 1 estão apresentados os valores da composição química do subproduto da palomete e do hidrolisado proteico.

**TABELA 1: COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO SUBPRODUTO DE PALOMETE**

Componentes (%)	Subproduto*	Hidrolisado proteico (b.s)*
Proteína	21,30 ± 0,40	59,82 ± 0,86
Lipídios	3,45 ± 0,31	2,76 ± 0,39
Cinzas	7,71 ± 0,06	37,42 ± 0,86
Umidade	67,87 ± 0,96	-

\*Valores médios ± desvio padrão de três repetições; (b.s) = base seca.

A composição química dos alimentos é muito importante não somente do ponto de vista da saúde nutricional humana, mas também para a avaliação do

desenvolvimento e aplicação potencial dos materiais alimentícios em sistemas alimentares (ROSLAN et al., 2014).

Conforme Ordóñez et al. (2005), os principais constituintes da composição química do pescado são: umidade (60-85%), proteína (16-22%), cinzas ou minerais (0,4-1,5%) e lipídios (0,2-10%), sendo a umidade e os lipídeos os componentes que apresentam as maiores flutuações na composição das espécies durante o ano.

Santos et al. (2006), analisando a composição química de palometa, classificaram a espécie como peixe magro e de alto teor proteico, com valores de lipídeos de 1,21% e proteína de 16,71%. Neste estudo o teor de lipídios encontrado para o subproduto de palometa foi de 3,45%, para proteínas 21,30% e cinzas 7,71%. O alto conteúdo de cinzas deve-se a natureza da matéria-prima, composta de cabeça, pele e espinhas, semelhante ao observado no trabalho por Roslan et al. (2014). O elevado teor de cinzas é em grande parte contribuição dos ossos que compõem as diferentes partes do pescado incluindo cabeça, cauda, espinhas e barbatanas (BATISTA et al., 2010).

Gajanan et al. (2016), descrevem a composição de subproduto do processamento de *Nemipterus japonicus* e apresentaram valores de umidade de 72,99%, proteína 18,49%, lipídios 4,24% e cinzas 3,95%. Em um estudo realizado com subprodutos de tilápia (cabeça, espinhas e cauda) os autores relatam valores para composição química próxima aos encontrados neste estudo, onde a umidade foi de 66,57%, proteína 14,60%, lipídios 5,50% e cinzas 8,93% (ROSLAN et al., 2014).

Wisuthiphaet et al. (2015) também realizaram a composição química de uma mistura de espécies integrais de pescados marinhos de baixo valor comercial e estes apresentaram resultados de 79,67% de umidade, 15,69% de proteína, 3,51% de cinzas e 2,56% de lipídios.

Foi observado um aumento na quantidade de proteína no hidrolisado, comparado ao subproduto de palometa, sendo este valor próximo ao encontrado por Martins et al. (2009) que obteve 47,09% de proteína para hidrolisados enzimáticos a partir de subproduto do processamento da corvina, produzido com Alcalase.

Pires et al. (2015), relatam valores para a composição de hidrolisado de subproduto de pescada, com conteúdo proteico que variou de 66,32% a 86,90%, valores estes superiores ao encontrado neste estudo. Estas variações em relação ao teor proteico e composição do produto final dependem principalmente, das condições do processo empregado na reação de hidrólise. Conforme Slizyte et al. (2005), a percentagem de proteína solubilizada depende da quantidade de gorduras na matéria-prima, de modo que espécies que contenham maior quantidade de gorduras, resultam em hidrolisados com menor porcentagem de proteína solubilizada.

O teor de lipídios determinado no hidrolisado do subproduto de palometa foi baixo, contribuindo para maior estabilidade do produto durante o armazenamento, sendo desfavorável à oxidação lipídica (Synowiecki e Al-Khateeb, 2000; Neves et al., 2004).

A quantidade de cinzas aumentou de 7,71% do subproduto para 37,42% no hidrolisado. Conforme Zavareze et al. (2009), uma elevada concentração de cinzas no hidrolisado proteico de palometa é decorrente de sais presentes nos tampões utilizados para manter o pH durante ao processo de hidrólise enzimática, bem como das características da matéria-prima composta de cabeça, barbatanas, cauda e espinhas (ROSLAN et al., 2014).

Nilsang et al. (2005) produziram um hidrolisado a partir de um concentrado solúvel de pescado empregando uma mistura enzimática da Flavourzyme™ e Kojizyme™ e obtiveram resultados para composição química (umidade 7,24%, proteína 66,40%, lipídios 2,37% e cinzas 25,94%), próximos aos encontrados no presente estudo.

