



PROPRIEDADES TECNO-FUNCIONAIS DE HIDROLISADO PROTEICO DO SUBPRODUTO DO BENEFICIAMENTO DA PALOMETETA (*SERRASALMUS SPILOPLEURA*)

*Techno-functional properties of protein hydrolysate from by-product of the processing of palomette (*Serrasalmus spilopleura*)*

Josiane A. de FREITAS¹, João Pedro da S. CUNHA², Veronica B. RIBAS³, Valcenir Júnior M. FURLAN⁴, Graciela S. CENTENARO⁵

RESUMO: O presente trabalho teve por objetivo produzir um hidrolisado proteico a partir dos subprodutos do processamento de palometeta (*Serrasalmus spilopleura*) utilizando a enzima Alcalase, bem como realizar a caracterização físico-química e avaliar as propriedades tecno-funcionais do hidrolisado produzido. Os subprodutos utilizados foram cabeça, pele e espinhas. Em relação à caracterização físico-química e a avaliação das propriedades tecno-funcionais do hidrolisado, o grau de hidrólise (GH) foi 17,10% e o conteúdo proteico 59,82±0,86%. O hidrolisado apresentou ainda elevada solubilidade em diferentes pHs (entre 68,51±0,51 e 90,09±0,97%), capacidade de retenção de água máxima (5,0±0,26 e 5,03±0,06%) em pH 5,0 e 7,0 respectivamente, capacidade de formação de espuma de 8,16%, com estabilidade de espuma de 85±1,0% após 60 min. Além disso, a capacidade de formar emulsão foi baixa e o teor de brancura (W) do hidrolisado proteico de palometeta foi de 84,04±0,32%. Os resultados demonstram que o hidrolisado proveniente do subproduto do beneficiamento da palometeta produzido neste estudo, apresentou boas propriedades de solubilidade e de formação de espuma, além de características físico-químicas favoráveis, indicando possível uso em diferentes formulações alimentícias.

Palavras-chave: Alcalase. Características funcionais. Hidrólise enzimática. Pescado.

ABSTRACT: The present work aimed to produce a protein hydrolysate from the by-products of palometette (*Serrasalmus spilopleura*) processing using the enzyme Alcalase, as well as to carry out the physical-chemical characterization and to evaluate the techno-functional properties of the hydrolysate produced. The by-products used were head, skin and bones. Regarding the physical-chemical characterization and the evaluation of the techno-functional properties of the hydrolysate, the degree of hydrolysis (GH) was 17.10% and the protein content 59.82±0.86%. The hydrolysate also showed high solubility at different pHs (between 68.51±0.55 and 90.09±0.97%), maximum water retention capacity (5.0±0.26 e 5.03±0.06%) at pH 5.0 and 7.0 respectively, foaming capacity of 8.16 %, with foam stability of 85±1.0% after 60 min. In addition, the capacity to form an emulsion was low and the whiteness (W) of the palometette protein hydrolysate was 84.04±0.32%. The results demonstrate that the hydrolysate from the by-product of the processing of the palometette produced in this study, presented good solubility and foaming properties, in addition to favorable physical-chemical characteristics, indicating possible use in different food formulations.

Key words: Alcalase. Functional characteristics. Enzymatic hydrolysis. Fish

* Autor para correspondência

Recebido para publicação em 20/04/2021, aprovado em 05/06/2021

¹ Discente do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal do Pampa, josianeaimon@gmail.com

² Discente do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa, joaopedrocunhalr@gmail.com

³ Discente do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Pampa, veronicaribas.aluno@unipampa.edu.br

⁴ Docente, Universidade Federal do Pampa, valcenirfurlan@unipampa.edu.br

⁵ Docente, Universidade Federal do Pampa, Itaquí-RS, gracielaacentenaro@unipampa.edu.br*

INTRODUÇÃO

A fabricação de produtos a partir do pescado ainda é pouco difundida, havendo poucas fábricas e entrepostos de beneficiamento que produzam derivados da pesca em larga escala. Os produtos de pescados possuem alto valor nutritivo, constituindo excelentes fontes de proteínas, sais minerais, ácidos graxos da série ômega 3 e vitaminas do complexo B. Para prolongar a vida útil do pescado, podem ser empregadas várias técnicas de processamento que além de retardar a oxidação, mantendo a qualidade da carne de peixe, agregam valor ao produto final (AMARAL et al., 2017).

As atividades relacionadas à indústria pesqueira geram quantidades substanciais de subprodutos, que muitas vezes são descartados ou usados como ingredientes de baixo valor na alimentação animal. No entanto, estes subprodutos são uma boa fonte proteica com propriedades que podem ser isoladas ou concentradas, conferindo valor agregado e possibilitando a obtenção de novos produtos com características nutricionais e funcionais aprimoradas (AL KHAWLI et al., 2019). Além da captura acidental, os subprodutos da pesca e da aquicultura incluem barbatanas, espinha dorsal, brânquias, cabeças, barriga, fígado, ovas, pele, vísceras, entre outros (VÁZQUEZ et al., 2019). Na indústria de pescado, os subprodutos são normalmente aproveitados para produzir farinha de peixe, que posteriormente é incorporada em ração animal. Porém, não é um produto que represente grandes retornos econômicos, devido a seus ingredientes serem reconhecidos como recursos de baixo valor, o que tem levado as empresas a avaliar outras potencialidades dos subprodutos para torná-los mais viáveis economicamente (SALGADO et al., 2015) ou convertê-los em novos produtos com elevada funcionalidade como os hidrolisados de proteína de pescado (PRIHANTO et al., 2019).

