

INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CURSO SUPERIOR DE BACHAREL EM ENGENHARIA DE PESCA

JOÃO LUCAS SANTOS MENEZES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE
HIDROLISADO PROTEICO DE PEROÁ (*Balistes capriscus*) PRODUZIDO A
PARTIR DE COPRODUTOS.**

PIÚMA - ES

2017

JOÃO LUCAS SANTOS MENEZES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE
HIDROLISADO PROTEICO DE PEROÁ (*Balistes capriscus*) PRODUZIDO A
PARTIR DE COPRODUTOS.**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenadoria de Engenharia
de Pesca do Instituto Federal do Espírito
Santo, como requisito parcial para obtenção
do título Bacharel em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giordani
Minozzo

Coorientador: Prof. Dra. Dayse Aline Silva
Bartolomeu de Oliveira

PIÚMA - ES

2017

Dados internacionais de catalogação na publicação (CIP)

Bibliotecária responsável Ana Muller CRB6/ES 541

M543d Menezes, João Lucas Santos, 1993-

Desenvolvimento e caracterização físico-química de hidrolisado proteico de peroá (*Balistes capriscus*) produzido a partir de coprodutos / João Lucas Santos Menezes. -- 2017.

37 f. : il. ; 30 cm.

Orientador : Marcelo Giordani Minozzo

Coorientador : Dayse Aline Silva Bartolomeu de Oliveira

Monografia (graduação) - Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Piúma, Coordenadoria de Curso Superior de Engenharia de Pesca, 2017.

1. Indústria pesqueira. 2. Peroá (Peixe) – Aproveitamento integral. 3. Hidrólise enzimática . I. Minozzo, Marcelo Giordani. II. Oliveira, Dayse Aline Silva Bartolomeu de. III. Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Piúma. IV. Título.

CDD: 664.94

JOÃO LUCAS SANTOS MENEZES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE
HIDROLISADO PROTEICO DE PEROÁ (*Balistes capriscus*) PRODUZIDO A
PARTIR DE COPRODUTOS.**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenadoria de Engenharia
de Pesca do Instituto Federal do Espírito
Santo, como requisito parcial para obtenção
do título Bacharel em Engenharia de Pesca.

Aprovado em 28 de novembro de 2017

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcelo Giordani Minozzo
Instituto Federal do Espírito Santo
Orientador

Prof. Dra Dayse Aline Silva Bartolomeu de Oliveira
Instituto Federal do Espírito Santo
Coorientador:

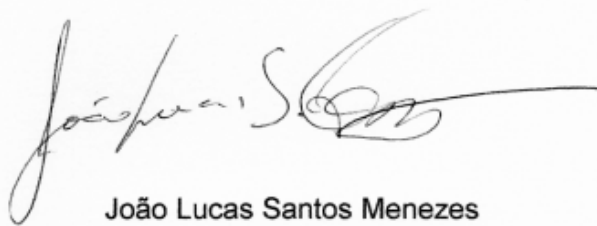
Prof. Dr. Clayton Perônico de Almeida
Instituto Federal do Espírito Santo

Prof. Dra. Flávia Regina Spago de C. Gonçalves
Instituto Federal do Espírito Santo

DECLARAÇÃO DO AUTOR

Declaro, para fins de pesquisa acadêmica, didática e técnico-científica, que este Trabalho de Conclusão de Curso pode ser parcialmente utilizado, desde que se faça referência à fonte e ao autor.

Piúma-ES, 28 de novembro de 2017.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'João Lucas Santos Menezes', with a long horizontal flourish extending to the right.

João Lucas Santos Menezes

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos àqueles a quem tudo devo: a Deus e a todos os bons Santos.

Meus agradecimentos a minha família: Esposa, Cláudia Portela dos Santos Menezes; Mãe, Wilma Santos; Pai, João Batista de Menezes e irmãos, Priscila, Paula, João Paulo e Pedro Vitor por acreditarem que seria capaz de concluir essa caminhada.

Ao Professor Dr. Marcelo Giordani Minozzo, grande amigo e orientador pelo apoio inestimável na realização deste trabalho.

A Professora Dra. Dayse Aline Silva Bartolomeu de Oliveira, também uma grande amiga, pela ajuda como coorientadora e pelos conselhos que foram fundamentais em minha vida.

Aos amigos Rafael Rigoni Cardoso e Raoní Gonçalves de Souza, pela amizade, sugestões, considerações e apoio durante toda a elaboração deste trabalho.

A CLB (Coordenação de Laboratórios), em especial à Daniella e Suzana, pelas ajudas durante a realização dos trabalhos nos laboratórios do *Campus*.

A todos os amigos e professores do GEEP (Grupo de Estudos em Processamento de Pescado) e a todos os amigos do Curso de Engenharia de Pesca.

Ao Instituto Federal do Espírito Santo *Campus* Piúma pela oportunidade que me foi ofertada, é sempre bom aplicar um pouco dos conhecimentos adquiridos na construção de um mundo melhor, que estime os reais valores.

A todos os amigos, familiares que contribuíram direta e ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

João Lucas Santos Menezes

RESUMO

A técnica de hidrólise enzimática pode ser um método viável para utilização dos coprodutos da indústria pesqueira, hoje vistos como um recurso potencial em vez de ser simplesmente descartados. Diante do exposto, o desenvolvimento e caracterização físico-química de hidrolisado proteico de peróá (*Balistes capriscus*) produzido a partir de seus coprodutos vem a oferecer uma alternativa à indústria. Com o intuito de aproveitar integralmente o pescado, o estudo visa sua aplicação em produtos amplamente consumidos, através do melhoramento de suas propriedades funcionais. O processo de hidrólise enzimática de cabeça de peróá foi conduzido seguindo um planejamento fatorial com duas variáveis independentes: tempo de processo (em minutos) e concentração de enzima (% p/v), composto por três partes. Avaliou-se a Composição Centesimal, Grau de Hidrólise (GH), Solubilidade, Índice de Estabilidade de Emulsão (IEE) para todas as formulações testadas. Para as análises de composição centesimal da matéria-prima encontrou-se valores médios de, respectivamente: Umidade $78,32 \pm 0,05$ e $87,36 \pm 0,46$; Cinzas: $6,54 \pm 0,53$ e $3,66 \pm 0,69$; Lipídeos: $5,19 \pm 0,71$ e $5,91 \pm 0,71$; Proteínas: $6,66 \pm 0,02$. As formulações variaram entre si. Em concentração de enzima e tempo de reação, com extremos de 70min e 410min e 0,03% e 1,17% de enzima. Através da análise de Superfície de Resposta, demonstrou que é possível obter o mesmo percentual de grau de hidrólise com menores valores de tempo e concentração de enzima, tornando o processo mais econômico. As formulações F-1, F-5 e F-7 foram consideradas as melhores por apresentarem maiores índices ($p < 0,05$) de Solubilidade e Índice de Estabilidade de Emulsão.

Palavras-chave: Hidrólise. Resíduo. Aproveitamento Integral.

ABSTRAT

The enzymatic hydrolysis technique can be a viable method for using the coproducts of the fishing industry. Now seen as a potential resource rather than being simply discarded. In view of the above the development and physico-chemical characterization of the protein hydrolyzate of peroá (*Balistes capriscus*) produced from its coproducts offers an alternative to the industry. In order to fully exploit the fish, the study aims at its application in widely consumed products, through the improvement of its functional properties. The enzymatic hydrolysis process of peroa head was conducted following a factorial design with two independent variables - Process time (in minutes) and enzyme concentration (% w / v), composed of three parts. Centesimal Composition, Degree of Hydrolysis (GH), Solubility, Emulsion Stability Index (IEE) were evaluated for all formulations tested. For the analyzes of the centesimal composition of the raw material, we found average values of, respectively: Humidity 78.32 ± 0.05 and 87.36 ± 0.46 ; Ashes: 6.54 ± 0.53 and 3.66 ± 0.69 ; Lipids: 5.19 ± 0.71 and 5.91 ± 0.71 ; Proteins: 6.66 ± 0.02 and 3.88 ± 0.05 . The formulations varied in enzyme concentration and reaction time, with ends of 70min and 410min and 0.03% and 1.17% of enzyme. Through the Response Surface analysis, it was demonstrated that it is possible to obtain the same percentage of degree of hydrolysis with lower values of time and enzyme concentration, making the process more economical. The F-1, F-5 and F-7 formulations were considered the best because they presented higher Solubility Index and Emulsion Stability Index ($p < 0.05$).