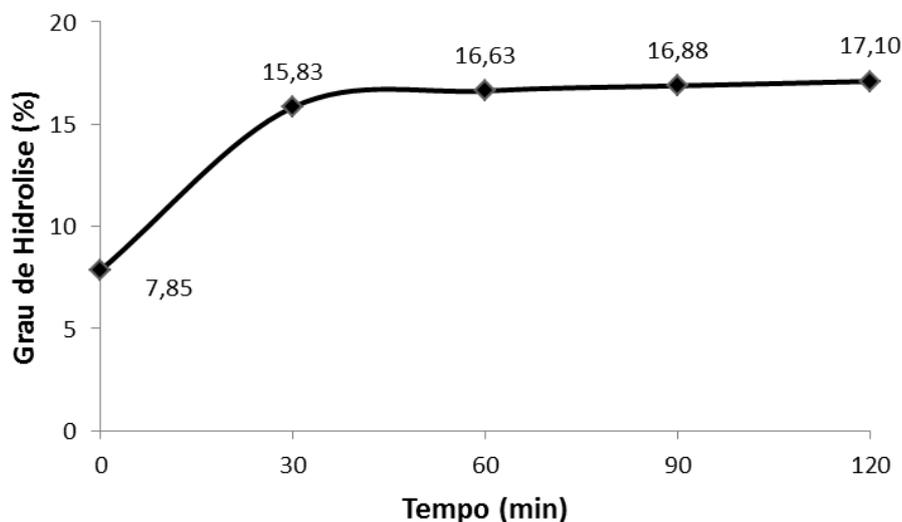
O conteúdo de umidade apresentado pelo hidrolisado proteico foi baixo, inferior a 10%, o que permite o seu armazenamento por longo tempo. De acordo com Contreras et al. (2011), uma percentagem de umidade baixa confere ao produto um maior tempo de prateleira e diminui a possibilidade de perdas e deterioração nutricional. De acordo com Gonçalves (2011), é importante que a farinha de pescado apresente teor de umidade e de lipídios abaixo de 10% para aumentar a sua vida útil, não favorecendo o crescimento de micro-organismos e processos de oxidação lipídica. Dessa forma, a utilização do hidrolisado proteico de palometa, como produto seco em pó, em formulações alimentícias, é uma alternativa viável visto que seu conteúdo de umidade é menor que 15%, o percentual máximo determinado pela Instrução Normativa nº 8, para farinhas (BRASIL, 2005).

O hidrolisado proteico de subproduto de palometa apresentou um valor médio de pH de 7,30. Este valor próximo da neutralidade deve-se a utilização de solução tampão alcalina durante o processo de hidrólise. Para que este produto possa ser empregado em formulações alimentícias, deve ocorrer um monitoramento do pH pois conforme Forsythe (2013), alimentos de baixa acidez tem maior risco de contaminação por micro-organismos patogênicos.

#### 4.2 GRAU DE HIDRÓLISE

Na Figura 3 é possível verificar a evolução da reação de hidrólise do subproduto de palometa obtido com a enzima Alcalase. Observa-se que um GH de 17,10% foi alcançado ao final de 120 minutos de incubação com temperatura de 60 °C e pH 8,0.

**FIGURA 3: GRAU DE HIDRÓLISE DO HIDROLISADO DO SUBPRODUTO DE PALOMETA DURANTE 120 MINUTOS DE REAÇÃO**



Verificou-se um aumento gradativo no GH com o passar do tempo, porém, não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação aos valores obtidos após 60 minutos. Ao final de 120 minutos de reação o hidrolisado apresentou GH de 17,10%, valor este próximo aos encontrados por Pires et al. (2015) e Pires et al. (2013), que relatam valores de GH variando de 12,60 a 19,00% e 19,00% a 22,60%, respectivamente, para hidrolisados de pescada (*Merluccius capensis*) obtidos no mesmo tempo de hidrólise. Estes autores ainda destacam que é difícil comparar os resultados entre os estudos, pois as condições de hidrólise não são padronizadas. Além disso, a determinação de GH por diferentes métodos, geralmente não permite resultados diretamente comparáveis.

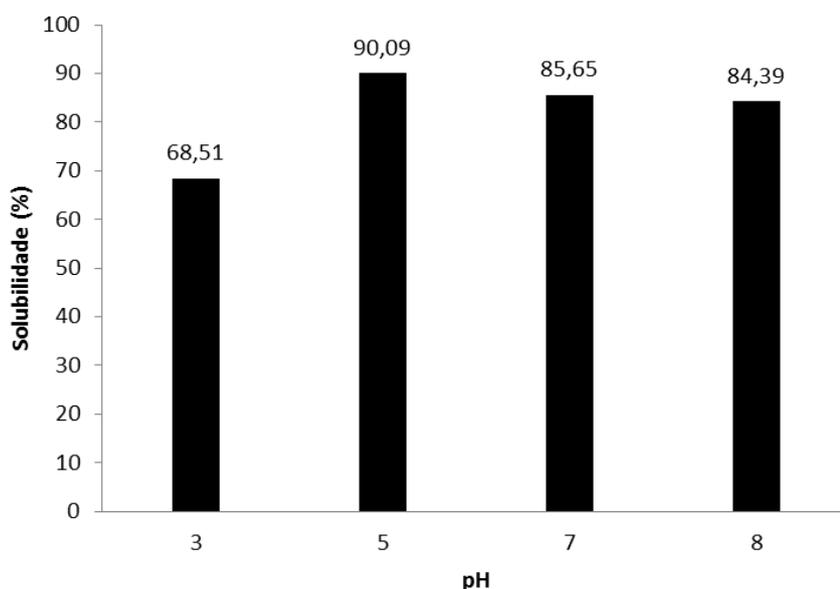
Como pode ser verificado na Figura 3, o tempo influencia positivamente o aumento do GH. Esta tendência também foi observada por Schmidt e Salas-Mellado (2009), quando determinaram o GH em hidrolisados proteicos de carne de frango obtidos a partir das enzimas Alcalase e Flavourzyme. De acordo com Mackie (1982), depois de uma fase inicial de hidrólise rápida, a taxa de hidrólise tenderá a diminuir e entrar numa fase estacionária.

#### 4.3 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO DE SUBPRODUTO DE PALOMETTA

##### 4.3.1 Solubilidade

A S é uma das propriedades funcionais mais importantes de hidrolisados de proteínas, visto que outras propriedades funcionais tais como emulsificação e formação de espuma podem ser afetadas (SOUISSI et al., 2007).

