

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

Hidrolisado protéico de pescado :
obtenção de um produto funcional.

MARIA LÚCIA NUNES
Engenheira-Agrônoma

ORIENTADOR

PROF.DR. EDISON JOSÉ GEROMEL

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrí-
cola da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Tí-
tulo de Mestre em Tecnologia de Alimentos - Área de Pescado.

- 1981 -

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus pais

Bruno (in memoriam) e Maria

Aos meus irmãos e sobrinhos

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Paraíba, Centro de Tecnologia, Departamento de Tecnologia Química e de Alimentos e à CAPES/PICD.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, UNICAMP.

Ao Prof. Dr. Edison José Geromel, pelo estímulo, dedicação constante e orientação segura na execução deste trabalho.

Ao Dr. Luis Fernando Galli das Centrais Energéticas de São Paulo (CESP), pela doação dos peixes.

Ao Frigorífico Tavares, na pessoa do seu Diretor-Presidente, Sr. Antonio Tavares, pela estocagem congelada dos peixes.

À Cooperativa Central dos Produtores de Açúcar e Alcool (COPERSUCAR), na pessoa do Diretor-Superintendente Dr. Werther Aniquino, pela doação do álcool.

À Biobrãs (Bioquímica do Brasil S/A), na pessoa do seu Assessor para Desenvolvimento de Produtos, Marcio A. Al-

meida, pela doação da bromelina.

Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), nas pessoas de seus pesquisadores e funcionários da usina-piloto da Seção de Tecnologia do Pescado e Recursos Marinhos e da Seção de carne, pelo auxílio prestado nas operações de pre-processamento do pescado e na realização de algumas análises dos produtos elaborados.

Aos técnicos do Laboratório de Tecnologia.

Aos funcionários da biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola e, em especial, à Srta. Creusa Kasumi Nomura, pela revisão das referências bibliográficas.

À Srta. Telma Silvia Assad Sallum pela realização dos serviços datilográficos desta tese.

A todos que, de alguma maneira, contribuíram e tornaram possível a realização deste trabalho, nossos agradecimentos e gratidão.

CONTEÚDO

	Página
Índice de tabelas	i
Índice de figuras	ii
Resumo	iii
Summary	v
Introdução	1
Revisão da Literatura	5
Concentrado Protéico de Pescado (CPP)	5
Histórico	5
Definição	6
Métodos de obtenção	8
Especificações	11
Composição química e valor nutritivo	13
Usos e aceitação	16
Propriedades Funcionais	17
Propriedades sensoriais	20
Solubilidade	21
Capacidade de emulsificação	22
Formação de espuma e estabilidade da es - puma formada	23
Mecanismo de hidrólise e fatores que influem no rendimento, propriedades e uso dos hidrolisados protéicos de pescado	24

Complexação Proteína-Fosfato	27
Tilápia	29
Bromelina	31
Potencial de Utilização do Concentrado protéico de Pescado	32
Material e Métodos	35
Pescado	35
Enzima	35
Solvente	35
Hexametáfosfato de sódio	35
Equipamentos	35
Determinação das condições de hidrólise	38
Processamento do hidrolisado protéico	39
Preparação da matéria-prima	39
Descongelamento	41
Lavagem	41
Hidrólise e complexação	41
Centrifugação	42
Extração dos lipídios com etanol	42
Lavagem com água e neutralização	43
Secagem e moagem	43
Métodos de avaliação	43
Análises químicas	43
Análises microbiológicas	44
Análises das propriedades funcionais	44
Solubilidade	44
Dispersibilidade	45

Absorção de água	45
Capacidade de gelificação	45
Capacidade emulsificante	46
Estabilidade emulsificante	46
Formação da espuma e estabilidade da espuma formada	47
Resultados e Discussão	48
Lavagem com água	52
Efeito da temperatura na Extração de Lipídios.	54
Eficiência de cada etapa da Extração dos Lipí- dios	56
Secagem	59
Rendimento e Composição Química	61
Matéria-prima	61
Produtos	64
Características Gerais dos Produtos Obtidos..	66
Propriedades Funcionais	70
Solubilidade	70
Dispersibilidade	74
Absorção de água	76
Capacidade de gelificação	77
Capacidade emulsificante	79
Formação da espuma e estabilidade da es- puma formada	82
Conclusões	85
Bibliografia	88

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela	Página
1. Especificações para os vários tipos de concentrado protéico de pescado	12
2. Composição química de concentrado protéico de pescado preparado por vários métodos	13
3. Comparação da composição de aminoácidos em concentrado protéico de pescado e ovo inteiro .	14
4. Classes gerais das propriedades funcionais importantes em aplicações alimentícias	19
5. Efeito da temperatura na extração dos lipídios	55
6. Composição química e contagem microbiológica da matéria prima e dos produtos	63
7. Rendimento da matéria-prima e produtos	66
8. Características gerais dos produtos	67
9. Granulometria dos produtos	70
10. Dispersibilidade dos produtos	75
11. Absorção de água dos produtos	76
12. Capacidade de gelificação dos produtos	78
13. Capacidade e estabilidade emulsificante dos produtos	80
14. Formação e estabilidade da espuma dos produtos	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1.	Plano do secador horizontal tipo túnel em "U".. 37
2.	Fluxograma do processamento do hidrolisado proteico 40
3.	Grau de hidrólise do músculo triturado de <u>ti</u> lápia, pH6,5; bromelina:proteína (1:100) 50
4.	Grau de hidrólise do músculo triturado de <u>ti</u> lápia, pH 6,5; bromelina:proteína (1:100) 51
5.	Redução do teor de lipídios em função da ex- tração com etanol a 50°C e lavagem com água ... 57
6.	Curva de secagem em túnel para os produtos sem e com lavagem 60
7.	Solubilidade dos produtos em água, em função do pH 72
8.	Solubilidade dos produtos em NaCl 0,6 M, em função do pH 73

RESUMO

Concentrado protéico de pescado com boas propriedades funcionais foram elaborados a partir de carne de híbrido de tilápia (macho de Sarotherodon hornorum x fêmea de Sarotherodon niloticus) através de modificação das proteínas por hidrólise parcial com bromelina e complexação com hexametafosfato de sódio. Os controles não sofreram modificações.

Após a extração dos lipídios com etanol a 50-60°C, hidrolisado e controle foram submetidos aos seguintes tratamentos: com e sem lavagem com água e neutralização.

Todos os produtos elaborados preencheram as especificações químicas e microbiológicas da OMS/FAO/UNICEF para concentrado protéico de pescados tendo sido enquadrados no tipo B quanto ao teor de lipídios.

O rendimento dos controles foi de 10,8% com base no peso de carne triturada e desossada e 7,3% com base no peso do peixe inteiro. Para os hidrolisados, estes rendimentos foram de 5,0 e 3,4%, respectivamente. Todos os produtos apresentaram uma coloração areia com exceção do hidrolisado lavado e neutralizado que mostrou uma coloração amarela. Tanto o controle lavado como o hidrolisado lavado e neutralizado apresentaram um aspecto poroso e leve odor a peixe enquanto que os

produtos não lavados e não neutralizados apresentaram o aspecto de um pó fino com leve odor a álcool.

As propriedades funcionais dos produtos não lavados e não neutralizados se apresentaram superiores às dos produtos que foram submetidos àqueles tratamentos. A solubilidade de todos os produtos variou em função do pH apresentando um grande aumento em meio alcalino onde a solubilidade em água foi maior que em solução salina.

Com as modificações introduzidas nas proteínas, obteve-se melhor solubilidade, dispersibilidade em água, capacidade emulsificante, estabilidade emulsificante e, em maior grau, formação e estabilidade de espuma. Não foram observadas grandes diferenças na capacidade de gelificação entre os hidrolisados e os controles enquanto que a capacidade de absorção de água mostrou-se menor nos hidrolisados.

A melhoria das propriedades funcionais observadas nos produtos modificados sugere que os hidrolisados assim elaborados possam ser incorporados em sistemas alimentícios tais como em substituição parcial da albumina do ovo, elaboração de produtos emulsificados e como base na preparação de bebidas protéicas.

SUMMARY

Fish protein concentrate showing good functional properties were produced from the flesh of tilapia hibrids (Sarotherodon hornorum males x Sarotherodon niloticus females) through modification of the proteins by partial hydrolysis with bromelain and complexation with sodium hexametaphosphate. Controls were submitted to modifications.

Following lipid extraction with ethanol at 50 -60°C, hydrolysates and controls were submitted the following treatments: part of the material was both washed with water and neutralized and part was not.

All products met both chemical and microbiological specifications of WHO/FAO/UNICEF for fish protein concentrate. The products were classified as type B with regard to lipid content.

The following yields were observed with respect the weight of both deboned fish flesh and whole fish: a) controls: 10.8% and 7.3%, respectively, b) hydrolysates: 5.0% and 3.4%, respectively.

All products showed a color resembling sand. The exception was the yellowish color exhibited by the

product that had been submitted to washing and neutralization.

Both the controls that had been washed and the hydrolysates that had been washed and neutralized assumed the aspect of a porous material and exhibited slight fish odor. The products that had not been neither washed nor neutralized had the aspect of a finer powder with a slight ethanol odor.

Functional properties of the products that had neither been washed nor neutralized were superior to those of the products that were submitted to these operations.

Solubility of all products changed with pH. In the alkaline range, solubility was greater than in the acidic side the solubility in water being much higher than in 0,6 N NaCl solution.

With the modifications introduced in the proteins, the following functional properties were improved : solubility, dispersibility, emulsifying capacity, emulsion stability and, to a higher degree, foam formation and stability. Gelling properties of controls and hydrolysates were similar. Water absorption was higher in the controls than in the hydrolysates.

The improvement of functional properties observed in the products that had been submitted to the modifications suggests that hydrolysates prepared as in present

work could be incorporated in food systems in applications such as partial replacement of egg albumin, in the formulation of emulsion products or in the formulation of milky beverages.

INTRODUÇÃO

As necessidades nutricionais de um segmento significativo da população mundial não são satisfeitas, principalmente no que se refere à insuficiência de proteína de alta qualidade. Entre as várias fontes de proteína de origem animal ainda sub-exploradas, a principal delas encontra-se no meio aquático.

Proteínas de pescado apresentam um grande potencial no sentido de auxiliar a suprir a demanda mundial de proteínas. Uma das formas pelas quais se poderia obter um aumento na disponibilidade mundial de proteínas de pescado seria através da produção de concentrados protéicos. Ocorre, entretanto, que no processo de obtenção deste produto muitas das propriedades funcionais das proteínas são seriamente prejudicadas. Desta forma, apesar de ser um produto que apresenta elevado valor biológico, o concentrado protéico de pescado não é ainda utilizado em escala significativa.

Outro fator que tem limitado o uso de concentrado protéico de pescado é seu alto custo. Na tentativa de redução do custo do produto, um dos pontos a serem considerados é o custo do pescado (YÁÑEZ et alii, 1976). No Brasil, um candidato potencial para este tipo de produto é a tilápia. En

4

tre os fatores que a colocam como excelente fonte de matéria prima para a produção de concentrado protéico pode-se relacionar: a) sua abundância, b) baixa aceitabilidade para consumo "in natura", c) baixo valor comercial, d) baixa familiaridade junto ao consumidor brasileiro, e) disponibilidade durante quase todo o ano, f) fortes incentivos do governo federal para o seu cultivo na forma de piscicultura intensiva e g) o fato de ser um pescado, que, como outros pescados de água-doce, apresenta em seus lipídios ácidos graxos menos insaturados que pescados marinhos, reduzindo desta forma problemas de rancidez oxidativa, o qual se constitui em um dos fatores limitantes de aceitabilidade deste tipo de produto.

Outro fator que eleva os custos de produção de concentrado protéico de pescado se situa na necessidade de uma remoção cuidadosa dos lipídios. O processo convencional de produção do concentrado protéico de pescado utiliza isopropanol para tal finalidade. Este solvente apresenta preços bastante elevados no Brasil além de possuir o inconveniente de ter que ser removido, de maneira que o produto final apresente resíduos inferiores a 250 ppm, dada a sua toxidez. Um possível substituto para este solvente é o etanol. Este solvente apresenta preços em muito inferiores ao do isopropanol no Brasil além de não exibir os problemas de toxidez apresentados por aquele composto. Apresenta ainda este solvente baixo ponto de ebulição, boa disponibilidade, boa eficiência na extração de água e lipídios e boas propriedades bactericidas

(SNYDER, 1967), as quais favorecem a sua utilização em CPP. Estudos sobre concentrados protéicos de pescado utilizando este solvente foram realizados por MOORJANI et alii (1968) e por YAÑEZ et alii (1967).

Concentrado protéico de pescado, da maneira como é produzido pelos métodos convencionais tem sido destinado somente à suplementação protéica de outros alimentos pelo fato de não exibir boas propriedades funcionais. Na tentativa de se reduzir os problemas de aplicação e aceitabilidade do produto resultantes da perda destas propriedades, inúmeros estudos já foram executados (TANNENBAUM et alii, 1970a; COBB & HYDER, 1972; MILLER & GRONINGER, 1976 e DAS et alii, 1979). O objetivo destes estudos foi principalmente o de se introduzir modificações no processo convencional de elaboração deste produto a fim de que as proteínas pudessem apresentar melhores propriedades funcionais uma vez que, de acordo com BREKKE & EISELE (1981), o aumento na funcionalidade das proteínas proporciona uma maior flexibilidade de sua aplicação. Uma das modificações introduzidas no processamento de concentrados protéicos de pescado tem sido através de hidrólise enzimática de suas proteínas. Entretanto, um alto grau de hidrólise resulta em um produto de sabor amargo devido à formação de peptídeos de baixo peso molecular MACKIE (1974). FUJIMAKI et alii (1971) sugerem que isto possa ser evitado através de uma hidrólise parcial.

O objetivo do presente trabalho foi: a) desen -

volver um processo de modificação do concentrado proteico de tilápia por hidrólise parcial, b) substituir isopropanol por etanol na operação de remoção de lipídios do produto e c) avaliar as propriedades funcionais dos produtos obtidos pelo método proposto.

REVISÃO DA LITERATURA

Concentrado Protéico de Pescado (CPP)

Histórico

Produzir concentrado protéico de pescado para consumo humano não se constitui em novidade. Na história romana há indícios de manufatura de um produto dietético, o "liquamen". Este produto era elaborado a partir de peixes pequenos e não utilizados diretamente como alimento, e por isso pode ser considerado como um protótipo do CPP (PARISER, 1967).

O objetivo original de se produzir CPP era o de utilizá-lo na forma de um suplemento protéico de alta qualidade, o qual pudesse ser incorporado de maneira imperceptível, principalmente a alimentos ricos em carboidratos e deficientes em proteínas como, por exemplo, alimentos à base de cereais (CHAPMAN, 1967).

Esforços foram feitos por organizações como a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura), UNICEF (Fundo das Nações Unidas para a Infância) e OMS (Organização Mundial de Saúde) no sentido de estimular a

produção de CPP e, desta forma, contribuir para o alívio das deficiências protéicas através do mundo (PARISER, 1967). No entanto, por razões de ordem técnica e econômica, este produto, da maneira como era idealizado, não despertou de imediato interesse entre os empresários. Ultimamente, no entanto, CPP vem sendo estudado em vários países com o fim de que as propriedades funcionais da proteína nativa possam ser mantidas ou mesmo melhoradas de modo que este produto possa ser utilizado como aditivo protéico funcional em vários sistemas alimentícios.

Definição

O termo concentrado protéico de pescado foi adotado pela FAO em 1961, em substituição ao nome que predominava anteriormente (farinha de pescado para consumo humano), com a finalidade de se evitar confusão com farinhas de cereais, as quais apresentam semelhanças físicas com o CPP mas diferem em muito em suas propriedades químicas ou no seu uso na formulação de alimentos. Desde então, o termo "farinha de peixe" praticamente caiu em desuso, ficando restrito ao produto utilizado para alimentação animal e cujo processamento e propriedades diferem completamente do CPP. Na literatura internacional a sigla FPC ("fish protein concentrate") é largamente utilizada ao se fazer referência ao concentrado protéico de pescado. O termo "isolado protéico de pescado" é recomendado por FINCH (1970) quando o produto con

tem mais que 96% de proteína em base seca.

MACKIE (1974) define concentrado protéico de pescado como um produto protéico desidratado de pescado, preparado para o consumo humano. Já SNYDER (1967) e STILLINGS & KNOBL (1971) definem CPP como um produto de baixo custo, saudável, estável, de alta qualidade nutritiva preparado para consumo humano a partir de peixe inteiro comestível, por métodos sanitários de processamento de alimentos, sendo um produto mais concentrado em proteína e outros componentes de importância nutricional do que a matéria prima da qual tenha sido elaborado. Já FINCH (1970), não inclui entre os requisitos para o CPP que este seja barato, de alta qualidade nutritiva ou preparado de peixe inteiro, sendo estes fatores determinados pelo seu uso básico. O conceito de se usar peixe inteiro foi desenvolvido a partir do ponto de vista da utilização total da matéria prima. Entretanto, podem haver situações, como no caso da obtenção de isolado protéico, onde se torne necessário remover as vísceras, peles, parte ou todos os ossos e parte ou todas as frações solúveis do pescado.

PARISER (1967), SNYDER (1967) e STILLINGS & KNOBL (1971) citam que CPP pode assumir uma variedade de tipos que diferem no sabor, odor, textura e aparência. Aqueles autores citam também que o produto pode variar desde um material que aparente farinha com sabor e odor a peixe a outro quase que totalmente desodorizado ou ainda desde uma pasta de cor

escura a um pó semelhante a extrato de carne.

Métodos de obtenção

Três métodos gerais de produção de concentrado protéico de pescado (CPP) são conhecidos (KNOBL, 1967; OKADA, 1972; BERTULLO, 1975 e NOVAK et alii, 1977):

a) métodos químicos

Utilizam extração com solvente para remover água e lipídios da matéria prima, resultando em um produto final na forma de um pó de cor clara e quase sem sabor a peixe.

Os métodos químicos são os tradicionalmente utilizados para a produção de CPP. Com exceção da textura, um pouco arenosa, os produtos assim obtidos apresentam boas qualidades nutritivas e sensoriais. Entretanto possuem a grande desvantagem de não apresentarem boas propriedades funcionais.

