



## Avaliação da hidrólise enzimática e da solubilidade em concentrado proteico obtido da Carne Mecanicamente Separada de tilápia do Nilo

### Evaluation of enzymatic hydrolysis and solubility in protein concentrate obtained from Mechanically Separated Meat of Nile tilapia

Maria Fernanda Giuglioli<sup>1</sup>, Vitória de Freitas Fante<sup>2</sup>, Poliana dos Santos Mendes<sup>3</sup>; Flávia Aparecida Reitz Cardoso<sup>4</sup>, Adriana Aparecida Droval<sup>5</sup>

#### RESUMO

O estado do Paraná é líder na produção de tilápias do Nilo, e sua maior comercialização é o filé. Neste estudo utilizou-se a Carne Mecanicamente Separada (CMS), a qual é obtida por meio de uma separação mecânica da carne que fica aderida à carcaça após a filetagem. O objetivo deste trabalho foi obter um concentrado proteico (CP) a partir da lavagem da CMS, determinou-se a composição centesimal proximal do CP, e o CP foi submetido a um processo de hidrólise com a enzima papaína aplicando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), tendo o tempo e a concentração da enzima como variáveis independentes, e o grau de hidrólise (GH) e a solubilidade as variáveis dependentes. O CP apresentou 65,94 g/100g de proteína, 7,35g/100g de lipídeos, 13,52 g/100g de umidade e 12,03 g/100g de cinzas. Os experimentos obtiveram valores médios do GH que variam de 83,36 a 131,47 g/100g. A solubilidade apresentou um valor mínimo na faixa de pH 9,0 (41,03 g/100g) e uma solubilidade máxima na faixa de pH igual a 5 (86,003 g/100g). Conclui-se que aumentando a concentração de enzima proteolítica utilizada, bem como o tempo de exposição aumentou consideravelmente a quebra da proteína, influenciando na solubilidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Concentrado proteico, hidrolisado proteico, Papaína e Polpa.

#### ABSTRACT

The state of Paraná is a leader in the production of Nile tilapia, and its biggest commercialization is the fillet. In this study, Mechanically Separated Meat (CMS) was used, which is obtained through mechanical separation of the meat that remains adhered to the carcass after filleting. The objective of this work was to obtain a protein concentrate (CP) from washing the CMS, the proximal proximate composition of the CP was determined, and the CP was subjected to a hydrolysis process with the enzyme papain applying a Rotational Central Composite Design (DCCR), with time and enzyme concentration as independent variables, and the degree of hydrolysis (GH) and solubility as dependent variables. CP presented 65.94 g/100g of protein, 7.35g/100g of lipids, 13.52 g/100g of moisture and 12.03 g/100g of ash. The experiments obtained average GH values ranging from 83.36 to 131.47 g/100g. The solubility showed a minimum value in the pH range of 9.0 (41.03 g/100g) and a maximum solubility in the pH range of 5 (86.003 g/100g). It is concluded that increasing the concentration of proteolytic enzyme used, as well as the exposure time, considerably increased the breakdown of the protein, influencing solubility.

**KEYWORDS:** Protein concentrate, protein hydrolysate, Papain and Pulp.

#### INTRODUÇÃO

<sup>1</sup> Bolsista de Iniciação Científica do CNPq, acadêmica do curso de graduação em Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil. E-mail: mariagiuglioli@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 8074993482016304.

<sup>2</sup> Acadêmica do curso de graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil. E-mail: vitoriadefreitas@outlook.com ID Lattes: 7279298764818499.

<sup>3</sup> Acadêmica do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil. E-mail: polianamendes@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 0891787517619539.

<sup>4</sup> Docente do Departamento Acadêmico de Matemática e Professor Colaborador do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil. E-mail: reitz@utfpr.edu.br. ID Lattes: 2663975071704461.