Os subprodutos da pesca representam quase metade da matéria-prima na indústria de processamento de pescado e são descartados sem interesse de recuperação ou são utilizados na produção de farinha (CHANG-BUM et al., 2012). Conforme Maia (2015), eles podem ser utilizados em outros setores além da alimentação animal, como na produção de fertilizantes, fabricação de roupas, acessórios, entre outros artefatos e também na produção de alimentos para consumo humano, como na fabricação de polpa para elaboração de empanados, extração do colágeno presente nas escamas e na pele, na produção de carne mecanicamente processada e ainda na indústria farmacêutica (MAIA, 2015).

Segundo o estudo de De Castro et al. (2018), nos últimos anos observou-se a diminuição da produção de pescados e aumento nos esforços do setor da pesca para a manter a produção. Em função disso, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas a fim de possibilitar a transformação desse material subutilizado em produtos mais vantajosos em relação à composição nutricional e a viabilidade econômica, a exemplo dos hidrolisados proteicos. Estudos relataram que durante a elaboração de alimentos à base de pescado, gera-se uma significativa quantidade de resíduos sólidos devido ao beneficiamento do peixe. Assim, para minimizar o impacto ambiental causado, vem sendo proposto o uso desse material na produção do hidrolisado proteico de pescado (GOI et al., 2018), por exemplo.

A palometa (*Serrasalmus spilopleura*) é uma espécie encontrada em grandes cardumes na região oeste do Rio Grande do Sul e, embora seja considerada uma espécie magra, é pouco consumida pela população, sendo também de difícil

filetagem devido a sua estrutura corporal. Seu rendimento pode ser considerado baixo e apresenta menor valor comercial frente a outras espécies (CAMARGO et al., 2013).

Como alternativa de aproveitamento da espécie, o processo de hidrólise enzimática pode ser considerado eficiente, pois possibilita recuperar as proteínas a partir dos subprodutos de pescado (CHANG-BUM et al., 2012). Essas proteínas são passíveis de maior valorização como, por exemplo, na produção de hidrolisados proteicos. Estes produtos são preparados a partir de hidrólise enzimática das proteínas, utilizando enzimas de origem animal (mamíferos, peixes), vegetal (papaia, figo, ananás) ou microbiana (diferentes estirpes como *Bacillus amyloliquefaciens*). Para evitar a ação de enzimas endógenas do pescado e garantir assim uma maior repetibilidade do processo enzimático, realiza-se a inativação destas enzimas através do aquecimento prévio da matéria-prima (BATISTA et al., 2014). As enzimas mais comumente empregadas nesse processo são as proteases, relatadas como eficientes para a hidrólise de proteínas de pescado (OLIVEIRA et al., 2015). Os métodos biológicos que utilizam adição de enzimas para obtenção de hidrolisados proteicos são mais promissores quando se desejam produtos com alta funcionalidade e valor nutritivo, possibilitando o seu uso como componente ativo em alimentos.

Esses hidrolisados proteicos têm sido empregados na área alimentar em virtude da sua elevada solubilidade em soluções aquosas numa larga gama de pH e de força iônica. Diversos produtos da pesca (polpas de pescado, empanados) podem ser adicionados de hidrolisados visando o aumento da eficiência da capacidade de retenção da água, seja em produtos congelados ou durante o cozimento, podendo substituir os fosfatos. Também tem sido discutida a possibilidade de utilização como ingrediente para estabilizar emulsões (BATISTA et al., 2014). Cabe ressaltar que o hidrolisado deve apresentar boas propriedades funcionais para ser usado de maneira bem sucedida em alimentos, pois a funcionalidade das proteínas hidrolisadas é influenciada pelo tamanho e propriedades químicas das mesmas. Assim, para produzir um hidrolisado com melhores propriedades é necessário controlar o grau de hidrólise da reação e a especificidade da enzima utilizada (ZAPATA; CASTAÑEDA, 2017).

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

MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de palometa (*Serrasalmus spilopleura*) utilizados na produção dos hidrolisados, foram capturados na Barragem Sanchuri, localizada no 5º distrito do município de Uruguaiana-RS.

Após a captura, o pescado foi lavado com solução de hipoclorito de sódio na concentração de 5 ppm sob agitação manual por 2 min. Realizou-se a evisceração seguida da filetagem da palometa. Os subprodutos (cabeça, pele e espinhas) foram triturados em moedor de carne (G. Paniz, MCR 10) a fim de se obter um substrato homogêneo.

A reação foi realizada em um reator de vidro encamisado contendo a mistura preparada com solução tampão 0,1 M (MORITA; ASSUMPÇÃO, 1976) na proporção

substrato/solução tampão de 1:3 (m/v) e mantida sob agitação mecânica (Fisatom, 711S) a 430 rpm em temperatura de 60 °C e pH 8,0. A seguir, a hidrólise enzimática foi conduzida empregando-se a enzima Alcalase® 2,4 L com concentração de 1,0% (m/m, enzima/substrato).

A reação de hidrólise foi encerrada após 120 min, com a inativação da enzima através de aquecimento da mistura a 85 °C por 15 min, seguida por resfriamento até temperatura ambiente. O resíduo foi separado da fração solúvel hidrolisada através de centrifugação a 3500 rpm por 20 min em centrífuga (Quimis, Q222TM216). O hidrolisado foi liofilizado (Liobras, L101) e acondicionado em recipiente hermético sob congelamento a -18 °C. A medida do GH foi realizada ao longo da reação a partir de amostras coletadas nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 min, conforme descrito por Schmidt e Sallas-Mellado (2009). O GH foi expresso como a relação entre as proteínas solubilizadas e as proteínas totais presentes no substrato inicial, quantificadas pelo método de Kjeldhal (N x 6,25) de acordo com a Eq. 1.