**FIGURA 4: SOLUBILIDADE DO HIDROLISADO DO SUBPRODUTO DE PALOMETTA**



Os resultados mostraram que a S para o hidrolisado do subproduto de palometta, apresentou o maior valor no pH 5,0 alcançando 90,09% e o menor no pH 3,0. Porém, não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre todos os valores de S medida nos diferentes pHs. A alta S do hidrolisado é esperada devido à clivagem

das proteínas que ocorre formando peptídeos menores. Conforme Centenaro et. al (2009), uma das principais consequências da hidrólise enzimática é o aumento da S e, normalmente, este aumento está associado com o aumento do GH.

Para Sathivel et al. (2005) a hidrólise enzimática leva a uma maior exposição de grupos carregados, diminui o tamanho molecular e aumenta a hidrofiliicidade das proteínas, através de um aumento na habilidade de formar ligações de hidrogênio com a água e, conseqüentemente, aumenta a S.

Geirsdottir et al. (2011) relatam que o conteúdo de sal presente no produto final, oriundo do meio de reação empregado no processo, também pode contribuir para melhorar a S de peptídeos de cadeia longa, ou seja, de hidrolisados com menor GH.

Hidrolisados obtidos do subproduto de merluza (*Merluccius capensis*) com a enzima Alcalase apresentaram resultados para S de 68 a 76% (Pires et al., 2013).

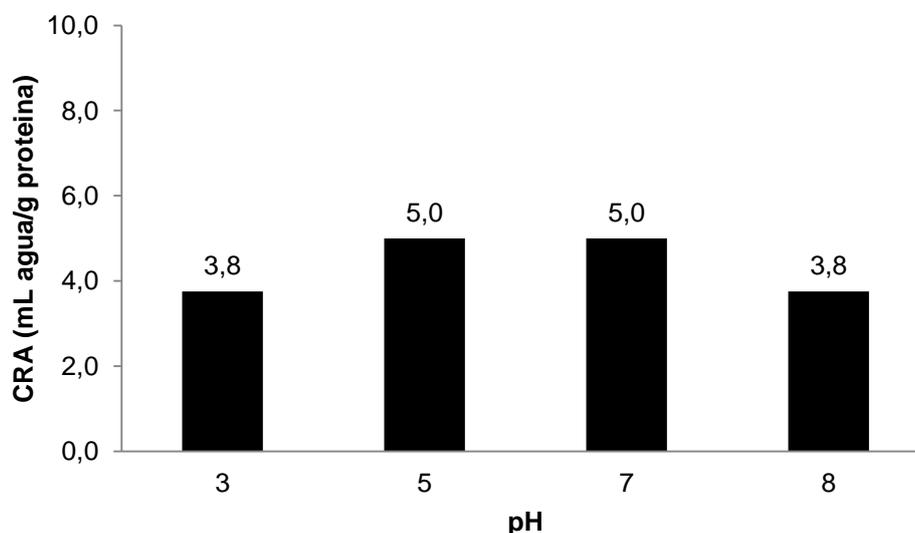
Outros autores também relatam valores elevados de S (entre 87,64 a 97,35%) em hidrolisados proteicos de resíduos de falso besugo (*Nemipterus japonicus*) (GEIRSDOTTIR et al., 2011) e hidrolisados de músculo de sardinha (*Sardinella aurita*) com S na faixa de pH de 2,0 a 12, 0, variando de 65 a 95% (KHALED et al., 2014).

Assim, a elevada S demonstrada pelo hidrolisado proteico de subproduto de palometa, permite sua aplicação em produtos alimentícios de natureza, tanto sólida como líquida, na faixa de pH ácida bem como alcalina.

#### 4.3.2 Capacidade de Retenção de Água

A CRA é uma característica importante na tecnologia de alimentos, pois a água absorvida em pequenas quantidades não atua como solvente, mas contribui para dar corpo e aumentar a viscosidade (CÂNDIDO et al., 1998). Além disso, a CRA refere-se à habilidade da proteína absorver e reter água frente a uma força gravitacional (CÂNDIDO E SGARBIERI, 2003). A figura 5 apresenta os valores de CRA do hidrolisado proteico de palometa, medida em diferentes pHs.

**FIGURA 5: VALORES DE CRA DO HIDROLISADO DO SUBPRODUTO DE PALOMETETA**



Pode-se observar que o hidrolisado proteico de palometa apresentou maior CRA quando solubilizado nos pHs 5,0 e 7,0, e nos valores de pH mais ácido ou mais alcalino, a CRA foi menor. No entanto, não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre todos os valores de CRA medida nos diferentes pHs.

Conforme Zavareze et al. (2009), o comportamento da CRA do hidrolisado em pH 3,0 e 8,0 pode ser consequência da redução da capacidade da proteína se ligar à água, devido às interações intermoleculares.

Os resultados encontrados para a CRA dos hidrolisados (Figura 5) foram superiores ao descrito por Cândido e Sgarbieri (2003) em estudo com hidrolisado de tilápia, o qual apresentou valores de CRA entre 3,0 e 3,5 mL de água/g de proteína.

A CRA depende particularmente do tamanho molecular e da capacidade de formação de uma rede proteica. Os hidrolisados com maior GH e, portanto, menor peso molecular, não podem formar essa rede, pois apresentam uma maior concentração de grupos hidrofóbicos e um menor tamanho molecular (CENTENARO et al., 2009; ROMAN e SGARBIERI, 2005). Vários estudos têm demonstrado uma relação direta entre o GH e a CRA (BALTI et al., 2010; WASSWA et al., 2007) e, por isso, pode-se dizer que a extensão da hidrólise foi muito elevada, influenciando negativamente a CRA do hidrolisado de palometa produzido neste estudo.

