

## DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO CENTESIMAL E MICROBIOLÓGICA DE HIDROLISADOS PROTEICOS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

Juliana Cristina Veit<sup>1</sup>, Aldi Feiden<sup>2</sup>, Marcia Luzia Ferrarezi Maluf<sup>2</sup>, Wilson Rogério Boscolo<sup>2</sup>

\* juliana\_veit@hotmail.com

<sup>1</sup>Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria/RS;

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Toledo.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14685/rebrapa.v4i1.97>

**Resumo:** A hidrólise proteica é uma tecnologia desenvolvida com o objetivo de agregar valor, funcionalidade e ampliar a utilização de matérias primas pouco valorizadas. Através desse processo é possível modificar as propriedades químicas, físicas e biológicas das proteínas sem alterar seu teor em nutrientes. Esse estudo teve como objetivo desenvolver hidrolisados proteicos de cortes em “V” de filés de tilápia do Nilo e caracterizá-los de acordo com seus graus de hidrólise, composição centesimal e microbiologia. Os resultados das análises realizadas demonstraram que os hidrolisados desenvolvidos (H1 e H2) obtiveram alto rendimento e graus de hidrólise adequados (14,8 % para H1 e 13,2 % para H2), que permitem sua utilização tanto no tratamento de doenças quanto como flavorizantes em alimentos. Além de apresentarem composição centesimal semelhante à matéria prima inicial, com 81,4 e 81,0 % de umidade, 13,6 e 14,6 % de proteína, 3,5 e 2,8 % de extrato etéreo e 2,7 e 2,0 % de matéria mineral, respectivamente para o H1 e H2. Com relação aos resultados microbiológicos, ambos apresentaram qualidade sanitária satisfatória, bem abaixo de parâmetros brasileiros vigentes. Portanto, a hidrólise enzimática mostrou-se como um processo eficiente na obtenção de proteínas hidrolisadas a partir de uma matéria prima de alto valor biológico e baixo valor agregado.

**Palavras-chave:** Hidrólise enzimática, qualidade microbiológica, composição físico-química, rendimento hidrolítico, aproveitamento de sub produtos.

**Development and proximate and microbiological characterization of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolyzed:** The proteic hydrolysis is a technology developed with the aim of adding value, functionality and increase the use of undervalued raw materials. Through this process is possible to modify the chemical, physical and biological properties of proteins without changing their nutrient content. This study aimed to develop proteic hydrolyzed of Nile tilapia “V” cuts and to characterize them according to their degree of hydrolysis, chemical composition and microbiology. The results of analyses showed that the developed hydrolyzed had high productivity and appropriate degree of hydrolysis (14.8 % to H1 and 13.2 % to H2) that allow to use them both in the treatment of diseases as a flavoring in foods. In addition to presenting good composition, similar to the initial raw material, with 81.4 and 81.0 % for moisture, 13.6 and 14.6 % for protein, 3.5 and 2.8 % for lipids and 2.7 and 2.0 % for ash, respectively for H1 and H2. With relation to microbiological results, the hydrolyzed showed great health quality, well below the limits allowed by law. Therefore, the enzymatic hydrolysis proved to be an efficient process to obtain hydrolyzed proteins from a high biological value and low value raw material.

**Key words:** Enzymatic hydrolysis, microbial quality, physicochemical composition, hydrolytic productivity, utilization of by-products.

### 1 Introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie que vem se destacando nos últimos anos por se adaptar

a diversas condições de cultivo e alimentação, apresentar sabor suave e sem espinhas intramusculares, característica esta que facilita sua filetagem e comercialização. No entanto, durante seu processamento há um sub aproveitamento de seus

resíduos, o que resulta no desperdício de fontes proteicas.

As aparas dorsais, ventrais e o corte em “V” do filé, representam 5 % dos resíduos da filetagem das tilápias (VIDOTTI, 2009) e desse total, 15 % são provenientes do corte em “V” (VIDOTTI, 2006). Dessa forma, estas aparas podem ser destinadas para a elaboração de produtos com valor agregado para utilização na alimentação humana (VIDOTTI, 2009).

Assim as aparas podem ser uma ótima opção de matéria prima para a obtenção de proteínas hidrolisadas, por apresentarem alto teor proteico e perfil de aminoácidos essenciais satisfatório.

A hidrólise proteica é uma tecnologia desenvolvida com o objetivo de agregar valor, funcionalidade e ampliar a utilização de matérias primas pouco valorizadas. Através desse processo é possível modificar as propriedades químicas, físicas e biológicas das proteínas (GIONGO, 2006).

