

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

RANGIELI CARRICIO VIERO

**PRODUÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO DE FILÉ DE PALOMETA
(*Serrasalmus spilopleura*) E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS**

**Itaqui
2017**

RANGIELI CARRICIO VIERO

**PRODUÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO DE FILÉ DE PALOMETA
(*Serrasalmus spilopleura*) E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS**

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(a): 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) .

V658p Viero, Rangieli Carricio

Produção de hidrolisado proteico de filé de palometa
(Serrasalmus spilopleura) e avaliação das propriedades
funcionais / Rangieli Carricio Viero.

31 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2017.

"Orientação: Graciela Salete Centenaro".

1. Alcalase. 2. Características funcionais . 3. Hidrólise
enzimática . 4. Pescado. I. Título.

RANGIELI CARRICIO VIERO

**PRODUÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO DE FILÉ DE PALOMETA
(*Serrasalmus spilopleura*) E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS**

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.

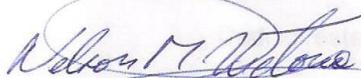
Banca examinadora:



Prof.^a Dr. Graciela Salette Centenaro
Orientador
UNIPAMPA



Prof. Dr. Valcenir Júnior Mendes Furlan
UNIPAMPA



Prof. Dr. Nelson Mario Victoria Bariani
UNIPAMPA

Dedico este trabalho a minha família e amigos que fizeram parte desta caminhada.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiro a DEUS, pois todas as vezes que me peguei pensando negativamente que não conseguiria, entreguei nas mãos dele, e fui conduzida ao sucesso.

A minha orientadora Graciela Salete Centenaro e o coorientador Valcenir Junior Mendes Furlan, pela paciência, confiança, força e apoio sempre. Sem palavras para agradecer pelas noites perdidas e pelos neurônios queimados para que este sonho pudesse se concretizar.

Aos meus PAIS, que não descansaram na torcida e que certamente oraram dias e noites para que Deus estivesse sempre comigo, que nunca pensaram duas vezes ao investir no meu futuro, e é a vocês que devo esta formação. Aos meus irmãos, a quem eu amo infinitamente.

Ao namorado, Kauan Trindade Mello, quem sempre me apoiou e esteve do meu lado, ouvindo meus choros e me ajudando superar os obstáculos.

Meus vizinhos que nos acolheram como filhos e nos cercaram de carinho e amizade que hoje, considero indispensável em minha vida.

A amiga, Josiane Aimon de Freitas quem eu posso recorrer a qualquer hora do dia e em qualquer momento, para qualquer coisa. Nós compartilhamos o mesmo sonho e foi através deste que nos conhecemos, agradeço pelo comprometimento, responsabilidade e ajuda incansável ao longo deste trabalho, e também pelos momentos de descontração proporcionados, fazendo com que a caminhada ficasse mais divertida. E ao colega Fábio Zacouteguy pelas descontrações do dia a dia.

Ao Clube de Caça e Pesca Martim Pescador de Uruguaiana/RS pela doação dos exemplares de palometa (*Serrasalmus spilopleura*) para o desenvolvimento do presente estudo.

“O fruto de um trabalho de amor atinge sua plenitude na colheita, e esta chega sempre no seu tempo certo”.

Autor desconhecido

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo elaborar um hidrolisado proteico de filé de palometa (*Serrasalmus spilopleura*) por via enzimática utilizando a enzima Alcalase, bem como realizar a caracterização físico-química e avaliar suas propriedades funcionais. O grau de hidrólise do hidrolisado proteico de palometa foi 17,4% e conteúdo proteico de $68,25 \pm 0,48$ (b.s). O hidrolisado apresentou elevada solubilidade em diferentes pHs (acima de 79%), capacidade de retenção de água máxima (5%) em pH 5,0 e 7,0, capacidade de formação de espuma de 50%, com estabilidade de espuma de 9,78% após 60 minutos. O hidrolisado proteico de palometa não apresentou capacidade de formar emulsão e o teor de brancura (W) do produto foi de $87,89 \pm 0,08$. Os resultados demonstram que o hidrolisado de músculo de 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.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Obtenção dos filés de palometa.....	13
Figura 2. Obtenção do hidrolisado proteico de palometa.....	14
Figura 3. Grau de hidrólise do hidrolisado de palometa durante 120 minutos de reação.....	20
Figura 4. Solubilidade do hidrolisado proteico de palometa em função do pH.....	20
Figura 5. Capacidade de retenção da água do hidrolisado proteico de palometa em função do pH.....	22
Figura 6. Capacidade de formação de espuma e estabilidade da espuma de hidrolisado proteico de palometa.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química do filé e do hidrolisado de palometa.....	17
Tabela 2. Determinação da cor do hidrolisado proteico de filé de palometa.	18

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
2.1 MATÉRIA-PRIMA.....	13
2.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DE PALOMETA.....	14
2.4 MEDIDA DO GRAU DE HIDRÓLISE	15
2.5 AVALIAÇÕES DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO PROTEICO.....	16
2.5.1 SOLUBILIDADE	16
2.5.3 CAPACIDADE EMULSIFICANTE.....	16
2.5.4 CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE ESPUMA E ESTABILIDADE DE ESPUMA.....	17
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
3.1 CARACTERIZAÇÃO DO FILÉ E DO HIDROLISADO PROTEICO DE PALOMETA.....	17
3.2 GRAU DE HIDRÓLISE.....	19
3.3 SOLUBILIDADE	20
3.4 CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA	21
3.5 CAPACIDADE EMULSIFICANTE	22
3.6 CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE ESPUMA (CFE) E ESTABILIDADE DE ESPUMA (EE).....	23
4. CONCLUSÃO.....	24
5. REFERÊNCIAS	25
6. ANEXOS.....	30

APRESENTAÇÃO

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

VIERO, R. C.; CENTENARO, G. S. **Produção de hidrolisado proteico de filé de palometa (*serrasalmus spilopleura*) e avaliação das propriedades funcionais** Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. 2015.^{1,2}

¹ Graduanda em Ciência e Tecnologia em Alimentos, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui, RS (e-mail: rangieli_@hotmail.com).