A quantidade de água associada à proteína depende ainda de uma série de fatores, destacando-se a sua composição, conformação, número de grupos polares expostos, presença de sais e pH (KINSELLA, 1984).

#### 4.3.3 Capacidade Emulsificante

A avaliação da CE demonstrou que o hidrolisado proteico de palometa não foi capaz de formar uma emulsão satisfatória nas condições empregadas neste estudo. Os valores obtidos foram de 1,41 mL óleo/g proteína o que corresponde a 0,71% de óleo emulsionado. De acordo com Centenaro et al. (2009), propriedades funcionais, como emulsificação e propriedades espumantes, podem ser afetadas quando a S é elevada, a hidrólise enzimática leva a uma maior exposição de grupos carregados, diminui o tamanho molecular e aumenta a hidrofiliabilidade das proteínas, através de um aumento na habilidade de formar ligações de hidrogênio com a água e, consequentemente, aumenta a S.

Segundo Kristinsson (1998), a hidrólise com Alcalase produz mais peptídeos com baixo peso molecular comparado a outras enzimas.

Chalamaiah et al. (2010), produziram hidrolisados de carpa (*Cirrhinus mrigala*) com Alcalase<sup>®</sup> e Papainase<sup>®</sup>, e verificaram elevado GH e S obtidos com a enzima Alcalase<sup>®</sup> a qual originou um produto com CE mais baixa (4,25 mL/g de hidrolisado) que o hidrolisado obtido com Papainase<sup>®</sup> (5,98 mL/g de hidrolisado).

De acordo com Panyam e Kilara (1996), a hidrólise extensiva das proteínas resulta em uma drástica perda das propriedades emulsificantes, sendo que estas diminuem linearmente com o GH. Peptídeos maiores promovem maior estabilidade da emulsão, ao passo que a presença de peptídeos menores prejudicam a formação e a estabilidade das emulsões.

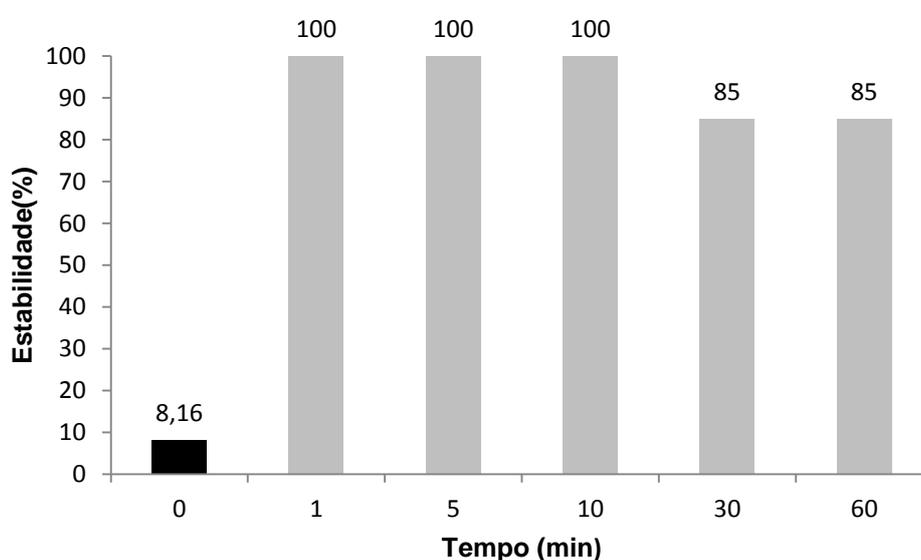
Assim, a formação de um filme interfacial coesivo e elástico por adsorção de moléculas de proteína na interface poderá ser dificultada pela predominância de pequenos peptídeos. Esta pode ser uma razão da diminuição da CE dos hidrolisados à medida que aumenta o GH (PANYAM e KILARA, 1996).

#### 4.3.4 Capacidade de Formação de Espuma e Estabilidade de Espuma

A CFE e a EE do hidrolisado proteico do subproduto de palometa estão representadas na Figura 6.

As espumas obtidas através de soluções de proteínas são uma consequência da desnaturação parcial e do desdobramento das cadeias polipeptídicas. Dispersões de proteínas provocam uma diminuição da tensão superficial na interface água-ar, criando assim a espuma (KHALED et al., 2014).

**FIGURA 6. CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE ESPUMA (■) E ESTABILIDADE DA ESPUMA (■) DO HIDROLISADO PROTEICO DE PALOMETA.**



A CFE alcançada pelo hidrolisado foi de 8,16% após a agitação, valor este inferior aos valores de CFE (acima de 80%) relatados por Pires et al (2015). Conforme Klompong et al. (2007), uma comparação direta dos valores CFE de diferentes hidrolisados de proteínas de pescado é difícil porque fatores como, por exemplo, concentração proteica, pH e GH afetam esta propriedade.

Comparando a um estudo realizado por Miquelim, (2010) que utilizou albumina e obteve 80% de CFE após o batimento, o valor encontrado no presente estudo pode ser considerado baixo, visto que a albumina pode ser utilizada como padrão para formação de espuma.

Amiza et al. (2012) descrevem que uma boa CFE pode ser atribuída ao aumento na atividade superficial, devido à proteólise parcial que produz maior número de cadeias polipeptídicas e, portanto, permitem maior incorporação do ar.