Os hidrolisados proteicos podem ser desenvolvidos para diversas aplicações, sendo uma de suas principais o tratamento de doenças específicas, pois quebram as moléculas proteicas em pequenos peptídeos e aminoácidos livres, que são mais facilmente digeríveis e assimiláveis em pessoas com dificuldade na digestão e absorção de proteínas intactas. Além de poderem ser utilizados como suplementos proteicos em vários produtos caseiros, tais como pães, muffins, biscoitos e barras de cereais, formulações de hambúrgueres, pastas como macarrão e noodles, produção de *flavour* de pescado ou ainda como suplemento de bebidas ricas em proteínas, principalmente pela sua alta solubilidade (DINIZ & MARTIN, 1999).

No entanto, para que o hidrolisado apresente características desejáveis alguns parâmetros devem ser controlados, como a especificidade e propriedades da enzima, concentração da proteína, relação enzima/substrato, pH e temperatura. O conhecimento desses fatores é importante, uma vez que a otimização desses é essencial para desenvolver um processo ótimo

e econômico (KUROZAWA, PARK & HUBINGER, 2009).

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo, desenvolver hidrolisados proteicos de cortes em “V” de filés de tilápia do Nilo e caracterizá-los de acordo com seus graus de hidrólise, composição centesimal e microbiológica.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Obtenção dos hidrolisados proteicos

Para o desenvolvimento dos hidrolisados foram utilizados cortes em “V” da filetagem de tilápia do Nilo, doados pela indústria Tilápia Brazilian Fisheries Pescados e Peixes, localizada no município de Toledo/PR, além de aditivos alimentares fornecidos pela indústria Agropolo Agroindustrial LTDA e as enzimas proteolíticas Protamex® e a Brauzyn®100, fornecidas pela Novozymes (Araucária, Paraná) e Prozyn BioSolutions, respectivamente.

O trabalho experimental foi desenvolvido no laboratório de Tecnologia do Pescado e as análises químicas e microbiológicas realizadas no Laboratório de Qualidade de Alimentos (LQA) do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura – GEMaQ/UNIOESTE, Campus de Toledo.

Os cortes em “V” foram moídos em moedor elétrico de carnes e armazenados em embalagens próprias para alimentos a – 18 °C até o momento do preparo dos hidrolisados. Posteriormente, foram descongelados em refrigerador (4 °C) e dois hidrolisados foram desenvolvidos, um utilizando a enzima Protamex® e o outro a enzima Brauzyn®100, de acordo com as especificações e características de cada uma (Tabela 1).

**Tabela 1-** Características das proteases utilizadas no desenvolvimento dos hidrolisados.

Nome comercial	Origem	pH de máxima atividade	T° de máxima atividade	Formulação
Protamex®	<i>Bacillus sp.</i>	5,5-7,5	35-60°C	Pó
Brauzyn®100	Mamão papaya	3,5-9,0	65-80°C	Pó

**Tabela 2-** Condições da reação de hidrólise.

E/S 1:500	Água 25%	T (°C)	pHi	pHf	T (°C) inativação Enzimática
H1 Protamex®	250 mL	40 ± 2	6,54	4,11	50 a 56
H2 Brauzyn®100	250 mL	65 ± 2	6,54	4,02	85 a 88

E/S: relação enzima/substrato; T (°C): temperatura em graus Celsius de adição da enzima; pHi: pH inicial da matéria prima; pHf: pH final da reação.

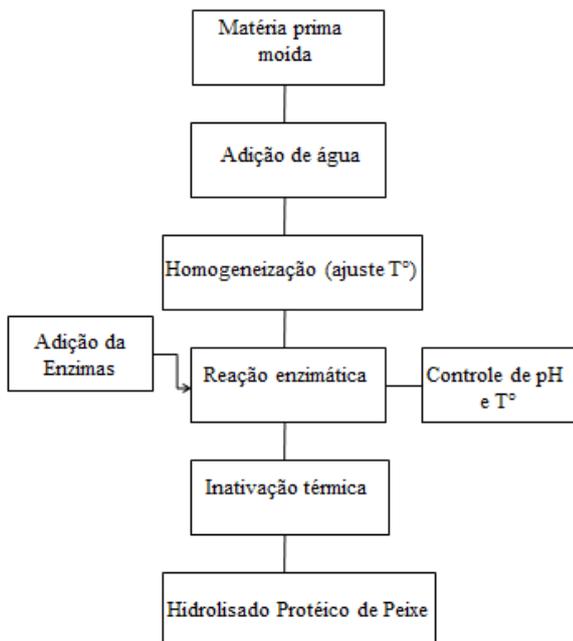
Os hidrolisados proteicos foram preparados em um reator adaptado às condições do laboratório, composto por um agitador mecânico, com agitação fixada em 3.600 rpm. Para controle de pH e temperatura foram utilizados um pHmetro e termômetro digital tipo espeto. Para a pesagem dos ingredientes e aditivos foi utilizada uma balança semi analítica digital.