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

1. INTRODUÇÃO

O pescado é uma fonte proteica com grande potencial, porém é pouco explorado pela população. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o consumo de pescado seja de 12 kg por pessoa ao ano (BRASIL, 2013). Em 2011 o consumo dos brasileiros per capita foi de 11,17 kg/hab/ano (SEBRAE, 2015). Os principais fatores que levaram a esse aumento foram o incentivo ao consumo por meio de políticas públicas. A média nacional não se aplica a todas as regiões do país como, por exemplo, na região sul onde o consumo é 3,13 kg/hab/ano sendo esta média abaixo do valor nacional (IBGE, 2010). Esse fato deve-se à disponibilidade regional, nível de preços, tradição e cultura local (SEBRAE, 2015). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), em 2013 o pescado foi responsável por aproximadamente 17% da ingestão de proteínas animais, considerando a população mundial e 6,7% das proteínas consumidas no total (FAO, 2016).

Desde o início dos anos 90, tem sido observada no Brasil uma preocupação crescente com a questão de hábitos saudáveis, esporte e saúde, sendo priorizados hábitos alimentares. Associados a essa nova postura, surge uma atenção maior ao consumo de pescado, impulsionando a proteína de origem animal à mesa dos brasileiros e ressaltando suas vantagens à saúde humana (SILVEIRA et al., 2012). As proteínas do pescado são constituídas por aminoácidos essenciais, conferindo-lhes propriedades de alto valor biológico e elevada digestibilidade, sendo um alimento mais saudável do ponto de vista nutricional (ORDÓÑEZ, 2005).

A palometa (*Serrasalmus spilopleura*) é considerada predadora de outras espécies e é encontrada em grandes cardumes nos reservatórios hídricos, porém, o seu consumo é restrito, pois apresenta muitas espinhas e dificuldade para o beneficiamento e por isso seu valor comercial quando comparado à outras espécies é inferior (SANTOS et al., 2006). No entanto, a palometa “*in natura*” possui conteúdo de proteínas satisfatório (16,69%) conforme descrito no estudo de Santos et al. (2006), com possibilidade de aproveitamento para elaboração de produtos alimentícios.

Considerando o baixo consumo de pescado pela população brasileira, surgem tecnologias alternativas para inclusão dessa fonte proteica na alimentação humana. Mostrando resultados bons, a hidrólise enzimática se destaca como um processo eficiente para a solubilização das proteínas do pescado (SANTOS, 2009; KHALED et al., 2014; PAIVA et al., 2015).

Os hidrolisados proteicos obtidos podem ser utilizados em uma ampla variedade de formulações alimentícias e desempenhar determinadas funções de melhoria das características nutricionais e tecnológicas dos alimentos. Os hidrolisados proteicos podem ser utilizados como substitutos de leite, suplementos proteicos, realçadores de sabor, estabilizadores em bebidas, entre outros (MARTINS et al., 2009). Gonçalves (2011), também relata a aplicabilidade dos hidrolisados proteicos em alimentos, através da utilização como suplementos de proteínas de cereais em vários produtos de panificação, em aperitivos e bolachas, sopas e alimentos para crianças. Veit et al. (2014), descrevem resultados positivos tanto na avaliação sensorial como nutricional incorporando hidrolisados de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) em empanados de peixe.

O termo “funcionalidade” tem sido aplicado para se referir às propriedades não nutritivas que conferem aos alimentos maior conveniência de manuseio, melhor

aparência na apresentação e melhor aceitação pelo consumidor (SGARBIERI, 1998). As propriedades funcionais de maior interesse para a indústria de alimentos são a solubilidade, a capacidade de retenção de água, a capacidade de retenção de óleo, a capacidade de emulsificação e de formação de espuma. Pela modificação das condições de reação enzimática das proteínas, é possível produzir hidrolisados com diferentes características funcionais (KRISTINSSON; RASCO, 2000). Dessa forma, o conhecimento das propriedades funcionais específicas dos hidrolisados proteicos facilita sua aplicação, contribuindo para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios ou na melhoria das características dos alimentos convencionais (KRISTINSSON; RASCO, 2000).

O presente trabalho teve como objetivo elaborar um hidrolisado proteico de filé de palometa (*Serrasalmus spilopleura*), empregando hidrólise enzimática, bem como realizar sua caracterização físico-química e avaliar suas propriedades funcionais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA

Para a produção do hidrolisado, foram utilizados exemplares de palometa (*Serrasalmus spilopleura*) provenientes da Barragem Sanchuri, localizada no 5º distrito do município de Uruguai/RS, os quais foram capturados no mês de março de 2016, com o apoio do Clube de Caça e Pesca Martim Pescador.

2.2 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO FILÉ DE PALOMETA

Na figura 1 é possível observar como foi realizada a obtenção da matéria-prima utilizada para a produção dos hidrolisados proteicos de filé de palometa.