Keywords: Hydrolisis. Residue. Integral use.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de Pareto para a variável Grau de Hidrólise	29
Figura 1. Gráfico de superfície de resposta para a variável Grau de Hidrólise com três eixos.....	29
Figura 3. Gráfico de superfície de resposta para a variável Grau de Hidrólise com três eixos.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação entre Enzima, Origem e Especificidade.....	18
Tabela 2 - Delineamento experimental do processo de hidrolise com tempo e concentração de enzima.....	22
Tabela 3 - Composição Físico-química da matéria-prima (MP), coproduto (cabeças) de peroá (<i>Balistes capriscus</i>) e das onze formulações (F-n) de Hidrolisado Protéico de peroá.....	26
Tabela 4 - Rendimento e Grau de Hidrólise (GH) para a Matéria-prima (MP) e para as onze Formulações de Hidrolisado.....	28
Tabela 5 - Resultado de Índice de Atividade Emulsificante e Estabilidade da Emulsão referente às Formulações de Hidrolisado Protéico de Coprodutos (cabeças) de peroá (<i>Balistes capriscus</i>) com Grau de Hidrolise maior que 50%.....	32

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1	APROVEITAMENTO INTEGRAL DO PESCADO	12
2.2	HIDRÓLISE PROTÉICA DE PESCADO	15
2.3	PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO PROTÉICO DE PESCADO.....	16
3	OBJETIVO	19
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1	OBTENÇÃO E PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA.....	20
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	20
4.3	DESENVOLVIMENTO DO HIDROLISADO PROTÉICO DE PESCADO	21
4.4	AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MATÉRIA-PRIMA E DO HIDROLISADO PROTÉICO DE COPRODUTO DE PEROÁ	22
4.5	DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE DA MATÉRIA-PRIMA E HIDROLISADO PROTÉICO DE COPRODUTO DE PEROÁ.....	23
4.6	AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO PROTÉICO DE COPRODUTO DE PEROÁ	23
4.6.1	Solubilidade	23
4.6.2	Atividade Emulsificante e Estabilidade de Emulsão	24
4.7	ANALISE ESTATÍSTICAS	24
5	RESULTADO E DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÃO	33
7	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

Segundo o relatório da FAO (2016) a América Latina vai apresentar uma expansão importante na produção aquícola que pode chegar a 3,7 milhões de toneladas em 2025, um crescimento de 39.9% em relação a 2013-15, período em que foram produzidas em média 2,7 milhões de toneladas. Segundo a FAO, a pesca não deve crescer muito nos próximos anos. E a produção total de peixes (aquicultura + capturas) deve registrar 16,2 milhões de toneladas em 2025, 12,6% a mais que o nível alcançado em 2013-15.

Com o aumento da produção de alimentos, concomitantemente, há um aumento na produção de resíduos, que há tempos tornou-se uma incógnita a ser resolvida. A gestão dos resíduos ganhou destaque nos últimos anos, com o desenvolvimento de formas viáveis de aproveitamento, questões que envolvem os processos de geração, coleta, disposição, tratamento e beneficiamento (VIDOTTI, 2011). No beneficiamento de pescado por indústrias frigoríficas, o rendimento varia de acordo com o corte.

O peroá (*Balistes capriscus*), quando submetido a processos de beneficiamento, apresenta rendimento de aproximadamente 35% (FURLONG *et al*, 2014), havendo a necessidade de aproveitamento dos 65% que são tidos como descartes. A hidrólise enzimática pode ser um método viável para a utilização dos coprodutos (resíduos de processamento) da indústria pesqueira, hoje visto como um recurso potencial em vez de serem descartados apenas como resíduos. Denominado pela sigla FPH (*Fish Protein Hydrolyseted*), conforme designado pela *Food and Agriculture Organization* (FAO, 2016), esse produto pode atingir uma concentração proteica de 90%, além de apresentar propriedades funcionais úteis para a indústria alimentícia (OETTERER, 2009).

Muitas indústrias processadoras de pescado investem parte do que arrecadam tratando seus coprodutos antes de descartá-los (KRISTINSSON; RASCO, 2000a). Porém, para que a indústria desenvolva processos para recuperar e utilizar coprodutos, é necessário que esses processos sejam viáveis e promovam um aproveitamento mais eficiente (KRISTINSSON; RASCO, 2000b).

O peroá (*Balistes capriscus*) é uma das espécies mais comercializada no estado do Espírito Santo, em destaque a região Sul, por apresentar inúmeras características que agradam o consumidor, (ROBERTSON, 1988). O peroá é encontrado no mercado local na maioria das vezes eviscerado e sem pele ou 'corpinho', sem cabeça, gerando, por tanto quantidade significativa de coprodutos que, normalmente, não são aproveitados. Os produtos elaborados a partir de coprodutos pode ser uma opção para as indústrias pesqueiras, visando o aproveitamento integral do pescado.

Diante da discussão de promover maior rentabilidade à indústria pesqueira e da sustentabilidade ambiental, o desenvolvimento de hidrolisado proteico de pescado a partir de coprodutos de peroá (*Balistes capriscus*), pode ser uma alternativa tecnológica que sirva de meio para o melhor aproveitamento do pescado e nova oportunidade de mercado para as indústrias de beneficiamento de pescados da região, possivelmente atendendo a sua demanda de aumentar o fluxo de receitas, o que poderá destacá-las como empresas com responsabilidade social e ambiental no mercado e dessa forma agregando valor à suas marcas e aos outros produtos já desenvolvidos. Portanto, o objetivo desse estudo foi o desenvolvimento e a caracterização tecnológica de hidrolisado proteico de peixe a partir do processo de hidrólise enzimática de coprodutos do beneficiamento de peroá (*Balistes capriscus*).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. APROVEITAMENTO INTEGRAL DO PESCADO

Com a perspectiva da demanda mundial de pescado para consumo é consequente a maior produção de coprodutos na indústria pesqueira. Sabe-se que o aproveitamento de coprodutos não é novidade. O termo coproduto, diz respeito a todos os resíduos e sobras do processamento de alimentos que são de baixo valor comercial. Quando se refere ao pescado, o material residual pode ser constituído por aparas de carne, nadadeiras, peles, cabeças e carcaças (OETTERER, 2009).

O peroá (*Balistes capriscus* Gmelin, 1788) é uma espécie demersal explorada na costa do Estado do Espírito Santo desde 1967. É encontrado na região tropical e temperada do Atlântico Oeste, desde Nova Scotia (Canadá) até a Argentina, bem como na costa sudoeste da África (BARROSO-SOTO *et al.*, 2017).

Existem poucas informações sobre as áreas ocupadas pelos indivíduos jovens. Indivíduos de até 100 milímetros de comprimento furcal são comuns sob tufos de *Sargassum spp.* e acompanhando objetos à deriva. Pós-larvas de até 10 milímetros de comprimento são encontradas em profundidades que variam entre 6 e 100 metros (BARROSO-SOTO *et al.*, 2017).

Esta espécie é uma das mais comercializadas no estado do Espírito Santo, em destaque a região Sul, por apresentar inúmeras características que agradam o consumidor, sendo comercializado na maioria das vezes eviscerado e sem pele ou 'corpinho', sem cabeça. Apresenta relativamente um baixo custo e uma carne de boa qualidade com baixo teor de gordura (colesterol) e calorias, sendo uma espécie de alto valor nutricional (ROBERTSON, 1988).

O beneficiamento do peróá é um método comum e simples, porém, produz uma quantidade significativa de resíduos que, normalmente, não são aproveitados por falta de conhecimento dessa matéria-prima. Os produtos elaborados a partir de coprodutos podem oferecer uma opção lucrativa para as indústrias pesqueiras (NEVES; MIRA; MARQUEZ, 2014).

De acordo com Rustad (2016), podem-se caracterizar como coprodutos, resíduos gerados pela indústria durante o processamento de alimentos. Os resíduos obtidos são fundamentalmente sólidos, arrastados pela água de tratamento, durante a manipulação do pescado, e sólidos solúveis ou dispersos na água de processamento. Dentre os resíduos sólidos incluem-se cabeças, pele, espinhas, caudas, pedaços de músculo, nadadeiras, escamas, vísceras, entre outros.

Portanto, é possível ordenar os coprodutos de pescado em diferentes categorias de utilização, como matérias para obtenção de fertilizantes a partir do processo de silagem, para uso em formulações de ração animal a partir de hidrolisados, que podem ser empregados em diversas áreas, como na alimentação animal na forma de substituintes aromáticos sintéticos e suplemento proteico, e são recomendáveis como fonte de proteína facilmente assimilável para peixes e aves, fonte de nitrogênio para cultivo de microrganismos e, na alimentação humana, empregado como suplemento em diversos produtos (RUSTAD, 2016).