O solvente utilizado para extração deve apresentar as seguintes qualidades: não ser tóxico, encontrar-se disponível na sua forma pura, oferecer segurança no seu uso, apresentar fácil manuseio, não apresentar perigo de explosão, ser eficiente na remoção de água, lipídios e compostos responsáveis por odores estranhos no produto sem dissolver proteínas ou reagir com as mesmas, exibir baixo ponto de ebulição para evitar excesso de aquecimento do material extraído, ser de recuperação fácil e ser inerte ao material dos equipa-

mentos. Na prática, os solventes mais utilizados tem sido isopropanol, etanol, hexana e dicloreto de etileno.

b) métodos biológicos

Os métodos biológicos (enzimáticos ou por fermentação) são os mais antigos na produção de CPP podendo resultar em produtos nas formas líquidas, de pasta ou de pó. Em geral, ocorre degradação da proteína possibilitando subsequente separação da água e lipídios por meios físicos simples tais como filtração ou centrifugação. Os concentrados produzidos biologicamente contêm produtos de hidrólise de proteínas os quais caracterizam o sabor do produto final, tornando-o distinto do produto obtido pelo método químico que é quase insípido. Uma das principais desvantagens do produto obtido pelos métodos biológicos é um sabor amargo devido aos peptídeos de baixo peso molecular resultantes da hidrólise das proteínas. Há também dúvidas quanto ao de^{cr}escimo do valor nutritivo do produto e do conteúdo de aminoácidos essenciais tais como histidina e triptofano. No entanto, vários trabalhos citados por MACKIE (1974) sugerem que estas dificuldades possam ser eliminadas se o tempo de hidrólise for mantido a um mínimo.

c) métodos físicos

Os métodos físicos envolvem desde técnicas simples como a separação da água e lipídios do pescado por ação mecânica (prensa mecânica ou hidráulica) até técnicas sofisticadas como a passagem de uma descarga elétrica através da pasta de peixe. Estes processos rompem as células com a consequen

te liberação do seu conteúdo. Desta forma, separa-se muito mais facilmente óleo e água dos sólidos. Estes métodos não tem sido muito utilizados.

Existem ainda alguns métodos menos utilizados. CAIOZZI et alii (1968) estudaram um método de produção de CPP para uso em alimentos no qual usavam o detergente lauryl sulfato de sódio em solução a 5% com período variável de agitação. Aqueles autores observaram uma ação efetiva do detergente na remoção da gordura. O CPP assim preparado enquadrava-se no tipo "B" das especificações da FAO. No entanto, CONNELL (1969) cita vários inconvenientes no uso de detergentes para este propósito, no que se refere ao teor residual, toxidez e ineficiência de recuperação, uma vez que o mesmo precipita proteínas.

É sabido que através dos métodos tradicionais, obtêm-se CPP com boas características nutricionais porém sem boas propriedades funcionais. Objetivando obter-se produtos - que apresentem boas propriedades, várias tem sido as modificações introduzidas na elaboração dos mesmos. Dentre elas pode-se citar: hidrólise ácida (MEINKE et alii, 1972) hidrólise alcalina (TANNENBAUM et alii, 1970a,b) e hidrólise enzimática parcial (DAS et alii, 1979) além de modificações químicas por acetilação e succinilação (CHEN et alii, 1975; GRONINGER 1973; MILLER & GRONINGER, 1976).

Especificações

Conforme BRODY (1965), a OMS/FAO/UNICEF especificou critérios para garantir a qualidade dos concentrados proteicos de pescado. No que se refere à matéria prima, podem ser utilizados peixes inteiros, descabeçados, eviscerados ou aparas de filetagem. Em todos os casos, a matéria prima deve estar em condições apropriadas para o consumo humano. Os demais critérios estão especificados na Tabela 1.

Ainda conforme BRODY (1965), existem também especificações para alguns métodos de análises. Para a determinação do teor de gordura do CPP tipo "A" ou "B" é recomendado o método de extração com etanol em ebulição por 6 horas ou clorofórmio: metanol (2:1), enquanto para o CPP tipo "C" pode ser feita a extração da gordura com éter etílico por 6 horas em aparelho de Soxhlet. Não existem especificações para a determinação das propriedades funcionais.

Tabela 1 - Especificações para os vários tipos de concentrado proteico de pescado. (a)

Especificações	Tipos de concentrado protéico de pescado		
	A	B	C
Conteúdo de proteína (N x 6,25) a 10% de umidade	mín. 67,5%	Ídem tipo A	mín. 60,0%
Digestibilidade pela pepsina	mín. 92%	Ídem tipo A	Ídem tipo A
Lisina disponível	mín. 6,5% da proteína	Ídem tipo A	Ídem tipo A
Umidade	máx. 10%	Ídem tipo A	Ídem tipo A
Gordura	máx. 0,75%	máx. 3%	máx. 10%
Cloretos	máx. 1,5%	Ídem tipo A	máx. 2,0%
Sílica	máx. 0,5%	Ídem tipo A	Ídem tipo A
Odor e sabor	ligeiro	nenhuma especificação	Ídem tipo B
Estabilidade na estocagem	acima de 6 meses a 27°C	-	-
	nenhum odor e sabor estranho ou perda de proteína	nenhuma especificação para o odor estranho	Ídem tipo B
Microbiologia	ausência de Enterococos, Salmonela / Shigella, Estafilococos coagulase positiva e anaeróbios patogênicos	Ídem tipo A	Ídem tipo B
		Ídem tipo A	Ídem tipo B
Contagem bacteriana total a 32°C	10 ⁴ col/g	nenhuma especificação	Ídem tipo B
Toxicologia	nenhum aditivo ou resíduo de solvente tóxico	nenhum flavo- <u>r</u> izante ou <u>an</u> -tioxidante, nenhum resí- <u>duo</u> de solven- <u>te</u> tóxico.	Ídem tipo B
Necessidade de testes toxicológicos	sim	sim	sim

(a) BRODY (1965)

Composição química e valor nutritivo

Na Tabela 2 é mostrada a composição química de vários tipos de concentrados protéicos.

Tabela 2 - Composição química de concentrados protéicos de pescado preparado por vários métodos

Método	Referência	Composição química (%)			
		Proteína	Umidade	Lipídios	Cinzas
Fire	DREOSTI (1962)	74,8	5,3	0,6	17,98
Viobin	"	83,5	4,6	0,2	10,96
Extração de merluza inteira com isopropanol	STILLINGS (1967)	80,9	7,71	0,18	13,50
Extração de sardinha inteira com etanol	MOORJANI et alii (1968)	71,4	6,0	0,60	24,3
Astra Nabisco	LAWLER (1970)	92,6	4,73	0,07 ^a	6,4
Método químico com hidrólise parcial	DAS et alii (1979)	90,50	3,74	traços	4,83

(^a) lipídios totais

STILLINGS (1967) comparou a composição em aminoácidos do ovo inteiro com concentrado protéico de pescado (Ta-

bela 3). Resultados semelhantes foram observados em ambos os produtos. A principal diferença encontrada relacionou-se a uma menor quantidade de cistina e triptofano no CPP. Outros estudos indicam os aminoácidos sulfurados como limitantes em CPP.

Tabela 3 - Comparação da composição de aminoácidos em concentrado protéico de pescado e ovo inteiro^(a).

Aminoácidos	CPP (g/16g N)	Ovo inteiro (g/16g N)
Lisina	8,29	6,40
Histidina	1,96	2,40
Arginina	6,83	6,56
Treonina	4,33	4,98
Valina	4,98	7,42
Metionina	3,24	3,14
Cistina	0,86	2,34
Isoleucina	4,37	6,64
Leucina	7,33	8,80
Fenilalanina	4,01	5,78
Tirosina	3,21	4,30
Triptofano	0,97	1,65

(a) STILLINGS (1967)

Vários autores estudaram o valor nutritivo de CPP (KURTZMAN et alii, 1962; JOHNSON et alii, 1962; MORRISON, 1962; MORRISON et alii, 1962; MOORJANI et alii, 1965; DUBROW & STILLINGS, 1970 e YÃÑEZ et alii, 1976).

FOUGERE (1962) cita que CPP produzido pelo processo do isopropanol é nutricionalmente tão bom quanto a albumina do ovo e mais completo do que a caseína.

STILLINGS (1967) comparou o valor nutritivo da caseína, ovo inteiro e duas amostras de CPP encontrando valores de PER de 2,96 , 3,70 , 3,30 e 3,53, respectivamente, o que confirma o alto valor nutritivo do CPP.

O valor nutritivo do CPP varia com o método de processamento. STILLINGS & KNOBL (1971) citam genericamente que a qualidade do CPP produzido por hidrólise enzimática é geralmente um pouco mais baixa do que de CPP produzido por extração com solvente. Já SRIPATHY et alii (1963) estudaram a influência do grau de hidrólise sobre o valor nutritivo do hidrolisado enzimático de peixe. Ao nível de 10% de proteína na dieta aqueles autores encontraram valores de PER de 2,31 a 2,39 para hidrólise por tempo curto e 2,95 para hidrólise por tempo mais prolongado sendo que para proteína do leite desnatado o valor observado foi de 3,19.

Estudos realizados por SPINELLI & KOURY (1970) mostram que quando as proteínas sarcoplasmáticas de pescado

são complexadas com fosfatos, passam a apresentar valores de PER superiores aos da caseína e de proteínas sarcoplasmáticas precipitadas com isopropanol.

Usos e aceitação

Em virtude do seu alto valor nutritivo, o CPP foi originalmente produzido com a finalidade de suplementar dietas deficientes em proteínas. Inúmeros são os trabalhos em que se utiliza este produto no tratamento de kwashiorkor (GRAHAM et alii, 1962).

A incorporação de CPP em uma variedade de alimentos atraentes, agradáveis ao paladar e compatíveis com os hábitos alimentares é sugerida por SIDWELL (1967). Estudos sobre vários tipos genéricos de alimentos foram realizados com o fim de se determinar os níveis adequados de incorporação do CPP, relacionando-os às alterações nas formulações e mudanças nas características dos produtos finais resultantes. Dentre os vários produtos em que o CPP foi incorporado estão bolos, pão, macarrão, sopas e bebidas.

Hidrolisados protéicos de pescado são muito usados como uma fonte de proteína facilmente assimilável no tratamento de pacientes com desordens gastrointestinais e do fígado (SRIPATHY et alii, 1963).

HALLGREN et alii (1973), estudando novos usos para proteína de pescado, recomendam-na para enriquecimento de farinha em produtos de panificação, em sopas, bebidas e alimentos de desmama. Alimentos de desmama foram elaborados substituindo-se os 5% de leite desnatado que continham em sua fórmula por 5% de proteína de peixe e não apresentaram problemas de aceitabilidade. Aqueles autores sugerem ainda que o CPP poderia ser utilizado na alimentação nos casos de pacientes com intolerância à lactose.

MOORJANI & LAHIRY (1970) relatam uma boa aceitação para o CPP preparado por extração com etanol absoluto. Aqueles autores observaram que o CPP pode ser facilmente incorporado a níveis acima de 10% em um número de alimentos preparados a partir de vegetais e também em molhos do tipo "curry", intensificando o sabor e aroma de tais produtos. Quando adicionado ao nível de 2 a 4% em pão e biscoitos, o CPP não introduziu sabor desagradável nos mesmos. No entanto, a sua incorporação a níveis mais altos causa alterações na cor e volume do pão. Aqueles autores observaram ainda que CPP de músculo branco de peixe é mais claro e pode ser adicionado em maior quantidade.

Propriedades Funcionais

Além da necessidade de apresentarem propriedades satisfatórias intrínsecas tais como valor nutritivo, sa-

bor e cor, os produtos proteicos devem possuir certas propriedades funcionais que tornem compatíveis com os vários alimentos onde possam ser incorporados (HERMANSON, 1973). Assim, os fatores mais críticos na preparação de isolados protéicos de pescado são aqueles relacionados às suas propriedades funcionais (SPINELLI et alii, 1974). Para aqueles autores, o termo "propriedades funcionais" inclui todas aquelas propriedades que são relacionadas às características físicas e sensoriais que possam alterar as propriedades de outros componentes em um sistema alimentício.

A Tabela 4 mostra as classes gerais das propriedades funcionais importantes em aplicações alimentícias. Todas estas propriedades variam com o pH, temperatura, tipo e concentração da proteína, força iônica e constante dielétrica do meio. Também são afetadas por outros fatores como presença de carboidratos e lipídios no meio e por modificações no processamento.

Tabela 4 - Classes gerais das propriedades funcionais importantes em aplicações alimentícias relativas a proteínas. (a)

Propriedade geral	Termo funcional específico
Sensorial	Cor, sabor, odor, textura, arenosidade, turbidez.
Hidratação	Solubilidade, dispersibilidade, absorção de água, viscosidade, formação de massa em panificação, capacidade de se umedecer, de se entumescer, de atuar com o agente gelificante, de reter água, de atuar como agente espessante.
Fatores de superfície	Emulsificação, formação de espuma, formação de um filme proteína/lipídio, retenção de lipídios e de sabor.
Estruturais, Texturais e Reológicas	Elasticidade, arenosidade, coesividade, mastigabilidade, viscosidade, adesividade, capacidade de formar uma estrutura ordenada, pegajosidade, agregação, gelificação, capacidade de ser texturizada, formação de massa em panificação, formação de fibra, capacidade de ser extrudada, elasticidade.
Outras	Compatibilidade com aditivos e com enzimas, reatividade com outros componentes.

(a) Adaptado de KINSELLA (1976)

Os métodos de análise das propriedades funcionais variam muito de autor para autor. Esta ausência de padro-

nização torna muitos dos dados obtidos de uso limitado para efeito comparativo destas propriedades entre diferentes produtos. Segundo KINSELLA (1976), os termos utilizados para descrever uma propriedade funcional específica também são muito variáveis o que, às vezes, acarreta dificuldade de interpretação. Aquele autor publicou uma extensa revisão da literatura sobre propriedades funcionais de proteínas. Os conceitos e definições das propriedades abaixo foram extraídos de seu trabalho exceto quando especificamente mencionados.

Propriedades sensoriais

As proteínas afetam certas propriedades sensoriais dos alimentos tais como aparência, cor, sabor e textura. Estes parâmetros são atributos-chave para a aceitabilidade de um alimento. Todavia, objetivando-se eliminar algum problema - como, por exemplo, o de sabor desagradável no alimento, muitas vezes alguma qualidade ou propriedade da proteína é sacrificada. às vezes, embora presentes em concentrações reduzidas (da ordem de ppm) estes sabores e odores desagradáveis se incorporam às proteínas e persistem nos produtos através do processamento. Em tais casos, é necessário uma extração do produto com solventes orgânicos polares. Entretanto, tal extração pode resultar em desnaturação das proteínas, em detrimento de suas propriedades funcionais.

A fração sarcoplasmática irreversivelmente des

naturada durante o processamento contém a maior parte das substâncias que contribuem para o desenvolvimento de sabor e odor desagradável durante e após o processamento de isolado protéico de pescado (SPINELLI et alii, 1972a,b). Para a elaboração de um produto estável, funcional e com boas qualidades sensoriais, a fração sarcoplasmática deve ser removida. Aqueles autores observaram também que, mesmo utilizando só a fração miofibrilar, era necessário modificá-la antes da remoção dos lipídios para que as características funcionais do produto não fossem adversamente afetadas.

Solubilidade

O grau de solubilidade de uma proteína proporciona um bom índice tanto do seu potencial como de limitações de sua aplicação em sistemas alimentícios. De acordo com MATTIL (1971), o estudo das propriedades funcionais das proteínas poderiam ser mais eficientes se uma análise sistemática da solubilidade fosse previamente feita em vários meios iônicos.

Vários termos tem sido usados para designar a solubilidade de proteínas de alimentos com propósitos comerciais. Tem-se: proteína solúvel em água, proteína disponível em água, índice de dispersibilidade da proteína e índice de solubilidade do nitrogênio.

Inúmeros pesquisadores tem tentado preparar

concentrados protéicos de pescado com boa solubilidade. TANNENBAUM et alii (1970a,b) desenvolveram um processo alcalino, obtendo um produto protéico solúvel, levemente castanho e com ligeiro sabor a peixe, o qual foi testado em uma variedade de bebidas leitosas. IBRAHIM & NYNS (1979) estudaram a solubilização de um concentrado protéico de pescado através de hidrólise enzimática. HERMANSON (1973) estudou alguns fatores que afetam a solubilidade de várias proteínas e relatou a influência do pH e de força iônica.

Capacidade de emulsificação

A capacidade de emulsificação de proteínas de pescado foi investigada por COBB & HYDER (1972), GRABOWSKA & SIKORSKI (1974), MILLER & GRONINGER (1976). Três métodos tem sido usados no estudo destas propriedades, sendo o primeiro o mais comum: capacidade emulsificante (CE), estabilidade emulsificante (EE) e atividade emulsificante (AE).

Capacidade emulsificante é usualmente definida como o volume de óleo (mL) que pode ser emulsificado pela proteína (g) antes da fase de quebra da emulsão ocorrer. Estabilidade emulsificante refere-se à habilidade de uma proteína em formar uma emulsão que permaneça inalterada por um certo tempo sob condições específicas. Atividade emulsificante indica se a proteína tem alguma habilidade emulsificante e, neste caso, qual a porcentagem para uma dada quantidade -

de proteína.

As emulsões consistem de gotas de gordura rodeadas por uma membrana-matriz de proteína. Vários fatores afetam a CE de uma proteína. A concentração da proteína e a velocidade de agitação são inversamente proporcionais à capacidade emulsificante. A CE tende a diminuir quando a concentração de proteína aumenta acima de um valor crítico. TSAI et alii (1972) acreditam que quando a concentração de proteína é menor do que um valor crítico, um maior número de polipeptídeos se desenrola durante a agitação. Isto é ajudado por associações hidrofóbicas da cadeia polipeptídica com as gotas de lipídios. Como resultado final tem-se um maior volume/área superficial disponível da proteína e, em consequência, a eficiência de emulsificação é maior.

Conforme HUFFMAN et alii (1975), velocidades muito altas de agitação reduzem a CE. Com o aumento excessivo da velocidade de agitação, gotas menores de óleo são formadas aumentando a área superficial exponencialmente. Com isso, aumenta a necessidade de mais proteína com o agente emulsificador.

Formação de espuma e estabilidade da espuma formada

A formação de espuma em alimentos é medida pelo máximo volume apresentado por uma dispersão protéica após incorporação de ar por agitação ou aeração. A estabilidade da espuma refere-se à habilidade de uma espuma já formada reter

o seu volume por um certo tempo.

A espuma nos alimentos consiste de gotas de ar dispersas em um líquido contendo um agente surfactante. Este agente baixa a tensão superficial do líquido, o que resulta em uma expansão de sua área superficial total. Este agente também baixa a tensão interfacial. A proteína, que se posiciona na interface durante a formação de espuma, sofre uma alteração conformacional resultando em desnaturação.