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

Determinou-se os teores de proteína no subproduto e no hidrolisado pelo método de Kjeldahl (N x 6,25), cinzas por método gravimétrico em mufla a 550-600 °C e umidade por método gravimétrico em estufa a 105 °C, conforme metodologia oficial da AOAC (2010). Os lipídios foram determinados por Soxhlet (AOAC, 2010) e Bligh e Dyer (BLIGH; DYER, 1959) no subproduto e no hidrolisado, respectivamente. Todos os valores foram obtidos em triplicata.

Realizou-se ainda a análise do pH do hidrolisado (BRASIL, 2017) com auxílio de um potenciômetro de bancada (Lutron, pH-221). Foram avaliadas as propriedades de solubilidade, capacidade de retenção de água, capacidade de formação de espuma e capacidade emulsificante no hidrolisado, bem como a avaliação da cor do produto.

A solubilidade foi determinada de acordo com o método descrito por Morr et al. (1985) com variação no pH em 3, 5, 7 e 8. Os teores de proteína total e proteína solúvel no sobrenadante foram determinados pelo método de Kjeldahl (N x 6,25) e Lowry et al. (1951), respectivamente. A solubilidade da proteína foi calculada como a relação entre a proteína no sobrenadante e a proteína total x 100, conforme a Eq. 2, onde A é a concentração de proteína no sobrenadante (mg/mL), W é o peso da amostra (mg) e P é a quantidade de proteína total.

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

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

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

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

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

A capacidade de formação de espuma (CFE) foi medida de acordo com uma metodologia combinada, por Phillips et al., (1987) e Dipack e Kumar (1986). Uma dispersão de 3 g de amostra com 100 mL de água foi preparada, homogeneizada em liquidificador doméstico (Philips Walita, RI2044) por 5 min e transferida para uma proveta graduada de 250 mL. A capacidade de formação de espuma foi calculada como a quantidade de espuma formada (%) após o batimento em relação ao volume total da dispersão. A determinação da estabilidade de espuma (EE) do hidrolisado foi medida através do repouso da amostra à temperatura ambiente (20-25 °C), com leitura do volume após intervalos de 1, 5, 10, 30 e 60 min, e calculada pela Eq. 5, sendo V, o volume final de espuma, após cada intervalo de tempo e V_o, o volume inicial da espuma formada (mL). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

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

A análise de cor do hidrolisado foi realizada empregando um colorímetro de medição portátil (Konica Minolta®, Chroma Meter CR-400) que trabalha no sistema de cor com três escalas: L*, a* e b*. L* mede a luminosidade e varia de 0, para o preto, e 100, para superfícies perfeitamente brancas. A escala a* mede a intensidade da cor verde (-) e vermelha (+), enquanto b* avalia a transição da cor azul (-) para amarela (+) (KONICA MINOLTA, 2013). O colorímetro foi previamente calibrado em superfície branca e as análises foram realizadas em triplicata. De forma a obter uma melhor avaliação da cor, os parâmetros foram combinados para obter o índice de brancura "Whiteness" (W) conforme a Eq. 6.

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

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%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão demonstrados os valores da composição química do subproduto e do hidrolisado proteico obtido a partir do subproduto de palometa.

Tabela 1. Composição química do subproduto e do hidrolisado de palometa.

Componentes (%)	Subproduto*	Hidrolisado proteico*
Proteína	21,30 ± 0,40	59,82 ± 0,86
Lipídios	3,45 ± 0,31	2,31 ± 0,39
Cinzas	7,71 ± 0,06	31,36 ± 0,47
Umidade	67,87 ± 0,96	6,38 ± 0,21

*valores médios ± desvio padrão de três repetições.

De acordo com Roslan et al. (2014), a composição química dos alimentos é muito importante, não somente do ponto de vista da saúde nutricional humana, mas também para a avaliação do desenvolvimento e aplicação potencial dos materiais alimentícios em formulações alimentares. Os resultados da composição química tanto do subproduto como do hidrolisado, indicam que estes produtos podem ser uma fonte importante de proteínas e aminoácidos, colágeno, gelatina, óleo, entre outros.

Analisando a composição química, observou-se que o subproduto apresentou 21,30% de proteína indicando um conteúdo considerável deste componente. Em geral, os valores encontrados neste estudo estão próximos aos descritos em trabalhos que avaliaram o subproduto de tilápia (ROSLAN et al., 2014) e peixe-papagaio (PRIHANTO et al., 2019). Gajanan et al. (2016), descreveram a composição de subproduto do processamento de *Nemipterus japonicus* e apresentaram valores de umidade de 72,99%, 18,49% de proteína, 4,24% de lipídios e 3,95% de cinzas, valores estes que diferiram ligeiramente dos apresentados no presente estudo.

O elevado conteúdo de cinzas deve-se a natureza da matéria-prima, composta de cabeça, pele e espinhas, semelhante ao observado no trabalho de Roslan et al. (2014), com os subprodutos de tilápia.