Deve-se observar ainda que, do ponto de vista da composição dos resíduos, esses estão constituídos por: proteínas com funções e origens diferentes, lipídeos, nitrogênio não-proteico, carboidratos, substâncias minerais, entre outros; com uma proporção diferente de cada um deles, em função dos resíduos de onde provêm (NEVES; MIRA; MARQUEZ, 2014)

Segundo Oliveira *et al.* (2015), os coprodutos do processamento de pescado são excelente matéria-prima para preparação de alimentos de alto valor proteico. É possível reduzir os custos e aumentar a produtividade das indústrias com a minimização de problemas de poluição ambiental.

Também nesse sentido, o recente declínio nos estoques de espécies tradicionais de pescado, associado ao aumento da demanda mundial de proteínas de origem animal, tem contribuído para o desenvolvimento de técnicas visando o melhor aproveitamento dos recursos (HAIMOVICI; MARTINS; FIGUEIREDO, 2016). No entanto, a necessidade de montar sistemas para aproveitamento de coprodutos industriais é de ordem econômica e de conservação de energia, o que possibilitará o uso mais racional da matéria-prima, ou ainda, o desenvolvimento de novos produtos, que utilizem coprodutos líquidos ou sólidos no preparo (OETTERER, 2009).

A importância do aproveitamento integral do pescado também está no âmbito legal, onde de acordo com a lei nº 12.305, de 2 de agosto de 2010 onde aplicam-se aos resíduos sólidos, além do disposto nesta Lei, onde são estabelecidas normas de qualidade e disposição de resíduos de origem animal e vegetal, sendo complementada pela Resolução do nº 430, de 13 de maio de 2011 com correlacionada com a Resolução nº 357/2005, ambas do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) onde são dispostos as condições e padrões de lançamento de efluentes onde é de inteira responsabilidade do produtor do resíduo/efluente o correto destino dos mesmos, muitas das vezes havendo a necessidade de investir em formas de tratamento ou aproveitamento dos resíduos.

2.2. HIDRÓLISE PROTÉICA DE PESCADO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o pescado é uma fonte de proteínas com quantidade significativa de aminoácidos essenciais (cerca de 30%) (SHYNI et al., 2014). No entanto, em vez de utilizar a proteína diretamente, os hidrolisados de proteínas de peixe estão se tornando uma alternativa cada vez mais comum por apresentar aminoácidos disponíveis de grande importância.

As proteínas são moléculas especiais que executam as mais diversas funções nos organismos, desde o transporte de nutrientes e metabólitos à catálise de reações biológicas. São macromoléculas complexas, compostas de aminoácidos, e necessárias para os processos químicos que ocorrem nos organismos vivos. São os constituintes básicos da vida: tanto que seu nome deriva da palavra grega "*proteios*", que significa "em primeiro lugar" (SGARBIERI, 2009).

A degradação de proteínas pode ser realizada quimicamente (usando ácido ou álcali) ou biologicamente (usando enzimas). Esses processos não apenas mantêm um alto teor de aminoácidos essenciais, mas também ampliam suas funções para a alimentação ou a aplicação farmacêutica. O processo químico é conduzido sob alta temperatura (120 °C) e pressão (100 kPa) em um estado ácido ou alcalino. É comumente usado por causa do baixo custo de processamento. No entanto, a funcionalidade obtida nestes processos muitas das vezes é perdida, pois levam a corrosão dos equipamentos e instabilidade nas propriedades funcionais do hidrolisado, além dos riscos durante a produção (SUZUKI, 2016).

Os processos enzimáticos diferem dessas desvantagens usando condições de processamento com menor temperatura e pressão e uma faixa de pH entre 5 e 8, que receberam mais atenção recentemente usando muitas espécies de peixes (TEJADA, 2012).

Verifica-se, por exemplo, que a hidrólise de pescado com enzimas proteolíticas, resulta em produtos com melhores propriedades funcionais quando comparado com hidrolisados de outras fontes (OLIVEIRA *et al.*, 2015). As propriedades físicas e químicas que controlam a funcionalidade das proteínas são tamanho, forma, composição e sequência de aminoácidos, carga líquida, distribuição das cargas e capacidade de reagir com outros componentes.

2.3. PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO PROTÉICO DE PESCADO

Segundo Cândido e Sgarbieri (2003), 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 e que a maioria das propriedades funcionais influenciam o caráter sensorial de um alimento, em especial a textura.

O processo de produção de hidrolisados de proteínas consiste em aumento ou diminuição da solubilidade de determinada proteína/aminoácido, aumento de propriedades emulsificantes entre outras características que podem ser manipuladas, além da característica de aproveitamento e melhoramento nutricional (SHAHIDI; HAN; SYNOWIECKI, 2015).

A seleção de enzimas, de acordo com Wilding, Lillford e Regentein (2015), é essencial para a preparação de atributos funcionais de hidrolisados de proteínas. Enzimas com pH ótimo de trabalho na faixa ácida, como a pepsina, foi preferida nos tempos anteriores, pois baixo pH poderia inibir o crescimento microbiano. Contudo, o ambiente com pH ácido também conduz a recuperações de baixa qualidade de proteína no produto final, baixos valores nutricionais a destruição dos aminoácidos essenciais, como por exemplo o triptofano e poucas funcionalidades devido ao excesso de hidrolisação. Assim sendo, enzimas com um pH de reação ideal próximo ao neutro, como alcalase, neutrase e flavourzyme, são usadas de forma mais ampla nos tempos atuais.

As enzimas utilizadas para o desenvolvimento de hidrolisados, apresentadas na Tabela 1, são de origem animal, microbiana e vegetal. Em comparação com enzimas de origem animal ou derivadas de plantas, as enzimas microbianas possuem várias vantagens, incluindo pouca variação de pH e temperatura. A partir de um ponto de vista técnico e econômico, enzimas microbianas, como a alcalase que opera a pH neutro tem sido mais eficiente na hidrolisação de proteínas de pescado com aspectos funcionais mais aceitos pelo mercado (TEJADA, 2012).

Tabela 1 - Relação entre Enzima, Origem e Especificidade:

Enzima	Origem	Especificidade
Alcalase	<i>Bacillus licheniformis</i>	Produção de Hidrolisado proteico, principalmente para aminoácidos hidrofóbicos.
Neutrase	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Hidrólise de proteínas de cadeia longa
Papaina	Frutas	Hidrólise de proteínas e algumas classes de lipídeos
α -Chymotrypsina	Pâncreas bovino	Hidrólise de lipídeos
Flavourzima	<i>Aspergillus oryzae</i>	Hidrólise de compostos proteicos

Fonte: Cheison (2009).

As propriedades funcionais de maior interesse para a indústria de alimentos são a solubilidade, a capacidade de retenção de água, a capacidade de emulsificação e de formação de espuma e ainda as propriedades sensoriais. Pela modificação das condições de reação enzimática das proteínas, é possível produzir hidrolisados com diferentes características funcionais (KRISTINSSON; RASCO, 2000b).

Segundo Cândido; Nogueira; Sgarbieri (1998), alguns dos fatores podem afetar a solubilidade das proteínas, tais como: pH, distribuição de cargas, força iônica ou concentração de sais, temperatura, tempo reação, concentração de material clivante e natureza do solvente.

O conhecimento da relação do grau de hidrólise com alguma característica funcional específica do hidrolisado, permite elaborar produtos com propriedades funcionais previamente definidas assim descritas por Shyni *et al.* (2014); Duan *et al* (2014); Rustad (2016).

A busca intensiva em desenvolver hidrolisados com características funcionais especiais, ou que sejam aceitas pelo consumidor, intensificam a necessidade de novos métodos que consigam adequar as propriedades funcionais com tempo, concentração de enzima e qual enzima a ser usada uma vez que estes fatores (tempo vs concentração de enzima) estão diretamente relacionados às características do Hidrolisado Proteico de Pescado. As propriedades Emulsificantes são importantes em muitas aplicações de hidrolisados proteicos em alimentos, comumente discutidas em termos de Solubilidade, Índice de Estabilidade de Emulsão (IEE) e Índice Atividade Emulsificante de Atividade (IAE) (PEARCE; KINSELLA, 2017).

O conhecimento das propriedades funcionais específicas dos hidrolisados tende a facilitar o direcionamento da sua aplicação, contribuindo para um melhor aproveitamento, resultando em produtos de maior qualidade tecnológica e nutricional (KRISTINSSON; RASCO, 2000a).

3 OBJETIVO

Desenvolver e caracterizar tecnologicamente o hidrolisado proteico de peixe a partir do processo de hidrólise enzimática de coprodutos do beneficiamento de peroá (*Balistes capriscus*).