A reação enzimática foi realizada em um béquer com capacidade de 2 L e adicionado 1000 g de matéria prima e 25 % de água destilada, sendo aquecido em banho-maria para uma prévia desnaturação das proteínas, até alcançar a temperatura ótima da enzima (conforme especificação dos fornecedores), facilitando assim sua ação.

Após a adição da enzima, o pH foi aferido de dez em dez minutos até estabilização, e em seguida foram adicionados aditivos alimentares com o intuito de reduzir o pH e contribuir para a desnaturação proteica, acelerando, conseqüentemente, o processo de hidrólise.

Adicionou-se posteriormente substâncias de grau alimentício para evitar o desenvolvimento e o crescimento de micro-organismos. Para encerrar a hidrólise, elevou-se a temperatura para a inativação enzimática. Os hidrolisados foram filtrados para a retirada das espinhas remanescentes e cálculo do rendimento.

Na Figura 1 está representado o fluxograma do processo de obtenção dos hidrolisados proteicos dos filés do peixe. Amostras foram separadas e armazenadas sob refrigeração até a realização das análises de grau de hidrólise, composição centesimal e microbiológica.



**Figura 1-** Fluxograma do processo de obtenção de hidrolisado proteico de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

## 2.2 Grau de Hidrólise

Para determinação do grau de hidrólise (GH) utilizou-se a metodologia descrita por Pezoa & Salas-Mellado (1979). Para tanto, pesou-se aproximadamente 3,0 g de amostra, sendo diluída em 10 mL de água destilada e após adicionou-se 10 mL de TCA (ácido tricloroacético - 7,5 %). Essa suspensão foi centrifugada a 8.667 x g por 15 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi filtrado em papel filtro Whatman nº 1. Do filtrado fez-se a determinação de proteína solúvel pelo método de Lowry *et al.* (1951), expressando a concentração de proteínas como mg de albumina, através de leitura em espectrofotômetro visível (Biospectro, modelo SP-22) à absorvância em 750 nm. A quantidade de proteína foi determinada utilizando um padrão de albumina.

O grau de hidrólise (%GH) foi expresso como a relação entre as proteínas solubilizadas e as proteínas totais presentes no substrato inicial, em % de acordo com a Equação (1).

$$\%GH = \frac{PH(\text{solubilizada em TCA } 7,5\%)}{PT} \cdot 100 \text{ Equação (1)}$$

Onde:

PH – proteína hidrolisada (mg);

PT – proteína total (mg).

## 2.3 Composição Centesimal

As determinações de umidade, proteínas, extrato etéreo e matéria mineral foram realizadas em duplicata segundo metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

Para a determinação da umidade as amostras foram secas em estufa com ventilação forçada a 105 °C até peso constante. O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl, empregando-se o fator 6,25 para a conversão de nitrogênio em proteína. O extrato etéreo foi obtido pela extração com éter de petróleo em aparelho especial para determinação de gordura e a matéria mineral obtida por incineração em mufla a 550 °C por quatro horas.

## 2.4 Análise Microbiológica

Amostras da matéria prima e dos hidrolisados foram submetidas a análises microbiológicas para a verificação das condições do processamento, higiene e manipulação do pescado. Foi realizada contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, presença de *Salmonella ssp.*, coliformes a 45 °C através do número mais provável, bolores e leveduras, além da contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas, conforme Instrução Normativa 62/2003 (BRASIL, 2003).

### 3 Resultados e Discussão

#### 3.1 Obtenção dos Hidrolisados Proteicos

Para um melhor controle das reações de hidrólise, o pH da matéria prima foi aferido antes do início do processo, apresentando valor de 6,54.

Na Figura 2 é possível observar a variação do pH durante as reações de hidrólise. Houve uma redução do pH até a estabilização. Dado este que corrobora com o relatado por Benítez, Ibarz & Pagan (2008), que conforme o processo ocorre há uma diminuição do pH devido a ruptura das ligações peptídicas.

A redução e variação do pH entre as reações dos dois hidrolisados pode ser devido principalmente às condições de hidrólise, pois no H1, a temperatura foi branda ( $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) se comparada a temperatura aplicada ao processo do H2 ( $65 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Acredita-se, portanto, que a temperatura e a ação da enzima influenciaram nas variações do pH nas duas hidrólises, já que foram somente essas duas variáveis que diferiram entre os processos.