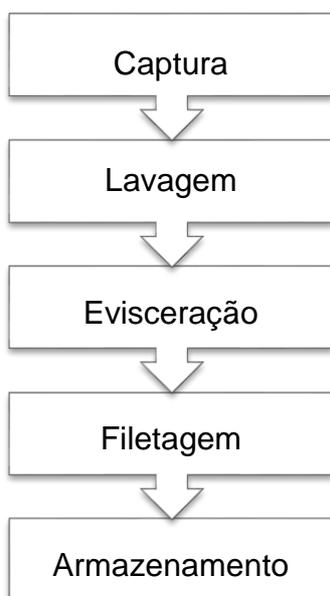


Figura 1. Obtenção dos filés de palometa

Após a captura a matéria-prima foi lavada com solução de hipoclorito de sódio a 5 ppm e mantida sob agitação manual por 2 minutos. Em seguida realizou-se a evisceração, filetagem, retirada da pele e congelado a -18 °C, até o momento de sua utilização. Para realizar as reações enzimáticas, os filés foram descongelados e triturados em multiprocessador de facas (Britânia, Multi Pro 2) até a obtenção da carne moída.

Os filés foram caracterizados de acordo com metodologia da AOAC (2010), sendo proteínas pelo procedimento de Kjeldahl ($N \times 6,25$), lipídios pelo método de Soxhlet, cinzas por gravimetria em mufla a 500-600 °C e umidade em estufa a 105 °C. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

2.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DE PALOMETETA

Na figura 2 pode-se observar processo de obtenção do hidrolisado proteico de palometa.

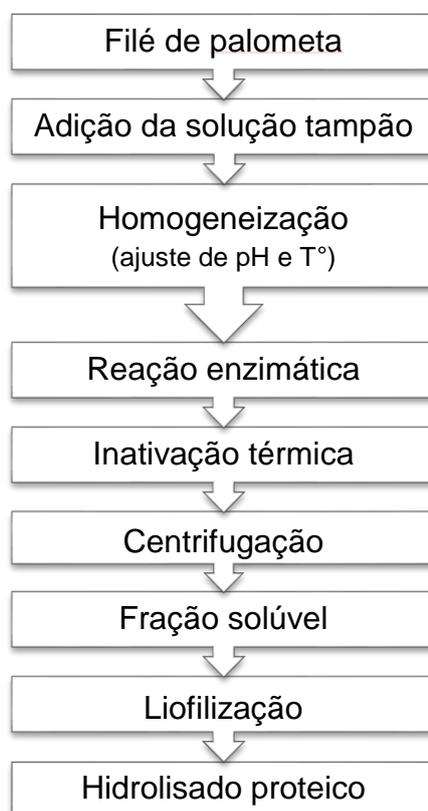


Figura 2. Obtenção do hidrolisado proteico de palometa

Para a obtenção do hidrolisado foi utilizada a enzima proteolítica Alcalase[®] 2.4 L U/g (Sigma-Aldrich).

O filé triturado foi transferido para um reator seguido da adição de solução tampão fosfato de sódio pH 8, na proporção de 1:3 (substrato: solução tampão), perfazendo um volume total de 800 mL. Após o ajuste do pH em 8,0 e temperatura

de 60 °C, a agitação (430 rpm) foi mantida com o auxílio de um agitador de eixo-helice (Fisatom, 711S) e a hidrólise foi iniciada com a adição da enzima (1%, v/p) sendo conduzida por um período de 120 minutos. Alíquotas da reação foram retiradas ao longo do processo para medida do grau de hidrólise e após o término da reação, a enzima foi inativada termicamente a 85 °C durante 15 minutos.

O hidrolisado inativado foi congelado e submetido à liofilização (LIOBRAS, L101) durante 24 horas. Posteriormente o hidrolisado obtido na forma de pó foi armazenado em recipientes hermeticamente fechados e mantido sob congelamento (-18 °C) até a realização das análises.

Foi realizada a avaliação da composição química dos hidrolisados, onde o conteúdo de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl (N x 6,25), cinzas por método gravimétrico em mufla a 550-600 °C e umidade em estufa a 105 °C de acordo com a metodologia oficial da AOAC (2010) e lipídios pelo método de Bligh e Dyer (BLIGH e DYER, 1959). Todos os valores foram obtidos em triplicata.

Foi realizada a análise do pH do hidrolisado com auxílio de um potenciômetro de bancada (LT Lutron, pH-221) com ajuste de temperatura e calibração prévia às determinações, conforme Brasil (1981).

A determinação da cor do hidrolisado foi realizada empregando um colorímetro (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 sobre a cor, os parâmetros foram combinados para obter o índice de brancura (*W – Whiteness*), conforme a equação 1.

$$W = 100 - \sqrt{(100-L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Equação (1)}$$

2.4 MEDIDA DO GRAU DE HIDRÓLISE

Foram retiradas alíquotas (6 mL) de amostras de hidrolisados durante a reação nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos para determinação do grau de hidrólise (GH), conforme Pezoa e Mellado (1979). Após cada tempo, a reação foi interrompida pela adição (4 mL) de solução de ácido tricloroacético (6,25%). Após repouso de 15 minutos, a amostra foi filtrada em papel filtro (Unifil) e as proteínas solúveis presentes no filtrado foram quantificadas pelo método de Lowry et al. (1951), expressando-se 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, determinadas por Kjeldhal (N x 6,25) de acordo com a equação 2:

$$\text{GH (\%)} = \frac{\text{proteína hidrolisada (mg)} \times 100}{\text{proteína total (mg)}} \quad \text{Equação (2)}$$

2.5 AVALIAÇÕES DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO PROTEICO

Foram determinadas as propriedades funcionais dos hidrolisados dentre as quais solubilidade, capacidade de retenção de água, capacidade emulsificante e capacidade de formação de espuma.