Quando o tempo de agitação é muito prolongado, ocorre a formação de bolhas pequenas e instáveis. Com a diminuição do tamanho destas bolhas, a área superficial aumenta exponencialmente acentuando a necessidade de mais proteína como material interfacial para encapsular as bolhas de ar. Sem proteína suficiente, a membrana encapsuladora torna-se mais fraca e advém o subsequente colapso da espuma. Das et alii (1979) constataram que a quantidade de espuma é aumentada com o aumento do tempo de agitação, ocorrendo porém um volume máximo após certo tempo de agitação.

Mecanismos de hidrólise e fatores que influem no rendimento, propriedades e uso dos hidrolisados protéicos de pescado

A cinética de hidrólise é basicamente a mesma para proteases de origem animal, de plantas ou microbianas -

(MOHR, 1978). Para aquele autor, a reação enzimática envolve, no mínimo, dois estágios principais. No primeiro, a molécula da enzima torna-se associada às partículas do pescado. Subsequentemente, ocorre a hidrólise com o rompimento das ligações peptídicas e consequente liberação de peptídeos solúveis e aminoácidos.

A hidrólise proteolítica das partículas de pescado caracteriza-se por uma fase inicial rápida durante a qual um número grande de ligações peptídicas são rompidas por unidade de tempo. Geralmente a mistura viscosa de tecido do pescado é convertida em uma pasta liquefeita dentro de 5 a 15 min de hidrólise. Depois, a taxa de hidrólise decresce atingindo uma fase estacionária durante a qual nenhuma hidrólise ocorre. Para MOHR (1978), há evidências de que produtos de inibição interfiram quando proteínas de pescado são hidrolisadas com proteases. Altas concentrações de peptídeos solúveis na reação reduzem a taxa de hidrólise e o rendimento do material liberado na solução. Para MOHR (1980), o rendimento deste material durante a hidrólise depende do pH, tempo e temperatura de hidrólise, do tipo e concentração da enzima e do substrato usado.

Torna-se difícil uma comparação direta entre as diferentes proteases comerciais visto diferirem no seu grau de pureza. Há indicações de que endopeptidases vegetais ou microbianas de largo espectro são geralmente mais efetivas

na solubilização de proteína de pescado do que proteases altamente específicas como a tripsina. Portanto, proteases de largo espectro tendem a dar produtos de menor peso molecular do que enzimas altamente específicas sob as mesmas condições. Vários grupos de pesquisadores (HALE, 1969; CHEFTEL et alii, 1971; MACKIE, 1974) também relatam que as proteases diferem com relação ao seu efeito sobre as proteínas de pescado. Estudos sugerem que um aumento no tempo de hidrólise ou na proporção enzima: substrato resultem em um decréscimo do comprimento médio da cadeia dos peptídeos da fração solúvel. O comprimento da cadeia destes peptídeos formados é um dos parâmetros determinantes das propriedades sensoriais e funcionais dos hidrolisados devido ao fato de propriedades tais como solubilidade, capacidade emulsificante e sabor amargo dependerem, em parte do tamanho da molécula resultante (MOHR, 1980).

FUJIMAKI et alii (1971), observaram que uma hidrólise protéica prolongada com endopeptidases produz peptídeos com sabor amargo, tornando o produto final inaceitável. Estes peptídeos tem uma composição de aminoácidos predominantemente hidrofóbicos, sendo mais amargos do que a mistura de seus aminoácidos livres correspondentes. Há também evidências de que hidrolisados totalmente solúveis podem ser deficientes especialmente em triptofano ao passo que, com uma hidrólise limitada, tais produtos apresentam um bom valor nutritivo.

Complexação Proteína-Fosfato

A reação entre polifosfatos e proteínas é bem conhecida e o efeito modificador que estes fosfatos induzem em alimentos proteínáceos tem sido usados com vantagens pela indústria de alimentos em uma variedade de produtos (PELROY & SPINELLI, 1971). Para aqueles autores, proteína e polifosfatos formam complexos de composição variável. Tal composição depende da concentração de fosfatos e proteína na solução e do pH no qual o complexo é formado. No entanto, é possível que, proteínas complexadas sob diferentes condições tenham características nutricionais diferentes.

Considerando que, em condições ácidas, proteínas solúveis reagem com fosfatos condensados formando um complexo fosfato-proteína insolúvel, SPINELLI & KOURY (1970) estudaram a formação e possíveis usos destes complexos. Aquela autores reagiram quatro tipos de fosfatos com proteínas sarcoplasmáticas de pescado para determinar a quantidade de proteína que poderia ser precipitada quando a concentração de fosfato e o pH da solução eram variados. Resultados daquele trabalho mostram que a floculação do complexo-proteína é relacionada ao tamanho da molécula de fosfato. Na presença de hexametáfosfato de sódio (HP), a precipitação quantitativa da proteína ocorre a uma concentração de HP de 0,001 M a pH 4,0. Outros polifosfatos requerem concentrações mais altas em pH igual ou abaixo de 3,5. Para que haja uma precipitação quantitativa no

que se refere ao tempo de reação, os resultados mostram que quando o pH é abaixado para 5,0, a taxa de floculação torna-se muito rápida. Já a pH 4,0, nenhuma diferença é observada nas quantidades de proteínas que permanecem em solução no intervalo de 0 a 60 min.

Hipóteses tem sido aventadas de que polifosfatos formam uma ligação eletrostática com o grupo amina da lisina e arginina (LYONS & SIEBENTHAL, 1966) e provavelmente favorecem a rápida formação do complexo, independentemente da temperatura (SPINELLI et alii, 1971). Como a temperatura parece não ter influência na formação do complexo, não há necessidade de seu controle antes da adição do HP e do ácido.

No que se refere às características sensoriais e nutricionais dos concentrados obtidos pelo processo fosfato-aquoso investigado por SPINELLI et alii (1971), nenhuma diferença em sabor e odor foi notada quando comparado com o processamento químico usando isopropanol, o mesmo acontecendo com o PER.

Proteínas complexadas com HP são mais fáceis de serem trabalhadas do que as não complexadas. Para SPINELLI et alii (1974), isolados protéicos hidrolisados parcialmente, seguidos de complexação com HP, apresentam várias vantagens sobre outros métodos de modificação enzimática. O rendimento é quantitativo, isto é, com a complexação há uma recuperação final de todas as proteínas funcionais, contrastando com a preci

pitação isoelétrica que pode deixar pelo menos 10% de proteína funcional em solução. Outra vantagem refere-se ao controle preciso da hidrólise pois o pH da mistura pode ser reduzido para abaixo da faixa de atividade da enzima ~~sem~~ ressolubilização das proteínas. Uma outra vantagem é a de que as proteínas complexadas podem ser extraídas com solventes orgânicos polares com prejuízos mínimos às suas propriedades funcionais.

Tilápia

As investigações sobre tilápias iniciaram-se na África em 1900 quando foi estabelecida a taxonomia de 94 espécies deste peixe (CHIMITS, 1955). As tilápias são originárias da África e da Ásia Menor uma vez que não foi detectado qualquer fóssil deste gênero fora destas áreas (CHIMITS, 1957). Estes peixes estão atualmente distribuídos entre várias centenas de espécies, com uma distribuição que abrange principalmente a zona tropical do continente africano bem como das Américas do Sul e Central.

As tilápias pertencem a família Cichlidae e estão distribuídas em dois grupos: a) grupo do gênero Tilapia (espécies herbívoras com poucos raios branquiais e desovam em substrato sendo que ambos os pais guardam seus filhos); b) grupo de gênero Sarotherodon (espécies micrófagas que se alimentam de fitoplâncton ou de alimentos de fundo, com maior núme-

ro de raios branquiais e que praticam incubação oral. O gênero Sarotherodon inclui a maioria de espécies de tilápias - (LOWE-McCONNEL, 1975).

Tilápias tem sido cultivadas em países tropicais com um grau variável de sucesso. A produção tem variado entre 300 a 18 000 kg/ha dependendo da espécie cultivada, métodos e extensão do período de cultivo e fertilidade da água (LOVSHIN et alii, 1974).

No Brasil, um trabalho experimental foi realizado em 1972 com a criação intensiva de tilápia do nilo (Sarotherodon niloticus). Esta espécie apresentou qualidades excepcionais tais como boa adaptação, alta prolificidade e grande rusticidade (PEREIRA, 1979). Experimentos tem sido conduzidos pelo DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra as Secas) em Pentecostes, Ceará, por LOVSHIN et alii (1974) e CARVALHO & FERNANDES (1978) com relação à produção de um híbrido de Sarotherodon hornorum (♂) x Sarotherodon niloticus (♀).

A taxa de reprodução das tilápias inicia-se já com 3 a 6 meses de idade. Além disso reproduzem-se normalmente de 3 a 8 vezes por ano. Isto resulta em uma superpopulação e conseqüentemente em um tamanho reduzido dos indivíduos, o que os torna de baixo valor comercial.

O método mais promissor de controle da reprodu

ção parece ser o cruzamento de espécies selecionadas de maneira a se obter híbridos monossexo. O cruzamento de machos de S.hornurum x S.niloticus resulta em 100% de indivíduos machos. Para constatar o potencial de cultivo destes híbridos, alguns experimentos foram realizados no nordeste brasileiro. As mais altas produções foram obtidas com densidade de 9 000 a 10 000 indivíduos/ha, alimentados com resíduos agrícolas. Para um período de 12 meses, a máxima produção calculada foi de 6 423kg/ha, com alimentação e fertilização química e a uma densidade de 10 000 peixes/ha (peso médio de 60g). Estes híbridos mostraram ser excelentes peixes para cultivo, resistentes a águas de baixa qualidade e a enfermidades, podendo os alevinos serem obtidos com facilidade (LOVSHIN et alii,1974).

Bromelina

O fator mais importante na escolha de uma enzima proteolítica para aplicações em alimentos é a especificidade da mesma. Entretanto outros fatores também devem ser considerados tais como pH ótimo, estabilidade ao calor, presença de ativadores ou inibidores, preço e disponibilidade (REED, 1966).

O nome bromelina designa qualquer protease de algum membro da família das Bromeliáceas (SILVA & AROLA,1980). Estas proteases podem ser isoladas do suco da fruta ou do caule triturado da planta. Para aqueles autores, as principais

aplicações desta enzima se encontram atualmente no amaciamento de carnes, na clarificação da cerveja, em curtumes e nas indústrias têxtil e farmacêutica.

Na produção de hidrolisados protéicos de pescado, vários estudos tem sido realizados utilizando bromelina. HALE (1969) e HEVIA et alii (1976) compararam as atividades de várias enzimas, dentre elas a bromelina. MACKIE (1974), estudando a produção potencial de produtos de pescado para consumo humano, líquidos ou em pó, através de hidrólise enzimática, verificou que em um período de 30 min, a bromelina é mais efetiva do que Proteinase-N bacteriana, proteinase pancreática, papaína, Pronase e tripsina.

Outros estudos foram realizados com bromelina com o fim de se obter produtos de pescado com boas propriedades funcionais (MILLER & GRONINGER, 1976; YÃÑEZ et alii, 1976).

Potencial de Utilização do Concentrado Protéico de Pescado

Concentrado proteico de pescado (CPP) foi produzido, inicialmente, em função de suas qualidades nutricionais. YÃÑEZ et alii (1967) relataram que o futuro deste produto dependia principalmente do seu preço. O custo do CPP é fortemente influenciado por dois fatores: necessidade de extração quase completa dos lipídios do pescado e preço do pescado

utilizado. Após a remoção da umidade e de lipídios, cerca de um quinto do peso da matéria prima é recuperado na forma de CPP. Assim, o custo deste produto é cinco vezes superior ao da matéria prima devido a eliminação de umidade e óleo, além dos custos de processamento (SNYDER, 1962). Quando só se usam filés, o rendimento decresce para 1/12 a 1/15 do peso da matéria prima, aumentando ainda mais os custos de produção. Mesmo assim para MOORJANI & LAHIRY (1970), CPP é ainda a fonte mais barata de proteína animal. Se comparado com o leite desnatado em pó, o CPP produzido no Chile por processos químicos custa a metade do preço do leite por grama de proteína segundo cálculos de YÃÑEZ et alii (1967).

O mercado potencial de um CPP é determinado, por suas propriedades sensoriais, nutritivas e funcionais (HALGREEN et alii, 1973). Em função das propriedades funcionais, o preço pode variar largamente como acontece com o caseinato de sódio (NOVAK et alii, 1977).

Algumas modificações tem sido introduzidas no processamento tradicional do CPP, resultando em produtos com boas propriedades funcionais com o fim de ampliar suas aplicações e aumentar suas perspectivas econômicas. O CPP hidrolisado, por exemplo, vem sendo considerado por vários autores (YÃÑEZ et alii, 1967; HALLGREN et alii, 1973; MACKIE, 1974; MOHR, 1978) como substituto potencial do leite em pó desnatado. JAUBERT (1964), estudando os aspectos de comercialização-

de produtos protéicos em pó, observou que, substitutos do lei
te desnatado no futuro terão que ser usados em grandes quantii
dades e que dentre estes possíveis substitutos estaria o CPP.

MATERIAL E MÉTODOS

Pescado - constou de híbridos de tilápias (machos de Sarotherodon hornorum x fêmea Sarotherodon noloticus). Estes peixes foram criados com ração, em tanques da Estação de Piscicultura da CESP (Centrais Energéticas do Estado de São Paulo) em Promissão, SP. Ao se realizar a despesca, estes peixes tinham sete meses de idade, peso e comprimento médio de 750g e 30cm, respectivamente.

Enzima - utilizou-se bromelina (Biobrãs, Montes Claros, MG). Produto comercial sem especificações de pureza e atividade.

Solvente - etanol a 96% (Copersucar, Piracicaba, SP), produto comercial.

Hexametáfosfato de sódio - produto comercial b-Herzog, sem especificações de pureza.

Equipamentos

- Centrífuga de cesto integrante de um equipamento utilizado para produção de extrato de soja, marca ICMA.
- Tacho aberto provido de camisa de vapor com agitação e capacidade para 100 L, marca ICMA.

- Túnel de secagem (Fig. 1) - Túnel horizontal da planta-piloto do laboratório de matérias-primas Agropecuárias, construído na FEAA/UNICAMP. Este túnel, em forma de "U", é fabricado de madeira, tendo um comprimento útil de 4,60m, uma secção transversal de 27 x 14cm e uma área de 648cm². A câmara de secagem é dividida em duas partes, cada uma dotada de três compartimentos com portas que se encaixam na parede dos mesmos. Cada compartimento pode conter até 4 peneiras de tela de nylon ou arame, medindo 0,39m de comprimento por 0,27m de largura, onde é colocado o produto a ser seco. O aquecimento é efetuado por três resistências elétricas em paralelo. O ar quente é impulsionado para dentro do mesmo por um ventilador movido por um motor de 1CV, trifásico 220 V, fornecendo uma vazão de ar aproximada de 6,5 m³/min. O ar de secagem percorre o sentido longitudinal das bandejas, retirando a umidade do produto (QUEIROZ, 1977).

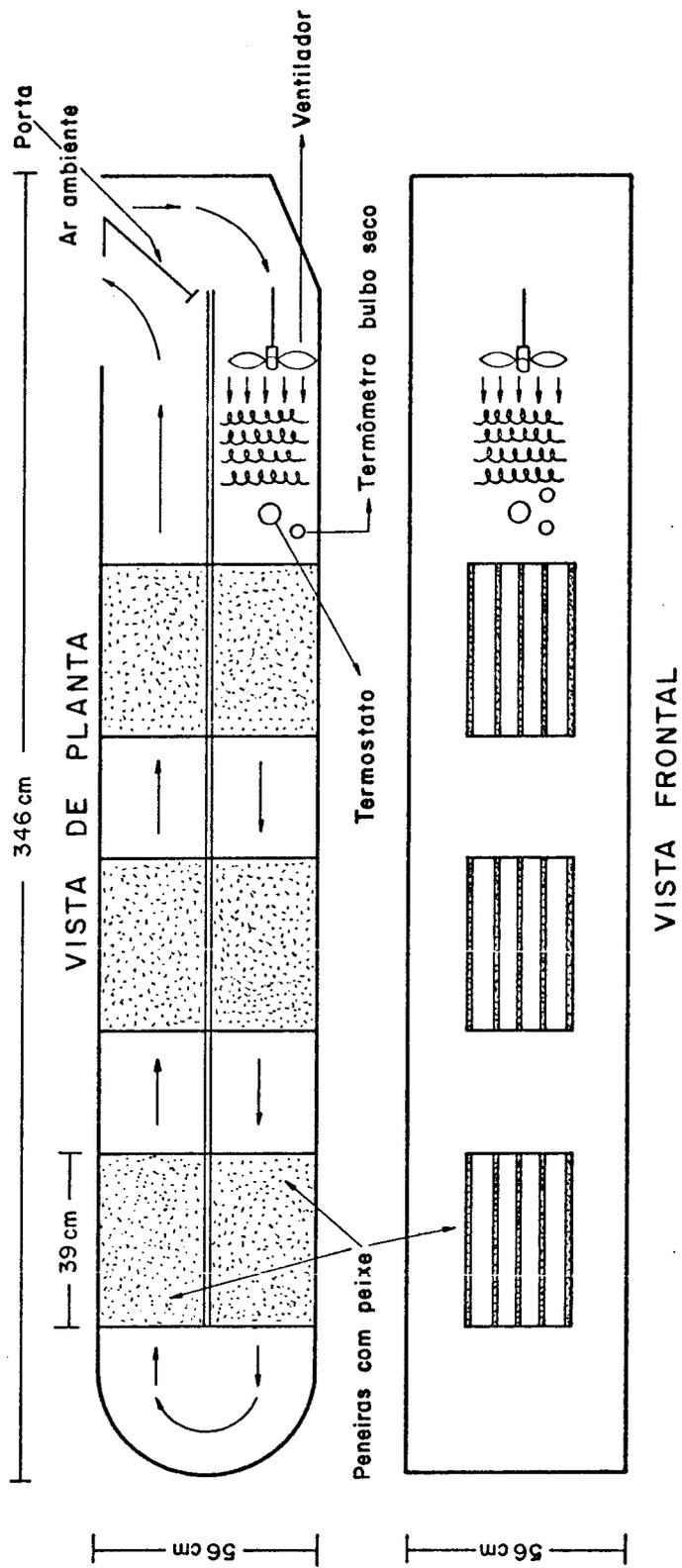


FIGURA 1 - PLANO DO SECADOR HORIZONTAL TIPO TÚNEL EM "U"

Determinação das condições de hidrólise

Em erlenmeyers, uma mistura de músculo tritura do e água (ajustada para 3,5% de proteína) foi submetida a aquecimento em banho-maria com agitação, às temperaturas de 40, 50, 60 e 70°C. O pH da mistura era 6,5, não necessitando de ajustes, por já se encontrar dentro da faixa ótima para a bromelina (REED, 1966).