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar a matéria-prima, coproduto (cabeça de peroá) quanto aos aspectos físicos e químicos;

Desenvolver Hidrolisado Proteico de Pescado a partir de coprodutos (cabeças) de peroás (*Balistes capriscus*) via hidrolise enzimática;

Caracterizar o produto obtido (Hidrolisado de Pescado) quanto a seus aspectos físico e químicos;

Avaliar o Grau de Hidrólise (GH) da matéria-prima e o do Hidrolisado Proteico de coproduto de peroá.

Avaliar as formulações de Hidrolisado de Pescado com Grau de Hidrólise (GH) maiores que 50% quanto às Propriedades Funcionais: Solubilidade, Índice de Estabilidade de Emulsão (IEE);

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. OBTENÇÃO E PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA

As cabeças de peroás (*Balistes capriscus*) foram doadas pela empresa *Fishes Brazil*, situada no município de Piúma/ES. As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo até o Laboratório de Alimentos do Instituto Federal do Espírito Santo *Campus* Piúma onde foram trituradas por um multiprocessador Becker GO (modelo Prab 200) em uma granulometria de 5mm. Após o processo de moagem, a matéria-prima foi acondicionada em sacos assépticos com 500g de amostra e devidamente identificadas e guardadas em freezer (MODELO Consul Facilite CV30)EB) à -20°C até o início dos testes.

4.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O processo de hidrólise enzimática de cabeça de peroá foi conduzido seguindo um planejamento fatorial com duas variáveis independentes – Tempo de processo (em minutos) e concentração de enzima (% p/v), composto por três partes, obtidos a partir do *software Statistic®*.

De acordo com Pearce e Kinsella (2017) o tempo de reação e concentração de enzima são fundamentais no desenvolvimento de hidrolisados proteicos, uma vez que estes fatores (tempo x concentração de enzima) estão diretamente relacionados às características do Hidrolisado Proteico de Pescado.

O processo foi dividido em ensaio fatorial, contendo quatro pontos (2^2); pontos axiais; análise do ponto central, com três pontos, obtém os seguintes valores resultantes para cada variável (Tempo e Enzima), onde x1 é igual o intervalo entre extremos de tempo e x2 correspondendo aos valores extremos de concentração de enzima, identificam-se os valores em pseudocomponentes e os pontos e formulações do processo estão definidos na Tabela 2.

Tabela 2 - Delineamento experimental do processo de hidrólise enzimática com tempo e concentração de enzima.

Variáveis codificadas		Tempo (min)	[] da enzima (%)	Formulação
X1	X2			
1,00000	1,00000	360	1,00	F-1
-1,00000	-1,00000	120	0,20	F-2
-1,00000	1,00000	120	1,00	F-3
-1,41421	0,00000	70	0,60	F-4
0,00000 (c)	0,00000 (c)	240	0,60	F-5
0,00000	1,41421	240	1,17	F-6
1,00000	-1,00000	360	0,20	F-7
1,41421	0,00000	410	0,60	F-8
0,00000 (c)	0,00000(c)	240	0,60	F-9
0,0000 (c)	0,00000 (c)	240	0,60	F-10
0,00000	-1,41421	240	0,03	F-11

NOTA: X1 = Tempo, X2 = Concentração de Enzima correspondentes a pseudocomponentes, C = central.

Determinou-se três formulações centrais (F5, F9 e F10), com tempo e concentração de enzimas iguais a fim minimizar os erros do experimento.

Segundo o delineamento experimental proposto na Tabela 2, foram elaboradas 11 formulações. Procedeu-se com as avaliações de Composição Centesimal, Grau de Hidrólise (GH) e Propriedades Funcionais e com os resultados e análise, elegeu-se a formulação com a melhor média obtida nos testes de Grau de Hidrólise (GH).

4.3. DESENVOLVIMENTO DO HIDROLIZADO PROTÉICO DE PESCADO

As cabeças de peroá trituradas (5.0 mm), congeladas em Freezer (MODELO Consul Facilite CVU30EB) à -20 °C, descongeladas em temperatura de resfriamento (5 ° C) em geladeira (MODELO Consul Resfree FSL46S) , homogeneizadas e encaminhadas para o Reator de vidro (MODELO MSM 502/5000/ESP) com capacidade de 5 kg encamisado e aquecido em banho-maria com regulagem por termostato.

Para o desenvolvimento das onze formulações de hidrolizado proteico de pescado, diluiu-se as cabeças de peroás em água destilada numa proporção

de 30% (p/v) e adição da enzima *Alcalase*® em proporção descrita na Tabela 2 e agitação constante. O tempo de reação variou entre 70 e 410 minutos. Durante o processo foram feitas aferições de pH e acompanhamento da temperatura, haja visto que a temperatura foi mantida entre 60 e 65°C. A conclusão do processo foi feita por inativação da enzima através de desnaturação térmica à 85°C por 30 minutos. Tais condições do processo foram estabelecidas de acordo com Dieterich *et al.* (2014).

Após o processo de hidrólise, o hidrolisado foi submetido ao processo de filtragem em peneira de *inox* (1.0 mm) para a retirada de osso e posterior cálculo de rendimento conforme Equação 1. Findadas as etapas, acima descritas, o mesmo foi submetido ao congelamento para as etapas subsequentes.

Equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Hidrolisado filtrado sem osso}}{\text{Hidrolisado com osso}} * 100$$

Amorim, Deschamps e Pessatti (2016).

4.4. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MATÉRIA-PRIMA E DO HIDROLISADO PROTÉICO DE COPRODUTO DE PEROÁ

Os testes de composição centesimal foram realizados para a Matéria-prima (coprodutos do beneficiamento de peroá), além das onze formulações estabelecidas de acordo com a Tabela 1. Tais testes consistiram, em análises de umidade (950.46), proteína (94025), lipídeos (960.39), cinzas (920.153), de acordo com os métodos oficiais da AOAC (2010). As análises foram realizadas em triplicata, sendo a média dos resultados expressas em g/100g de matéria úmida.

4.5. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE DA MATÉRIA-PRIMA E HIDROLISADO PROTÉICO DE COPRODUTO DE PEROÁ

A determinação do Grau de Hidrólise (GH) foi testado para a Matéria-prima e para as onze formulações de hidrolisado proteico de pescado desenvolvidas. Para tanto, utilizou-se o método sugerido por Church *et al.* (1983) e modificado por Nielsen *et al.* (2001), método conhecido pelo uso do OPA (o-ftaldeído). Este método baseia-se na reação de grupos amino primários com OPA, sendo esta monitorada a 340nm em espectrofotômetro (Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis), utilizando Serina como padrão.

4.6. AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO HIDROLISADO PROTÉICO DE COPRODUTO DE PEROÁ

Quanto às Propriedades Funcionais do Hidrolisado de Pescado, os testes foram realizados a partir das amostras que apresentaram Grau de hidrólise (GH) maior que 50%, visto que a viabilidade funcional de sua produção se dá para hidrolisados com mais de 45% de suas proteínas clivadas, seja ela por meio químico ou enzimático (KLOMKLAO; BENJAKUL, 2016).

4.6.1. Solubilidade

A solubilidade dos hidrolisados proteicos foi determinada de acordo com os métodos propostos por Lowry, Rosebrough e Farr (1951), utilizando a dispersão em água destilada com ajuste de pH e posterior centrifugação à 3000 rpm por 10 minutos em centrífuga (HERMLE - 78564 Wehingen - Germany). A solubilidade foi calculada de acordo com a Equação 2.

Equação 2.

$$\text{solubilidade (\%)} = \frac{\text{conteúdo de proteína no sobrenadante}}{\text{conteúdo total de proteína na amostra}} * 100$$

Lowry, Rosebrough e Farr (1951),

4.6.2. Atividade Emulsificante e Estabilidade de Emulsão

As propriedades emulsificantes do Hidrolisado Proteico de Pescado, sendo estas Índice de atividade emulsificante (IAE) e Índice de estabilidade da emulsão (IEE), foram determinadas de acordo com o método proposto por Pearce e Kinsella (2017), com leitura da solução diluída em espectrofotômetro a 500 nm, e cálculo através das equações 3 e 4 respectivamente:

Equação 3.

$$\text{IAE (m}^2/\text{g)} = \frac{(2 \times 2.303 \times 100 \times A)}{(c \times 0,25 \times 10000)}$$

Pearce e Kinsella (2017),

Sendo:

A = absorvância a 500 nm;

c = concentração de proteína (g/mL)

Equação 4.

$$\text{IEE (min)} = \frac{(A_0 \times 10)}{(A_0 - A_{10})}$$

Pearce e Kinsella (2017),

Sendo:

A₀ = absorvância inicial

A₁₀ = absorvância após 10 minutos.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICAS

Os dados analíticos foram analisados estatisticamente pelo *software Statistic®* (Statsoft, Tulsa, USA), fornecendo os valores das médias, desvio padrão, análise de variância (ANOVA), teste de comparação de médias (Teste de Tukey ao nível de 5 % de significância).