A expansão da espuma depois do batimento foi monitorada durante 60 minutos a fim de verificar a EE da proteína hidrolisada. Até os primeiros 10 minutos foi observada a maior EE, com uma diminuição a partir dos 30 minutos a qual se manteve com o passar do tempo, porém, sem apresentar diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os valores. Após 60 minutos a EE determinada foi de 85% em relação ao volume inicial de espuma formado, indicando que, embora a CFE do hidrolisado tenha sido baixa, sua EE foi constante ao longo do tempo, permitindo a aplicação do

hidrolisado como agente espumante em alimentos que necessitam de leve incorporação de ar na formulação.

A EE demonstrada pelo hidrolisado de palometa foi maior quando comparada a hidrolisados protéicos de pescada (~20%) produzidos por Pires et al. (2015), embora sua CFE tenha sido maior. Fatores relacionados com o GH podem influenciar no desempenho das propriedades de espuma, bem como o pH e outros aspectos relacionados à composição dos hidrolisados em questão (FURTADO et al., 2001).

Apesar dos pequenos peptídeos que são formados pela hidrólise se difundirem rapidamente na interface e serem adsorvidos, eles são menos eficientes na redução da tensão superficial, pela dificuldade de se reorientarem na interface água-ar e formarem uma membrana contínua viscoelástica, dificultando a formação de espuma. Para que uma proteína apresente o melhor desempenho na CFE e EE, é necessário que a mesma possua um peso molecular adequado, um mínimo de carga líquida, presença de sítios de ligações hidrofóbicas, além de uma conformação flexível (ROMAN e SGARBIERI, 2005).

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA COR DO HIDROLISADO

A aparência dos alimentos estimula ou diminui o apetite, e a cor tem grande influência na aceitação de um alimento. É através da cor que os consumidores são estimulados diariamente e, na indústria de alimentos a cor é um parâmetro importante empregado no controle de qualidade. A cor também identifica o sabor do alimento. Quando um alimento não apresenta uma cor apropriada, este é rejeitado pelo consumidor, pois se acredita que esteja alterado (MARTINS, 2015).

Na Tabela 3 é possível verificar os resultados obtidos para a cor do hidrolisado proteico de palometa.

**TABELA 3: DETERMINAÇÃO DA COR DO HIDROLISADO PROTEICO DE FILÉ DE PALOMETA**

<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>	<b>W</b>
87,65 ± 0,37	-0,47 ± 0,03	10,08 ± 0,11	84,04 ± 0,32

Na avaliação da cor do hidrolisado proteico o valor obtido para luminosidade L\* foi 87,65, resultado próximo a 100 que corresponde à cor branca. A escala a\* mede a variação entre vermelho (+) e verde (-) e o resultado apresentado foi negativo, demonstrando uma tendência para a cor verde (Tabela 3). A tendência a esta cor também foi observada em hidrolisados de resíduos de sardinha produzidos no trabalho de Santos (2011).

Os valores de b\* indicam intensidade de amarelo (+) a azul (-), sendo que o hidrolisado apresentou maior reflexão de comprimento de onda associado à cor amarela. Este resultado positivo também foi identificado por outros autores (PIRES et al., 2015; CENTENARO et al., 2011).

Visualmente o hidrolisado de subproduto de palometa apresentou uma coloração esbranquiçada, com valor W de 84,04 (Tabela 3), indicando que o hidrolisado obtido era mais branco comparado a cor de hidrolisados produzidos a partir de subprodutos de pescada (79,91) (PIRES et al., 2015) e proteína em pó produzida por solubilização alcalina (74,34) (PIRES et al., 2012). Segundo estes autores, existem muitas referências na literatura sobre a cor dos hidrolisados de proteínas de pescado, mas a comparação direta de dados é difícil. Para Dong et al.,

(2008), a cor dos hidrolisados proteicos de pescado é dependente da composição da matéria-prima, da enzima utilizada e das condições de hidrólise.

Porém, a medida da cor permite avaliar de forma adequada a utilização dos hidrolisados sólidos como aditivos alimentares, onde se busca uma aparência neutra que não interfira na aparência visual dos produtos, aos quais este composto vai ser adicionado (Santos, 2011). A coloração tem que ser o mais neutra possível, para que a aceitação por parte do consumidor seja positiva. Logo, a utilização deste hidrolisado obtido no presente estudo na indústria alimentícia para formulações de uma ampla variedade de produtos pode ser considerada viável.

Resultados semelhantes a estes foram encontrados por Santos (2011) com hidrolisados de proteína de sardinha, o qual descreve o hidrolisado com uma coloração pouco acentuada, podendo mesmo ser confundida com um bege.

## 5 CONCLUSÃO

O subproduto do processamento de palometa mostrou-se adequado para a produção do hidrolisado proteico de cor branca, com elevada solubilidade e estabilidade de espuma e, satisfatório conteúdo proteico. No entanto, a capacidade de retenção de água foi baixa, assim como a capacidade de formar uma emulsão, empregando este produto nas condições estudadas, o que pode estar associada a extensão da hidrólise. As características físico-químicas e as propriedades funcionais do hidrolisado de palometa mostraram que seria vantajoso sua utilização, possibilitando o emprego da proteína hidrolisada em matrizes alimentares, como sopas, pães, biscoitos, “hamburguers” e em outras formulações alimentícias, sem modificação das suas principais características tecnológicas, possibilitando assim o emprego de proteína de maior digestibilidade.