<sup>5</sup> Docente do Departamento Acadêmico de Alimentos e Engenharia Química e Professor Permanente do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil. E-mail: adriandroval@utfpr.edu.br. ID Lattes: 7498127750441928.



Os hidrolisados proteicos têm algumas vantagens em relação a outras formas de proteína, pois o processo de hidrólise aumenta a velocidade de absorção e utilização das proteínas. Além disso, a hidrólise das proteínas pode melhorar a tolerância digestiva em pessoas com sensibilidade ou intolerância a certas proteínas. A quebra das proteínas em peptídeos pode reduzir o risco de desconforto gastrointestinal associado a mecanismos de proteínas intactas (BENITEZ, IBARZ, PAGAN, 2008).

Muitos alimentos como suplementos esportivos e nutricionais utilizam os hidrolisados proteicos, devido ao seu perfil de absorção rápida e alta concentração de aminoácidos essenciais. Esses produtos são comumente encontrados na forma de pós ou líquidos e podem ser adicionados a bebidas, shakes ou alimentos para aumentar a ingestão proteica (SLIZYTE et al., 2005). O objetivo deste trabalho foi obter um concentrado proteico a partir da CMS da tilápia do Nilo pela ação da enzima papaína, e determinar a solubilidade do concentrado proteico em diferentes valores de pH e o grau de hidrólise.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### OBTENÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO (CP)

O CP foi obtido de acordo com o método de Eisele & Brekke (1981), modificado por SOUZA, et al. (2004). A determinação da composição centesimal proximal do CP: A proteína bruta foi determinada pelo processo de digestão micro-Kjeldahl, de acordo com os Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (2008), o fator de conversão proteico utilizado foi de 6,25. A determinação de lipídeos foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Bligh e Dyer (1959). E a determinação de umidade e cinzas de acordo com os Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (2008).

### PROCESSO DE HIDRÓLISE

O CP foi submetido ao processo de hidrólise utilizado a enzima Papaína (Sigma Aldrich). As condições de trabalho com a papaína foram de temperatura igual a 50°C e pH de 5,5. O processo de hidrólise deu-se pelo Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), o qual continha 2 pontos centrais e 2 pontos axiais, e gerou 10 experimentos. Considerando como variáveis dependentes o grau de hidrólise e a solubilidade. A enzima foi adicionada ao CP em concentrações de 0,50, 0,75 e 1,00% peso/peso (p/p) sobre substrato (concentrado proteico/CP) e incubadas por três diferentes tempos, sendo 1,0, 2,5 e 4,0 horas.

### DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE (GH)

O teor de proteínas solúveis no filtrado foi determinado utilizando o método de Folin-Lowry (PLUMMER, 1978) expresso em mg de albumina. O grau de hidrólise (GH) foi estimado segundo o método descrito por Hoyle e Marrit (1994) por Baek e Cadwallader (1995), e foi expresso como a porcentagem de proteínas solúveis no TCA em relação à quantidade de proteína inicial total, de acordo com a Eq. (1).

$$\%GH = \frac{(PS_{tempot} - PS_{tempo0}) \times 100}{P_{total}} \quad (1)$$



Onde o branco, PS tempo 0, correspondeu à quantidade de proteína solúvel em TCA 6,25% antes da adição da enzima; PStempot foi a quantidade de proteína solúvel em determinado tempo após a adição da enzima e Ptotal a quantidade de proteína total na amostra determinada por micro Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ).

## DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE

A solubilidade foi determinada em três diferentes pH 5,0, 7,0 e 9,0 conforme metodologia realizada por Chalamaiah et al. (2010). A solubilidade da proteína foi calculada de acordo com a Eq. (2).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Proteína no sobrenadante}}{\text{Proteína total na amostra}} * 100 \quad (2)$$

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O teor médio de proteína do CP foi de 65,94 g/100g, De acordo com os resultados apresentados por Kotaki (2005) o teor protéico da CMS de tilápia-do-nylo é de 9,6g/100g, este valor é inferior ao encontrado nesta pesquisa devido ao processo de concentração proteica que foi realizado. O CP apresentou um valor médio de umidade igual a 13,52 g/100g, valor superior ao relatado por Prentice *et al.* (2002), na qual o valor foi de 7,0 g/100g.