A hidrólise proteolítica é um processo de grande complexidade, pois ocorre um conjunto de reações simultâneas de rupturas e ligações, carregadas com diferentes espécies de equilíbrio (BENÍTEZ, IBARZ & PAGAN, 2008).

Com relação ao tempo de hidrólise, o H1 foi obtido em duas horas e o H2 em uma hora e cinquenta minutos. ROMAN & SGARBIERI (2005) descrevem que uma hidrólise prolongada da cadeia peptídica promove mudanças na estrutura das proteínas e uma maior exposição de grupos hidrofóbicos, provenientes da formação de peptídeos de baixo peso molecular que

promovem sabor amargo no produto (ROSSI, 2007). Assim as condições da hidrólise podem desempenhar um papel importante quando se trata do amargor dos hidrolisados (FITZGERALD & O'CUINN, 2006).

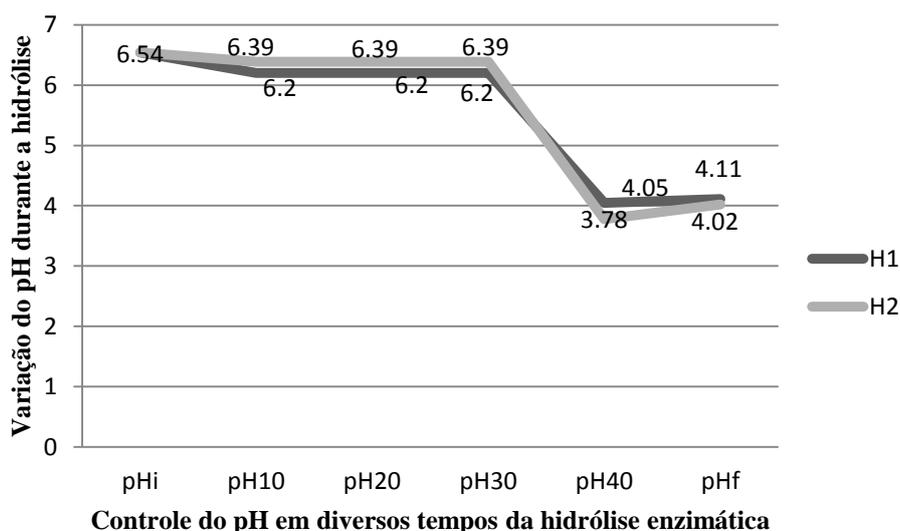
No trabalho de Spellman, O'cuinn & Fitzgerald (2005) os autores relatam que a quantidade de sólidos totais influenciou significativamente a formação do sabor amargo em hidrolisados de concentrado proteico de soro, podendo estar relacionado a um peptídeo hidrofóbico presente em grande quantidade no hidrolisado.

Nesse sentido, para se evitar a formação do sabor amargo, optou-se por delimitar o tempo de hidrólise de acordo com a estabilização do pH da reação e controlar as demais variáveis, focando-se na qualidade sensorial e nutricional do produto final.

Em relação aos rendimentos dos produtos obtidos, estes apresentaram 81,3 % e 76,0 % ou 1.016,3 g e 950,0 g, respectivamente para H1 e H2.

O rendimento deste material durante a hidrólise depende do pH, tempo e temperatura de hidrólise, do tipo e concentração da enzima e do substrato utilizado (MOHR, 1980 apud NUNES, 1981).

Hidrolisados proteicos, por serem uma fonte rica de peptídeos e possuírem elevada atividade de água, são altamente susceptíveis à deterioração microbiana. Assim, há necessidade de processá-los, visando aumentar sua vida de prateleira. Dentre os processos disponíveis, o produto obtido pela secagem apresenta-se como de maior interesse, devido à facilidade de manipulação, transporte, armazenamento e consumo (KUROZAWA, 2009). No entanto, optou-se por manter os hidrolisados líquidos, adicionando-se antioxidantes, antifúngico e mantendo-os sob refrigeração para evitar sua contaminação.



**Figura 2-** Variação do pH ao longo das hidrólises proteicas enzimáticas de cortes em “V” de tilápia do Nilo, utilizando a enzima Protamex® (H1) e Brauzyn100® (H2). pHi: pH inicial; pH10: dez minutos após o início da hidrólise; pH 20: vinte minutos após o início da hidrólise; pH 30: trinta minutos após o início da hidrólise; pH 40: quarenta minutos após a hidrólise e pHf: pH final.