Após alcançada a temperatura desejada, 1 mL da solução de enzima a 0,85% foi adicionado de modo a manter proporção de 1:100 (enzima:proteína) e os tempos de incubação foram de 15, 30, 60 e 90 minutos. Para cada tempo e temperatura foram também preparados controles do mesmo modo acima, porém substituindo-se a solução de enzima por água destilada. Também foram preparados controles, para cada temperatura no tempo zero. A reação foi interrompida adicionando-se 15 mL de ácido tricloroacético a 15% e agitando-se por cerca de 1 minuto. Passados 30 min em repouso à temperatura ambiente, a mistura foi filtrada em papel de filtro qualitativo e o volume do filtrado ajustado para 50 mL com água destilada.

Dois métodos foram usados para medir a extensão da hidrólise: (1) pela determinação do nitrogênio não proteico (NNP) através do método microkjeldahl conforme A.O.A.C. (1975) e (2) pela determinação da quantidade de material solu-

bilizado, através da secagem de uma alíquota do filtrado em estufa a 105°C até peso constante, sendo o material solúvel expresso como porcentagem do material inicial (HEVIA et alii , 1976).

Processamento do hidrolisado protéico

As principais etapas utilizadas na elaboração do hidrolisado protéico de tilápia e seus controles (concentrado protéico sem hidrólise) encontram-se na Fig. 2.

Preparação da matéria-prima - Após a despesca, realizada com redes, os peixes foram transportados em tambores com água dos tanques de piscicultura até ao laboratório da Estação de Piscicultura da CESP, em Promissão, SP. Esta operação realizou-se em 15 min. Em seguida os peixes foram colocados ainda vivos em caixas isotérmicas com gelo. Nestas condições foram transportados até Campinas, SP o que levou aproximadamente 12 horas . O gelo foi renovado durante a viagem. Na chegada a Campinas , o gelo foi renovado e o peixe estocado nas caixas isotérmicas na ante-câmara de um frigorífico comercial a aproximadamente 0°C por 48 h. Após este tempo foram transportados (cerca de 8 h), também em caixas isotérmicas com gelo, de Campinas às instalações da Seção de Tecnologia de Pescado e recursos marinhos do ITAL, em Guarujá, SP. Aí o pescado foi submetido as seguintes operações: lavagem em água corrente, pesagem, desca

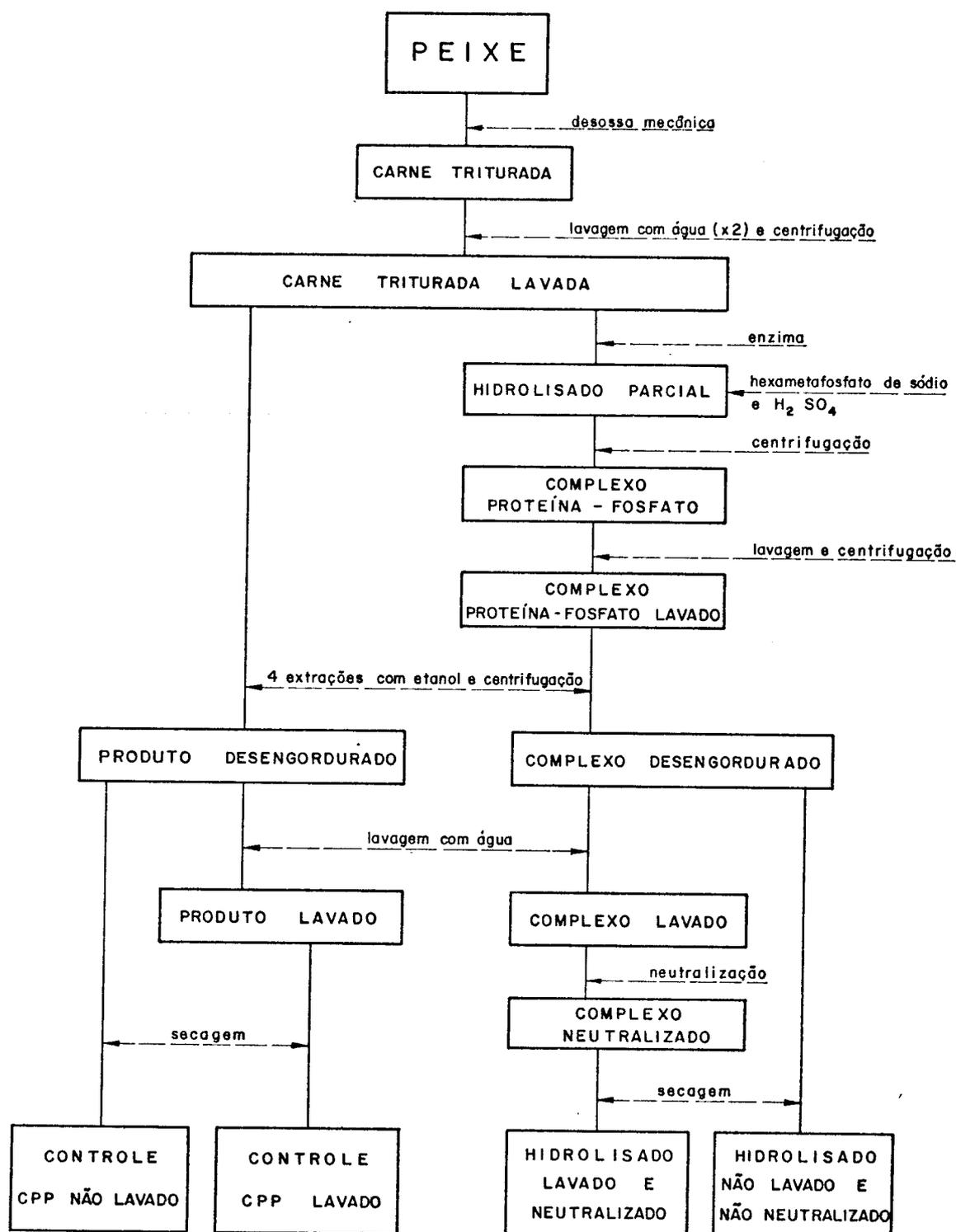


Fig. 2 - Fluxograma do processamento do hidrolisado protéico

beçamento em máquina serradora tipo serra de fita SR, marca SIEMSEN, evisceração manual, lavagem com água corrente e separação da carne, pele, ossos e espinhas, em máquina separadora Bibun, tipo SD x 13, nº 22. A carne triturada foi acondicionada em sacos plásticos, em blocos de 5kg com uma espessura de 6-8 cm, congelada em congelador de placas com refrigerante a -40°C por 1 h, seguido de congelamento em câmara a -25°C por mais 3h. Os blocos assim obtidos foram então transportados em caixas isotérmicas durante 5 h até Campinas. Os blocos congelados foram estocados em câmara de um frigorífico comercial a -25°C até serem processados, tempo este que oscilou entre 5 a 8 meses.

Descongelamento - Realizado com água corrente, à temperatura ambiente (cerca de 20°C).

Lavagem - Antes de cada processamento, a matéria-prima (cerca de 10 kg) foi submetida a duas lavagens com água ($20 - 25^{\circ}\text{C}$) na proporção de 3:1 (água: carne triturada do peixe).

Hidrólise e complexação - A hidrólise foi conduzida em tacho aberto provido de camisa de vapor, com agitação, a $55 - 60^{\circ}\text{C}$, por 45 min. A suspensão da carne triturada com água continha 3,5% de proteína (por ajuste) e a proporção enzima:proteína foi de 1:100. (Não houve necessidade de ajuste do pH pelo fato de o mesmo ser aproximadamente 6,5 e por isso já se encontrar na faixa ótima para a bromelina). Terminado o período de hidrólise, uma solução de hexametáfosfato de sódio a 5%

(baseado no peso da proteína) foi adicionada com o objetivo de formar o complexo proteína-fosfato. Para precipitar este complexo, o pH da mistura foi acidificado em dois estágios, com agitação, para evitar a formação de áreas de alta concentração ácida e reduzir a viscosidade da solução (SPINELLI et alii, 1972 b). Uma solução de H_2SO_4 0,1N foi adicionada até pH 5,0 e em seguida acidificou-se até pH 3,0 com uma solução de H_2SO_4 1N.

Centrifugação - O complexo insolúvel proteína-fosfato foi coletado por centrifugação em centrífuga de cesto a 330 - 350 rpm e lavado duas vezes por suspensão em água. Cada lavagem era seguida de centrifugação na mesma centrífuga. Para a centrifugação, foi confeccionado um filtro de tecido de algodão (BRIM CAMPEÃO) de maneira que o mesmo se adaptasse à superfície interna do cesto da centrífuga.

Extração dos lipídios com etanol - Experimentos preliminares em escala de laboratório foram realizados com o fim de se otimizar a temperatura e número de extrações com etanol para se obter uma eficiente remoção dos lipídios. Em escala piloto, foram realizados experimentos para se avaliar a eficiência da remoção dos lipídios pelas lavagens com água e a eficiência de cada extração com etanol. Durante o processamento foram utilizadas quatro extrações com etanol a 50 - 60°C por 20 min cada, na proporção de 3:1 (álcool:complexo proteína-fosfato lavado). Cada extração era seguida de centrifugação na centrífuga de cesto sob as mesmas condições descritas acima.

Lavagem com água e neutralização - Após a etapa de remoção dos lipídios, tanto os controles como os hidrolisados foram subdivididos em dois lotes. Um era seco e moído, enquanto que o outro sofria duas lavagens com água e neutralização com NaOH até pH 7,0 antes de ser seco e moído.

Secagem e moagem - A secagem foi efetuada em túnel a uma temperatura de 50 - 55°C por 3-6h, baseada em testes preliminares. A moagem foi efetuada na unidade de quebra de um moinho Quadrumat Senior Brabender. Os produtos foram tamizados em peneiras "Granutest" com o fim de se determinar a sua granulometria.

Métodos de avaliação

Todas as análises realizadas tanto na matéria prima como nos produtos foram conduzidas em duplicatas.

Análises químicas

- proteína - método do biureto (TORTEN & WHITAKER, 1964)
- umidade - secagem em estufa a 105°C, até peso constante (AOAC, 1975)
- cinzas - incineração em mufla a 575°C por 5 h (AOAC, 1975)
- lipídios totais - método de BLIGH & DYER (1959)
- gordura - método de extração com éter em extrator de Goldfish por 4 h (extrato etéreo)
- índice de iodo - método de Wijs, segundo KINUMAKI (1972)

Análises microbiológicas

Constaram de contagem padrão em placas, utilizando-se o meio "plate count agar" (Difco). As placas foram incubadas a 32°C e a contagem efetuada após 48 h.

Análise das propriedades funcionais

A não ser quando especificamente mencionado, as análises das propriedades funcionais foram realizadas a pH 6,5 utilizando-se quando necessário, H₂SO₄ 1N e NaOH 1N para ajuste de pH.

Solubilidade - Determinada conforme SPINELLI et alii (1972 b) e McWATTERS & HOLMES (1979), com algumas modificações. A 2,0 g de proteína em erlenmeyers, foram adicionados aproximadamente 30 mL de água destilada ou de solução de NaCl a 0,6 M. Após leve agitação manual, o pH foi ajustado com H₂SO₄ 1N ou NaOH 1N. Os valores de pH testados variaram de 3 a 9. Em seguida, os erlenmeyers contendo o material foram submetidos a uma agitação em shaker (New Brunswick Scientific Company) durante 1 h. O material foi então centrifugado a 800 rpm por 30 min, filtrado em papel de filtro qualitativo e o volume de cada filtrado ajustado para 50 ml. O teor de proteína solúvel (do filtrado) foi determinado pelo método do biureto (TORTEN & WHITAKER, 1964) e calculado como porcentagem da proteína total.

Dispersibilidade - Determinada basicamente segundo DAS et alii (1979). Uma quantidade de 1,0 g de proteína foi disperso em 100 mL de água destilada através do uso de um homogeneizador - Braun MR 4 a 3 400 rpm durante 5 min. A dispersão foi então imediatamente transferida para uma proveta de 100 mL. O grau de dispersão foi medido (em mL) pela máxima decantação a intervalos regulares.

Absorção de água - O método usado para esta determinação foi o de SMITH & CIRCLE (1972), como descrito por MILLER & GRONINGER (1976). Em 20 mL de água destilada, 1,0 g de proteína foi adicionado a um tubo de centrífuga. A adição foi feita gradualmente para evitar a formação de grumos. O material foi centrifugado a 2 000 rpm por 10 min a cerca de 10°C (International Equipment Company, modelo B - 20 A). O sobrenadante foi filtrado em funil contendo pequena quantidade de fibra de vidro. O volume do sobrenadante foi subtraído dos 20 mL originais e o resultado expresso em termos de mL de água absorvida por 1,0 g de proteína.

Capacidade de gelificação - Determinada conforme MILLER & GRONINGER (1976), com algumas modificações. Foram preparadas em tubos de ensaios com tampa rosqueada, dispersões de proteína em água destilada nas concentrações de 5 e 10%. As dispersões nos tubos foram aquecidas em banho a 70-75°C por 20 min. Em seguida os tubos foram transferidos para um banho de gelo e água onde foram mantidos por 60 min. Os resultados foram expressos em

termos de sinais de gelificação após permanência nos tubos no banho de gelo. MILLER & GRONINGER (1976) expressaram os resultados em termos da mais baixa concentração de proteína que permitisse a formação de um gel após 30 min à temperatura ambiente depois da retirada dos tubos do banho de gelo.

Capacidade emulsificante - Determinada conforme SWIFT et alii (1961), com algumas modificações. Em 100 mL de uma solução de NaCl 1M foi disperso 0,5 g de proteína e o material agitado em "Omni Mixer Sorvall" por 1 min a baixa rotação. Após este tempo, óleo de soja comercial foi adicionado na velocidade de 0,8 mL/seg e o material homogeneizado a 13 000 rpm no mesmo aparelho, em banho de gelo e água. A quebra da emulsão foi detectada pela mudança de ruído do homogeneizador. A temperatura da emulsão era de aproximadamente 10°C durante a agitação.

Estabilidade emulsificante - Determinada conforme SPINELLI et alii (1972 b). Uma quantidade de 1,0 g de proteína foi suspensa em 75 mL de uma solução (5 - 10°C) de tampão citrato - fosfato 0,1 M pH 6,5. À suspensão foram adicionados 25 mL de óleo de soja comercial em um mini copo (500 mL) de liquidificador (Arno). A mistura foi homogeneizada por 5 min à velocidade máxima (cerca de 2 480 rpm). A emulsão formada foi colocada em proveta e deixada em repouso à temperatura ambiente - até a quebra da emulsão, indicada pela separação das fases. O comportamento da separação das fases foi observado a interva-

los regulares.

Formação da espuma e estabilidade da espuma formada - Determinadas segundo DAS et alii (1979). Uma quantidade de 1,0 g de proteína foi dispersa em 100 mL de água destilada e a dispersão misturada em homogeneizador Braun MR 4 a 3 400 rpm por 5 min. O volume inicial da espuma foi determinado após a transferência do material misturado para uma proveta de 250 mL. A estabilidade da espuma foi determinada pela medida da redução do volume inicial da espuma observado a intervalos regulares.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação das Condições de Hidrólise

O teor de sólidos solúveis do material hidrolisado foi utilizado por HEVIA et alii (1976), HALE et alii (1969) e IBRAHIM & NYNS (1979) como medida do grau de hidrólise na elaboração de concentrado protéico de pescado. Para HEVIA et alii (1976), apesar de o aumento no teor de sólidos solúveis - não ser uma medida da quebra das ligações peptídicas, os resultados obtidos por aqueles autores mostraram um alto grau de correlação (0,98) quando comparados com o método da ninhidrina. Ressalte-se que aqueles autores utilizaram uma relação bromelina:proteína idêntica à empregada no presente trabalho (1:100).

Tanto o método do nitrogênio não protéico (NNP) como o da solubilidade utilizados no presente trabalho, para acompanhar o grau de hidrólise, refletiram de modo semelhante o efeito do tempo e da temperatura sobre a atividade da bromelina (Fig. 3 e 4). Desta forma, recomenda-se o método da solubilidade como proposto por HEVIA et alii (1976) pela sua maior simplicidade de execução.

Os efeitos do tempo e temperatura sobre a extensão da hidrólise com bromelina estão mostrados nas Figuras 3 e 4. Observou-se que, de modo geral, o grau de hidrólise foi

maior com o aumento no tempo para todas as temperaturas testadas, em ambos os métodos de determinação da atividade enzimática. O máximo grau de hidrólise foi observado na faixa de 50 - 60°C. A temperatura de 50°C foi determinada como ótima por HALE (1969) em um estudo sobre a atividade relativa de algumas enzimas comerciais na hidrólise de proteína de pescado.

Valores de aproximadamente 6% de hidrólise foram observados por SPINELLI et alii (1972 b), após 45 min de hidrólise, com Rhozyme P-11 utilizando uma proporção enzima:proteína de 1:100. Aqueles autores utilizaram o método do NNP como medida do grau de hidrólise. No presente trabalho, um grau de hidrólise semelhante foi observado a um tempo de reação de cerca de 45 min na faixa de temperatura de 50 - 60°C (Fig.3). Estas condições de tempo e temperatura foram as escolhidas para os experimentos subsequentes. Nestas condições, o grau de hidrólise observados no presente trabalho foi de 5,8 - 7,5% pelo método do NNP (Fig.3) e 11,7 - 12,5% pelo método da solubilidade (Fig.4).

Nas Fig. 3 e 4 pode-se observar ainda a atividade proteolítica exibida pelos controles (sem adição de bromelina). Esta atividade endógena foi observada em todas as temperaturas testadas e contribuiu com a bromelina para a hidrólise das proteínas do pescado. A ação de enzimas proteolíticas endógenas sobre as proteínas sarcoplasmáticas do tecido muscular do peixe foi observada por DOLLAR & BLACKWOOD (1962).