## ABSTRACT

### **FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEIN HYDROLYZATE FROM BY-PRODUCT OF THE PROCESSING OF PALOMETA (*SERRASALMUS SPILOPLEURA*)**

This work aimed to produce a protein hydrolyzate from the by-product of the palometa processing (*Serrasalmus spilopleura*) using the enzyme Alcalase, as well as perform the physicochemical characterization and evaluate its functional properties. The GH of the hydrolyzate was 17.10% and the protein content  $59.82 \pm 0.86\%$  (b.s). The hydrolyzate presented high solubility at different pHs (between 68.51 and 90.09%), maximum water retention capacity (5%) at pH 5.0 and 7.0, foamability of 8.16%, With 85% foam stability after 60 minutes. The protein hydrolyzate of palometa showed low capacity to form emulsion and the whiteness content (W) of the product was  $84.04 \pm 0.32$ . The results demonstrate that the hydrolyzate from the by-product of the palometa production produced in the present study showed good solubility and foaming properties, indicating possible use in different food formulations.

Keywords: Alcalase, functional characteristics, enzymatic hydrolysis, fish of low commercial value, solubility.

## REFERÊNCIAS

- AMIZA, M. A.; KONG, Y. L.; FAAZAZ, A. L. Effects of degree of hydrolysis on physicochemical properties of Cobia (*Rachycentron canadum*) frame hydrolysate. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 1, 2012.
- AOAC INTERNACIONAL – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. ed. 16, Maryland: AOAC, p. 1141, 2010.
- BALTI, R.; BOUGATEF, A.; ALI, NE-H.; ZEKRI, D.; BARKIA, A.; NASRI, M. Influence of degree of hydrolysis on functional properties and angiotensin I-converting enzyme-inhibitory activity of protein hydrolysates from cuttlefish (*Sepia officinalis*) by-products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 90, n.12, p. 2006–2014, 2010.
- BATISTA, I.; RAMOS, C.; COUTINHO, J.; BANDARRA, N. M.; NUNES, M. L. Characterization of Protein Hydrolysates and Lipids Obtained from Black Scabbardfish (*Aphanopus carbo*) by-products and Antioxidative Activity of the Hydrolysates Produced. **Process Biochemistry**, v. 45, n.1, p. 18-24, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II – Métodos físicos e químicos**. Brasília, 1981.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 8 de 2 de Junho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de Trigo, conforme o anexo desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União, Brasília, DF**, 2 de junho de 2005.
- CAMARGO, B.; CENTENARO, G. S.; VIANA, C. E.; VIEIRA, L. Consumo de Pescado e o Conhecimento da Espécie (*Serrassalmus spilopleura*), Popularmente Conhecida como Palometa. **Anais do Salão V Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão da UNIPAMPA**, v. 5, n. 3, 2013.
- CÂNDIDO, L. M. B.; NOGUEIRA, A. K.; SGARBIERI, V. Propriedades funcionais de concentrados proteicos de pescado preparados por vários métodos. **Brasilian Journal of Food Technology**, v. 1, n. 1/2, p. 77-89, 1998.
- CÂNDIDO, L. M. B.; SGARBIERI, V. C. Enzymatic hydrolysis of Nile tilapia (*Oreochromus niloticus*) muofibrillar proteins: effects on nutritional and hydrophilic properties. **J. Sci. Food Agr.**, v. 83, n. 9, p. 937-944, 2003.
- CENTENARO, G. S.; HERNANDEZ, C. P.; MELLADO, M. S.; NETTO, F. M. Efeito da concentração de enzima e de substrato no grau de hidrólise e nas propriedades funcionais de hidrolisados proteicos de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1792-1798, 2009.

CENTENARO, G. S.; CENTENARO, M. S.; HERNANDEZ, C. P. Antioxidant activity of protein hydrolysates of fish and chicken bones. **Journal of Food Science and Technology**, v.3, n. 4, p. 280-288, 2011.

CHALAMAIAH, M.; RAO, G.N.; RAO, D.G.; JYOTHIRMAYI, T. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. **Food Chemistry**. v. 120, n. 3, p. 652-657, 2010.

CHANG-BUM, A.; JAE-YOUNG, J.; YOUNG-SOOK, C.; Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 92-98, 2012.

CONTRERAS, M. M.; SEVILLA, M. A.; MONROY-RUIZ, J.; AMIGO, L.; GÓMEZ-SALA, B.; MOLINA, E.; RECIO, I. Food-grade production of an antihypertensive casein hydrolysate and resistance of active peptides to drying and storage. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 7, p. 470-476, 2011.

DIPACK, K. D.; KUMAR, D. M. Functional properties of rapeseed protein products with varying phytic acid contents. **Journal of Agricultural Chemistry**, v. 34, n. 5, p. 775-780, 1986.

DONG, S.; ZENG, M.; WANG, D.; LIU, Z.; ZHAO, Y.; YANG, H. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). **Food Chemistry**, v. 107, p.1485–93, 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2012. Disponível em: <  
<http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>> Acesso em: 01/04/2017

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 607p.

FURLAN, E. F.; OETTERER, M. Hidrolisado proteico de pescado (Fish Protein Hydrolysated). **Revista de Ciência & Tecnologia**. São Paulo, v. 10, n. 19, p. 79-89, 2002.

FURTADO, M. A. M.; GOMES, J. C.; SILVA, C. A. S.; ORNELLAS, C. B.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades funcionais de hidrolisados de proteína láctea co-precipitada. **Ciência Agrotécnica**, Lavras-MG, v. 25, n. 3, p. 625-639, 2001.

GAJANAN, P. G.; ELAVARASAN, K.; SHAMASUNDAR, B. A. Bioactive and functional properties of protein hydrolysates from fish frame processing waste using plant proteases. **Environmental Science and Pollution Research**. v. 23, n. 24, p. 24901-24911, 2016.