### 3.2 Grau de Hidrólise

Os hidrolisados podem ser classificados de acordo com seu GH, portanto, hidrolisados com GH limitados entre 1 % e 10 % são utilizados para melhorar as propriedades funcionais dos alimentos; hidrolisados com diferentes GH podem ser utilizados como flavorizantes enquanto que hidrolisados com GH superiores a 10 % podem ser utilizados como suplementos proteicos em dietas para tratamento de doenças específicas (VIOQUE *et al.*, 2001).

De acordo com Fitzgerald & O'cuinn (2006), a utilização dos hidrolisados irá depender principalmente da especificidade da enzima e do grau de hidrólise obtido.

Os hidrolisados do presente estudo apresentaram GH de 14,8 % e 13,2 % respectivamente para H1 e H2, ou seja, 14,8 e 13,2 % das proteínas da matéria prima foram hidrolisadas durante o processo, podendo ser utilizados tanto como flavorizantes em alimentos como no tratamento de doenças.

Estes resultados se assemelham aos obtidos por Gbogouri *et al.* (2004), que apresentaram hidrolisados de cabeça de salmão com graus de hidrólise que variaram de 11,5 a 17,3 %. Já para Centenaro & Salas-Mellado (2008) que desenvolveram hidrolisado de corvina (*Micropogonias furnieri*), obtiveram graus de hidrólise que variaram de 12,2 % a 43,7 %, sendo estas variações influenciadas pelas concentrações de enzima e do substrato empregadas.

Em hidrolisados de minced da mistura de espécies de água salgada (Maria Luíza (*Paralanchurus brasiliensis*) e Perna-de-Moça (*Cynoscion* sp) e camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis* e *Penaeus pauliensis*)), desenvolvidos por Neves, Mira & Marquez (2004), os graus de hidrólises obtidos variaram de 8,1 % a 33,3 % sendo essas variações atribuídas as diferentes proporções e combinações de enzimas utilizadas no processo de hidrólise.

No extenso estudo de Cândido (1998) sobre concentrados proteicos e hidrolisados de concentrado proteico de tilápia do Nilo, os graus de hidrólise apresentaram uma grande variação (2,5; 3,5; 7,0; 7,5; 9,0; 14; 22; 25 e 45 %), e o autor observou que o produto com teor de 25 % de grau de hidrólise apresentou sabor amargo e gosto de peixe, portanto, hidrolisados com graus de hidrólise mais baixos como os do presente estudo podem ser desejáveis por não serem tão

suscetíveis ao desenvolvimento de sabor amargo no produto pronto.

Tendo em vista que são muitas as variáveis envolvidas no processo, como especificidade e atividade da enzima, relação enzima substrato, pH do meio, temperatura, tempo de reação e interação entre os nutrientes presentes na matéria prima durante a hidrólise, não é simples estabelecer comparações entre os hidrolisados quando estas condições de hidrólise são diferentes, pois cada processo poderá resultar em hidrolisados distintos. Dessa forma, é interessante ressaltar a necessidade de novos estudos para se avaliar a influência de todas essas variáveis e suas interações.

### 3.3 Composição Centesimal

Os resultados da composição centesimal dos hidrolisados proteicos e da matéria prima podem ser visualizados na Tabela 3. Houve um leve aumento nos teores de umidade dos hidrolisados com relação à matéria prima original, o que pode ser atribuído ao fato de ter sido adicionado 250 mL de água destilada à matéria prima, para assim haver uma melhor atividade da enzima, já que as reações enzimáticas geralmente ocorrem em meios aquosos.

Com relação às proteínas, houve uma redução de seus níveis nos hidrolisados em relação à matéria prima, isso também foi detectado em outros trabalhos (ARASAKI, 2000; PACHECO, AMAYA-FARFAN & SGARBIERI, 2002; ROMAN & SGARBIERI, 2005). De acordo com Roman & Sgarbieri (2005) essa pequena queda pode ser devido à perda de substâncias nitrogenadas voláteis durante aquecimento para inativação enzimática ou talvez, formação de compostos nitrogenados não detectáveis pelo método de Kjeldahl.

Embora tenha havido uma redução nas proteínas dos hidrolisados, esses produtos ainda apresentam grande qualidade nutricional e valor agregado, já que foram desenvolvidos com cortes em "V" da filetagem da tilápia. Segundo o Sebrae (2008) o aproveitamento dos cortes em "V" e os produtos desenvolvidos a partir deles podem agregar valor ao peixe e aumentar o retorno financeiro para o produtor. Afinal, são partes que contém o mesmo sabor e praticamente as mesmas qualidades nutritivas do filé, sendo necessário apenas separá-los da carcaça em vez de, juntamente com pele, cartilagem e vísceras, serem transformados em farinha e óleo de peixe, produtos estes de baixo valor agregado.