4277/BC

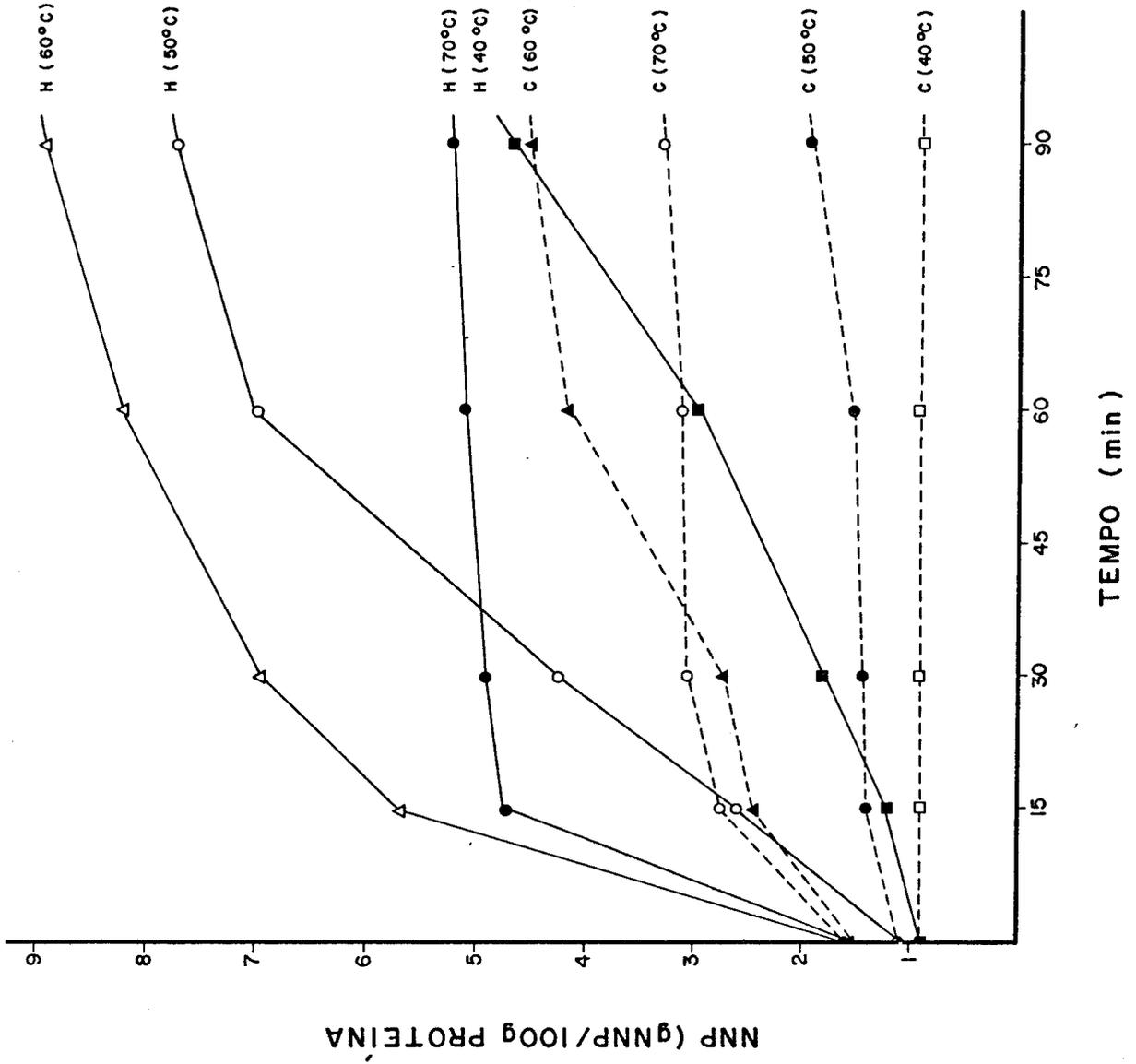


Fig. 3 - Grau de hidrólise do músculo triturado de tilápia, pH 6,5 bromelina:proteína (1:100), C: controle, H: hidrolisado

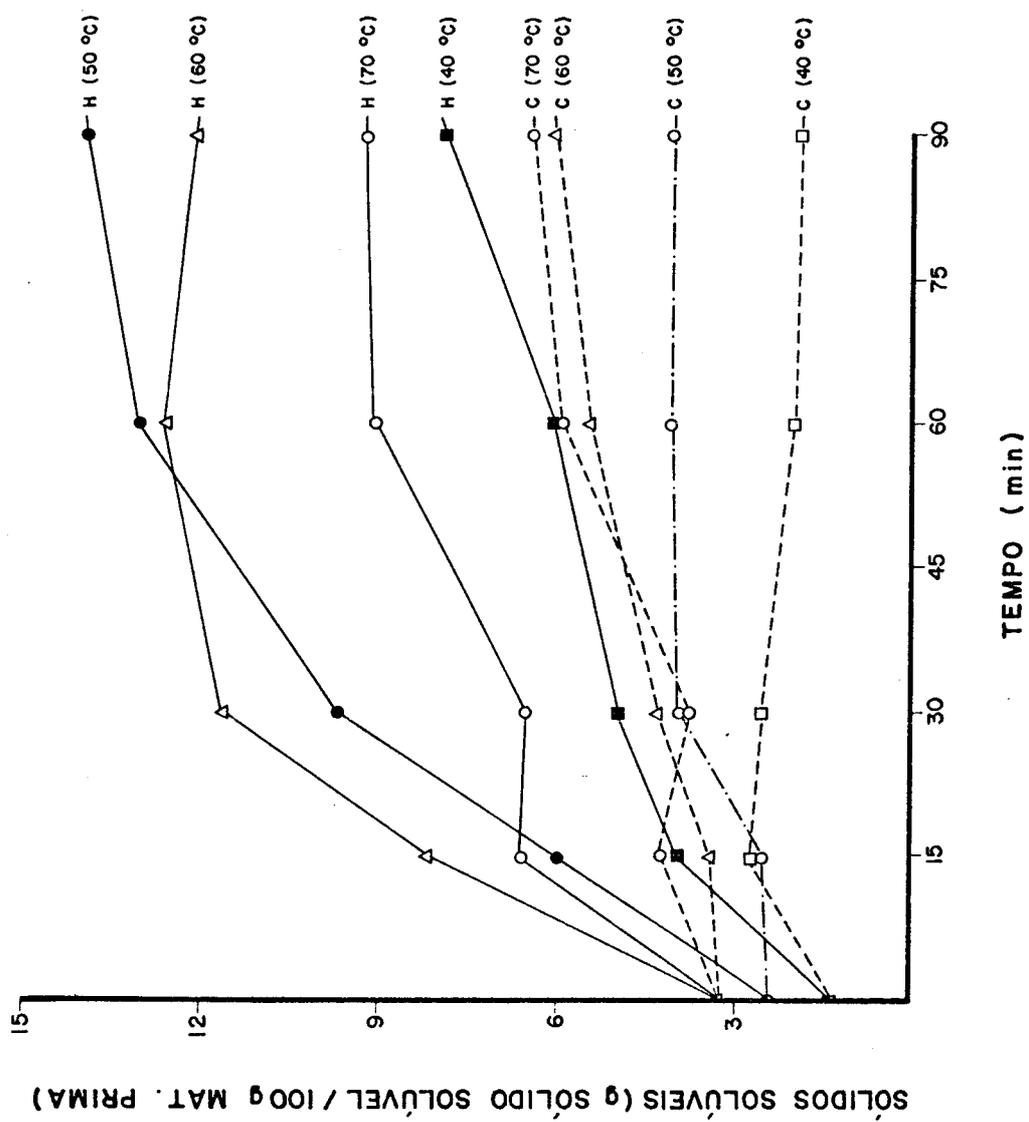


Fig. 4 - Grau de hidrólise do músculo triturado de tilânica, pH 6,5 bromelina:proteína (1:100), C: controle, H: hidrolisado

As catepsinas de pescados apresentam uma atividade superior às de mamíferos em geral. Sua importância na degradação das proteínas do pescado foi enfatizada por SIEBERT & SCHIMITT (1965).

Lavagem com Água

No presente trabalho, as duas lavagens da carne triturada com água efetuadas antes do processamento do CPP apresentaram os seguintes resultados. Observou-se uma alteração na cor da carne triturada, que passou de avermelhada para esbranquiçada, o que sugere a remoção de pigmentos do tipo heme. Verificou-se ainda uma redução do teor de proteínas de 17,5 para 16,4%, possivelmente devido a uma remoção parcial das proteínas sarcoplasmáticas. O teor de lipídios também apresentou uma redução (de 7,5 para 5,3%) o que pôde ser constatada visualmente através dos glóbulos de gordura que eram vistos flutuar na superfície da mistura. Esta redução do teor de lipídios pode ser observada na Fig. 5 e deve-se provavelmente à remoção física da gordura pela operação de lavagem da carne triturada.

SPINELLI et alii (1972 a) observaram que a fração sarcoplasmática do músculo do pescado contém a maior parte das substâncias que contribuem para o desenvolvimento de sabores e odores estranhos ("off-flavors") durante o processamento e estocagem do CPP, daí porque devem ser removidas. O efeito da lavagem antes do processamento na remoção destas substâncias

(pigmentos, sangue, gordura e enzimas) também foi relatado por BLIGH et alii (1974) e YÃÑEZ et alii (1976). FINCH (1970) também menciona a presença de grandes quantidades de certos componentes solúveis em água como frações protéicas solúveis, peptídeos, aminoácidos, pigmentos do tipo heme, nucleosídeos, uréia e aminas os quais podem chegar a perfazer cerca de 20 - 25% dos compostos nitrogenados do pescado. Segundo aquele autor, estes compostos não somente contribuem diretamente para o aparecimento de "off-flavors" em CPP mas também, como é o caso de pigmentos do tipo heme, podem catalisar a oxidação dos lipídios, conforme observado por TAPPEL et alii (1969) em trabalho citado - por FINCH (1970). Muitos destes compostos heme podem ser removidos por uma lavagem com água quando se encontram em seu estado nativo. Após desnaturação pelo calor ou estocagem a frio, estes pigmentos tendem a se tornar insolúveis e a permanecerem - no produto após a extração, contribuindo para uma oxidação acelerada dos lipídios. Em alguns casos, estes pigmentos podem se oxidar durante o processamento e, se presentes em grandes quantidades, podem tornar o CPP escuro, limitando desta forma a sua aplicação em certos alimentos.

STILLINGS & KNOBL (1971) citam que a cor do CPP é variável e depende da espécie de peixe do qual são preparados podendo ser melhorada pela lavagem da carne triturada antes do processamento. MIYAUCHI (1972) e RASEKH et alii (1976) citados por MARTIN (1976), também observaram o efeito benéfico desta lavagem, sugerindo de três a cinco lavagens na proporção

de três a cinco vezes a quantidade de água em função do peso do peixe.

Efeito da Temperatura na Extração dos Lipídios

A Tabela 5 mostra o efeito da temperatura na eficiência da extração dos lipídios bem como a influência dos métodos de análise nestes resultados. As condições de extração, padronizadas em escala de laboratório em estudos preliminares, foram: quatro extrações com etanol na proporção de 3:1 (álcool:peixe) por 20 min cada. Observou-se que a extração foi muito mais eficiente a 50°C do que à temperatura ambiente, em ambos os métodos de análise utilizados. Por esta razão, a temperatura de 50°C foi a escolhida para os experimentos subsequentes.

O fato de o método de BLIGH & DYER (1959) ter resultado em valores maiores se deve a que este método faz uso de uma mistura de solventes, um polar (metanol) e outro apolar (clorofórmio). Esta mistura permite a extração não só dos lipídios apolares (triacilgliceróis, principalmente) como também dos polares (fosfolipídios, principalmente). Já o método de extração com éter ou outros solventes apolares como hexana ou acetona extrai quase que somente os lipídios apolares.

Uma diferença nos valores encontrados para o teor de lipídios em CPP em função dos métodos de análise tam-

bém foi observada por BRODY (1965) e por FINCH (1970). Este último autor cita um trabalho com várias amostras de farinha de peixe onde o teor de lipídios encontrado foi de 14,04% quando analisados pelo método de extração com clorofórmio:metanol e de apenas 12,00% quando o método utilizado foi o de extração com éter.

Tabela 5 - Efeito da temperatura na extração dos lipídios ^(a)

método de análise	teor de lipídios	
	temperatura	
	ambiente ^(b)	50°C
lipídios totais (BLIGH & DYER, 1959)	2,90	2,36
extrato etéreo (extrator de Goldfisch)	1,50	0,58

(a) teor inicial de lipídios totais da matéria prima: 3,77%

(b) cerca de 26°C

Eficiência de cada Etapa da Extração dos Lipídios

Na Fig. 5 são mostradas as etapas empregadas em escala de usina-piloto na tentativa de se reduzir o teor de lipídios do produto.

A simples lavagem da carne triturada com água (duas vezes) contribuiu para uma redução do teor de lipídios. Este fato já foi discutido acima, no item "lavagem com água".

Após quatro extrações com etanol a 50°C com agitação em tacho com camisa de vapor, o teor de lipídios foi reduzido de cerca de 7,5% na matéria-prima para 1,0%. Isto corresponde a uma remoção de 86,6% dos lipídios presentes. Uma lavagem do produto com água após a quarta extração reduziu ainda mais o teor de lipídios para 0,86%. Isto corresponde a uma eficiência de 88,5% no processo de extração, em relação à carne triturada lavada duas vezes com água.

A lavagem do produto com água após as extrações com solvente são geralmente efetuadas com objetivo de se remover resíduos do solvente. Esta operação torna-se necessária principalmente no caso da utilização de isopropanol. Este solvente apresenta um certo grau de toxidez e precisa ser removido do produto final. O resíduo de isopropanol em CPP deve ser inferior a 250 ppm (FINCH, 1970). Este parece não ser o caso do etanol. Dados publicados por aquele autor indicam a seguran

LEGENDA

- A- Matéria prima
- B- Matéria prima lavada com água
- C- 1ª Extração com etanol
- D- 2ª Extração com etanol
- E- 3ª Extração com etanol
- F- 4ª Extração com etanol, sem lavagem posterior com água
- G- 4ª Extração com etanol, com lavagem posterior com água

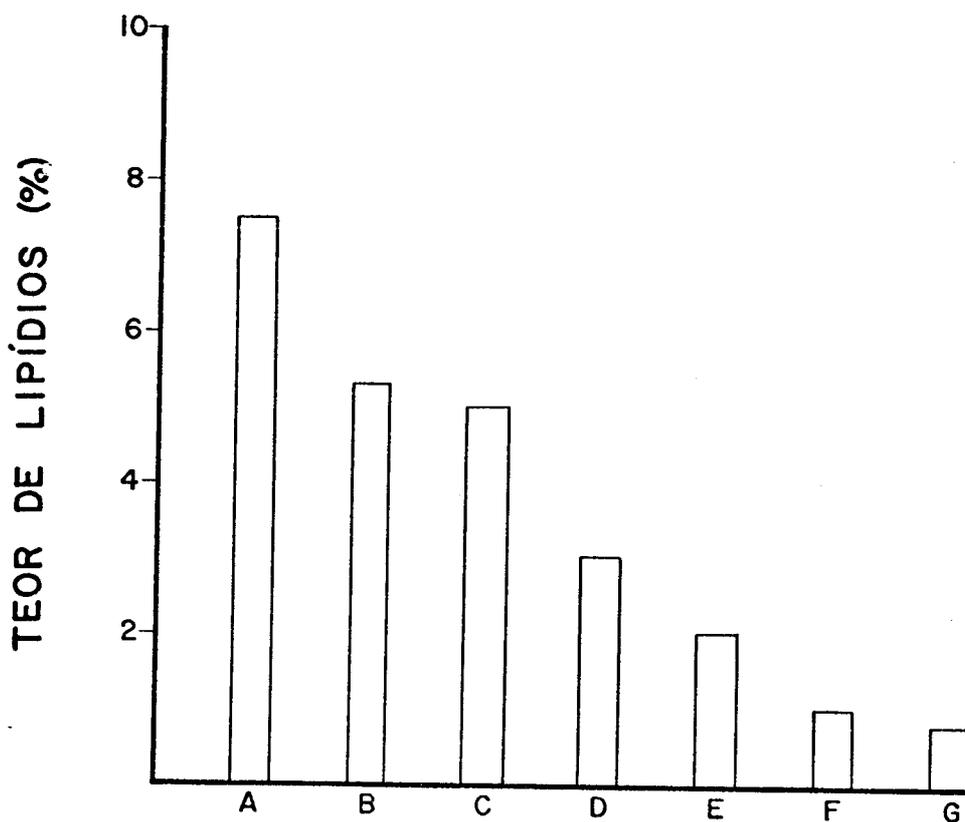


Fig. 5 - Redução do teor de lipídios em função da lavagem com água e extração com etanol a 50°C.

ça de se ingerir 20g diárias de CPP apresentando um nível de etanol residual tão alto quanto 0,5%. Por outro lado, devido ao seu ponto de ebulição mais baixo (78°C), uma proporção muito maior de etanol é removida na secagem em relação a de isopropanol (ponto de ebulição = 82°C). Desta forma, a lavagem com água executada no presente trabalho após as extrações com solvente deve ter apresentado uma contribuição maior no sentido de reduzir os lipídios do produto do que em auxiliar na remoção do etanol.

MOORJANI & LAHIRY (1970) citam que, para obter CPP com menos que 1% de lipídios, são necessárias seis a sete extrações de 15-20 min cada com etanol no ponto de ebulição. No entanto, aqueles autores empregaram em seus estudos uma espécie de sardinha com elevado teor de lipídios e, do que se depreende do trabalho, não realizaram lavagem com água anterior à extração com solvente.

O teor de lipídios em CPP deve ser o mais baixo possível para que sejam evitados problemas com rancidez oxidativa do produto. SPINELLI et alii (1972 b) mostraram que para se manter as qualidades sensoriais de isolados protéicos de pescado durante a estocagem, o teor de lipídios do produto deveria ser inferior a 0,2%. Há que se levar em conta, no entanto, que a maioria dos estudos com CPP foi realizada com pescados de águas frias e temperadas. Estes pescados apresentam em seus lipídios ácidos graxos muito mais insaturados do que pes-

cados tropicais. Desta forma, é possível que o produto elaborado com um peixe tropical como a tilápia não apresente problemas tão drásticos de autoxidação dos lipídios como pescados de águas frias e temperadas e, por isso, o teor final de lipídios no produto possa ser um pouco maior. É necessário que estudos mais detalhados sejam desenvolvidos nesta área.