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas para a matéria-prima, coprodutos (cabeças) de peróá (*Balistes capriscus*) e das onze formulações desenvolvidas de hidrolisado proteico de pescado estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição físico-química da matéria-prima (MP)¹, coproduto (cabeças) de peróá (*Balistes capriscus*) e das onze formulações (F-n) de Hidrolisado Proteico de peróá.

Amostras	Análises			
	Umidade	Proteína	Lipídeo	Cinza
MP	78,26 ^{a3} ± 0,95	5,19 ^b ± 0,03	5,19 ^b ± 0,45	6,54 ^b ± 0,22
F-1	87,38 ^{ab} ± 1,01	6,65 ^a ± 0,04	6,15 ^a ± 0,91	2,88 ^a ± 0,86
F-2	87,07 ^{ab} ± 0,13	6,64 ^a ± 0,05	5,90 ^a ± 0,61	3,53 ^a ± 0,50
F-3	87,61 ^{ab} ± 0,13	6,67 ^a ± 0,06	5,52 ^a ± 0,13	4,11 ^a ± 0,50
F-4	87,78 ^b ± 0,07	6,61 ^a ± 0,08	6,47 ^a ± 1,21	3,82 ^a ± 1,22
F-5	87,43 ^{ab} ± 0,23	6,66 ^a ± 0,14	6,11 ^a ± 0,36	3,76 ^a ± 1,22
F-6	87,15 ^{ab} ± 0,07	6,71 ^a ± 0,13	6,04 ^a ± 0,91	4,16 ^a ± 0,26
F-7	87,36 ^{ab} ± 0,09	6,71 ^a ± 0,12	5,76 ^a ± 0,33	3,38 ^a ± 0,68
F-8	86,58 ^{ab} ± 0,32	6,70 ^a ± 0,08	6,12 ^a ± 0,97	3,39 ^a ± 0,13
F-9	87,36 ^{ab} ± 0,11	6,64 ^a ± 0,17	5,93 ^a ± 0,69	3,41 ^a ± 0,06
F-10	87,27 ^{ab} ± 0,22	6,62 ^a ± 0,08	4,99 ^a ± 0,66	3,74 ^a ± 0,47
F-11	88,02 ^b ± 0,16	6,74 ^a ± 0,13	6,04 ^a ± 0,68	4,13 ^a ± 0,82

¹Os resultados são valores médios de três determinações ± desvio padrão.

³Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

Os valores obtidos a partir das análises físico-químicas, em específico, proteína, lipídeo e cinza, não apresentaram diferença significativa estatisticamente à nível de 5% para as onze formulações de hidrolisado proteico. Foi observada diferença estatística apenas na composição de umidades nas amostras avaliadas, apresentando diferença somente nas formulações F-11 e F-4.

Observa-se que os valores de Lipídeos e Proteínas das onze formulações de hidrolisado proteico são maiores que os valores encontrados para a matéria-prima. Este fato se dá pela quebra de lipoproteínas que antes do processo de clivagem realizado por enzima proteolítica é contabilizado pelo método utilizado para a determinação de proteínas e lipídeos (LAHL; BRAUN, 2014), liberando assim maiores quantidades de bases nitrogenadas e extratos etérios.

Comparando a matéria-prima e os hidrolisados obtidos, foi possível observar um menor teor de cinzas nos hidrolisados desenvolvidos, o que ocorre devido a etapa de filtragem na elaboração do hidrolisado proteico, conforme descrito no item 5.3. Tal etapa é necessária, uma vez que os ossos residuais são constituintes indesejáveis, devido a dificultar a incorporação do hidrolisado em demais produtos.

Dentre as formulações estudadas, destacam-se as formulações F-4 e F-11, por apresentarem um nível de umidade mais elevado ($p < 0,05$). O que, provavelmente, pode ter influenciado o percentual de grau de hidrólise dessas amostras, que como será demonstrado mais a frente, estas estão dentre as que apresentaram um grau de hidrólise inferior a 45%.

De acordo com Schmidt e Salas-Mellado (2015) em seus estudos avaliando a hidrólise proteica enzimática, com Alcalase e Flavozyme, relataram a influência da água nas reações proteolíticas durante a hidrólise. Pescado com altos teores de umidade podem apresentar valores de grau de hidrólise (GH) maiores quando comparados com pescados com valores mais baixos de umidade, pois a água contida no pescado, de certa forma, potencializa o processo de hidrólise, tendo não somente 30% de água disponível para a reação.

Quanto a matéria prima, analisando a composição físico-químicas de peroá (*Balistes capriscus*) inteiro, Cavalli *et al.*, (2016) obtiveram em seus estudos valores médios de 78,5% de umidade; 1,4% de cinzas; 18,8% de proteína; 0,77% de lipídios. Esses valores diferem dos observados no presente estudo, principalmente quanto ao teor de cinzas, lipídeos e proteína. Uma vez que a matéria prima utilizada foi cabeças de peroá, por tanto, um maior teor de cinzas e conseqüentemente menor teor de proteínas já era esperado (GONÇALVES, 2011).

Trabalhando na produção e caracterização de hidrolisado de pescado, Ferreira (2009) utilizou resíduos de branquinha (*Potamorhina latior*) e acari-bodó (*Liposarcus pardalis*) encontrou resultados de composição centesimal semelhantes aos obtidos neste estudo. O autor apresenta em seus resultados valores de 84,10% de umidade, 13,14% de proteína, 1,65% de lipídeo e 1,10%

de cinzas. Tais diferenças, segundo Gonçalves (2011), são explicadas devido à origem do pescado utilizado, espécie, idade e período reprodutivo.

O processo de filtragem bem como a adição de água, descrito no item 5.3, também pode ter interferido no rendimento das formulações de hidrolisado de peroá desenvolvidos. Conhecer o rendimento do produto final é uma informação significativa para a indústria pesqueira para futuras análises de custos de produção. Os resultados do rendimento e o Grau de Hidrólise (GH) dos hidrolisados proteicos de peroá estão expressos na Tabela 4.

Tabela 4 - Rendimento e Grau de Hidrólise (GH) para a Matéria-prima (MP) e para as onze Formulações de Hidrolisado:

Amostra	Tempo (min)	Concentração de Enzima (%)	Rendimento (%)	GH (%)
MP			-	02,48
F-1	360	1,00	79,55	70,00
F-2	120	0,20	75,22	42,26
F-3	120	1,00	77,97	42,36
F-4	70	0,60	82,74	46,68
F-5	240	0,60	79,58	55,64
F-6	240	1,17	83,21	55,88
F-7	360	0,20	78,42	50,70
F-8	410	0,60	79,07	61,44
F-9	240	0,60	80,80	56,00
F-10	240	0,60	81,75	55,92
F-11	240	0,03	73,03	30,45

Para testes de GH nas amostras de matéria-prima obteve-se o valor de 2,48%, conforme observado na Tabela 4. De acordo com Gonçalves (2011), este valor refere-se ao processo de autólise do pescado, processo natural, onde há a ação de enzimas proteolíticas da biota intestinal. Uma vez que todo o tecido animal, por sua natureza, possui enzimas proteolíticas, sejam elas de origem intrínseca ou extrínsecas, principalmente, por fontes bacterianas que já a partir de seu abate, iniciam-se as reações de hidrólise (BEERLI; BEERLI; LOGATO, 2004).

Em relação ao GH dos hidrolisados proteicos desenvolvidos observou-se que a maior parte das formulações apresentaram GH acima de 45%. O teor de lipídeos presente na matéria prima pode ter influenciado esses resultados. Conforme descrito na Tabela 3, a matéria-prima utilizada (cabeças de peroá)

apresentou um teor de lipídeo (5,19%) considerado característico de peixe semi-magro (BRESSAN 2001). Segundo Schmidt e Salas-Mellado (2015), pescado com alto teor de lipídeos, quando submetidos a processos de hidrólise, apresentam baixos níveis de GH quando comparados com pescados caracterizados como magros, devido a gerar complexos lipoproteicos resistentes à ação enzimática. Por tanto, pode se inferir que as cabeças de peróá apresentam grande potencial para produção de hidrolisados proteicos, devido à sua baixa concentração de lipídeos e alto teor de umidade sendo físico-quimicamente viável sua produção.