**Tabela 3-** Composição centesimal dos hidrolisados e da matéria prima.

Parâmetros (%)	Tratamentos		
	H1	H2	Matéria prima
Umidade	81,4 ± 0,2	81,0 ± 0,4	78,4 ± 0,7
Proteína	13,6 ± 0,1 (73,4)	14,6 ± 0,2 (76,9)	17,2 ± 0,4 (79,3)
Extrato etéreo	3,5 ± 0,2 (18,6)	2,8 ± 0,0 (14,6)	2,9 ± 0,1 (14,2)
Matéria mineral	2,7 ± 0,1 (14,4)	2,0 ± 0,1 (10,7)	1,9 ± 0,1 (9,3)

H1 desenvolvido com a enzima Protamex® e H2 desenvolvido com a enzima Brauzyn®100. Entre parênteses resultados com base na matéria seca.

Em estudo sobre hidrolisados proteicos em pó de caseína bovina coagulada, os autores obtiveram teores proteicos que variaram de 69,7 % a 70,3 % (ROMAN & SGARBIERI, 2005). Para hidrolisados em pó de carne escura de atum (ARASAKI, 2000) os valores de proteína bruta obtidos foram de 66,1 % e 64,6 %, inferiores aos obtidos no presente estudo.

Em hidrolisados de corvina em que variou-se a concentração de enzima e de substrato, foram obtidos valores proteicos que variaram de 49,6 % a 80,3 % em base seca (CENTENARO, 2007). Já em hidrolisado de mincend de duas espécies de peixe de água salgada com camarão-rosa os resultados para a proteína variaram de 75,0 % a 81,4 %, valores esses também inferiores à matéria prima original (NEVES, MIRA & MARQUES, 2004).

Nesse sentido, os teores proteicos observados no presente trabalho apresentam-se dentro dos padrões observados na literatura.

O extrato etéreo apresentou-se maior para o hidrolisado H1, o H2 e a matéria prima apresentaram resultados semelhantes para esse nutriente. Essas diferenças podem ter sido ocasionadas pela influência do processo de hidrólise, já que durante o processo os lipídeos também são liberados (MACEDO-VIEGAS & SOUZA, 2004). Essa elevação também foi observada por Arasaki (2000) e consequente redução na umidade, proteína e cinzas.

Em hidrolisado em pó de carcaça de catfish (*Pangasius* sp.) Amiza, Nurul & Faazaz (2011), obtiveram valores de gordura bastante elevados (32,9 %), provavelmente devido a espécie conter altas quantidades desse nutriente em sua composição. Altos teores de gordura acabam comprometendo a estabilidade do produto, pois há uma maior susceptibilidade de rancificação.

Geralmente os lipídios e outros materiais indesejáveis são separados e removidos por centrifugação, o que resulta em um material proteico uniforme e com baixo teor de gordura. No presente estudo, isso não foi

realizado, já que um dos objetivos do trabalho era utilizar os resíduos da filetagem da tilápia para agregar-lhes valor e possivelmente reduzir os impactos ambientais. Se houvesse essa separação haveria a geração de novos resíduos, o que não era desejável.

A matéria mineral dos hidrolisados foi superior ao da matéria prima, o que pode ter sido ocasionado pela adição dos antioxidantes, ácidos, realçador de sabor e espessante. Essa elevação dos minerais é muito comum em hidrolisados proteicos em pó e naqueles em que são adicionados NaOH para ajuste do pH.

Portanto, os hidrolisados desenvolvidos apresentaram ótima qualidade nutricional, e podem ser utilizados na alimentação humana, como suplementação em outros alimentos, ou até mesmo em dietas enterais para indivíduos com dificuldade de digestão e absorção, principalmente de proteínas.

### 3.4 Análise Microbiológica

Os resultados microbiológicos (Tabela 4) encontram-se dentro dos limites determinados pela legislação brasileira vigente (BRASIL, 2001) e, embora não haja parâmetros determinados para pescados hidrolisados, os resultados obtidos estão inferiores aos limites exigidos para pescados pré cozidos, empanados ou não, refrigerados ou congelados.

É possível observar que após o preparo dos hidrolisados houve uma redução na carga microbiana se comparada à matéria prima original, com exceção para bolores no H2 que foi superior à matéria prima, podendo ser explicado pelo tratamento térmico empregado para a obtenção dos hidrolisados e sua posterior refrigeração, além da inclusão de aditivos que retardam o crescimento microbiano associado à manipulação adequada dos produtos durante e após seu processamento.