Em relação à composição de hidrolisados proteicos oriundos de diferentes fontes de pescado, esta pode apresentar grande variação dependendo da espécie e da enzima, entre outros fatores (Fogaça et al., 2018). Considerando a quantidade de proteína no hidrolisado obtido no presente estudo, observou-se um aumento em comparação ao subproduto de palometa, chegando a 59,82% conforme esperado, porém este valor é inferior aos relatados por Pires et al. (2015), os quais produziram hidrolisados com teor proteico variando de 66,32 a 86,90%. Estas variações em relação ao teor proteico e composição do produto final dependem principalmente das condições do processo empregado na reação de hidrólise. Conforme Slizyte et al. (2005), a percentagem de proteína solubilizada provém da quantidade de gorduras na matéria-prima, de modo que espécies que contenham maior quantidade de gorduras, resultam em hidrolisados com menor percentagem de proteína solubilizada.

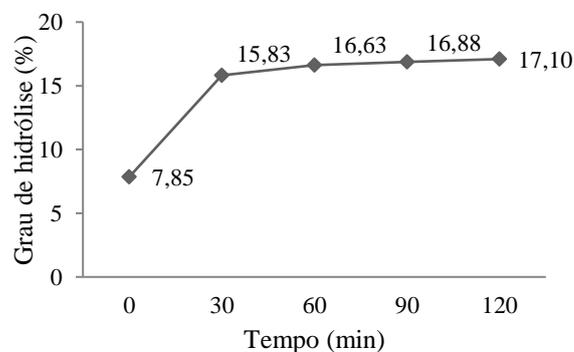
O conteúdo lipídico poderá ser maior ou menor dependendo do processo empregado para remover a matéria insolúvel, geralmente realizado por centrifugação e filtração (Fogaça et al., 2018). Além disso, de acordo com Gonçalves (2011), a presença elevada de ácidos graxos poli-insaturados na composição química do produto, torna-o susceptível a oxidação lipídica. Como o teor de lipídios determinado no subproduto de palometa foi baixo, é possível afirmar que essa característica contribui para a maior estabilidade do produto durante o armazenamento, sendo desfavorável a oxidação.

A quantidade de cinzas aumentou de 7,71% no subproduto para 31,36% no hidrolisado. Conforme Zavareze et al. (2009), uma elevada concentração de cinzas no hidrolisado proteico de palometa é decorrente de sais presentes nos tampões utilizados para manter o pH durante o processo de hidrólise enzimática, bem como das características da matéria-prima citada anteriormente. Nilsang et al. (2005) produziram um hidrolisado a partir de um concentrado solúvel de pescado empregando uma mistura enzimática da Flavozyme™ e Kojizyme™ e obtiveram resultados para composição química (umidade 7,24%, proteína 66,40%, lipídios 2,37% e cinzas 25,94%), próximos aos encontrados no presente estudo.

O conteúdo de umidade apresentado pelo hidrolisado proteico foi baixo, inferior a 10,0% devido ao processo de secagem, o que permite o seu armazenamento por longo tempo. Segundo Gonçalves (2011), é importante que produtos como a farinha de pescado apresentem teor de umidade e de lipídios abaixo de 10,0% para aumentar a sua vida útil, desfavorecendo 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 10,0%. No entanto, é importante salientar que não há legislação específica para a farinha ou hidrolisado de pescado como alimento comestível, o que dificulta a padronização desses produtos quanto às suas características físico-químicas e a utilização em misturas para alimentação humana.

O hidrolisado proteico de subproduto de palometa apresentou um valor médio de pH de 7,30. Este valor próximo da neutralidade deve-se a utilização de solução tampão alcalina durante o processo de hidrólise. Para que este produto possa ser empregado em formulações alimentícias, deve ocorrer um monitoramento do pH, pois, conforme Forsythe (2013), alimentos de baixa acidez tem maior risco de contaminação por micro-organismos patogênicos. Na Figura 1, é possível verificar a evolução da reação de hidrólise do subproduto de palometa obtido com a enzima Alcalase. Verificou-se um aumento gradativo no GH com o passar do tempo, porém, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação aos valores obtidos após 60 min.

Figura 1. GH do hidrolisado do subproduto de palometa durante 120 min de reação.

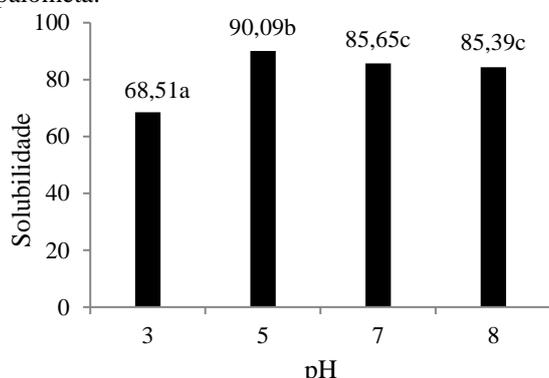


Observa-se que um GH de 17,10% foi alcançado ao final de 120 min de incubação com temperatura de 60 °C e pH 8,0. Este valor de GH está próximo aos encontrados para hidrolisados de pescada (*Merluccius capensis*) por Pires et al. (2015) e Pires et al. (2013), os quais relatam valores variando

de 12,60 a 19,00% e de 19,00% a 22,60%, respectivamente, obtidos no mesmo tempo de hidrólise. Estes autores ainda destacam que é difícil comparar os resultados entre os estudos, pois as condições de hidrólise não são padronizadas. Além disso, a determinação de GH por diferentes métodos, geralmente não permite resultados diretamente comparáveis. Como pode ser verificado na Figura 1, o tempo influenciou positivamente o aumento do GH. Esta tendência também foi observada por Wisuthiphaet et al. (2015) quando em seu estudo detectou-se o aumento do GH em conjunto com o aumento do tempo de hidrólise. Entretanto, de acordo com Mackie (1982), depois de uma fase inicial de hidrólise rápida, o grau de hidrólise tenderá a diminuir e entrar numa fase estacionária. Segundo Fogaça et al. (2018), no início da reação, uma quantidade considerável de ligações peptídicas é hidrolisada, e após determinado tempo esta quantidade é reduzida até apresentar comportamento constante.