Uma indicação do grau de insaturação dos lipídios pode ser obtida através do índice de iodo. Este índice varia em média de 103 a 176, dependendo da espécie de pescado (ZAITSEV et alii, 1969). O índice de iodo pode, porém, ser alterado pela oxidação dos lipídios (KINUMAKI, 1972).

No presente trabalho, encontrou-se para os lipídios do músculo do híbrido de tilápias um valor de 89,4 para o índice de iodo. Isto indica que, provavelmente, os problemas de oxidação do produto final não sejam tão importantes como para espécies com um teor de insaturação mais elevado. No entanto, este resultado deve ser tomado com cautela em virtude de a análise ter sido feita em amostras de músculo (não triturado) após armazenamento por 8 meses a cerca de -25°C . Isto pode ter resultado em certo grau de oxidação dos lipídios e conseqüente redução do índice de iodo.

Secagem

Na Fig. 6 são mostradas as curvas de secagem do

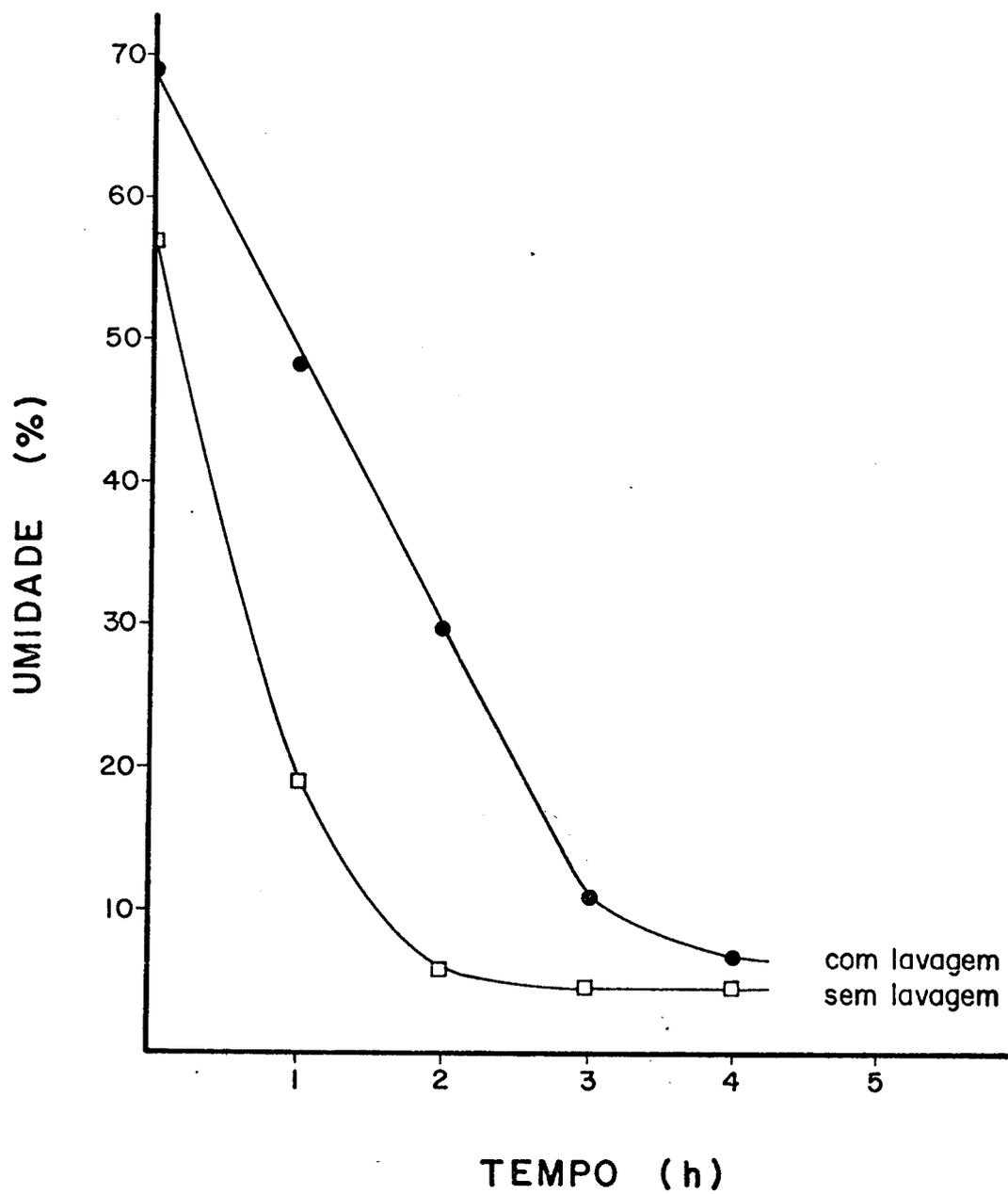


Fig. 6 - Curva de secagem em túnel para os produtos com e sem lavagem.

produto obtido após a extração dos lipídios com etanol . O material que sofreu lavagem com água após as extrações apresentou um teor de umidade de cerca de 69% enquanto que aquele que não foi submetido à lavagem exibiu cerca de 57%. Esta diferença se refletiu em uma taxa menor de secagem para o produto lavado. Enquanto que para o produto não lavado foi necessário um tempo de 1,65h para que a sua umidade fosse reduzida para 10%, o produto lavado levou 3,20h para atingir o mesmo nível de umidade. A OMS/FAO/UNICEF especifica que o teor de umidade de CPP deve ser inferior a 10% (BRODY, 1965).

Para o material não lavado, a curva de secagem mostra que pouco benefício é obtido secando-se o produto a um tempo maior que 2,5 - 3h. Após este tempo, não se verificou variação sensível do teor de umidade nas condições de secagem utilizadas. Já para o material lavado, o tempo de equilíbrio não foi atingido até 4 horas de secagem.

Estudos preliminares mostraram a inutilidade de se secar os produtos a níveis de umidade inferiores a 7 - 8% . Os produtos com teores inferiores a estes valores rapidamente adquiriam umidade do ar ambiente, equilibrando-se nesta faixa de umidade.

Rendimento e Composição Química

Matéria-prima

Com relação à composição química de tilápias ,

GURGEL & FREITAS (1972) publicaram os seguintes valores médios e amplitudes: matéria seca, 24,8% (20,3 - 29,8%); proteína, 18,9% (18,0 - 21,0%); gordura, 3,4% (0,9 - 7,1%) e cinzas, 2,2% (1,2 - 2,9%). Os mesmos autores, segundo critérios descritos por STANSBY (1961), classificaram esta espécie como magra ou medianamente gorda e de alto valor protéico.

Na Tabela 6 estão os valores de composição química da carne do híbrido de tilápias encontrados no presente trabalho. Observou-se que estes valores são semelhantes aos mencionados acima.

A grande variabilidade no teor de lipídios revelada nos resultados de GURGEL & FREITAS (1972) foi também observada no presente trabalho (3,75 a 7,48%). Note-se, porém, que no presente trabalho todos os peixes provieram de um mesmo lote, eram do mesmo sexo, tinham a mesma idade e foram criados sob as mesmas condições. Uma possível explicação para a variabilidade encontrada reside na gordura cavitária dos peixes utilizados. Esta gordura não foi removida da mesma forma pelos diferentes indivíduos que trabalharam na evisceração. Desta forma os blocos de 5kg elaborados a partir da carne desossada e triturada mecanicamente não apresentaram o mesmo teor de gordura.

O rendimento da carne triturada obtido no presente trabalho (Tabela 7) foi de 67,5% e, portanto, superior aos 56,1% encontrados para a porção comestível de tilápias por

Tabela 6 - Composição química e contagem microbiológica da matéria-prima e dos produtos

produtos	composição química (%)			contagem microbiológica (col./g)
	proteína	umidade	lipídios totais	
matéria-prima (peixe)	17,52	74,32	7,48	$6,0 \times 10^4$
controle sem lavagem	88,22	4,84	1,00	$2,0 \times 10^3$
controle com lavagem	89,64	7,06	0,86	$1,2 \times 10^2$
matéria-prima (peixe)	16,57	76,34	5,00	$8,1 \times 10^3$
hidrolisado sem lavagem e sem neutralização (H ₁)	91,43	3,67	1,62	$2,0 \times 10^2$
hidrolisado com lavagem, com neutralização	86,68	5,88	1,26	$1,5 \times 10^2$
matéria-prima (peixe)	20,08	76,38	3,75	$2,0 \times 10^5$
hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₂)	87,56	6,80	0,48	$1,4 \times 10^3$

GURGEL & FREITAS (1972). O maior rendimento deve-se, provavelmente, ao fato de se ter utilizado separação mecânica no presente trabalho.

Os resultados da Tabela 6 indicam a boa qualidade microbiológica da matéria-prima utilizada nos experimentos (carne desossada e triturada mecanicamente), conforme STANSBY (1961).

Produtos

Com relação à composição química, os produtos (controles e hidrolisados) enquadraram-se nas especificações da OMS/FAO/UNICEF (Tabela 1) citadas por BRODY (1965). Com exceção do hidrolisado H₂ (Tabela 6), que pode ser classificado como do tipo A, os outros produtos enquadraram-se no tipo B com relação ao teor de lipídios. Conforme mencionado na Tabela 1, CPP deve apresentar menos que 0,75% de lipídios para ser classificado como tipo A e menos que 3% para ser enquadrado no tipo B.

Segundo FINCH (1970), se as condições de elaboração de CPP são tais que contaminações microbianas cruzadas são evitadas, as condições de estocagem são sanitárias e o produto não é exposto a ambientes de alta umidade relativa, o crescimento de microorganismos não assume grande importância no preparo e uso de CPP. No presente trabalho, os produtos elaborados (controles e hidrolisados) podem ser enquadrados no

tipo A das especificações da OMS/FAO/UNICEF já referidas (Tabelas 1 e 6).

De um modo geral, o rendimento na elaboração de CPP é baixo. CPP produzido em escala industrial, no Chile, a partir de peixe inteiro apresentou um rendimento de 14,3% em relação ao peso da matéria-prima inicial (YÃÑEZ et alii, 1967). MOORJANI et alii (1968) encontraram valores de 14,6 % em relação ao peixe inteiro e 9,8% em relação ao peixe eviscerado. Valores um pouco menores foram obtidos na elaboração de produtos semelhantes no presente trabalho, isto é, os controles (Tabela 7). Em função da carne triturada, os controles apresentaram um rendimento médio de 10,8% sendo que o rendimento em relação ao peixe inteiro foi de 7,3%.

Os hidrolisados apresentaram um rendimento médio da ordem de 5,0% em relação à carne triturada e 3,4% em relação ao peixe inteiro (Tabela 7). Deve-se ressaltar que uma parcela relativamente significativa das perdas foi devida ao tecido utilizado como filtro na operação de centrifugação. O produto apresentou partículas com aspecto coloidal que não eram retidas pelo filtro. Em ensaios preliminares, outros tipos de tecidos foram testados, porém apresentaram perdas maiores.

Tabela 7 - Rendimento da matéria-prima e produtos

material	rendimento (%) em relação	
	ao peixe inteiro	à carne triturada e desossada
matéria-prima (peixe)	100	67,5
controle (CPP)	7,3	10,8
hidrolisado	3,4	5,0

Características Gerais dos Produtos Obtidos

Na Tabela 8 são mostradas as características gerais dos produtos elaborados no presente trabalho.

O pH do CPP é importante em função de suas aplicações ou da compatibilidade com os sistemas alimentícios onde possa vir a ser incorporado. O pH do material que não foi submetido às modificações enzimáticas e químicas (controles) - apresentou-se próximo à neutralidade. Já os hidrolisados que não sofreram lavagem após as extrações com etanol nem neutralização apresentaram um pH final de 3,0 - 3,5 em virtude da operação de acidificação a que foram submetidos durante o proces-

samento. Por outro lado, o hidrolisado que sofreu lavagem após as extrações com solvente e neutralização com NaOH até pH 7,0 exibiu um pH de 5,9.

A etapa de neutralização do hidrolisado parece ter sido a responsável pela cor amarelada que o produto tomou após a secagem. Nos produtos não neutralizados, tanto nos controles como nos hidrolisados, predominou uma cor areia. Tanto a coloração amarela como a areia podem ou não ser prejudiciais ao uso do produto. Em sistemas alimentícios, onde for pequena a proporção em que o produto entra na formulação, as colorações apresentadas possivelmente não se constituam em entraves para sua aplicação.

Tabela 8 - Características gerais dos produtos

Produtos	características			
	pH	cor	aspecto	odor
Controle sem lavagem	6,5	areia	pó poroso	leve odor a álcool
Controle com lavagem	6,5	areia	pó poroso	leve odor a peixe
Hidrolisado sem lavagem / sem neutralização (H ₁)	3,0	areia	pó homogêneo compacto	leve odor a álcool
Hidrolisado com lavagem/com neutralização	5,9	amarela	pó poroso	leve odor a peixe
Hidrolisado sem lavagem/sem neutralização (H ₂)	3,5	areia	pó homogêneo compacto	leve odor a álcool

MOORJANI et alii (1968) consideraram de boa cor e sabor CPP produzido utilizando-se etanol absoluto no ponto de ebulição para a remoção dos lipídios. Por outro lado, SEN et alii (1966) relatam que, quando etanol 96% é utilizado, o produto desenvolve odor a peixe na estocagem. No entanto, aqueles autores não mencionam o fato de que no processo de obtenção de etanol absoluto, várias substâncias razoavelmente tóxicas são utilizadas para remover a água residual do etanol. Este fato poderia vir a eliminar uma das vantagens do etanol sobre o isopropanol que é a de exibir uma toxidez muito menor.

No presente trabalho tanto os controles como os hidrolisados que não foram submetidos a lavagem com água após a extração com solvente, apresentaram um leve odor a álcool. Por outro lado, aqueles que sofreram esta operação - apresentaram um leve odor a peixe. É possível, portanto, que o álcool estivesse mascarando o odor de peixe do produto. Com a lavagem, e conseqüente remoção do etanol, o odor a peixe sobressaiu-se. Ressalte-se que tanto o odor a álcool como a peixe apresentaram-se em uma intensidade muito pequena não devendo influir na aceitabilidade de sistemas alimentícios - que possam vir a ser formulados com os produtos em questão.

Com relação ao aspecto, os hidrolisados que não foram submetidos a lavagem e neutralização, apresentaram-se na forma de um pó mais compacto e homogêneo que os demais produtos, os quais apresentaram um aspecto mais granulado e poroso.

A granulometria dos produtos é mostrada na Tabela 9. Esta característica é muito importante na aplicação do produto em sistemas alimentícios. Verifica-se pelos resultados da Tabela 9 que, tanto os controles como os hidrolisados, apresentaram uma predominância de partículas retidas na peneira de Tyler 100.

Os hidrolisados produzidos sem lavagem e sem neutralização apresentaram uma proporção razoavelmente mais alta de partículas que passaram pela peneira de Tyler 100. Isto talvez explique o aspecto mais homogêneo e compacto destes produtos (Tabela 8).

O hidrolisado elaborado com lavagem e neutralização apresentou grânulos de tamanhos tão grandes logo após a secagem que, antes de ser submetido à moagem no moinho Brabender Quadrumat Senior teve que sofrer uma moagem prévia (realizada na unidade de moagem de um Brabender Hardness Tester a 60 rpm). Este fato parece estar relacionado à etapa de neutralização. Mesmo sofrendo as duas moagens, este produto apresentou uma menor proporção de partículas que passaram pela peneira de Tyler 100 do que os hidrolisados que não sofreram lavagem e neutralização (Tabela 9).

Tabela 9 - Granulometria dos produtos

Produtos	Quantidade de material retido nas peneiras (%)					
	Tyler					
	8	14	28	48	100	>100
	abertura das malhas da peneira (mm)					
	2,38	1,19	0,59	0,29	0,14	0,14
Controle sem lavagem	0,12	0,24	0,38	11,94	78,01	9,48
Controle com lavagem	0,06	0,18	0,27	39,78	59,49	0,22
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₁)	0,18	0,20	1,46	8,56	59,01	30,44
Hidrolisado com lavagem, com neutralização	0,72	0,61	1,14	25,55	60,10	11,93
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₂)	0,06	0,17	0,42	1,96	58,29	39,10

Propriedades Funcionais

Solubilidade

O grau de solubilidade de uma proteína propor-

ciona um bom índice do seu potencial e limitações de sua aplicação em sistemas alimentícios. MATTIL (1971) adverte que a proteína deve ser solúvel sob as condições de pH e força iônica nos quais será utilizado. Ressalta ainda aquele autor que os estudos das propriedades funcionais das proteínas poderiam ser mais eficientes se uma análise sistemática da solubilidade fosse previamente feita em função destas variáveis.

SPINELLI et alii (1972 b) observaram valores de 20% de solubilidade para proteína miofibrilar de peixe (modificada enzimaticamente), tanto em água como em solução salina a 5%, ambas ajustadas a pH 7,0. No presente trabalho os valores de solubilidade encontrados neste pH foram de aproximadamente a metade dos valores apresentados por aqueles pesquisadores (Fig. 7 e 8). No entanto, uma comparação direta dos resultados pode não ser válida devido a que aqueles autores utilizaram um maior grau de hidrólise e somente a fração miofibrilar.

De maneira geral, a operação de lavagem do hidrolisado não influíu de modo marcante na solubilidade das proteínas, tanto em água como em solução salina (Fig. 7 e 8).