2.5.1 SOLUBILIDADE

Para análise da solubilidade (S) do hidrolisado proteico foi utilizada a metodologia descrito por Morr et al. (1985), com variação de pH na faixa de 3, 5, 7 e 8. Os teores de proteína total na reação e proteína solúvel no sobrenadante foram determinados pelo método de Kjeldahl, ($N \times 6,25$) e de Lowry et al. (1951), respectivamente. A S da proteína foi calculada como a relação entre a proteína no sobrenadante e a proteína total $\times 100$, conforme a equação 3.

$$S (\%) = \frac{A \times 50}{W \times \frac{P}{100}} \times 100 \quad \text{Equação (3)}$$

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 determinação da capacidade de retenção de água (CRA) do hidrolisado proteico foi realizada segundo o método descrito por Regenstein et al. (1979), adaptado às condições do laboratório. Foram preparadas dispersões proteicas (1%), com variação de pH em 3, 5, 7 e 8. Adicionou-se 2 mL de solução de NaCl 0,1 M e o volume foi ajustado em 40 mL com solução tampão fosfato 0,1 M de acordo com o pH correspondente. A dispersão foi mantida sob agitação por 15 min e centrifugado (Fanem Excelsa II 206 BL) a 1711xg por 25 minutos.

A CRA foi determinada como a quantidade de água retida pela proteína contida na amostra, expressa em mL de água retida por grama de proteína, de acordo com a equação 3.

$$CRA = \frac{\text{quantidade de água retida (mL)}}{\text{massa proteína (g)}} \quad \text{Equação (4)}$$

2.5.3 CAPACIDADE EMULSIFICANTE

A capacidade emulsificante (CE) do hidrolisado foi determinada pelo método descrito por Okezie e Bello (1988). O volume de óleo separado em cada amostra, após a centrifugação, foi medido diretamente em um tubo graduado. A diferença entre a camada de óleo remanescente e a quantidade de óleo adicionado foi expressa como a quantidade de óleo emulsionado, por grama de proteína contida na amostra. A CE foi calculada de acordo com a equação 5.

$$CE = \frac{\text{quantidade de óleo emulsificado (mL)}}{\text{massa proteína (g)}} \quad \text{Equação (5)}$$

2.5.4 CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE ESPUMA E ESTABILIDADE DE ESPUMA

A capacidade de formação de espuma (CFE) foi realizada de acordo com um método combinado, apresentado por Phillips et al. (1987) e Dipack e Kumar, (1986) onde se preparou uma suspensão de 3 g de amostra com 100 mL de água. A suspensão foi agitada em liquidificador doméstico (Philips Walita, RI2044) por 5 minutos, transferindo-se a dispersão para uma proveta graduada de 250 mL. A CFE foi calculada como a porcentagem (%) de aumento de volume, baseando-se no volume inicial e após a formação de espuma.

A estabilidade de espuma (EE) do hidrolisado proteico foi através do repouso da amostra à temperatura ambiente (20-25 °C), com leitura do volume após intervalos de 1, 5, 10, 30 e 60 minutos, e calculada pela equação 6, sendo V, o volume final de espuma, após cada intervalo de tempo, e Vo, o volume inicial de espuma formada (mL).

$$EE = \frac{V}{V_0} \times 100 \quad \text{Equação (6)}$$

Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

2.6 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%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DO FILÉ E DO HIDROLISADO PROTEICO DE PALOMETTA

Na Tabela 1 estão descritos os valores da composição química do filé de palometta e do hidrolisado proteico obtido por via enzimática.

Tabela 1. Composição química do filé e do hidrolisado de palometta.

Componentes (%)	Filé*	Hidrolisado proteico (b.s)*
Proteína	21,55 ± 0,45	68,25 ± 0,48
Lipídios	0,45 ± 0,04	1,55 ± 0,19
Cinzas	0,99 ± 0,02	30,20 ± 0,48
Umidade	77,97 ± 0,72	-

valores médios ± desvio padrão (b.s) = base seca

Os valores encontrados para composição do filé de palometa (21,55% de proteína, 77,97% de umidade, 0,45% de lipídios e 0,99% de cinzas) estão próximos aos descritos por Musachio (2015) para esta mesma espécie capturada no mesmo período do ano, apresentando valores de 19,25% de proteínas, 78,65% de umidade, 0,73% de lipídios e 1,02% de cinzas.

Gonçalves (2011), relata que a composição química para pescados em geral é de 60% a 85% de umidade, 15 a 25% de proteína, 0,6 a 3,6% de lipídios e 1 a 1,5% de cinzas. A variação na composição do pescado se deve ao tipo de musculo da espécie, sexo, idade, época do ano, habitat e dieta. Segundo Ordoñez (2005), os pescados podem ser classificados de pouca gordura, quando o valor é abaixo de 5% de lipídios e muitíssima proteína sendo o valor superior a 20%. Assim, a palometa utilizada neste trabalho foi considerada um peixe magro e rico em proteína, e sua utilização é viável para produção de hidrolisados proteicos.

O hidrolisado de palometa apresentou um teor de proteína de 68,25% (b.s), superior ao encontrado por Roslan et al. (2014) e Kristinsson (2000) que obtiveram hidrolisados com 62,71% e 62% de proteína, respectivamente. Porém, valores de proteína mais elevados (85,5%) foram descritos por Pires et al. (2013). Estas variações em relação ao teor proteico e composição do produto final dependem, principalmente, das condições do processo empregado na reação de hidrólise.