Acerca das propriedades dos hidrolisados de proteínas, a solubilidade é uma das mais importantes, visto que, uma baixa solubilidade pode ocasionar uma aparência pouco atrativa no produto final (LIU et al., 2015). Os resultados mostraram que a solubilidade para o hidrolisado do subproduto de palometa, apresentou o maior valor no pH 5,0 alcançando $90,09 \pm 0,97\%$ e o menor valor no pH 3,0 (Figura 2). Não foi observada diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os valores de solubilidade medida nos pHs 7,0 e 8,0. A alta solubilidade do hidrolisado é esperada devido à clivagem das proteínas que ocorre formando peptídeos menores.

Figura 2. Solubilidade do hidrolisado do subproduto de palometa.

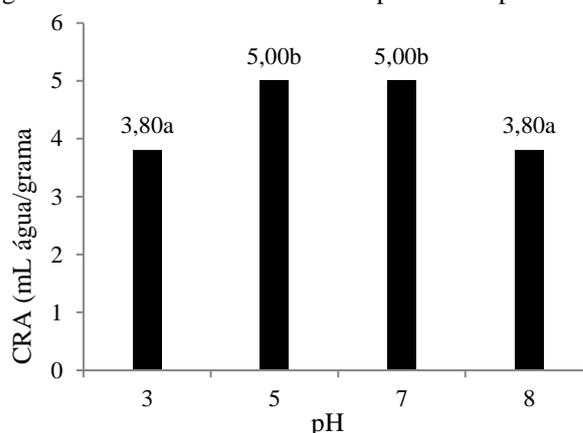


Conforme Centenaro et al. (2009), uma das principais consequências da hidrólise enzimática é o aumento da solubilidade e, normalmente, este aumento está associado com o aumento do GH. Sathivel et al. (2005) afirmam que a hidrólise enzimática leva a uma maior exposição de grupos carregados, diminui o tamanho molecular e aumenta a hidrofiliabilidade das proteínas, através de um aumento na habilidade de formar ligações de hidrogênio com a água e, conseqüentemente, aumenta a solubilidade. O conteúdo de sal presente no produto final, oriundo do meio de reação empregado no processo, também pode contribuir para melhorar a solubilidade de peptídeos de cadeia longa, ou seja, de hidrolisados com menor GH (GEIRSDOTTIR et al., 2011). Trabalhos também relataram valores elevados de solubilidade em 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) e (entre 87,64 a 97,35%) em hidrolisados proteicos de resíduos de falso besugo

(*Nemipterus japonicus*) (GEIRSDOTTIR et al., 2011). Assim, a elevada solubilidade demonstrada pelo hidrolisado proteico de subproduto de palometa, permite sua aplicação em produtos alimentícios de natureza, tanto sólida como líquida, na faixa de pH ácida e alcalina.

A CRA também é uma característica importante na tecnologia de alimentos, pois a água absorvida em pequenas quantidades não atua como solvente, mas contribui para dar corpo e aumentar a viscosidade (CÂNDIDO et al., 1998). Além disso, a CRA refere-se à habilidade da proteína absorver e reter água frente a uma força gravitacional (CÂNDIDO; SGARBIERI, 2003). A Figura 3 apresenta os valores de CRA do hidrolisado proteico de palometa, medida em diferentes pHs.

Figura 3. CRA do hidrolisado do subproduto de palometa.



Pode-se observar que o hidrolisado proteico de palometa apresentou maior CRA quando solubilizado nos pHs 5,0 e 7,0 e, nos valores de pH mais ácido ou mais alcalino, a CRA foi significativamente menor ($p \leq 0,05$).

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 de ligar-se à água, devido às interações intermoleculares.

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

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

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

A avaliação da CE demonstrou que o hidrolisado proteico de palometa não foi capaz de formar uma emulsão satisfatória

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

Segundo Kristinsson (1998), a hidrólise com Alcalase produz mais peptídeos com baixo peso molecular comparado a outras enzimas. Chalamaiah et al. (2010), produziram hidrolisados de carpa (*Cirrhinus mrigala*) com Alcalase® e Papainase®, e verificaram elevado GH e solubilidade obtidos com a enzima Alcalase® a qual originou um produto com CE mais baixa (4,25 mL/g de hidrolisado) que o hidrolisado obtido com Papainase® (5,98 mL/g de hidrolisado).

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

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

A CFE e a EE do hidrolisado proteico do subproduto de palometa estão representadas na Figura 4.

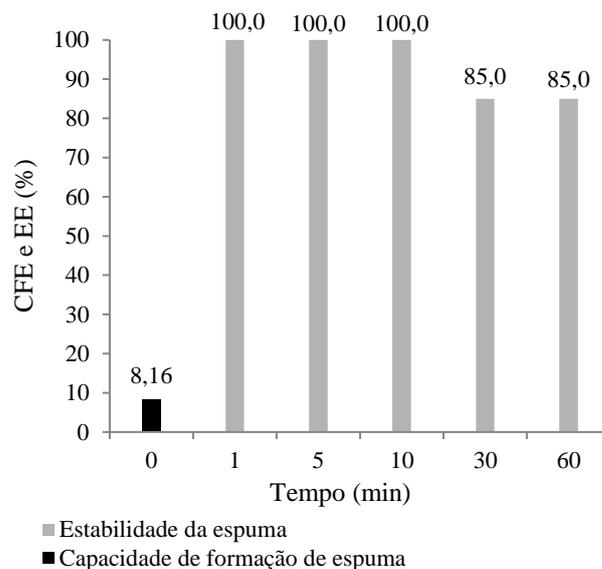
As espumas obtidas através de soluções de proteínas são uma consequência da desnaturação parcial e do desdobramento das cadeias polipeptídicas. Dispersões de proteínas provocam uma diminuição da tensão superficial na interface água-ar, criando assim a espuma (KHALED et al., 2014).