Das Figuras 7 e 8 fica também evidente que as modificações introduzidas resultaram em uma solubilidade muito maior dos hidrolisados em relação aos controles. Comparando-se os hidrolisados com os controles, nota-se uma maior solubilidade dos primeiros em todos os valores de pH estudados-

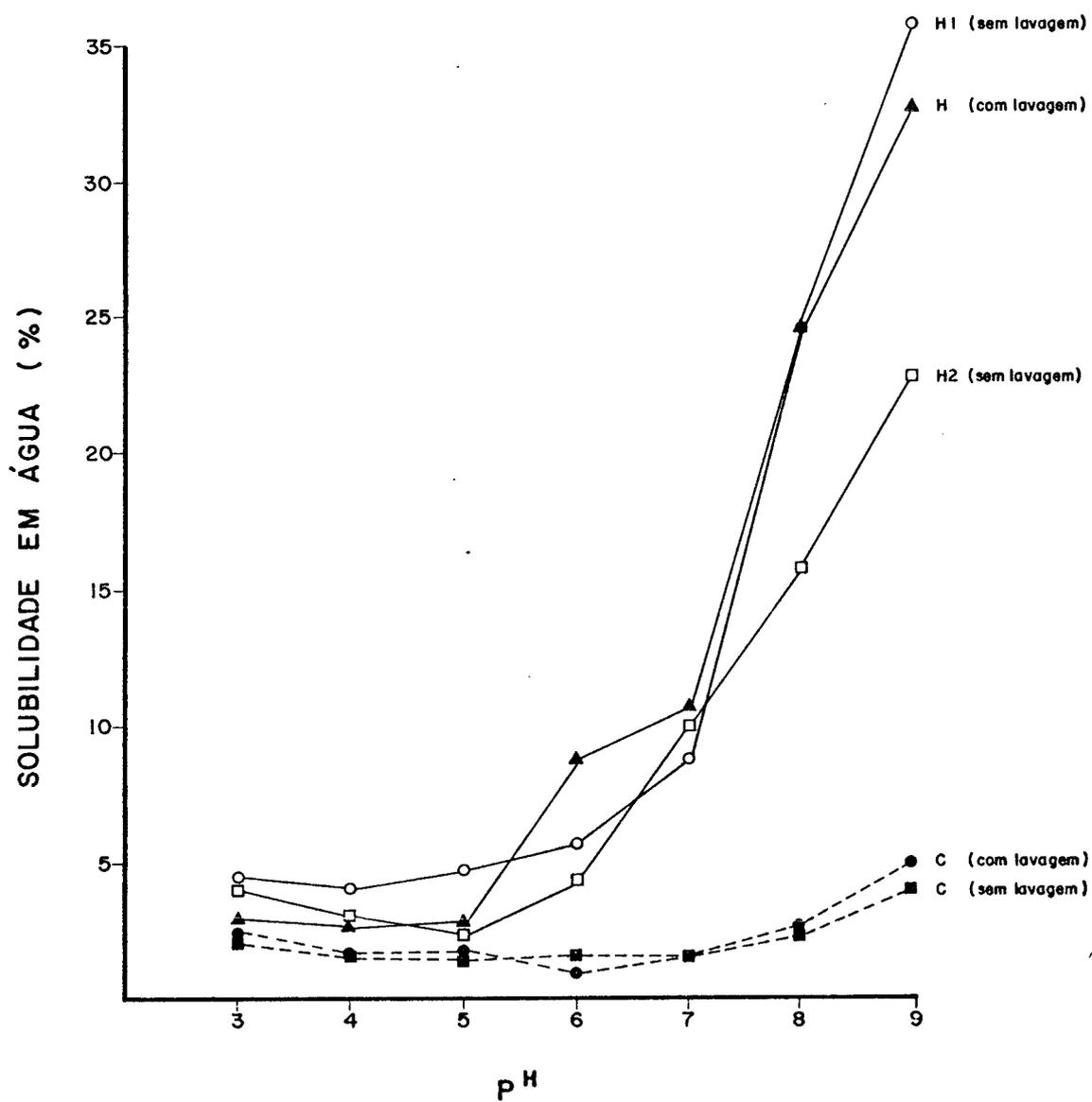


Fig. 7 - Solubilidade dos produtos em água, em função do pH
C: controle, H: hidrolisado.

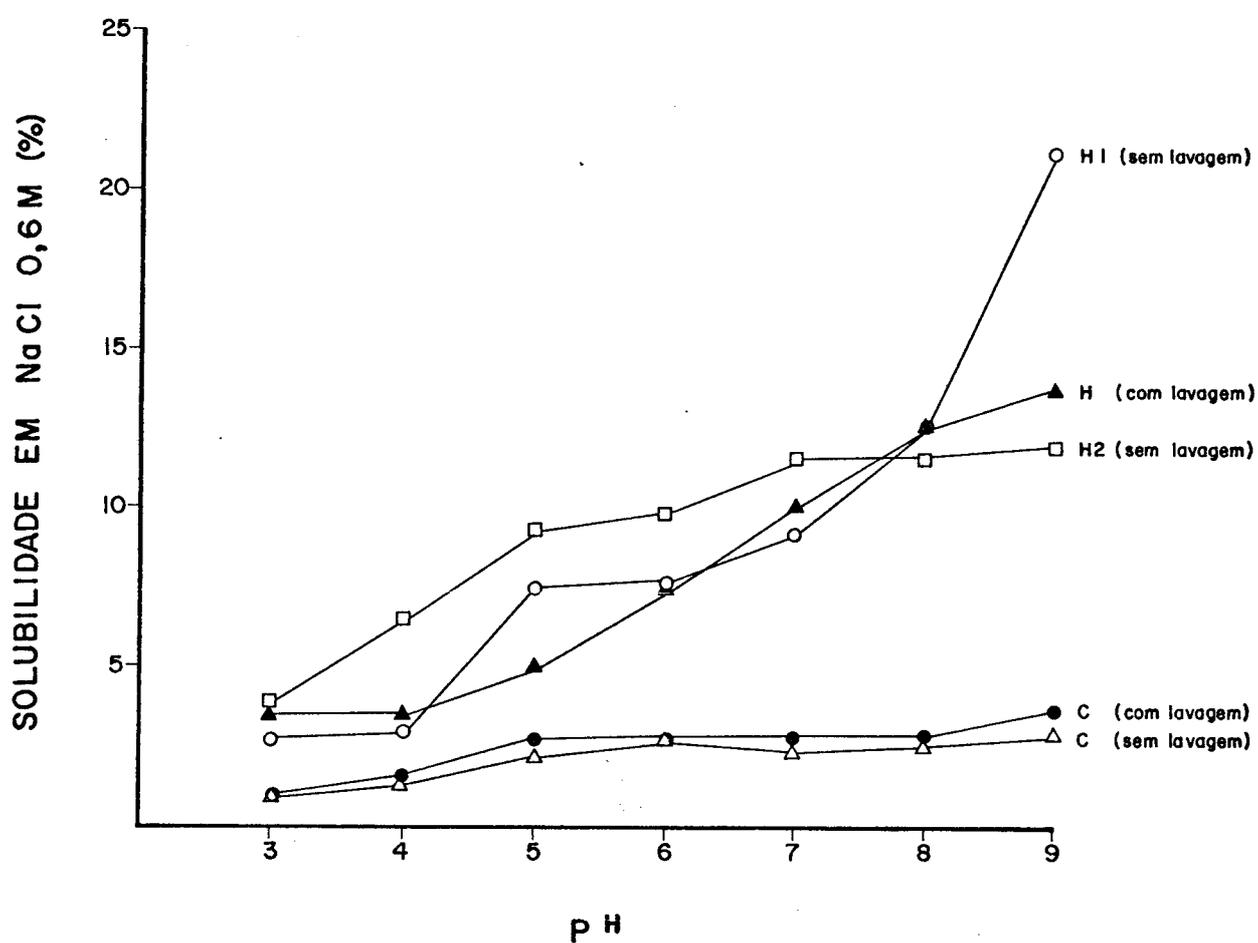


Fig. 8 - Solubilidade dos produtos em NaCl 0,6 M, em função do pH.
C: controle, H: hidrolisado.

e em ambos os meios (água e solução de NaCl 0,6N). De um modo geral, observou-se um aumento de solubilidade em ambos os meios em função do pH, a valores de pH superiores a 4,0 - 5,0.

Em pH alcalino, a solubilidade dos produtos se apresentou muito maior em água que em solução salina. A diferença se apresentou tanto maior quanto maior o pH estudado a ponto de, a pH 8,0, a solubilidade em água ter sido aproximadamente o dobro daquela observada em solução salina. É de se notar que a fração protéica mais abundante nos músculos de pescados (assim como de outros animais) é a miofibrilar (cerca de 75 - 80% das proteínas). Em seu estado nativo, as proteínas miofibrilares apresentam uma solubilidade muito baixa em água, sendo no entanto solúveis em soluções salinas 0,6N. Desta forma, pode-se inferir que as modificações introduzidas nas proteínas no presente trabalho alteraram sobremaneira este comportamento.

Dispersibilidade

DAS et alii (1979), estudando o melhoramento da funcionalidade de CPP através de hidrólise enzimática, observaram uma relação direta entre a dispersibilidade e o grau de hidrólise. Valores de 80% de dispersão foram observados por aqueles autores quando o grau de hidrólise era de 18,7%, enquanto que o produto não hidrolisado apresentava uma dispersibilidade muito pequena. No presente trabalho, os produtos hidrolisados também mostraram uma dispersibilidade maior que a dos contro -

les (Tabela 10). Os hidrolisados que não sofreram lavagem e neutralização apresentaram melhor dispersibilidade e uma decantação mais lenta que o hidrolisado que foi submetido a estas operações. A dispersão mostrou-se também muito mais uniforme nos primeiros.

Tabela 10 - Dispersibilidade dos produtos

Produtos	Volume do material decantado (mL)				aspectos da dispersão
	tempo de observação (min)				
	0	15	30	60	
Controle sem lavagem	3	4	5	5	levemente uniforme, sem grumos
Controle com lavagem	5	6	6	6	heterogêneo, com grumos
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₁)	0	1	2	3	uniforme (dispersão quase coloidal)
Hidrolisado com lavagem, com neutralização	0	2	3	3	quase uniforme
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₂)	0	1	2	2	uniforme (dispersão quase coloidal)

Absorção de água

As modificações introduzidas nos produtos reduziram em cerca de 50% a capacidade de absorção de água em relação aos controles (Tabela 11). O produto H₂ não acompanhou a tendência apresentada pelos outros hidrolisados por razões que não puderam ser identificadas.

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam os dados publicados por MILLER & GRONINGER (1976). Aquelas autores observaram que a hidrólise parcial reduzia a capacidade de absorção de água dos produtos.

Tabela 11 - Absorção de água dos produtos

Produtos	absorção de água (mL de água absorvida/g de proteína)
Controle sem lavagem	7,95
Controle com lavagem	7,07
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₁)	4,00
Hidrolisado com lavagem, com neutralização	3,00
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₂)	6,25

Capacidade de Gelificação

A capacidade de formar gel é uma importante propriedade funcional de proteínas em muitos tipos de alimentos (KINSELLA, 1976).

No presente trabalho, as modificações introduzidas não resultaram em melhoria sensível da capacidade de gelificação dos hidrolisados, ao menos nas concentrações de proteínas testadas (Tabela 12). Notou-se apenas um aumento de viscosidade das soluções na maioria dos produtos. Nos casos em que a formação, ainda que ligeira, de um gel ficou consubstanciada, o gel não se mostrou estável à temperatura ambiente. Nos produtos que sofreram lavagem, tanto nos controles como nos hidrolisados, este aumento de viscosidade foi notado nas concentrações de 10% de proteína mas não na de 5%. É possível que às concentrações maiores de proteína, os hidrolisados viessem a apresentar gelificação.

MILLER & GRONINGER (1976), estudando as propriedades funcionais das proteínas de peixe, verificaram que a acilação contribuía para aumentar a capacidade gelificante das proteínas e que a hidrólise diminuía esta capacidade. Os controles acilados não hidrolisados apresentaram capacidade gelificante a partir da concentração de 3% de proteína, enquanto aqueles que sofreram hidrólise, só apresentaram esta propriedade em concentrações a partir de 5% para os de média succinila-

ção e de 7% para os de média e alta acetilação. Os produtos que não sofreram modificações, quer por hidrólise quer por aci-
lação, não apresentaram capacidade gelificante.

Tabela 12 - Capacidade de gelificação dos produtos

Produtos	grau de gelificação (a)	
	concentração de proteína (%)	
	5	10
Controle sem lavagem	<u>±</u>	<u>±</u>
Controle com lavagem	-	<u>±</u>
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₁)	<u>±</u>	<u>±</u>
Hidrolisado com lavagem, com neutralização	-	<u>±</u>
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₂)	<u>±</u>	<u>±</u>

(a) (-) não gelificou

(±) gelificou ligeiramente após repouso em banho de água e gelo, porém não permaneceu estável após 30 min à temperatura ambiente

Capacidade e estabilidade emulsificante

Concentrado protéico de pescado não modificado apresenta propriedades quase nulas de formar e estabilizar - emulsões dependendo da intensidade do aquecimento a que o material é submetido durante a elaboração.

SPINELLI et alii (1972 b) verificaram que, extraíndo o complexo proteína-fosfato com isopropanol a 50, 60 e 70°C, a capacidade emulsificante era reduzida em 13, 14 e 19%, respectivamente. Esta redução se apresentava consideravelmente menor que a experimentada com proteínas não modificadas. Nestes casos, a extração com isopropanol a 50°C reduziu a capacidade emulsificante em mais de 50% sendo que a uma temperatura de 70°C esta propriedade foi completamente destruída.

Na Tabela 13 são mostrados os resultados obtidos para a capacidade e estabilidade emulsificante. As modificações introduzidas nas proteínas apresentaram um efeito favorável na capacidade emulsificante dos produtos hidrolisados - quando comparados com os controles. Os produtos lavados com água após a extração com etanol apresentaram valores um pouco menores que os produtos não lavados.

Tabela 13 - Capacidade e estabilidade emulsificante dos produtos

Produtos	Capacidade emulsificante (g de óleo/g proteína)	estabilidade emulsificante (mL)					
		tempo (min)					
		0	10	20	30	60	120
Controle sem lavagem	150	4	45	50	54	56	56
Controle com lavagem	136	10	50	55	65	65	65
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₁)	166	0	12	16	41	46	46
Hidrolisado com lavagem, com neutralização	160	0	5	7	9	14	25
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₂)	165	0	7	10	14	34	34

SPINELLI et alii (1972 b) encontraram resultados para a capacidade emulsificante da ordem de 225g de óleo/g proteína para os produtos que sofreram 30 min de hidrólise e valores de 231 g de óleo/ g de proteína para 60 min de hidrólise. Os valores superiores encontrados por aqueles auto -

res em relação aos observados no presente trabalho devem em parte ser creditados ao fato de que somente a fração miofibrilar foi utilizada naquele estudo. As proteínas miofibrilares apresentam uma capacidade emulsificante muito maior do que a fração sarcoplasmática enquanto que a fração estromática apresenta uma capacidade emulsificante nula (GRABOWSKA & SIKORSKI, 1974).

O congelamento e o armazenamento congelado do pescado resultam em uma redução da capacidade emulsificante de suas proteínas. Carne triturada de bacalhau armazenada no estado congelado por 7 - 8 semanas apresentou uma redução superior a 70% em relação à capacidade emulsificante original - (GRABOWSKA & SIKORSKI, 1974). Tendo a carne triturada de tilápia utilizada no presente trabalho sofrido uma longa estocagem congelada (8 meses), é possível que suas proteínas tenham sofrido uma perda parcial de suas propriedades de emulsificar óleo.

No que se refere à estabilidade da emulsão, as modificações introduzidas mostraram resultados bons. Os resultados da Tabela 13 mostram a estabilidade maior dos hidrolisados em relação aos controles. Note-se que a separação das fases dos controles procedeu-se rapidamente enquanto que os hidrolisados apresentaram-se muito mais estáveis. Com exceção do hidrolisado elaborado com lavagem e neutralização, a separação de fases já havia se completado aos 60 min de observação. Em

isolados modificados de proteínas miofibrilares de pescado , SPINELLI et alii (1972 b) observaram uma estabilidade emulsificante correspondente a 60, 120 e 90 min para os produtos que sofreram respectivamente, 15, 30 e 60 min de hidrólise.

Formação e estabilidade da espuma

As modificações introduzidas influíram de maneira bastante favorável na capacidade de formação da espuma, o que pode ser observado comparando-se controles e produtos modificados (Tabela 14). Um volume maior de espuma é geralmente obtido com um maior grau de hidrólise (GRONINGER & MILLER, 1975 ; MILLER & GRONINGER, 1976), o qual também resulta em uma melhor estabilidade. A formação de espuma em produtos não modificados é quase nula (DAS et alii, 1979).

Um grande decréscimo no volume da espuma formada foi notado ao se despejar a dispersão do copo do liquidificador para a proveta (tempo de 1 min na Tabela 14). Aparentemente, este decréscimo está mais relacionado com o método utilizado (transferir a dispersão para a proveta) do que com uma possível baixa da estabilidade da espuma formada.

Nos produtos modificados que não sofreram lavagem e neutralização, observou-se uma grande estabilidade da espuma formada. A redução do volume da espuma em relação ao tempo de 1 min foi de 36,8% para o produto H₁ e de 21,1% para o H₂. Já no produto lavado (H) , a estabilidade da espuma se

apresentou bem menor: após 120 min houve uma redução de 100% em relação ao tempo de 1 min.

Os resultados de formação e estabilidade da espuma obtidos no presente trabalho assemelham-se aos relatados por DAS et alii (1979) embora aqueles autores tenham utilizado outras enzimas para obter um hidrolisado parcial. GRONINGER & MILLER (1975) encontraram, no entanto, valores bem diferentes utilizando produtos succinilados modificados enzimaticamente. Entretanto, aqueles autores utilizaram durante a análise um maior tempo de agitação. GRONINGER & MILLER (1975) observaram que o volume da espuma alcançava um máximo após 10 a 20 min de agitação a alta velocidade e que a extensão da agitação não alterava o volume da espuma mas sim aumentava a sua estabilidade. No presente trabalho, a velocidade de agitação não foi tão alta (3.400 rpm) e o tempo foi limitado a 5 min, tempo este bem inferior ao utilizado por aqueles autores.

Tabela 14 - Formação e estabilidade da espuma dos produtos

Produtos	volume inicial da espuma (mL)	estabilidade da espuma (vol. em mL)					
		intervalos de observação (min)					
		0	10	20	30	60	120
Controle sem lavagem	0	0	0	0	0	0	0
Controle com lavagem	0	0	0	0	0	0	0
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₁)	120	38	33	30	30	26	24
Hidrolisado com lavagem, com neutralização (H)	111	14	10	6	6	4	0
Hidrolisado sem lavagem, sem neutralização (H ₂)	133	38	37	37	34	34	30

CONCLUSÕES

1. Na hidrólise parcial da carne triturada de tilápias, a bromelina se mostrou mais efetiva na faixa de temperaturas de 50 a 60°C.
2. O teor de substâncias nitrogenadas não protéicas e o teor de sólidos solúveis na fração hidrolisada apresentaram - comportamento semelhante como índices da extensão da hidrólise.
3. A lavagem da carne triturada com água antes do processamento resultou em uma melhor coloração dos produtos, bem como reduziu o teor inicial de lipídios.
4. Em escala de laboratório, quatro extrações com etanol a 50 - 60°C reduziram o teor de lipídios a níveis inferiores a 0,6%. Nas condições de usina-piloto, o teor final de lipídios foi maior (1,0-0,86) devido a perdas na etapa de centrifugação em centrífuga de cesto.
5. Tanto os controles como os hidrolisados elaborados preencheram as especificações da OMS/FAO/UNICEF quanto à composição química e contagem microbiológica. No que se refere ao teor de lipídios, os produtos podem ser classificados como tipo B.