GEIRSDOTTIR, M.; SIGURGISLADOTTIR, S.; HAMAGUCHI, P. Y.; THORKESSON, G.; JOHANNSSON, R.; KRISTINSSON, H. G.; KRISTJANSSON, M. M. Enzymatic hydrolysis of blue whiting (*Micromesistius poutassou*); Functional and bioactive properties. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, p. C14-C20, 2011.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. ed. 1ª, São Paulo: Atheneu, 2011.

KHALED, H. B.; KTARI, N.; GHORBEL-BELLAAJ, O.; JRIDI, M.; LASSOUED, I.; NASRI, M. Composition, functional properties and in vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from sardinelle (*Sardinella aurita*) muscle. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 4, p. 622-633, 2014.

KINSELLA, J. E.; MORR, C. V. Milk proteins: physicochemical and functional properties. **Critical Review in Food Science and Nutrition**. v. 21, n. 3, p. 197-262, 1984.

KLOMPONG, V.; BENJAKUL, S.; KANTACHOTE, D.; SHAHIDI, F. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. **Food chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1317-1327, 2007.

KONICA MINOLTA. Chroma MeterCR-400/410: Instruction Manual. 2013. 160 p. Disponível em: [https://www.konicaminolta.com/instruments/download/instruction\\_manual/color/pdf/cr-400-410\\_instruction\\_eng.pdf](https://www.konicaminolta.com/instruments/download/instruction_manual/color/pdf/cr-400-410_instruction_eng.pdf). Acesso em: 25 mai. 2017.

KRISTINSSON, H.G. Reaction kinetics biochemical and functional properties of salmon muscle proteins hydrolysed by different alkaline proteases. **Master's Thesis**. University of Washington, Seattle W.A., 1998.

KRISTINSSON, H.G.; RASCO, B. A. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical and Functional Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Washington, 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 Biol. Chem.**, v.193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MACKIE, I. M. Fish protein hydrolysates. **Process Biochemistry**. v. 17, n.1, p. 26-28, 1982.

MARTINS, M. S. Uso de corantes artificiais em alimentos: legislação brasileira. **Aditivos e Ingredientes**, p. 32-37, 2015.

MARTINS, V. G.; COSTA, J. A. V.; HERNANDEZ, C. P. Hidrolisado protéico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Química Nova**. Rio Grande, v. 32, n. 1, p. 61-66, 2009.

MIQUELIM, J. N. **Avaliação reológica e microscópica de espumas tipo Marshmallow**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

MORR, V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGENSTEIN, J. M.; VAN BUREN, J. P.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINA, M. E. A collaborative study to develop a

standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**. v. 50, n. 6, p. 1715-1718, 1985.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes**. São Paulo: Edgard Blücher, 1976. p. 272.

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.

NILSANG, S.; LERTSIRI, S.; SUPHANTHARIKA, M.; ASSAVANIG, A. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. **Journal of Food Engineering**, v. 70, n. 4, p. 571-578, 2005.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**, v. 2, Porto Alegre: Artmed, 2005, 279p.

OLIVEIRA, M. S. R.; DE LIMA FRANZEN, F.; TERRA, N. N. Utilização de enzimas proteolíticas para produção de hidrolisados proteicos a partir de carcaças de frango desossadas manualmente. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 18, n. 3, p. 199-210, 2015.

OKEZIE, B. O.; BELLO, A. B. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 450-454, 1988.

PANYAM, D.; KILARA, A. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic Modification. **Trends Food Science Technology**, v. 7, n. 4, p. 120-125, 1996.

PEZOA, V. G.; MELLADO, M. S. Obtenção de um concentrado de proteínas de pescado para alimentos pelo método enzimático. FURG: Rio Grande, p.42, 1979.

PIRES, C.; CLEMENTE, T.; BATISTA, I. Functional and antioxidative properties of protein hydrolysates from Cape hake by-products prepared by three different methodologies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 4, p.771-780, 2013.

PIRES, C.; TEIXEIRA, B.; CARDOSO, C.; MENDES, R.; NUNES, M. L.; BATISTA, I. Cape hake protein hydrolysates prepared from alkaline solubilised proteins pre-treated with citric acid and calcium ions: Functional properties and ACE inhibitory activity. **Process Biochemistry**. v. 50, n. 6, p.1006-1015, 2015.

PIRES C, COSTA S, BATISTA A. P, NUNES M. C, RAYMUNDO A, BATISTA I. Properties of protein powder prepared from Cape hake by-products. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 2, p. 268-275, 2012.

PHILLIPS, L.G.; HAQUE, Z.; KINSELLA, J.E. A method for the measurement of foam formation and stability. **Journal of Food Science**. v. 52, n. 4, p. 1074-75, 1987.

REGENSTEIN, J. M.; GORIMAR, T. S.; SHERBON, J. M. Measuring the water capacity of natural actomyosin from chicken breast muscle in the presence of pyrophosphate and divalent cation. **Journal of Food Biochemistry**. v. 3, n. 4, p. 205-211, 1979.

ROMAN, J. A.; SGARBIERI, V. C. Efeito da hidrólise enzimática sobre propriedades funcionais de caseína bovina coagulada pela ação da quimosina. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 468-474, 2005.

ROSLAN, J.; YUNOS. K. F. M.; ABDULLAH. N.; KAMAL, S. M. M. Characterization of fish protein hydrolysate from tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-product. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 2, p. 312-319, 2014.