O conteúdo de umidade do hidrolisado proteico de palometa 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 lipídico 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 baixo conteúdo lipídico do pelo hidrolisado proteico (1,55%) é favorável, pois segundo Neves (2004) melhora a estabilidade do produto durante o armazenamento.

Foi observada uma elevada concentração de cinzas no hidrolisado proteico de palometa (30,20%), a qual, é decorrente de sais presentes nos tampões utilizados para manter o pH durante a hidrólise enzimática (ZAVAREZE, 2009).

O hidrolisado proteico de palometa apresentou valor médio de pH igual a 7,22. 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 microrganismos patogênicos.

Na tabela 2 é possível verificar os resultados obtidos para a cor do hidrolisado proteico de palometa.

Tabela 2. Determinação da cor do hidrolisado proteico de filé de palometa.

a*	b*	L*	W
-1,59 ± 0,03	7,92 ± 0,10	90,97 ± 0,09	87,89±0,08

Os resultados são expressos por valores médios ± desvio padrão.

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 alterada (MARTINS, 2015).

Na avaliação da cor do hidrolisado proteico o valor obtido para luminosidade L^* foi 90,97, resultado próximo a 100 que corresponde à cor branca. A escala a^* mede a variação entre vermelho (+) e verde (-) e o resultado apresentado foi positivo, demonstrando uma tendência para a cor verde (Tabela 2). 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 filé de palometa demonstrou uma coloração esbranquiçada, com valor W de 87,89 (Tabela 2), indicando que o hidrolisado obtido apresentou coloração mais branca comparada 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 peixe, 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), logo esta característica do hidrolisado não é um impeditivo para a sua utilização na indústria alimentar.

3.2 GRAU DE HIDRÓLISE

Na figura 3 é possível observar a evolução do grau de hidrólise (GH), durante 120 minutos de reação.

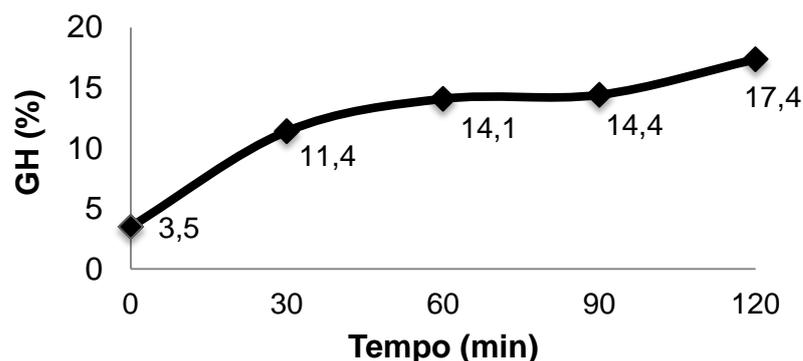


Figura 3. Grau de hidrólise do hidrolisado de palometa durante 120 minutos de reação.

Verificou-se um aumento gradativo no GH com o passar do tempo, apresentando aumento significativo ($p \leq 0,05$) de 30 para 120 minutos. Após 120 minutos de reação, o hidrolisado apresentou um GH de 17,4%, valor este próximo ao encontrado por Pires et al. (2015), que relatam valores de GH variando de 12,6 a 19,0%, em hidrolisados de pescada (*Merluccius capensis*) obtidos no mesmo tempo de hidrólise.

Em estudo de Pires et al. (2013), os autores relatam valores de GH variando de 19,0 a 22,6% em hidrolisados de subproduto de pescada, produzidos com a enzima Alcalase, após 2 horas de reação. Estes autores ainda destacam que é sempre difícil comparar os resultados entre os estudos, pois as condições de hidrólise não são bem padronizadas. Além disso, a determinação de GH por diferentes métodos, geralmente não permite resultados diretamente comparáveis.

Diniz e Martin (1996), que estudaram o efeito do pH, da temperatura e da proporção enzima-substrato no grau de hidrólise de proteína de músculo de cação com a enzima Alcalase encontraram 15,6% de grau de hidrólise, valor semelhante ao encontrado neste estudo.

3.3 SOLUBILIDADE

Na figura 4 estão apresentados os valores de S para o hidrolisado proteico de palometa, medida em diferentes pHs.

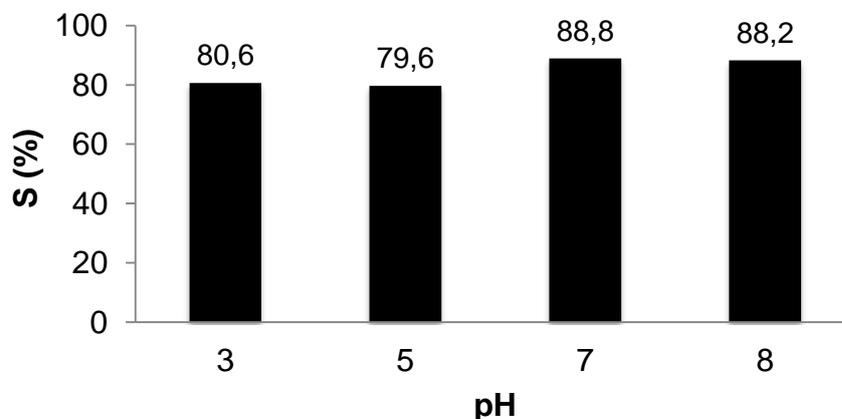


Figura 4. Solubilidades do hidrolisado proteico de palometa em função do pH.