Valores de grau de hidrólise semelhantes ao observados no presente trabalho, em específico na formulação F-1, foram encontrados em hidrolisados proteicos desenvolvidos também com a Alcalase a partir de cabeças e vísceras de sardinha (*Sardinella aurita*) (86,4%) (BOUGATEF et al., 2010) e de músculo de salmão (*Salmo salar*) (78,5%) (KRISTINSSON; RASCO, 2000a).

Amorim, Deschamps e Pessatti (2016), avaliando o GH na otimização e caracterização de hidrolisado de corvina (*Micropogonias furnieri*), encontraram a relação ótima entre enzima (pepsina) e substrato (matéria-prima) de 0,4% (p/v) com tempo de reação de 90 minutos a uma temperatura de 55°C e obtiveram GH de 78,6% em tais condições, valor próximo ao obtido no presente estudo (70%) nas condições de reação de 360 minutos e 1% de enzima (Tabela 4), no entanto, utilizando a enzima proteolítica Alcalase.

Visando avaliar a interação entre as variáveis pesquisadas (tempo de reação e concentração de enzima) e o percentual de GH, os resultados obtidos foram analisados pela metodologia de superfície de resposta através do *software Statistic®*. Os gráficos de superfície de resposta obtidos são apresentados nas Figuras 2 e 3.

O gráfico de Pareto obtido (Figura 1) mostra que os fatores Tempo (min) e Concentração da enzima (%), bem como a interação entre eles, apresentaram um efeito significativo ($p < 0,05$) no parâmetro grau de hidrólise (%), representado pelas barras que estão à direita da linha divisória. Apenas o fator Tempo (no modelo quadrático) não apresentou efeito significativo.

Gráfico de Pareto; Variável: Grau de Hidrólise (%)
 2 fatores, 1 bloco: 11 formulações; Erro Puro=0,357333
 DV: Grau de Hidrólise

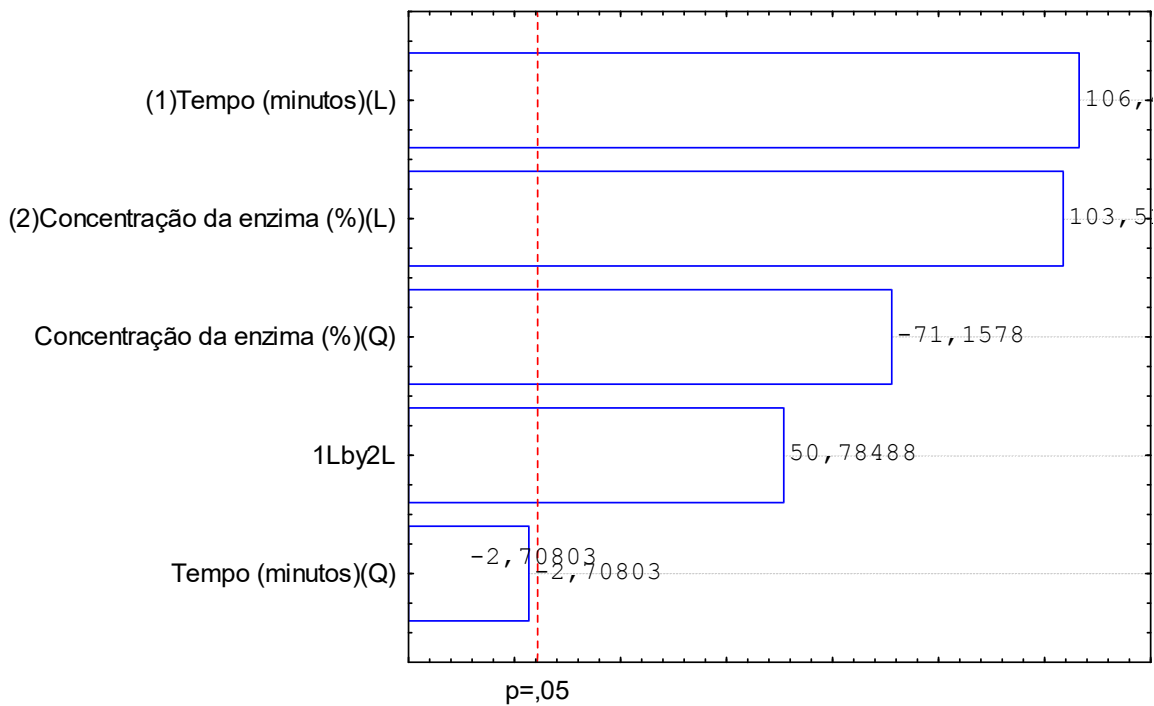


Figura 1. Gráfico de Pareto para a variável Grau de Hidrólise.

Superfície de Resposta; Variável: Grau de Hidrólise (%)
 2 fatores, 1 bloco: 11 formulações; Erro Puro=0,357333
 DV: Grau de Hidrólise

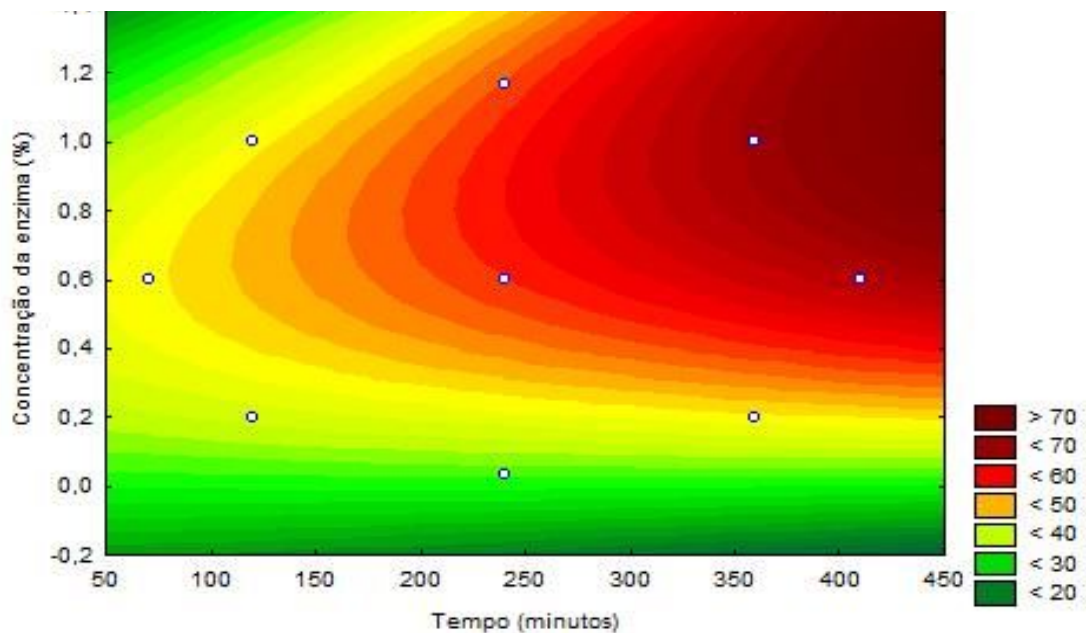


Figura 2. Gráfico para a variável Grau de Hidrólise em dois eixos

Superfície de Resposta; Variável: Grau de Hidrólise (%)
 2 fatores, 1 bloco: 11 formulações; Erro Puro=0,357333
 DV: Grau de Hidrólise