A CFE alcançada pelo hidrolisado foi de 8,16% após a agitação, valor inferior aos valores de CFE (acima de 80%) relatados por Pires et al. (2015). No entanto, conforme Klompong et al. (2007), uma comparação direta dos valores de 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.

A expansão da espuma depois do batimento foi monitorada durante 60 min a fim de verificar a EE da proteína hidrolisada. Nos primeiros 10 min foi observada a maior EE, com uma diminuição significativa ($p \leq 0,05$) a partir dos 30 min a qual se manteve ao final de 60 min.

Figura 4. CFE e EE do hidrolisado do subproduto de palometa.



Após 60 min, a EE determinada foi de $85 \pm 1,0\%$ em relação ao volume inicial de espuma formado, indicando que, embora a CFE do hidrolisado tenha sido baixa, sua EE foi constante ao longo do tempo, permitindo a aplicação do hidrolisado como agente espumante em alimentos que necessitam de leve incorporação de ar na formulação.

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

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

Na prática, sabe-se que é necessário que o alimento tenha uma boa aparência e uma cor característica, pois o consumidor relaciona esses fatores com a qualidade e sanidade do alimento (LERMEN et al., 2015). Assim, instrumentos que avaliam a qualidade dos alimentos contribuem para o alcance da excelência que o mercado exige.

Na Tabela 2 é possível verificar os resultados obtidos a partir da avaliação da cor do hidrolisado proteico do subproduto de palometa.

Tabela 2. Determinação da cor do hidrolisado do subproduto de palometa.

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

*valores médios ± desvio padrão de três repetições.

O valor obtido para luminosidade L* do hidrolisado foi 87,65, resultado próximo a 100, que corresponde à cor branca. A escala a* mede a variação entre vermelho (+) e verde (-) e o resultado apresentado foi negativo, demonstrando uma tendência para a cor verde (Tabela 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 subproduto de palometa apresentou uma coloração esbranquiçada, com valor W de 84,04 (Tabela 2), indicando que o hidrolisado obtido era mais branco comparado com a cor de hidrolisados de subprodutos de pescada e proteína em pó via solubilização alcalina produzidos por Pires et al. (2015) e Pires et al. (2012), respectivamente. Segundo estes autores, existem muitas referências na literatura sobre a cor dos hidrolisados de proteínas de pescado, mas a comparação direta de dados é difícil. Para Dong et al. (2008), a cor dos hidrolisados proteicos de pescado é dependente da composição da matéria-prima, da enzima utilizada e das condições de hidrólise.

Porém, a medida da cor permite avaliar de forma adequada a utilização dos hidrolisados sólidos como aditivos alimentares, onde se busca uma aparência neutra que não interfira na aparência visual dos produtos, nos quais este ingrediente vai ser adicionado (SANTOS, 2011). A coloração deve ser a mais neutra possível, para que a aceitação por parte do consumidor seja positiva. Logo, a utilização do hidrolisado obtido no presente estudo pode ser considerada viável, permitindo adicioná-lo em formulações de uma ampla variedade de produtos alimentícios.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Clube de Caça e Pesca Martim Pescador pelo apoio na captura dos exemplares de pescado.

CONCLUSÕES

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

características tecnológicas, possibilitando assim o emprego de proteína de maior digestibilidade.

REFERÊNCIAS

AL KHAWLI, F.; PATEIRO, M.; DOMÍNGUEZ, R.; LORENZO, J. M.; GULLÓN, P.; KOUSOULAKI, K.; FERRER, E.; BERRADA, H.; BARBA, F. J. Innovative green technologies of intensification for valorization of seafood and their by-products. *Marine Drugs*, v. 17, n. 12, 689, 2020.

AMARAL, M. T.; APARÍCIO, G. K. D. S.; DE SOUZA, P. L.; DOS SANTOS, Â. M. L. Aplicação de tecnologias tradicionais no beneficiamento do pescado na região do baixo Amazonas, Estado do Pará. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, v. 7, n. 1, p. 3708-3721, 2017.

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, p.199-206, 2012.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International. 18. ed. Revision 3. Maryland: AOAC International, 2010, 1141 p.

BALTI, R.; BOUGATEF, A.; ALI, NE-H.; ZEKRI, D.; BARKIA, A.; NASRI, M. Influence of degree of hydrolysis on functional properties and angiotensin I-converting enzyme-inhibitory activity of protein hydrolysates from cuttlefish (*Sepia officinalis*) by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 90, n.12, p. 2006–2014, 2010.

BATISTA, I.; PIRES, C.; TEIXEIRA, B.; NUNES, M. L. Hidrolisados proteicos com atividade biológica: uma alternativa para a valorização de subprodutos de pescado. *Boletim Biotecnologia*, v.2, n.5 p. 37-39, 2014.

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. Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, 2017. 140 p.