Observa-se que o hidrolisado proteico de palometa apontou valores elevados de S, o que pode ser devido ao conteúdo de sal presente no produto final, oriundo do meio de reação empregado no processo. Conforme Geirsdottir et al. (2011), a presença de sal contribui para melhorar a solubilidade de peptídeos de cadeia longa, ou seja, de hidrolisados com menos GH.

Porém, é reconhecido que hidrolisados proteicos de pescado são solúveis em uma ampla faixa de força iônica e pH (KRISTINSSON, 2007). Outros autores também relataram valores elevados de solubilidade (70%) em hidrolisados proteicos de maria-mole (*Micromesistius poutassou*) obtidos com Alcalase (GEIRSDOTTIR et al., 2011), e hidrolisados de músculo de sardinha (*Sardinella aurita*) com solubilidade na faixa de pH de 2,0 a 12, 0, variando de 65 a 95% (KHALED et al., 2014).

Quando se realizou a avaliação da S do hidrolisado em diferentes pHs, verificou-se uma solubilização mínima em pH 5,0. A menor solubilidade neste pH deve-se a proximidade com o ponto isoelétrico das proteínas, ou seja, condição onde o número de cargas negativas e positivas tende a se neutralizar intramolecularmente, apresentando uma menor afinidade pela água (CENTENARO et al., 2009).

Conforme Sathivel et al. (2005), 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, conseqüentemente, ocorre aumento da S.

A S é uma das propriedades funcional mais importante de um produto hidrolisado. Assim, a boa S demonstrada pelo hidrolisado obtido neste estudo, permite sua aplicação em alimentos, tanto em formulações alcalinas ou ácidas.

Alguns autores relatam uma correlação entre o GH e a S do hidrolisado, pois quanto maior a quebra das proteínas, maior a solubilização destas. Embora o aumento da S tenha uma relação positiva com a extensão da hidrólise, deve-se ter cuidado para que o substrato não seja extensivamente hidrolisado, pois um alto GH pode ter efeitos negativos nas demais propriedades funcionais do hidrolisado (ZAVAREZE et al., 2009).

3.4 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 a 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 em diferentes pHs.

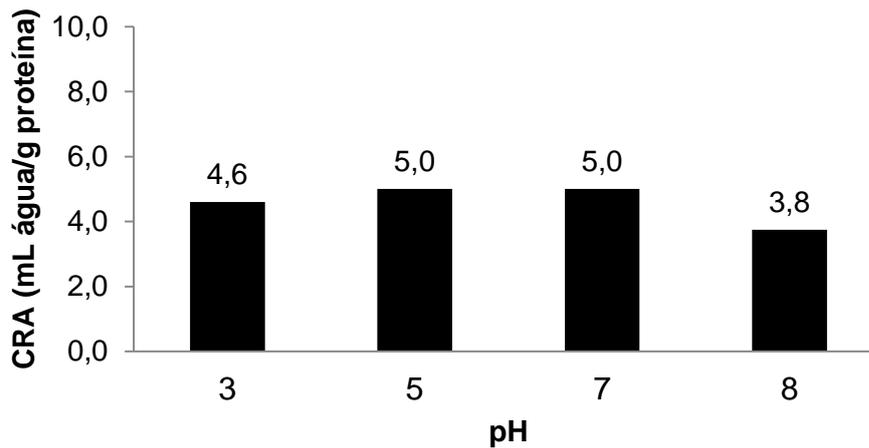


Figura 5. Capacidade de retenção da água do hidrolisado proteico de palometa em função do pH.

Pode-se observar que o hidrolisado proteico de palometa apresentou maior CRA quando solubilizado nos pHs 5,0 e 7,0, porém, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$). Já entre valores de pH mais ácidos ou mais alcalinos, a CRA foi menor. 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. Cândido e Sgarbieri (2003) produziram hidrolisados de tilápia do Nilo com GH na faixa de 2,5 a 14% e os valores obtidos para CRA (2,5 a 5,5 mL de água/g de proteína) em diferentes pHs, foram próximos aos valores encontrados neste estudo.

A quantidade de água associada à proteína depende de uma série de fatores, destacando-se a sua composição, conformação, número de grupos polares expostos, presença de sais e pH (KINSELLA, 1984). Além disso, a CRA depende particularmente do tamanho molecular e da capacidade de formação de uma rede proteica. Assim, o hidrolisado com maior GH e, portanto, menor peso molecular não pode formar essa rede, pois apresenta uma maior concentração de grupos hidrofóbicos e um menor tamanho molecular (ROMAN e SGARBIERI, 2005).

3.5 CAPACIDADE EMULSIFICANTE

A avaliação da capacidade emulsificante demonstrou que o hidrolisado proteico de palometa não foi capaz de formar emulsão, nas condições empregadas neste estudo. De acordo com Centenaro et al. (2009), as propriedades funcionais, como emulsificação e propriedades espumantes, podem ser afetadas quando a solubilidade é elevada. 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 grau de hidrólise. Peptídeos maiores promovem maior estabilidade da emulsão, ao passo que a presença de peptídeos menores prejudica a formação e a estabilidade das emulsões.

3.6 CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE ESPUMA (CFE) E ESTABILIDADE DE ESPUMA (EE)

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).

A CFE e a EE do hidrolisado proteico do filé de palometa estão representadas na figura 6.