De acordo com Kotaki (2005), o teor de lipídeos da CMS foi de 9,6 g/100g, neste estudo o CP teve um teor médio de 7,35 g/100g. Em relação ao teor de cinzas o valor médio foi de 12,03 g/100g, em estudo realizado por Olopade *et al.* (2016) os valores médios de cinza foram de 1,36 g/100g, sendo também diferente do determinado no presente estudo e superior ao dado obtido na literatura, acreditando-se que isso possa estar relacionado ao processo de obtenção da CMS pela separação mecânica.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios de solubilidade e na Tabela 2 estão apresentados os valores médios de grau de hidrólise (GH), determinada nos pH de 5,0, 7,0 e 9,0 nos 10 experimentos obtidos pelo delineamento experimental. Observa-se que o maior grau de hidrólise foi para a amostra E4. Com isso, pode-se inferir que a maior concentração (1%) de papaína resultou no seu maior grau de hidrólise. Valores de concentração intermediários (0,5% e 0,75%) obtivemos menores valores do grau de hidrólise da papaína. Em relação à solubilidade, o maior valor foi determinado no pH 5 para o experimento E5 e o menor para o E6, tanto no pH 5, quanto 7 e 9, com mesma média significativa para a amostra E4 no pH 9 (Tabela 1). Observa-se que na Tabela 1 a solubilidade de um modo geral não foi tão elevada e teve pouca variação nos pH estudados de 5,0, 7,0 e 9,0. As características de solubilidade de um ingrediente proteico dependem dos parâmetros de processamento usados para obtê-lo, como tipo de solvente, pH, força iônica, forças mecânicas e temperatura (GROSSMANN,2023).

**Tabela 1 - Médias e desvios para as amostras considerando a solubilidade da papaína em função da concentração e tempo da enzima papaína**

Amostras	Solubilidade papaína		
	pH 5	pH 7	pH 9
E1 (0,5% /1 hora)	43,85 <sup>dB</sup> ±1,72	54,34 <sup>bcA</sup> ±0,75	46,84 <sup>dB</sup> ±0,38
E2 (0,5%/4 horas)	50,59 <sup>cB</sup> ±0,65	57,33 <sup>bA</sup> ±0,65	47,78 <sup>dB</sup> ±0,32

**XIII Seminário de Extensão e Inovação  
XXVIII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR**

Ciência e Tecnologia na era da Inteligência Artificial: Desdobramentos no Ensino Pesquisa e Extensão  
20 a 23 de novembro de 2023 - Campus Ponta Grossa, PR



**SEI-SICITE**  
2023



E3 (1,0% / 1hora)	51,71 <sup>cB</sup> ±0,65	43,28 <sup>dC</sup> ±0,32	55,65 <sup>bA</sup> ±0,32
E4 (1,0% /2,5horas)	49,46 <sup>cB</sup> ±1,30	57,33 <sup>bA</sup> ±1,30	41,03 <sup>eC</sup> ±0,33
E5 (0,3975% / 2,5 horas)	86,00 <sup>aA</sup> ±0,97	63,33 <sup>aC</sup> ±0,75	68,07 <sup>aB</sup> ±0,36
E6 (1,1025% / 2,5 horas)	42,72 <sup>dA</sup> ±1,30	42,72 <sup>dA</sup> ±0,65	42,65 <sup>eA</sup> ±0,71
E7 (0,75% / 0,385 horas)	50,59 <sup>cB</sup> ±0,65	51,71 <sup>cB</sup> ±0,65	56,25 <sup>bA</sup> ±1,91
E8 (0,75% / 4,615 horas)	45,72 <sup>dC</sup> ±2,62	59,58 <sup>bB</sup> ±0,65	68,01 <sup>aA</sup> ±0,97
E9 (0,75% / 2,5 horas)	60,70 <sup>bA</sup> ±0,65	54,71 <sup>bcB</sup> ±0,38	49,84 <sup>cC</sup> ±0,75
E10 (0,75% / 2,5 horas)	59,21 <sup>bA</sup> ±0,75	49,09 <sup>cB</sup> ±1,35	50,21 <sup>cB</sup> ±0,99