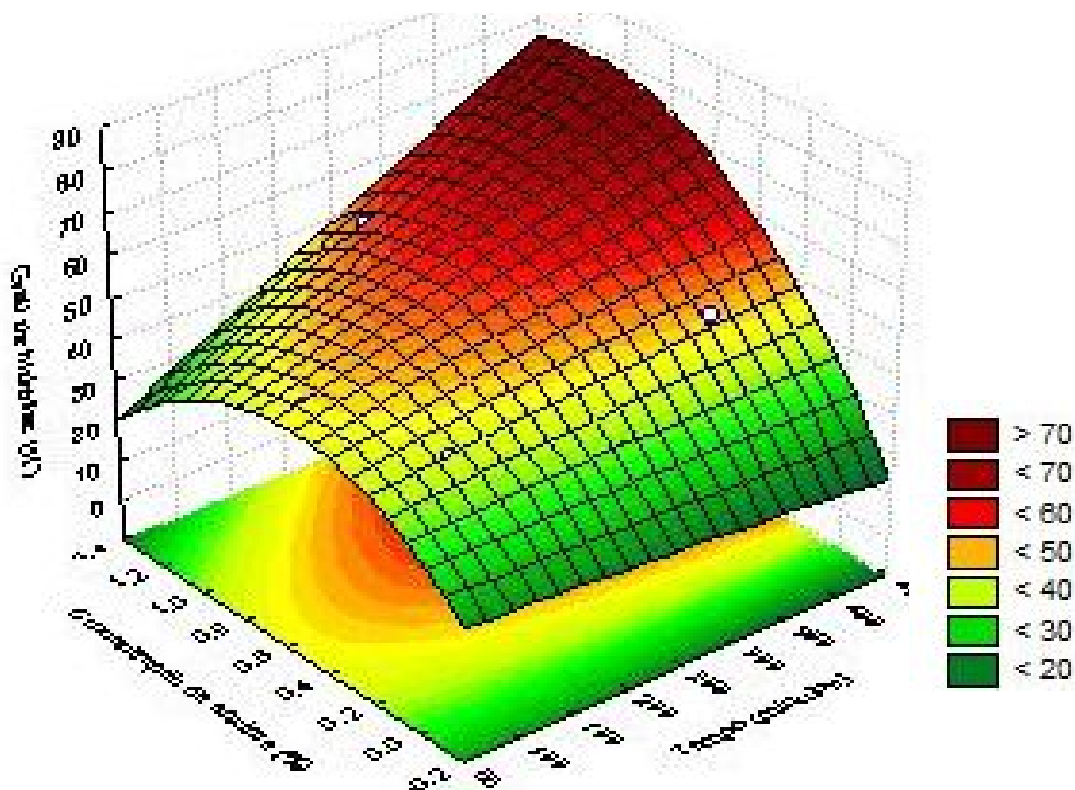


Figura 3. Gráfico para a variável Grau de Hidrólise em três eixos

O coeficiente R^2 foi 93,2% indicando, segundo Quinino (2012), que não há falta de ajuste ao modelo quadrático. O modelo proposto para r na curva Grau de Hidrólise apresentado na equação 5.

Equação 5.

$$\text{Grau de hidrólise (\%)} = 32,04 + 0,01x - 0,00001X^2 + 35,75y - 35 + 39y^2 + 0,01xy$$

A partir da curva apresentada na Equação 5, pode-se determinar valores de variáveis dependentes (grau de hidrólise) quando determinado valores de variáveis independente (tempo e concentração de enzima), possibilitando a

simulação de possíveis resultados de grau de hidrólise, ou seja, para uma suposta formulação com 300 minutos de tempo de duração de reação e 0,8% de concentração de enzima, segundo a Equação 5, obtêm-se um valor de grau de hidrólise de 60,02%.

Os fatores Tempo (min) e Concentração da enzima (%), bem como a interação entre eles, apresentaram um efeito significativo ($p < 0,05$) no parâmetro Grau de Hidrólise (%), demonstrado pela curvatura observada no gráfico de três eixos (Figura 3), confirmando que a interação entre os fatores é significativa.

A cor vermelha nos gráficos (Figura 2 e 3) mostram a região em que se alcança o maior grau de hidrólise, assim verifica-se que é possível obter o mesmo percentual de GH com menores valores de tempo e concentração de enzima, tornando o processo mais econômico o que pode sugerir que em novos estudos sejam avaliados outros parâmetros, como o perfil de aminoácidos, a fim de buscar a otimização do processo.

Os resultados referentes aos parâmetros funcionais de Solubilidade, Índice de Atividade Emulsificante (IAE) e Índice de Estabilidade de Emulsão (IEE) das formulações de hidrolisado que apresentaram um Grau de Hidrólise (GH) maior que 50%, são apresentados pela Tabela 5.

Tabela 5 – Resultado⁴ de Índice de Atividade Emulsificante e Estabilidade da Emulsão referente às Formulações de Hidrolisado Protéico de Coprodutos (cabeças) de peróá (*Balistes capriscus*) com Grau de Hidrólise maior que 50%.

Amostras	Solubilidade ¹	IAE ²	IEE ³
F-1	0,504 ^{bc5} ± 0,001	0,03 ^a ± 0,005	14,31 ^a ± 0,01
F-5	0,65 ^a ± 0,034	0,04 ^a ± 0,005	11,87 ^{cd} ± 0,05
F-6	0,46 ^d ± 0,001	0,03 ^a ± 0,006	11,10 ^{de} ± 0,63
F-7	0,52 ^b ± 0,001	0,04 ^a ± 0,004	14,43 ^a ± 0,11
F-8	0,33 ^e ± 0,002	0,04 ^a ± 0,001	12,35 ^{bc} ± 0,11
F-9	0,47 ^{cd} ± 0,005	0,04 ^a ± 0,002	12,98 ^b ± 0,01
F-10	0,33 ^e ± 0,001	0,03 ^a ± 0,005	11,11 ^e ± 0,05

¹Expresso em partes por cem;

²Índice de Atividade Emulsificante (IAE) Expresso em (m².g⁻¹);

³Índice de Estabilidade de Emulsão (IEE) Expresso em minutos;

⁴Os resultados são valores médios de três determinações ± desvio padrão.

⁵Médias seguidas de letras minúsculas distintas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

A partir dos dados apresentados na Tabela 5, identifica-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de Índice de Estabilidade de Emulsão (IEE) para as formulações de hidrolisado de coproduto de peróá sendo as formulações F-1 (14,31) e F-7 (14,43), as que apresentaram maiores valores de IEE, diferenciando estatisticamente das demais formulações testadas.

Analisado os resultados do parâmetro Solubilidade, a formulação F5 (0,65) apresentou maior índice ($p < 0,05$), no entanto as formulações F8 e F10 foram as que obtiveram menores ($p < 0,05$) índices de Solubilidade. Pearce e Kinsella (2017), verificando as propriedades das proteínas e suas características em hidrolisados proteicos afirmam que baixos níveis de Solubilidade podem estar associados ao fato das proteínas terem sido pouco clivadas.

De acordo com Wilding, Lillford e Regenstein, (2015), para a indústria de alimentos, as propriedades funcionais de maior interesse são Solubilidade (S), Índice de Atividade de Emulsificação (IAE) e Índice de Estabilidade de Emulsão (IEE). Esses autores citam que é possível produzir hidrolisado com diferentes características funcionais: estando diretamente dependente de sua formulação e insumos, onde os valores máximo e mínimo, respectivamente, aceitáveis para a indústria de alimento para S é de 3,74 e 0,23%, para o IAE é de 0,82 $m^2 \cdot g^{-1}$ e 0,01 $m^2 \cdot g^{-1}$, para o IEE 25,2 % e 3 %.

Assim, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 5, pode-se inferir que o desenvolvimento de hidrolisado proteico elaborado a partir de coprodutos de peróá (*Balistes capriscus*) via hidrólise enzimática por meio da Alcalase é viável quanto aos aspectos de propriedade funcional. Sendo as formulações F5 (S de 0,65; IEE de 11,87); F7 (S de 0,52; IEE de 14,43) e F1 (S de 0,504; IEE de 14,31) consideradas as melhores por apresentarem maiores índices ($p < 0,05$) de Solubilidade e Índice de Estabilidade de Emulsão, uma vez que o resultado do Índice de Atividade de Emulsificação não diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) entre as formulações avaliadas.

6 CONCLUSÃO

A partir do exposto, conclui-se que os coprodutos de peroá (*Balistes capriscus*) tem grande potencial para serem utilizados como matéria-prima para a produção de Hidrolisado Protéico de Peixe (FPH) por apresentar baixa concentração de lipídeos e alto teor de umidade sendo físico-quimicamente viável sua produção, bem como quanto às propriedades funcionais, sendo as formulações F5, F7 e F1 consideradas as melhores por apresentarem maiores índices ($p < 0,05$) de Solubilidade e Índice de Estabilidade de Emulsão.

E ainda, através da análise de Superfície de Resposta, demonstrou-se que é possível obter o mesmo percentual de grau de hidrólise com menores valores de tempo e concentração de enzima, tornando o processo mais econômico. Portanto, a técnica de Hidrólise enzimática aplicada a coprodutos de peroá (*Balistes capriscus*) pode ser apresentada como uma alternativa tecnológica, ou seja, desenvolver um produto que pode proporcionar um melhor aproveitamento do pescado, pelas indústrias da região.

7 REFERÊNCIAS

AMORIM, Ricardo Gaya Oliveira de; DESCHAMPS, Francisco Carlos; PESSATTI, Marcos Luiz. Protein hydrolysate waste of whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*) as a way of adding value to fish and reducing the environmental liabilities of the fishing industry. **Latin American Journal Of Aquatic Research**, [s.l.], v. 44, n. 5, p.967-974, 10 nov. 2016. Pontificia Universidad Catolica de Valparaiso. <http://dx.doi.org/10.3856/vol44-issue5-fulltext-9>.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of aoac international. 18. Ed. Revision 3. Gaithersburg, 2010

BARROSO-SOTO, Ithandehui. et al. Age and Growth of the Finescale Triggerfish, *Balistes capriscus* (Teleostei: Balistidae), on the Coast of Mazatlán, Sinaloa, Mexico. **Pacific Science**, [s.l.], v. 61, n. 1, p.121-127, 2017. Johns Hopkins University Press. <http://dx.doi.org/10.1353/psc.2007.0002>.