**Tabela 4-** Análise microbiológica da matéria prima e dos hidrolisados.

Micro-organismos analisados	H1	H2	Matéria prima Corte em "V"
<i>Staphylococcus</i> Coagulase positiva (UFC/g)	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>
Coliformes Termotolerantes (45°C) em NMP/g)	< 3,0	< 3,0	2,3 x 10 <sup>1</sup>
<i>Salmonella</i> ssp. em 25 g	Ausente	Ausente	Ausente
Bolores (UFC/g)	3 x 10 <sup>2</sup>	1,1 x 10 <sup>3</sup>	5,5 x 10 <sup>2</sup>
Leveduras (UFC/g)	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	< 1,0 x 10 <sup>1</sup>	2,2 x 10 <sup>4</sup>
Mesófilos (UFC/g)	7,0 x 10 <sup>1</sup>	2,5 x 10 <sup>2</sup>	4,3 x 10 <sup>3</sup>
Psicrótróficos (UFC/g)	1,3 x 10 <sup>3</sup>	3,9 x 10 <sup>3</sup>	-

H1 desenvolvido com a enzima Protamex® e H2 desenvolvido com a enzima Brauzyn®100. (-) Não determinado.

Na legislação brasileira, não há referência para bolores e leveduras, bactérias mesófilas e psicrotróficas, no entanto, tais parâmetros são fundamentais para a determinação da vida de prateleira dos produtos e, embora não haja implicação na saúde pública, suas baixas contagens são importantes para a manutenção da qualidade sanitária dos produtos (MINOZZO, 2010).

A presença de bolores e leveduras em excesso (superior a  $10^6$  UFC/g) indica manipulação inadequada, podendo ser decorrente de falhas na limpeza da matéria-prima, ou no manuseio realizado em condições insatisfatórias (MANSKE *et al.*, 2011). Tendo em vista que os resultados observados para esses micro-organismos foram baixos, pode-se concluir que não afetaram a qualidade do produto final.

Com relação às bactérias mesófilas, quando sua contagem também for superior a  $10^6$  UFC/g, podem levar a alteração sensorial e redução do tempo de prateleira, indicando insalubridade do produto (FRANCO & LANDGRAF, 2008), o que não foi observado no presente estudo.

De acordo com Manske *et al.* (2011), as bactérias psicrotróficas são responsáveis pela deterioração de alimentos a baixas temperaturas, que agem diretamente na deterioração de alimentos refrigerados, estando também relacionadas à diminuição da vida de prateleira. Tendo em vista que os hidrolisados, após sua obtenção, foram armazenados sob refrigeração, era importante a análise a respeito desses micro-organismos, no entanto, os resultados apresentaram-se satisfatórios.

Em análises microbiológicas de hidrolisados de filé de tilápia do Nilo, Cândido (1998) obteve resultados menores aos identificados neste estudo, no entanto o autor desidratou seus hidrolisados, dessa forma, a baixa atividade de água tornou o crescimento dos micro-organismos dificultado.

Portanto, os hidrolisados podem ser considerados produtos em condições sanitárias satisfatórias, sendo adequados para o consumo humano.

#### 4 Conclusão

O corte em “V” de filés de tilápia do Nilo, um resíduo industrial de baixo valor comercial, pode ser utilizado como matéria prima para a obtenção de hidrolisados proteicos a partir da hidrólise enzimática, já que apresentaram alto rendimento, graus de hidrólise adequados para a utilização no tratamento de doenças ou como flavorizantes em alimentos, composição centesimal semelhante à matéria prima e qualidade sanitária.

#### 5 Agradecimentos

À Fundação Araucária pela concessão da bolsa de estudos a primeira autora. À Agropolo Agroindustrial

pela orientação, auxílio com a metodologia de desenvolvimento dos hidrolisados e concessão dos aditivos alimentares utilizados. Às empresas Tilápia Brazilian Fisheries Pescados e Peixes pelo fornecimento da matéria prima, a Novozymes pelo fornecimento da enzima Protamex® e a Prozyn BioSolutions pelo fornecimento da enzima Brauzyn®100.