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% para a solubilidade em cada pH comparando-se todas as amostras entre si. Médias na mesma linha, seguidas por letras maiúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% para a variação da solubilidade em distintos valores de pH para a solubilidade de cada amostra.

Fonte: A autoria própria (2023).

**Tabela 2 - Médias e desvios para as amostras considerando o grau de hidrólise em função da concentração e tempo da enzima papaína**

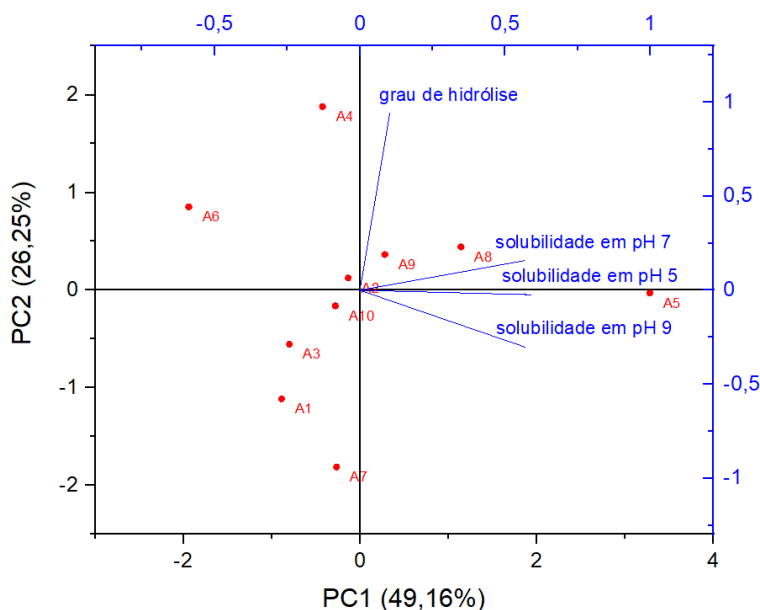
Amostras	Grau de hidrólise (g/100g)
	Papaína
E1 (0,5% /1hora)	88,41 <sup>e</sup> ±1,37
E2 (0,5%/4horas)	107,41 <sup>d</sup> ±0,38
E3 (1,0% / 1hora)	105,88 <sup>d</sup> ±2,42
E4 (1,0% /2,5horas)	131,47 <sup>a</sup> ±1,93
E5 (0,3975% / 2,5 horas)	114,00 <sup>c</sup> ±0,66
E6 (1,1025% / 2,5 horas)	121,36 <sup>b</sup> ±1,66
E7 (0,75% / 0,385 horas)	83,36 <sup>e</sup> ±1,25
E8 (0,75% / 4,615 horas)	121,58 <sup>b</sup> ±1,01
E9 (0,75% / 2,5 horas)	113,46 <sup>c</sup> ±1,77
E10 (0,75% / 2,5 horas)	107,41 <sup>cd</sup> ±5,00

Médias na mesma coluna, seguidas por letras minúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% para o grau de hidrólise.

Fonte: A autoria própria (2023).

Nos experimentos os valores da solubilidade são tão menores quanto maiores os valores do grau de hidrólise, o que pode ser verificado no gráfico biplot de PCA (Figura 1).

**Figura 1 - Gráfico biplot da PCA para as análises do grau de hidrólise e da solubilidade**



Fonte: Autoria Própria, (2023).