CAMARGO, B.; CENTENARO, G. S.; VIANA, C. E.; VIEIRA, L. Consumo de pescado e o conhecimento da espécie (*Serrassalmus spilopleura*), popularmente conhecida como Palometa. In: V Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 3, 2013, Bagé. Anais... V SIEPE da UNIPAMPA, 2013.

CÂNDIDO, L. M. B.; NOGUEIRA, A. K.; SGARBIERI, V. Propriedades funcionais de concentrados proteicos de pescado preparados por vários métodos. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 1, n. 1,2, p. 77-89, 1998.

CÂNDIDO, L. M. B.; SGARBIERI, V. C. Enzymatic hydrolysis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) myofibrillar proteins: effects on nutritional and hydrophilic properties.

- Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 83, n. 9, p. 937-944, 2003.
- CENTENARO, G. S.; MELLADO, M. S.; HERNANDEZ, C. P. 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.
- CENTENARO, G. S.; HERNANDEZ, C. P.; MELLADO, M. S.; NETTO, F. M. Efeito da concentração de enzima e de substrato no grau de hidrólise e nas propriedades funcionais de hidrolisados proteicos de corvina (*Micropogonias furnieri*). *Química Nova*, v. 32, n. 7, p. 1792-1798, 2009.
- CHANG-BUM, A.; JAE-YOUNG, J.; YOUNG-SOOK, C.; Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from salmon byproduct protein hydrolysates by peptic hydrolysis. *Food Research International*, v. 49, n. 1, p. 92-98, 2012.
- CHALAMAIAH, M.; RAO, G.N.; RAO, D.G.; JYOTHIRMAYI, T. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chemistry*, v. 120, n. 3, p. 652-657, 2010.
- DE CASTRO, W. A. C.; DE ALMEIDA, A. A. W.; TAKAO, L. K.; ROCHA, G. S.; JANKE, H.; VALSKO, J.; CUNHA, S. Caracterização da produção pesqueira ao longo do tempo, no município de Cananeia, litoral sul de São Paulo. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 38, n. 3, p. 265-273, 2018.
- DIPACK, K. D.; KUMAR, D. M. Functional properties of rapeseed protein products with varying phytic acid contents. *Journal of Agricultural Chemistry*, v. 34, n. 5, p. 775-780, 1986.
- DONG, S.; ZENG, M.; WANG, D.; LIU, Z.; ZHAO, Y.; YANG, H. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry*, v. 107, n. 4, p.1485-93, 2008.
- FOGAÇA, F. H. S.; SAVAY-DA-SILVA, L. K.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; TEODORO, M. S.; CARVALHO, L. M.; ARAUJO, T. D. S.; PEREIRA, A. M. L.; PEDROSO, A. L.; CASSOL, G. Z.; RIBEIRO, J. S. A.; DIAS, J. N.; MAGALHAES, J. A.; CASTRO, K. N. C.; PERFEITO, M. L. G.; MELLADO, M. S.; QUADROS, C. C.; REIS, P. S.; OLIVEIRA, T. M.; BERTOLINI, W.; SILVA, D. A. Tecnologias para o Processamento do Tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Documentos/Embrapa Agroindústria de Alimentos-Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos*, 50 p., 2018.
- 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.; ORNELAS, C. B.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades funcionais de hidrolisados de proteína láctea co-precipitada. *Ciência Agrotécnica*, v. 25, n. 3, p. 625-639, 2001.
- GAJANAN, P. G.; ELAVARASAN, K.; SHAMASUNDAR, B. A. Bioactive and functional properties of protein hydrolysates from fish frame processing waste using plant proteases. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23, p. 24901-24911, 2016.
- GEIRSDOTTIR, M.; SIGURGISLADOTTIR, S.; HAMAGUCHI, P. Y.; THORKESSON, G.; JOHANNSSON, R.; KRISTINSSON, H. G.; KRISTJANSSON, M. M. Enzymatic hydrolysis of blue whiting (*Micromesistius poutassou*); functional and bioactive properties. *Journal of Food Science*, v. 76, n. 1, p. C14-C20, 2011.
- GOI, C. H.; BRAGATO, C. A.; PEREIRA, F. C. Produção de hidrolisado proteico a base de carcaça de carpa húngara (*Cyprinus carpio L.*). In: *Reunião Anual da SBPC*, 70, 2018, Maceió. Anais... Maceió: UFAL, 2018.
- GONÇALVES, A. A. *Tecnologia do pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação*. 1.ed, São Paulo: Atheneu, 2011. 624p.
- 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.; MORR, C. V. Milk proteins: physicochemical and functional properties. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, v. 21, n. 3, p. 197-262, 1984.
- KLOMPONG, V.; BENJAKUL, S.; KANTACHOTE, D.; SHAHIDI, F. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, v. 102, n. 4, p. 1317-1327, 2007.
- KONICA MINOLTA. *Chroma MeterCR-400/410: Instruction Manual*. 2013. 160 p.
- KRISTINSSON, H. G. Reaction kinetics biochemical and functional properties of salmon muscle proteins hydrolysed by different alkaline proteases. 1998. 514p. Master's Thesis. University of Washington, Seattle, WA. 1998..
- LERMEN, F. H.; MATIAS, G. S.; MODESTO, F. A.; RODER, R.; BOIKO, T. J. P. Teste de consumidores e análise de aparência, sabores. *Revista Latino-America de Inovação e Engenharia de Produção*, v.3, n.4, p.97-109, 2015.
- LIU, J.; LYU, F.; ZHOU, X.; WANG, B.; WANG, X.; DING, Y. Preparation of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) protein hydrolysate using combined controlled enzymatic hydrolysis and glycation for improved solubility and emulsifying properties. *Journal of Food and Nutrition Research*, v.3, n.7, p. 471-477, 2015.
- MACKIE, I. M. Fish protein hydrolysates. *Process Biochemistry*. v. 17, n.1, p. 26-28, 1982.
- MAIA, M. O. *Gelatina de pescado: extração, caracterização e aplicação*. 2015. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência e