BEERLI, Eduardo Lopes; BEERLI, Karla Michalsky Carvalho; LOGATO, Priscila Vieira Rosa. Silagem ácida de resíduos de truta (*Oncorhynchus mykiss*), com a utilização de ácido muriático. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.195-198, fev. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-70542004000100026>.

BOUGATEF, A.; NEDJAR-ARROUME, N.; MANNI, L.; RAVALLEC, R.; BARKIA, A.; GUILLOCHON, D.; NASRI, M. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. **Food Chemistry**, v.118, n.3, p.559-565, 2010.

BRESSAN, M.C.; PERES, J.R, O. Tecnologia de carnes e pescado. Lavras, UFLA/FAEPE, p. 84-93. 2001

CÂNDIDO, L. M. B.; NOGUEIRA, A. K.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais de concentrados protéicos de pescado preparados por vários métodos. **Brazilian Journal of Food Technology**. 1(1,2): 77- 89, 1998.

CÂNDIDO, L. M. B.; SGARBIERI, V. C. Enzymatic hydrolysis of Nile tilapia (*Oreochromus niloticus*) myofibrillar proteins: effects on nutritional and hydrophilic properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 83, p. 937, 2003.

CAVALLI, L.s. et al. Fish *Balistes capriscus* skin extract-induced relaxation in mesenteric arterial bed of rat. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 88, n. 2-3, p.215-220, out. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741\(03\)00225-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741(03)00225-3).

CHEISON, Seronei Chelulei et al. Comparison of a modified spectrophotometric and the pH-stat methods for determination of the degree of hydrolysis of whey proteins hydrolysed in a tangential-flow filter membrane reactor. **Food Research**

International, [s.l.], v. 42, n. 1, p.91-97, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2008.09.003>.

CHURCH, Frank C. et al. Spectrophotometric Assay Using o-Phthaldialdehyde for Determination of Proteolysis in Milk and Isolated Milk Proteins. **Journal Of Dairy Science**, [s.l.], v. 66, n. 6, p.1219-1227, jun. 1983. American Dairy Science Association. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(83\)81926-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(83)81926-2).

DIETERICH, F; BOSCOLO, W. R; PACHECO, M. T. B; SILVA, V. S. N; GONÇALVES, G. S; VIDOTTI, R. M. Development and Characterization of Protein Hydrolysates Originated from Animal Agro Industrial Byproducts. **Journal of Dairy Veterinary & Animal Research**, v.1, n.2, p.1-7, 2014.

DINIZ, F. M.; MARTIN, A. M. Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) muscle. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 31, p.419, 2016.

DUAN, Zhen-hua et al. Recovery of Proteins From Silver Carp by-products with Enzymatic Hydrolysis and Reduction of Bitterness in Hydrolysate. **Journal Of Food Process Engineering**, [s.l.], p.962-978, set. 2014. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00318.x>.

FAO – Food and Agricultural Organization of the United Nations. The state of world fisheries and aquaculture 2016 (SOFIA). Rome: FAO, 2016. 180p.

FERREIRA., Maria da Glória Almeida Bandeira. Caracterização microbiológica, físico-química e sensorial de hidrolisado biológico em peixes da amazônia (*Potamorhina latior* e *Liposarcus pardalis*). 2009. 129 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Inpa, Manaus, Amazonas, 202.

FURLONG, E.B.; BASTOS, A.L.; BAISCH, A. L.M. Caracterização química de pescados empregados para tratamento de Asma brônquica na Região Sul do Rio Grande do Sul. *Ciências Agrárias*, v.27, n.3, p.415-422, 2014.

GONÇALVES, A. A. Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação. São Paulo : Atheneu, 2011.

HAIMOVICI, Manuel; MARTINS, Agnaldo Silva; FIGUEIREDO, José Lima de. Demersal bony fish of the outer shelf and upper slope of the southern Brazil Subtropical Convergence Ecosystem. **Marine Ecology**, Rio Grande, Rio Grande do Sul, v. 108, n. 8, p.59-77, maio 2016.

KLOMKLAO, S.; BENJAKUL, S.. Utilization of Tuna Processing Byproducts: Protein Hydrolysate from Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*) Viscera. **Journal Of Food Processing And Preservation**, [s.l.], v. 41, n. 3, p.567-572, 17 jun. 2016. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.12970>.

KRISTINSSON, Hordur G.; RASCO, Barbara A.. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.43-81, jan. 2000a. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690091189266>.

KRISTINSSON, Hordur G; A RASCO, Barbara. Kinetics of the hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins by alkaline proteases and a visceral serine protease mixture. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 36, n. 1-2, p.131-139, set. 2000b. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0032-9592\(00\)00195-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0032-9592(00)00195-3).

LAHL, W.J.; BRAUN, S.D.; Enzymatic Production of Protein Hydrolysates for Food Use. *Food Technology*, 48 (10): 68, 2014.

LOWRY, O.H., N.J. ROSENBROUGH & A.L. FARR. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.

NEVES, R.a.m.; MIRA, N.v.m. de; MARQUEZ, U.m. Lanfer. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 24, n. 1, p.101-108, mar. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612004000100019>.

NIELSEN P. M; PETERSEN D; DAMBMANN C. Improved Method for Determining Food Protein Degree of Hydrolisis. *J Food Sci*. 2001.

PETERSEN D; DAMBMANN C. Improved Method for Determining Food Protein Degree of Hydrolisis. **J Food Sci**. 2001 Jun. 642-646.

OETTERER, Marília. Produção de silagem a partir da biomassa residual de pescado. **Alimentos e Nutrição**, Piracicaba, São Paulo, v. 5, n. 1, p.119-134, jun. 2009.

OLIVEIRA, Mari Silvia Rodrigues de et al. Utilização de enzimas proteolíticas para produção de hidrolisados proteicos. **Brazilian Journal Of Food Technology**, [s.l.], v. 18, n. 3, p.199-210, set. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.4414>.

PEARCE, KEVIN N. ; KINSELLA, JOHN E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 05/2017, Vol.26(3), pp.716-723

QUININO, Roberto C.. **O Coeficiente de Determinação R2 como Instrumento para Avaliar a Utilidade de um Modelo de Regressão Linear Múltipla**. 2012. 147 f. Tese (Doutorado) - Curso de Estatística, Departamento de Estatística – Ice – Uff, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Mg, 2012.

ROBERTSON, D. Ross. Extreme Variation in Settlement of the Caribbean Triggerfish *Balistes vetula* in Panama. **Copeia**, [s.l.], v. 1988, n. 3, p.698-705, 3 ago. 1988. JSTOR. <http://dx.doi.org/10.2307/1445390>.

RUSTAD, Turud. Utilisation of marine by-products. **Ejeafche**, Trondheim, Norway, v. 14, n. 2, p.458-463, mar. 2016. [Http://dx.doi.org/10.1450/s0101-208346438700100019](http://dx.doi.org/10.1450/s0101-208346438700100019).

SCHMIDT, Cristiano Gautério; SALAS-MELLADO, Myriam. Influência da ação das enzimas alcalase e flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 5, p.1144-1150, set. 2015. RI FURG. <http://dx.doi.org/10.1534590/346981-4623.44563>.

SGARBIERI, V. C. Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, Degradações, Modificações; Ed.Varela, 2009.

SHAHIDI, Fereidoon; HAN, Xiao-qing; SYNOWIECKI, Jozef. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). **Food Chemistry**, [s.l.], v. 53, n. 3, p.285-293, jan. 2015. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)93934-j](http://dx.doi.org/10.1016/0308-8146(95)93934-j).

SHYNI, K. et al. Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 39, p.68-76, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.008>.NIELSEN P. M;

SUZUKI, T. Tecnologia de las Proteínas de Pescados y Krill; Zaragoza. Ed. Acribia, 2016.

TEJADA, M. Tratamiento de residuos sólidos de la industria transformadora del pescado. Alimentación, Equipos y Tecnología, 2012.

WILDING, Peter; LILLFORD, Peter J.; REGENSTEIN, Joe M.. Functional properties of proteins in foods. **Journal Of Chemical Technology And Biotechnology. Biotechnology**, [s.l.], v. 34, n. 3, p.182-189, 16 abr. 2015. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.280340307>.