SANTOS, A. B.; GINAR, R. M. B.; GALARÇA, R. C. G.; BRACCINI NETO, J. Composição bromatológica do filé da Palometa (*Serrasalmus spilopleura*) Kner, 1860 na região de Uguaiana-RS/Brasil. **Revista da FZVA**, v. 13, n. 2, p. 166-170, 2006.

SANTOS, M. F. **Produção de hidrolisados de proteína de pescado (HPP) a partir de subprodutos da indústria do pescado de Peniche-Aplicações**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar-Instituto Politécnico de Leiria, Peniche, PT, 2011, 69p.

SATHIVEL, S.; SMILEY, S.; PRINYAWIWATKUL, W.; BECHTEL, P. J. Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 6, p. c401–c406, 2005.

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

SLIZYTE, R.; DAUKSAS, E.; FALCH, E.; STORRO, I.; RUSTAD, T. Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3, p. 1415-1424, 2005.

SOUISSI, N.; BOUGATEF, A.; TRIKI-ELLOUZ, Y.; NASRI, M. Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. **Food Technology and Biotechnology**, v. 45, n. 2, p. 187-194, 2007.

SYNOWIECKI, J.; AL-KHATEEB, N. A. A. Q. The recovery of protein hydrolysate during enzymatic isolation of chitin from shrimp Crangon crangon processing discards. **Food Chemistry**, v. 68, n. 2, p. 147-152, 2000.

VIDAL, J. M. A.; RODRIGUES, M. C. P.; ZAPATA, J. F. F.; VIEIRA, J. M. M. Concentrado proteico de subprodutos da filetagem de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização físico-química e aceitação sensorial. **Revista Ciência Agronômica**, Pici, v. 42, n. 1, p. 92-99, 2011.

WASSWA J, TANG J, GU XH, YUAN XQ. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp skin. **Food Chemistry** v. 104, n. 4, p. 1698–1704, 2007.

WISUTHIPHAET, N.; KONGRUANG, S.; CHAMGCHEUN, C Production of fish protein hydrolysates by acid and enzymatic hydrolysis. **Journal of Medical and Bioengineering**, v. 4, n. 6, p. 466-470, 2015.

ZAVAREZE, E. R.; SILVA, C. M.; SALAS-MELLADO, M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*Prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas. **Química Nova**, Rio Grande, v. 32, n. 7, p. 1739-1743, 2009.

## ANEXOS

### ANEXO 1

#### **Normas para publicação no Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**

##### **Diretrizes para Autores**

As colaborações devem ser enviadas pelo Sistema Eletrônico de Revistas da UFPR, digitadas em **Word for windows**, usando fonte **Arial**, tamanho **12**, espaçamento simples e organizadas da seguinte forma:

- título breve e descritivo do conteúdo do artigo;
- nome do autor (titulação, instituição a que pertence e endereço eletrônico em nota de rodapé);
- resumo em português (250 palavras ou 5% do texto - NBR-6028/03);
- palavras-chave (de 3 a 6 – recomenda-se consulta aos tesouros da área);
- introdução;
- material e métodos;
- resultados e discussão;
- conclusão;
- título em inglês, abstract (resumo em inglês) e palavras-chave em inglês;
- referências (em sua maioria publicada após 2000).

##### **Tabelas e ilustrações**

As tabelas e ilustrações devem ser numeradas distinta e consecutivamente, inseridas o mais próximo possível do local em que são mencionadas no texto e apresentar títulos explicativos. Enviar figuras e gráficos em arquivos separados com extensão \*.jpeg.

Para assegurar nitidez, os desenhos, mapas e fotografias devem ser apresentados no original em preto-e-branco.

##### **Conjugação verbal**

Recomenda-se a expressão impessoal evitando o uso da primeira pessoa do singular ou plural. Os dados referentes aos resultados de experiências e observações devem ser expressos no passado. Generalidades, verdades imutáveis, fatos e situações estáveis exigem formas verbais indicativas de seu valor constante (presente).

## Referências

As referências efetivamente citadas no artigo pelo sistema autor/data devem constituir lista única (em ordem alfabética) no final do trabalho e serem apresentadas de acordo com a NBR - 6023/02 (reeditada em agosto de 2002) da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Modelos

## Livros

Ex.: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast**: the practical guide to beer fermentation. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2010. 304 p.

## Capítulos de livro

Ex.: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. Biology, enzymes and esters. In: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast**: the practical guide to beer fermentation. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2010. p.17-40

## Publicações periódicas

Ex.: MARTINS, M.; PACHECO, A.M.; LUCAS, A.C.; ANDRELLO, A.C.; APPOLONI, C.R.; XAVIER, J.J.M. Brazil nuts: determination of natural elements and aflatoxin. **Acta Amazonica**, v.42, n.1, p. 157-164, mar. 2003.

## Dissertações e teses

Ex.: SANTANA, A.A. **Influência de características físicas de plastificantes na confecção e no comportamento estrutural e higroscópico de filmes de alginato de cálcio**. 2010. 155 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

## Legislação

Ex.: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 12 de 4 de setembro de 2003. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 9 de setembro de 2003. Seção 1, p. 2.

## Anais de Congressos, Simpósios, Seminários e Conferências

Ex.: PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S.H. Efeito do grau de polimerização de frutanos tipo inulina sobre os atributos de qualidade de iogurtes probióticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 10., 2010, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBCTA, 2010. p. 1-10.

## Documentos eletrônicos

Ex.: TUNGLAND, C. **Inulin**: a comprehensive scientific review. 2000. Disponível em: <[http://members.shaw.ca./duncancrow/inulin\\_review.html](http://members.shaw.ca./duncancrow/inulin_review.html)>. Acesso em: 07/02/2011.