Na Figura 1 tem-se o resultado da aplicação da PCA (Análise dos Componentes Principais), onde se observa que a projeção PC1 x PC2 explicou 75,41% da variância. O fator 1 com 49,16% de variância foi responsável por discriminar o experimento E5 (posicionada na parte inferior) para os valores de solubilidade nos pH 5, 7 e 9. O fator 2 com 26,25% de variância foi responsável por discriminar o experimento E4 (posicionada na parte superior) para os valores do grau de hidrólise.

## CONCLUSÕES

Foi possível a obtenção de um CP com teores consideráveis de proteína (65,94 g/100g). Em relação, a solubilidade o CP apresentou uma solubilidade mínima na faixa de pH 9,0 (41,03 g/100g) e uma solubilidade máxima na faixa de pH igual a 5 (86,003 g/100g). Conclui-se que aumentando a concentração de enzima e o tempo de exposição aumentou consideravelmente a quebra da proteína, influenciando na solubilidade.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ, agradeço pelo apoio financeiro, e estímulo na realização das atividades de pesquisa. À Universidade Tecnológica Federal do Paraná e todo o seu corpo docente.

## CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflito de interesse.

## REFERÊNCIAS

BAEK, H. H.; CADWALLADER, K. R.; Enzymatic Hydrolysis of Crayfish Processing By-products *J. Food Sci.* **1995**, *60*, 929..

BENITEZ, R.; IBARZ, A.; PAGAN, I. Hidrolizado de proteína: processos y aplicaciones. *Acta Bioquim. Clín Latinoam.* Argentina. V.2, n.2, p.227-36, 2008.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification.





**Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n.8, p. 911-917, 1959.  
Plummer, D. T.; An Introduction to Practical Biochemistry, McGraw-Hill Book Company Limited: London, 1978.

CHALAMAIAH, M.; RAO, G. N.; RAO, D. G.; JYOTHIRMAYI, T. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. **Food Chemistry**, v. 120, n. 3, p. 652–657, jun. 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.057>

EISELE, T. A.; BREKKE, C. J. Chemical and Modification and Functional Properties of Acylated Beef Heart Myofibrillar Proteins. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 4, p. 1095-1102, jul./ago. 1981.

GROSSMANN, L; MCCLEMENTS, D. J. Current insights into protein solubility: a review of its importance for alternative proteins. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 137, p. 108416, abr. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108416>.

HOYLE, N. T.; MERRITT, J. H.; Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). **J. Food Sci.** **1994**, 59, 76.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do IAL.**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 5.ed. São Paulo, 2008. 1020 p.

KOTAKI, S. H. Utilização da carne mecanicamente separada (CMS) da carcaça de tilápia (*Oreochromis niloticus*) para a elaboração de lingüiça de peixe. 2005. 94f. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca)** - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí, 2000. 285 p.

OLOPADE, O. A., et al. Proximate Composition of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) and Tilapia Hybrid (Red Tilapia) from Oyan Lake, Nigeria. **Bulletin UASVM Food Science and Technology**. 2016;73(1):19 – 23.

PRENTICE, C. et al. Processo de obtenção de um concentrado protéico de resíduos da industrialização do pescado. In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 17, 2002, Fortaleza-CE. Resumos... Fortaleza: SBCTA, 2002. v. 3, p. 11.106.

SLIZYTE, R.; DAUKSAS, E.; FALCH, E.; STORRO, I.; RUSTAD, T. Characteristics of protein fractions generated from hydrolysed cod (*Gadus morhua*) by-products. , **Process Biochemistry London**, v. 40, n. 1, p. 2021-2033, 2005.

SOUZA, S. M. A.; SOBRAL, P J. A.; MENEGALLI, F. C. Extração de proteínas miofibrilares de carne bovina para elaboração de filmes comestíveis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 2004.