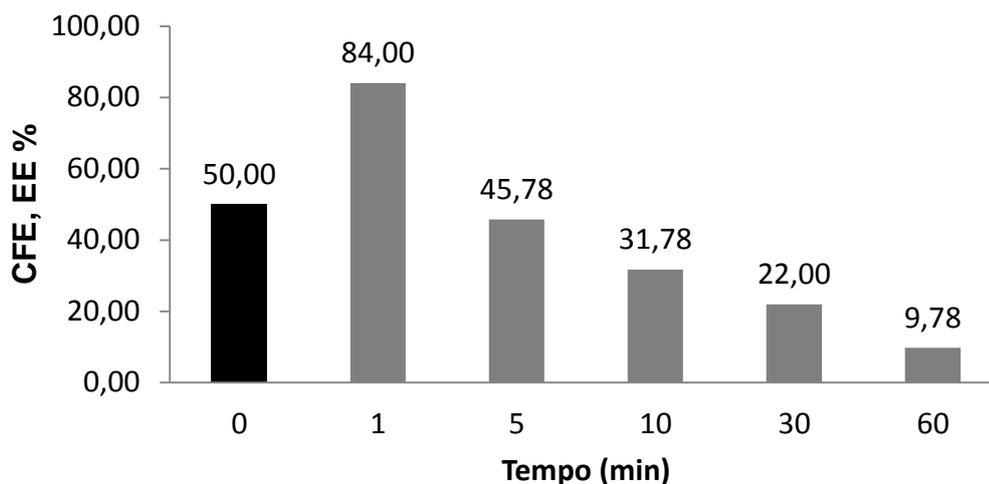


Figura 6. Capacidade de formação de espuma (■) e Estabilidade da espuma (■) do hidrolisado proteico de palometa.

A CFE alcançada foi de 50% após a agitação. A expansão da espuma depois do batimento foi monitorada durante 60 minutos para indicar a estabilidade da espuma da proteína hidrolisada. Na Figura 6 é possível observar que a espuma formada não demonstrou estabilidade, a qual apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) em todos os tempos. Após 60 minutos a estabilidade foi de 9,78%, diminuição significativa em relação ao volume inicial de espuma formado.

Em estudo de Shahidi et al. (1995), os autores descrevem 90% de capacidade de formação de espuma para hidrolisado proteico de capelim (*Mallotus villosus*) elaborado com a enzima Alcalase. Em um trabalho com proteína hidrolisada de músculo do tubarão, os autores verificaram uma CFE entre 50-140% valores estes próximos ao relatado no estudo.

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.

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.

Miquelim (2010) relata que a CFE para albumina foi de 80% após o batimento, sendo esta porcentagem próxima à determinada no presente estudo. No

entanto, a EE do hidrolisado não apresentou resultados satisfatórios quando comparada ao resultado apresentado pelo autor, visto que a albumina pode ser utilizada como agente espumante padrão.

Uma boa CFE proporciona a aplicação do hidrolisado proteico em alimentos que necessitam da incorporação de ar na formulação (SCHMIDT, 2009).

No que diz respeito a EE, a espuma produzida pelo hidrolisado de palometa apresentou menor estabilidade quando comparada a hidrolisados protéicos de pescada (~20%) produzidos por Pires et al. (2015). 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).

4. CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que o hidrolisado produzido a partir do filé de palometa apresentou satisfatório conteúdo proteico e cor próxima ao branco. Destaca-se ainda a elevada solubilidade e capacidade de formação de espuma do hidrolisado, porém a capacidade de retenção de água foi baixa e não foi observada capacidade de formar uma emulsão a partir da utilização deste produto nas condições estudadas. As características físico-químicas e as propriedades funcionais do hidrolisado de palometa indicam que a utilização desse pescado de baixo valor comercial, para a produção de hidrolisados enzimáticos, pode ser uma tecnologia viável para aproveitar a espécie empregando tecnologias adequadas, com possibilidade de utilizá-lo como um ingrediente alimentar natural para consumo humano.

ABSTRACT

PRODUCTION OF PALOMETTA FILES (*Serrasalmus spilopleura*) PROTEIN HYDROLYSIS AND EVALUATION OF FUNCTIONAL PROPERTIES

The present work aimed to elaborate a protein hydrolyzate of fillet of palometa (*Serrasalmus spilopleura*) by enzymatic way using the enzyme Alcalase, as well as to perform the physical-chemical characterization and to evaluate its functional properties. The degree of hydrolysis of the protein hydrolyzate of palometa was 17.4% and protein content of 68.25 ± 0.48 (b.s). The hydrolyzate showed high solubility at different pHs (above 79%), maximum water retention capacity (5%) at pH 5.0 and 7.0, foamability of 50%, foam stability of 9.78% after 60 minutes. The protein hydrolyzate of palometa showed no capacity to form emulsion and the whiteness (W) content of the product was 87.89 ± 0.08 . The results demonstrate that the hydrolyzate of palometa muscle produced in the present study had good solubility and foaming properties, indicating possible use in different food formulations.

Key words: Alcalase, functional characteristics, enzymatic hydrolysis, fish.

5. 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.

BLIGH, E. G; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

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.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprovar as seguintes diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 13 de junho de 2013. Seção 1, nº 112, pág. 59-62.

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. A hidrólise enzimática de tilápia do Nilo (*Oreochromus niloticus*) proteínas miofibrilares: efeitos sobre propriedades nutricionais e hidrofílico. **Sci. Food Agric**, London, v. 83, n. 10, p. 937-944, 2003.

CENTENARO, G. S.; HERNANDEZ, C. P.; MELLADO, M. S. Efeito da concentração de enzima e de substrato no grau de hidrólise e nas propriedades funcionais de hidrolisados proteicos de corvina (*Micropogonias furnieri*). **Quim. Nova**, v. 32, n. 7, p.1792-1798, 2009.