#### 6 Referências Bibliográficas

- AMIZA, M. A.; NURUL-ASHIKIN, S. FAAZAZ, A. L. Optimization of enzymatic protein hydrolysis from silver catfish (*Pangasius sp.*) frame. *International Food Research Journal*, v. 18, p. 751-757, 2011.
- ARASAKI, L. H. Otimização do processo de obtenção de hidrolisado proteico de carne escura de atum (*Katsuwonus pelamis*). 86 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade de Campinas, Campinas, 2000.
- BENÍTEZ, R.; IBARZ, A.; PAGAN, J. Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, v. 42, n. 2, p. 227-36, 2008
- BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos, Brasília, 2001.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Secretaria de defesa agropecuária. Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, Brasília, 2003.
- CÂNDIDO, L. M. B. Obtenção de concentrados e hidrolisados proteicos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): composição, propriedades nutritivas e funcionais. 207 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.
- CENTENARO, G. S. Efeito do grau de hidrólise nas propriedades funcionais de hidrolisados de corvina (*Micropogonias furnieri*). 102 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2007.
- CENTENARO, G. S.; SALAS-MELLADO, M. Influência das concentrações de enzima e de substrato no grau de hidrólise e no conteúdo proteico de hidrolisados enzimáticos de corvina (*Micropogonias furnieri*). *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 26, n. 1, p. 61-70, 2008.
- DINIZ, F.M. & MARTIN, A.M. Hidrolisado proteico de pescado In: OGAWA, M. & MAIA, E.L. Manual de Pesca. São Paulo: Varela, 1999, p. 360-365.
- FITZGERALD, R. J.; O'CUINN, G. Enzymatic debittering of food protein hydrolysates. *Biotechnology Advances*, v. 24, p. 234-237, 2006.

- FRANCO, G. M. B.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008.
- GBOGOURI, G. A. *et al.* Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. Food Chemistry and toxicology, v. 69, n. 8, 2004.
- GIONGO, J. L. Caracterização e aplicação de proteases produzidas por linhagens de Bacillus sp. 81 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2006.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Instituto Adolfo Lutz. IV Edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
- KUROZAWA, L. E. Estudo dos processos de hidrólise enzimática e secagem por atomização para obtenção de hidrolisado proteico de frango em pó. 148 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2009.
- KUROZAWA, L. E.; PARK, K. J.; HUBINGER, M. D. Influência das condições de processo na cinética de hidrólise enzimática de carne de frango. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 29, n. 3, p. 557-566, 2009.
- LOWRY, O. H *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, v. 193, p. 265-275, 1951.
- MACEDO-VIEGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R. Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. In: CIRINO, J. E. P. *et al.* Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt, 2004. 533p.
- MANSKE, C.; *et al.* Composição centesimal, microbiológica e sensorial do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido ao processo de defumação. Semina: Ciências Agrárias, v. 32, n. 1, 2011.
- MINOZZO, M. G. Patê de pescado: alternativa para incremento da produção nas indústrias pesqueiras. 206f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- NEVES, R. A. M.; MIRA, N. V. M.; MARQUEZ, U. M. L. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 24, n. 1, p. 101-108, 2004.
- NUNES, M. L. Hidrolisado proteico de pescado: obtenção de um produto funcional. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1981.
- PACHECO, M. T. B.; AMAYA-FARFAN, J.; SGARBIERI, V. C. Partial characterization of whey protein concentrate and its enzyme hydrolysates. Journal of Food Biochemistry, v. 26, n. 4. 2002.
- PEZOA, V. G.; MELLADO, M. S. Estudo das condições ótimas de pH e temperatura para atividade enzimática de estratos dos componentes do aparelho digestivo de corvina (*Micropogon furnieri*) e castanha (*Umbrina canosai*). In: PEZOA, V. G.; MELLADO, M. S. Obtenção de um concentrado de proteínas de pescado para alimentos pelo método enzimático, utilizando as próprias enzimas do pescado. Rio Grande: Editora FURG, 1979. p. 5-38.
- ROMAN, J. A.; SGARBIERI, V. C. Efeito da hidrólise enzimática sobre propriedades funcionais de caseína bovina coagulada pela ação da quimosina. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 25, n. 3, p. 468-474, 2005.
- ROSSI, D. M. Utilização de carne mecanicamente separada de frango para produção de um hidrolisado proteico a partir de enzimas microbianas. 112 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2007.
- SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Aquicultura e pesca: tilápias. Estudos de mercado Sebrae/ ESPM – relatório completo, 2008.
- SPELLMAN, D.; O'CUINN, G.; FITZGERALD, R. Physicochemical and sensory characteristics of whey protein hydrolysates generated at different total solids levels. Journal of Dairy Research, v. 72, p. 138-143, 2005.
- VIDOTTI, R. M.; BORINI, M. S. M. Aparas da filetagem da tilápia se transformam em polpa condimentada. Panorama da Aquicultura, v. 16, n. 96, p. 38-41. 2006.
- VIDOTTI, R. M. Tecnologia para aproveitamento integral dos resíduos do agronegócio da piscicultura. In: Castellani, D. (Ed.) I Workshop de Piscicultura do Noroeste Paulista, Votuporanga, São Paulo, 2009.
- VIOQUE, J.; *et al.* Obtenção and uses of protein hydrolysates. Grasas y aceites, v. 52, n. 2, p. 132-136, 2001.