- Tecnologia dos Alimentos). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Limoeiro do Norte, 2015.
- MORITA, T.; ASSUMPCÃO, R. M. V. Manual de soluções, reagentes e solventes. 2.ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1976. p. 272.
- 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, n. 6, p. 1715-1718, 1985.
- NILSANG, S.; LERTSIRI, S.; SUPHANTHARIKA, M.; ASSAVANIG, A. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering*, v. 70, n. 4, p. 571-578, 2005.
- 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.
- OLIVEIRA, M. S. R.; DE LIMA FRANZEN, F.; TERRA, N. N. Utilização de enzimas proteolíticas para produção de hidrolisados proteicos a partir de carcaças de frango desossadas manualmente. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 18, n. 3, p. 199-210, 2015.
- PANYAM, D.; KILARA, A. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends Food Science Technology*, v. 7, n. 4, p. 120-125, 1996.
- 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 different methodologies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 93, n. 4, p. 771-780, 2013.
- PIRES, C.; TEIXEIRA, B.; CARDOSO, C.; MENDES, R.; NUNES, M. L.; BATISTA, I. Cape hake protein hydrolysates prepared from alkaline solubilised proteins pre-treated with citric acid and calcium ions: functional properties and ACE inhibitory activity. *Process Biochemistry*, v. 50, n. 6, p. 1006-1015, 2015.
- 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.
- PRIHANTO A. A.; NURDIANI R.; BAGUS, A. D. Production and characteristics of fish protein hydrolysate from parrotfish (*Chlorurus sordidus*) head. *PeerJ*, 7:e8297, 2019.
- REGENSTEIN, J. M.; GORIMAR, T. S.; SHERBON, J. M. Measuring the water capacity of natural actomyosin from chicken breast muscle in the presence of pyrophosphate and divalent cation. *Journal of Food Biochemistry*. v. 3, n. 4, p. 205-211, 1979.
- RIBEIRO, N. S. A.; COUTO JÚNIOR, E. D. B.; BALIAN, S. D. C. Avaliação crítica de dois métodos para determinação da qualidade da pescada *Macrodon ancylodon* (BLOCH & SCHNEIDER, 1801). Análise descritiva quantitativa e Teste de aceitabilidade. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, v. 14, n. 3, p. 26-35, 2016.
- ROMAN, J. A.; SGARBIERI, V. C. Efeito da hidrólise enzimática sobre propriedades funcionais de caseína bovina coagulada pela ação da quimosina. *Ciência Tecnologia Alimentos*, v. 25, n. 3, p. 468-474, 2005.
- ROSLAN, J.; YUNOS. K. F. M.; ABDULLAH. N.; KAMAL, S. M. M. Characterization of fish protein hydrolysate from tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-product. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, v. 2, p. 312-319, 2014.
- SALGADO, R. A. F. Caracterização e recuperação de proteínas de subprodutos de pescado. 2015. 78f. Tese de Doutorado-Instituto Superior de Agronomia, Lisboa. 2015.
- SANTOS, M. F. Produção de hidrolisados de proteína de pescado (HPP) a partir de subprodutos da indústria do pescado de Peniche-Aplicações. 2011. 69f. Dissertação (Mestrado Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar) - Instituto Politécnico de Leiria, Peniche, 2011.
- SATHIVEL, S.; SMILEY, S.; PRINYAWIWATKUL, W.; BECHTEL, P. J. Functional and nutritional properties of red salmon (*Oncorhynchus nerka*) enzymatic hydrolysates. *Journal of Food Science*, v. 70, n. 6, p. c401-c406, 2005.
- SCHMIDT, C. G.; SALLAS-MELLADO, M. Influência da ação das enzimas Alcalase e Flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. *Química Nova*, v. 32, n.5, p.1144-1150, 2009.
- SLIZYTE, R.; DAUKSAS, E.; FALCH, E.; STORRO, I.; RUSTAD, T. Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 3, p. 1415-1424, 2005.
- VÁZQUEZ, J.; MEDUÍÑA, A.; DURÁN, A. I.; NOGUEIRA, M.; FERNÁNDEZ-COMPÁS, A.; PÉREZ-MARTÍN, R. I.; RODRÍGUEZ-AMADO, I. Production of valuable compounds and bioactive metabolites from by-products of fish discards using chemical processing, enzymatic hydrolysis, and bacterial fermentation. *Marine Drugs*, v. 17, n.3, 139, 2019.
- WASSWA, J; TANG, J; GU, X.H.; YUAN, X.Q. Influence of the extent of enzymatic hydrolysis on the functional properties of protein hydrolysate from grass carp skin. *Food Chemistry* v. 104, n. 4, p. 1698-1704, 2007.
- WISUTHIPHAET, N.; KONGRUANG, S.; CHAMGCHEUN, C. Production of fish protein hydrolysates by acid and enzymatic hydrolysis. *Journal of Medical and Bioengineering*, v. 4, n. 6, p. 466-470, 2015.

ZAPATA, J. I. H.; CASTAÑEDA, C. A. G. Hidrolizados de pescado-producción, beneficios y nuevos avances en la industria-una revisión. *Acta Agronómica*, v. 66, n. 3, p. 311-322, 2017.

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