CENTENARO, G.S.; MELLADO, M.S.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Antioxidant Activity of Protein Hydrolysates of Fish and Chicken Bones. **Advance Journal of Food Science and Technology**. v. 3, n.4, p. 280-288, 2011.

CONTRERAS, 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.

DINIZ, F. M.; MARTIN, A. M. Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein. Composition of the

hydrolysates. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 48, n. 3, p. 191-200, 1997.

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 & technology**, v. 31, n. 5, p. 419-426, 1996.

DIPACK, K.; KUMAR, K. D. Functional properties of rapeseed protein products with varying phytic acid contents. **Journal of Agricultural Chemistry**. v. 34, p. 775-77, 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 of the United Nations 2016. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016**. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224p. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf> >. Acesso em: 22/05/2017.

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

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.

GEIRSDOTTIR, M.; SIGURGISLADOTTIR, S.; HAMAGUCHI, P. Y.; THORKELSSON, 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, C14-C20, 2011.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. Ed. 1^a, São Paulo: Atheneu, 2011. p. 608.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008–2009 – Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. IBGE; 2010. [acesso em 2017 junho 04]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts/0000000108.pdf>

KHALED, H. B.; KTARI, N.; GHORBEL-BELLAJ, 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. Milk proteins: physicochemical and functional properties **Critical Review in Food Science and Nutrition**. v.21, 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. Acesso em: 25 mai. 2017.

KRISTINSSON, H. G. Aquatic food protein hydrolysates. **In: Maximizing the Value of Marine By-products**. ed. by Shahidi F. Woodhead, Cambridge, UK, 2007. p.229– 48.

KRISTINSSON, H.G.; RASCO, B. A. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical and Functional Properties. **Critical reviews in food science and nutrition**, 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. **J biol Chem**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MARTINS, M.S. Uso de corantes artificiais em alimentos: legislação brasileira. **Aditivos e Ingredientes**, São Paulo, v. 29, n.122, p.32-37, 2015.

MARTINS, V. G.; COSTA, J. A. V.; HERNANDEZ, C. P. Hidrolisado proteico de pescado obtido por vias química e enzimática a partir de corvina. **Química Nova**. São Paulo, v. 32, n. 1, p. 61-66, 2009.

MORR, V.; GERMAN, B.; KINSELA, 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, p. 17-15, 1985.

MIQUELIM, J. N. **Avaliação reológica e microscópica de espumas tipo Marshmallow**. 2010. 116p. Tese doutorado (Alimentos e Nutrição Experimental). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo 2010.

MUSACHIO E. A. S. **Biscoito salgado enriquecido com proteína de palometa (*Serrasalmus spilopleura*)**. 2015. 24 f. Trabalho de conclusão de curso (Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Pampa, Itaqui, 2015.

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.

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.

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

PAIVA, F. C.; ALECRIM, M. M.; TEIXEIRA, M. F. S.; KIRSCH, L. S.; DE JESUS, R. S. Produção de hidrolisado proteico de pirarucu utilizando-se protease de *Aspergillus flavo-furcatiss* e pancreatina. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v. 45, n. 1, p. 89-96, 2015.

PANYAM, D.; KILARA, A. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. **Trends in 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.

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.

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.

PIRES, C.; CLEMENTE, T.; BATISTA, I. Functional and antioxidative properties of protein hydrolysates from Cape hake by-products prepared by three diferente 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, p.1006-1015, 2015.

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, 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 e tecnologia de 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 Uruguaiana-RS/Brasil. **Revista da FZVA**. Uruguaiana. v.13, n.2, p. 166-170, 2006.

SANTOS, M. F. G. **Produção de hidrolisados de proteína de pescado (HPP) a partir de subprodutos da indústria do pescado de Peniche–Aplicações**. 2011. 76 f. Tese de Doutorado, Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche Instituto Politécnico de Leiria, Portugal, 2011.

SANTOS, S. D.; MARTINS, V. G.; MELLADO, M. S.; HERNANDEZ, C. P. Otimização dos parâmetros de produção de hidrolisados proteicos enzimáticos utilizando pescado de baixo valor comercial. **Química Nova**. Rio Grande. v. 32, n. 1, p. 72-77, 2009.

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. 70:6, p.401–406, 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. **Quim. Nova**, v. 32, n. 5, p.1144-1150, 2009.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – SEBRAE. **Aquicultura no Brasil série de estudos mercadológicos**. 2015. Disponível em < [http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/\\$File/5403.pdf](http://www.bibliotecas.sebrae.com.br/chronus/ARQUIVOS_CHRONUS/bds/bds.nsf/4b14e85d5844cc99cb32040a4980779f/$File/5403.pdf) >. Acesso em 25. Mai. 2017.

SGARBIERI, V.C. Propriedades funcionais de proteínas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 32, n.1, p. 105-126, 1998.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q.; SYNOWIECKI, J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). **Food chemistry**, v. 53, n. 3, p. 285-293, 1995.

SILVEIRA, L. D. S.; ABDALLAH, P. R.; HELLEBRANDT, L.; BARBOSA, M. N.; FEIJÓ, F. T.. Análise socioeconômica do perfil dos consumidores de pescado no município de Rio Grande. **SINERGIA**. Rio Grande, v. 16, p. 9-19, 2012.

Veit, J. C., Maluf, M. L. F., Simões, M. R., Feiden, A., & Boscolo, W. R. (2014). Inclusão de hidrolisados proteicos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) em empanados de peixe. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 16, n. 2, 2014.

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

6. 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).

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>. Acesso em: 07/02/2011.