6. Os hidrolisados apresentaram um rendimento equivalente a 46% dos controles. Isto foi decorrente, principalmente, das perdas verificadas durante as etapas de centrifugação.
7. Todos os produtos apresentaram uma coloração areia. No entanto, aquele que foi lavado e neutralizado mostrou-se amarelado. A inclusão das etapas de lavagem e neutralização resultou em um produto com leve odor a peixe. Estas operações alteraram também de maneira negativa as propriedades funcionais em relação aos produtos não lavados e não neutralizados.
8. As propriedades funcionais dos produtos foram alteradas - pelas modificações introduzidas no processamento. A solubilidade, dispersibilidade, capacidade e estabilidade emulsificante e, principalmente, formação e estabilidade da espuma foram melhoradas em relação aos controles não modificados. Não houve grande influência na capacidade de gelificação. A absorção de água foi reduzida em relação aos controles.
9. A solubilidade dos produtos variou em função do pH, aumentando bastante em pH alcalino. Nesta faixa de pH, a solubilidade apresentou-se bem maior em água do que em solução salina.
10. Os resultados obtidos para as propriedades funcionais dos produtos modificados permitem prever um potencial de uti-

lização dos mesmos em sistemas alimentícios tais como: a) substituição parcial da albumina do ovo em formulações de produtos de panificação e em soufflés, b) na formulação de produtos emulsificados como embutidos de carne e maionese e c) servir como base para a preparação de bebidas leitosas.

BIBLIOGRAFIA

1. A.O.A.C. "Official methods of analysis". 11.ed. Washington D.C., Association of Official Agricultural Chemists, 1975.
2. BERTULLO, V.H. Concentrados proteicos e hidrolizados de pescados para uso humano. In:———. Tecnologia de los productos y subproductos de pescados, moluscos y crustaceos. Buenos Aires, Ed. Hemisfero Sur , 1975. p. 427-443.
3. BLIGH, E.G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. & Physiol., 37(8) : 911-917, 1959.
4. _____ ; _____ ; REGIER, L.W., DINGLE, J.R.; LEGENDRE, R. Functional and nutritive food proteins from fish. In: KREUZER, R. ed. Fishery products. Surrey, Fishing News Books, 1974. p. 290-291.
5. BREKKE, C.J. & EISELE, T.A. The role of modified proteins in the processing of muscle foods. Food Technol., 35(5) : 231-234, 1981.
6. BRODY, J. Fish protein concentrate (Fish flow). In: Fishery by products technology. Connecticut, AVI, 1965.

p.209-226.

7. CAIOZZI, M.; ARRIETA, L; VILLARROEL, L.; RAUCH, E. The fish protein concentrate story. 7: New method of FPC production for food use. Food Technology, 22 (6) : 100-102, jun., 1968.
8. CARVALHO, J.N. & FERNANDES, J.A. Criação intensiva de peixes em perímetro de irrigação do DNOCS. Informativo Técnico, (9) : 1-5, jul. 1978.
9. CHAPMAN, W.M. The fish protein concentrate story, 3. fish catch for FPC. Food Technol., 21 (7) : 72, 1967.
10. CHEFTEL, C.; AHERN, M.; WANG, D.I.C.; TANNENBAUM, S.R. Enzymatic solubilization of fish protein concentrate: batch studies applicable to continuous enzyme recycling processes. J. Agr. Food. Chem., 19(1) : 155-161, 1971.
11. CHEN, L.F.; RICHARDSON, T.; AMUNDSON, C.H. Some functional properties of succinylated proteins from fish protein concentrate. J. Milk Food Technol., 38(2) : 89-93, 1975.
12. CHIMITS, P. La tilapia y su cultivo: una bibliografía preliminar. Boletim de pesca de la FAO. 8(1) : 1-35, 1955.
13. _____. La tilapia y su cultivo: segunda reseña y bibliografía. Boletim de pesca de la FAO. 10(1) : 1-27, 1957.

14. COBB III, B.J. & HYDER, K. Development of a process for preparing a fish protein concentrate with rehydration and emulsifying capacities. J. Food. Sci., 37(5) : 743-750, 1972.
15. CONNELL, J.J. The fish protein concentrate story. 8 - On the use of detergents in FPC production. Food Technol. 23(2) : 72-75, 1969.
16. DAS, K.; SHUKRI, N.A.; AL-NASIRI, S.K. Protein concentrate from waste catfish and its quality improvement by enzyme. J. Food. Sci. and Technol., 16(2) : 58-61, 1979.
17. DOLLAR, A.M. & BLACKWOOD, C.M. Endogenous proteolytic enzymes and their action on water-soluble fish tissue proteins. In: HEEN, E. & KREUZER, R. ed. Fish in nutrition. London, Fishing News Books, 1962. p. 83-84.
18. DREOSTI, G.M. Fish flour: technological developments in South African. In: HEEN, E. & KREUZER, R. ed. Fish in nutrition. London, Fishing News Books, 1962. p.425-431.
19. DUBROW, D.L. & STILLINGS, B.R. Effect of heat on the chemical and nutritive stability of fish protein concentrate (FPC). J. Food Sci., 35(5) : 677-680, 1970.
20. FINCH, R. Fish protein for human foods. CRC - Critical Reviews in Food Technology, 1(4) : 519-580, 1970.

21. FOUGERE, H. Fish flour: technological developments in Canada. In: HEEN, E. & KREUZER, R. ed. Fish in nutrition. London, Fishing News Books, 1962. p.413-415.
22. FUJIMAKI, M.; KATO, A.; ARAI, S.; YAMASHITA, M. Application of microbial proteases to soybean and other materials to improve acceptability especially through the formation of plastein. J. Appl. Bact., 34(1) : 119-131, 1971.
23. GRABOWSKA, J. & SIKORSKI, Z. The emulsifying capacity of fish proteins. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF FOOD SCIENCE and TECHNOLOGY, 4. Sept., 1974. Proceedings Madrid, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnologia de Alimentos, 1974. v.2. p. 13-17.
24. GRAHAM, G.G.; BAERTL, J.M.; CORDANO, A. Evaluation of fish flour in the treatment of infantile malnutrition. In: HEEN, E. & KREUZER, R. ed. Fish in nutrition. London, Fishing News Books, 1962. p. 271-274.
25. GRONINGER JR., H.S. Preparation and properties of succinylated fish myofibrillar protein. J. Agric. Food Chem. 21(6) : 978-981, 1973.
26. _____ & MILLER, R. Preparation and aeration properties of an enzyme-modified succinylated fish protein. J. Food Sci., 40(2) : 327-330, 1975.

27. GURGEL, J.J.S. & FREITAS, J.V.F. Sobre a composição química de doze espécies de peixe de valor comercial de açudes do nordeste brasileiro. Bol. Tec. DNOCS. 30(1) : 49-57, 1972.
28. HALE, M.B. Relative activities of commercially available enzymes in the hydrolysis of fish protein. Food Technol. 23(7) : 107-110, 1969.
29. HALLGREN, B.; SJÖBERG, L.B.; STELLEMAN, J. New uses for fish proteins. In: PORTER, J.W.G. & ROLLS, B.A. Proteins in human nutrition. London, Academic Press, 1973. p. 369-381.
30. HERMANSSON, A.M. Determination of functional properties of protein foods. In: PORTER, J.W.G. & ROLLS, B. A. Protein in human nutrition. London, Academic Press, 1973. p. 406-420.
31. HEVIA, P.; WHITAKER, J.R.; OLCOTT, H.S. Solubilization of a fish protein concentrate with proteolytic enzymes. J. Agric. Food Chem. 24(2) : 383-385, 1976.
32. HUFFMAN, V.L.; LEE, C.K.; BURNS, E.E. Selected functional properties of sunflower meal. J. Food Sci., 40(1) : 70-76, 1975.
33. IBRAHIM, A.A.; NYNS, E.J. Solubilization of fish protein

concentrate. Revue des Fermentations et des Industries Alimentaires, 34(1) : 15-20, 1979.

34. JOHNSON, B.C.; METTA, V.C.; SCHENDEL, H.E. The nutritive value of fish flour and its use as a protein supplement. In: HEEN, E. & KREUZER, R. ed. Fish in nutrition. London, Fishing News Books, 1962. p. 264-265.
35. JAUBERT, P. Marketing aspects of powdered products in the future. In: KREUZER, R. ed. Fishery products. Surrey, Fishing News Books, 1974. p. 391-394.
36. KINSELLA, J.E. Functional properties of proteins in foods: a survey. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 7(3) : 219-280, 1976.
37. KINUMAKI, T. Analytical methods of fat and oils. In: UTILIZATION of marine products: text book for marine fisheries research course. s.l.p. Orveseas Technical Cooperation Agency, 1972. p. 170-203.
38. KNOBL JR., G.M. The fish protein concentrate story. 4. World efforts Toward FPC. Food Technol. 21(8) : 1108-1111, 1967.
39. KURTZMAN, C.H.; SNYDER, D.G.; OUSTERHOUT, L.E.; PISKUR, F.T.; BRAUCHER, P.F. Effect of several processing variables on the protein content and quality of fish

- flour. In: HEEN, E. & KREUZER, R. ed. Fish in nutrition. London, Fishing News Books, 1962. p. 228-229.
40. LAWLER, F.K. Pure fish protein. Food Engineering. 42(8): 61-65, 1970.
41. LOVSHIN, L.L.; SILVA, A.B.; FERNANDES, J.A. The intensive culture of the all mall hybrid of "Tilapia hornorum (male) x T. nilotica (female) in northeast Brazil. s.l.p. FAO, 1974. (CARPAS/6/74 SE 22).
42. LOWE-McCONNEL, R.H. Fish communities in tropical freshwater: their distribution ecology e evolution. New York, Longamn In., 1975.
43. LYONS, S.W. & SIEBENTHAL, C.D. On the binding of condensed phosphates by proteins. Biochem. Biophys. Acta, 120, 174. 176, 1966.
44. MACKIE, I.M. Potential production of powdered and liquid fish products for human consumption and animal feed. In: KREUZER, R. ed. Fishery products. Surrey, Fishing News, 1974. p. 137-139.
45. MARTIN, R.E. Mechanically-Deboned fish flesh. Food Technol. 30(9) : 64-70, Sept. 1976.
46. MATTIL, K.F. The functional requirements of proteins in foods. J. Am. Oil Soc. 48(9) : 477, 1971.

47. MCWATTERS, K.H. & HOLMES, M.R. Influence of pH and salt concentration on nitrogen solubility and emulsification properties of soy flour. J. Food Sci., 44(3) : 770-773, 1979.
48. MEINKE, W.W.; RAHMAN, M.A.; MATTIL, K.F. Some factors influencing the production of protein isolates from whole fish. J. Food Sci., 37(2) : 195-198, 1972.
49. MILLER, R. & GRONINGER JR., H.S. Functional properties of enzyme-modified acylated fish protein derivatives. J. Food Sci., 41(2) : 268-272, 1976.
50. MOHR, V. Fish protein concentrate production by enzymic hydrolysis. In: ADLER-NISSEN, J. et al. ed. Biochemical aspects of new protein food. Oxford, Pergamon Press, 1978. p. 53-62. (Proc. 11. Federation of European Biochemical Societies, v. 44. Symposium A3).
51. _____. Enzymes technology in the meat and fish industries. Process Biochemistry, 15(6) : 18-21, 32, Aug/Sept. 1980.
52. MOORJANI, M.N.; BALAKRISHNAN NAIR, R.; LAHIRY, N.L. Quality of fish protein concentrate prepared by direct extraction of fish with various solvents. Food Technol., 22(12): 1557-1561, 1968.
53. _____ & LAHIRY, N.H. The fish protein concentrate story. 9. Efforts in India. Food Technol., 24(1) : 56-59, 1970.

54. MOORJANI, M.N.; LAHIRY, N.L.; BALAKRISHNAN NAIR, R.;
UPADHYE, A.N.; VENKAT RAO, S. Nutritional value of
fish flour. I. Effect of storage of sardine meal prior
to its extraction with ethanol. Food Technol. 19(1) :
110-113, jan. 1965.
55. MORRISON, A.B. The influence of solvent extraction on the
nutritive value of fish protein. In: HEEN, E. & KREUZER,
R. ed. Fish in nutrition. London, Fishing News Books,
1962. p. 201-206.
56. _____ ; MIDDLETON, E.J.; FOUGERE, H.; CAMPBELL, J.A.
Studies on the nutritional value of fish flesh proteins.
In: HEEN, E. & KREUZER, R. ed. Fish in nutrition. London,
Fishing News Books, 1962. p. 201-206.
57. NOVAK, A.F.; RAO, R.M. SMITH, D.D. Fish proteins. In:
GRAHAM, H.D. ed. Food colloids. Westport, AVI Publishing
Co., 1977. p. 292-319.
58. OKADA, M. Fish protein concentrate (FPC). In: UTILIZATION
of marine products. s.l.p. Orveseas Technical Cooperation
Agency, 1972. p. 97-98.
59. PARISER, E.R. The fish protein concentrate story. 2. The
deep yarn of FPC. Food Technol. 21(7) : 1008-1009, 1967.
60. PEREIRA, M.F.C. Considerações niloticus (Lenneaus), no açu-
de "Pereira de Miranda" (Pentecoste Ceará - Brasil). For

táleza, Departamento de Engenharia de Pesca - Centro de Ciências Agrárias, 1979. Tese (Dissertação) - Univ. Fed. do Ceará.

61. PELROY, G. & SPINELLI, J. Availability of Amino Acid in sarcoplasmic fish proteins complexed with sodium hexametafosfato. J. Food Sci., 36(1) : 144-146, 1971.
62. QUEIROZ, M.I. Influência da secagem com coletores solares na qualidade do pescado salgado. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola - UNICAMP, 1977. Tese de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas.
63. REDD, G. Enzymes proteolytic. In: _____. Enzymes in food processing. 2.ed. New York, Academic Press, 1966. p. 109-156. (Food Science and Technology. A series of monographs).
64. SIEBERT, G. & SCHIMITT, A. Fish tissue enzymes and their role in the deteriorative changes in fish. In: KREUZER, R. ed. The technology of fish utilization. London, Fishing News Books, 1965. p. 47-52.
65. SEN, D.P.; SRIPATHY, N.V.; LAHIRY, N.L.; SREENIVASA, A.; SUBRAHMANYAN, V. Fish hydrolysates. I. Rate of hydrolysis of fish flesh with Papain. Food Technol. 16(5) : 138-140, May, 1962.

66. SIDWELL, V.D. FPC in foods. Activities Reports, 19(1) : 118-124, 1967.
67. SILVA, C.E.M. da & AROLA, F.M. Bromelina. Bol. SBCTA, Campinas, (51) : 29-42, 1980.
68. SNYDER, D.G. The fish protein concentrate story. 1. Enter: FPC - Food Technol., 21(17) : 1008, 1967.
69. SPINELLI, J.; DYER, J.; LEHMAN, L.; WIEG, D. The fish protein concentrate story. 13. Aqueous phosphate processing. Food Technol. 25(7) : 713-717, 1971.
70. _____ & KOURY, B. Phosphate complexes of soluble fish proteins. Their formation and possible uses. J. Agric. Food Chem., 18(2) : 284-288, 1970.
71. _____ ; _____ ; MILLER, R. Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. Isolation and properties of myofibrillar and sarcoplasmic fish proteins. J. Food Sci., 37(4) : 599-603, 1972a.
72. _____ ; _____ ; _____. Approaches to the utilization of fish for the preparation of protein isolates. Enzymic modifications of myofibrillar fish proteins. J. Food Sci., 37(4) : 604-608, 1972b.

73. _____ ; GRONINGER JR., H.S.; KOURY, B. Preparation and properties of chemically and enzymically modified protein isolates for use as food ingredients. In: KREUZER, R. ed. Fishing Products. Surrey, Fishing News, 1974. p. 283-289.
74. ~~SEIPATYNY~~ KADKOL, S.B.; SEN, D.P.; SWAMINATHAN, M.; LAHIRY, N.L. Fish hydrolysates. III. Influence of degree of hydrolysis on nutritive value. J. Food Sci., 28(3) : 365-369, 1963.
75. STANSBY, M.E. & OLCOTT, H.S. Composicion del éscado. In: _____ : Tecnologia de la industria pesquera. Zaragoza, Ed. Acribia, 1968. p. 391-401.
76. STILLINGS, B.R. Nutritional evaluation of fish protein concentrate. Activities Report, 19(1) : 109-117, 1967.
77. _____ & KNOBL JR., G.H. Fish protein concentrate: a new source of dietary protein. J. Am. Oil Chem. Soc. 48(8) : 412-414, 1971.
78. SWIFT, C.E.; LOCKETT, C.; FRYAR, A.J. Comminuted meat emulsions - the capacity of meats for emulsifying fat. Food Technol., 5(11) : 468-473, 1961.
79. TANNENBAUM, S.R.; AHERN, M.; BATES, R.P. Solubilization of fish protein concentrate. 1. An alkaline process. Food Technol., 24(4) : 604-607, 1970a.

80. TANNENBAUM, S.R.; BATES, R.P.; BRODFELD, L. Solubilization of fish protein concentrate. 2. Utilization of the alkaline-process product. Food Technol. 24(4) : 607-609, 1970b.
81. TORTEN, J. & WHITAKER, J.R. Evaluation of the biuret and dye-binding methods for protein determination in meats. J. Food Sci., 29(2) : 168-174, 1964.
82. TSAI, R.; CASSENS, R.G.; BRISKEY, E.J. The emulsifying properties of purified muscle proteins. J. Food Sci., 37(2) : 286-288, 1972.
83. YAÑEZ, E.; BARJA, I.; MONCKEBERG, F.; MACCIONI, A.; DONOSO, G. The fish protein concentrate story. 6. Quintero fish protein concentrate: protein quality and use in foods. Food Technol., 21(12) : 1604-1610, 1967.
84. _____; BALLESTER, D.; MONCKEBERG, F. Enzymatic fish protein hydrolysate: chemical composition, nutritive value and use as a supplement to cereal protein. J. Food Sci., 41(6) : 1289-1292, 1976.
85. ZEITSEV, V.; KIZEVETTER, I.; LAGUNOV, L.; NAKAROVA, T.; MINDER, L.; PODSEVALOV, V. Characteristics of fish as raw material for industry. In: _____ ; _____ ; _____ ; _____ ; _____ ; _____. Fish curing and processing. Moscow, Mir Publishers, 1969. p. 17-98.