

PRODUÇÃO DE HIDROLISADO DE CABRINHA (*Prionotus punctatus*) E O EFEITO NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE PÃO

PRODUCTION OF CABRINHA (*Prionotus punctatus*) HYDROLYSATE AND THE EFFECT IN THE CHEMICAL COMPOSITION AND CHARACTERISTIC TECHNOLOGICAL OF BREAD

Myriam Salas-Mellado¹; Carlos Prentice-Hernández²; Kessiane Silva de Moraes³, Elessandra da Rosa Zavareze³

RESUMO

Com a finalidade de aumentar o conteúdo de proteínas para melhorar a qualidade protéica de produtos de panificação, foram elaborados pães com adição de hidrolisado enzimático de cabrinha (*Prionotus punctatus*) com e sem condimentos. O hidrolisado de pescado foi obtido nas seguintes condições de reação: substrato polpa de cabrinha, enzima Novozym 1% (p/p), pH 8 e temperatura de 50°C. Após 50 min de reação a enzima foi inativada por aquecimento do hidrolisado a 95°C por 15 min. O hidrolisado foi seco, triturado, peneirado e acondicionado em recipiente hermético, sendo adicionado a uma formulação de pão em nível de 5% (base farinha). Os pães foram avaliados pelo conteúdo de proteínas, características tecnológicas, volume específico e análise sensorial mediante escala hedônica de 9 pontos. O pão enriquecido com hidrolisado mostrou um aumento de 5,3% no conteúdo protéico (b.s), quando comparado com o pão padrão. As características internas do pão enriquecido foram afetadas e as características externas apresentaram melhoria quando comparado ao pão padrão. O pão com hidrolisado de pescado apresentou maior volume específico que o pão padrão. A aceitação por parte dos julgadores foi de 72% para o pão com hidrolisado e de 76% para o pão com hidrolisado condimentado.

Palavras-chaves: Pescado; hidrolisado enzimático; proteínas; volume específico.

ABSTRACT

With the purpose to increase the protein content to enhance the protein quality of bread making products, were elaborated breads with the addition of fish protein hydrolysate (FPH) and condiments to reduce the flavor of fish. The hydrolysate was obtained in the followings conditions: minced of cabrinha (*Prionotus punctatus*) as substrate, Novozym as protease, pH value of 8,0 and temperature of 50°C. After 50 min of reaction, the enzyme was inactivated by heat treatment at 95°C for 15 min. The hydrolysate was added to a bread formulation in a level of 5% (w/w, flour basis). Breads added of FPH were evaluated by the protein content, technological characteristics, specific volume and sensorial acceptance. The enriched bread showed an increase of 5,3% (d.b.) in protein content, better external characteristics and greater specific volume when compared with the standard bread. The sensorial evaluation showed acceptance index of 72% and 76%, for the enriched and the enriched and condimented bread, respectively.

Key Words: Fish; enzymatic hydrolysate; proteins, specific volume.

INTRODUÇÃO

A escassez de produtos de baixo custo e alto valor nutritivo tem levado pesquisadores a buscar novas fontes de proteínas (KRISTINSSON & RASCO, 2000) que atendam a essas questões. Neste sentido a utilização de hidrolisado

protéico de pescado apresenta-se como uma boa alternativa para incorporar proteínas de origem animal a produtos de panificação.

As proteínas musculares do pescado apresentam a vantagem de possuírem um elevado valor biológico, decorrente de uma alta sensibilidade à hidrólise e de uma composição balanceada em aminoácidos, particularmente daqueles que costumam ser os limitantes em proteínas de origem vegetal, como a metionina e a lisina. Outra vantagem do uso do pescado é o fato das espécies utilizadas serem pouco adequadas para filetagem e de menor valor comercial (NEVES et al., 2004). As proteínas de pescado possuem todos os aminoácidos essenciais, além disso, apresentam acima de 95% de digestibilidade, sendo maior que da carne e do leite (NISANG et al., 2005).

A hidrólise com enzimas proteolíticas selecionadas proporciona a possibilidade de controlar o grau de quebra da proteína do substrato. Usando proporções enzima-substrato e tempos de reação adequados permite-se a produção de hidrolisados com diferentes estruturas moleculares e diferentes propriedades funcionais que podem ser aplicados em vários produtos alimentícios. A hidrólise enzimática por ser realizada em condições brandas e controladas, garante a manutenção da qualidade nutricional dos hidrolisados e um perfil peptídico definido e reprodutível, sendo o grau de hidrólise o parâmetro utilizado para comparar hidrolisados protéicos entre si (KRISTINSSON & RASCO, 2000).

O pão tem um papel significativo na dieta da maioria da população mundial, principalmente para pessoas de menor poder econômico e crianças em idade escolar. A proteína da farinha de trigo tem qualidade nutricional deficiente pela falta de certos aminoácidos essenciais, especialmente a lisina (SGARBIERI, 1996). A adição de hidrolisados protéicos de pescado ao pão proporciona melhor balanço de aminoácidos essenciais com aumento na qualidade da proteína do produto.

O trabalho teve como objetivo elaborar hidrolisado enzimático protéico de pescado, bem como avaliar a influência da adição do hidrolisado no teor protéico, nas características tecnológicas e sensoriais de pães.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

A matéria-prima utilizada foi a cabrinha (*Prionotus punctatus*), pescado magro, de baixo valor comercial e baixo rendimento, fornecida por indústrias de processamento de pescado do município de Rio Grande, RS. Os ingredientes utilizados para elaboração dos pães foram farinha de trigo, açúcar, sal, gordura vegetal hidrogenada, fermento prensado,

¹ Prof^a. Dr^a. do curso de Engenharia de Alimentos da Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, RS, Brasil, Rua Eng.º Alfredo Huch 475, CEP: 96216-020;

² Prof^o. Dr. do curso de Engenharia de Alimentos da Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

³ Acadêmicas do curso de Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande. E-mail: elessandrad@yahoo.com.br

temperos adquiridos no comércio local e ácido ascórbico (P.A.). As determinações químicas e elaboração de tampões fosfato pH 8 foram realizadas com reagentes P.A. Na reação enzimática foi utilizada a enzima proteolítica de origem microbiana Novozym[®] 37020, (Novozymes).

Metodologia

Avaliação química

A composição proximal da matéria-prima foi realizada pela quantificação de proteínas (método de Kjeldhal – N x 6,25), lipídios (método de Soxhlet), cinzas (incineração) e mufla (550-600°C) e umidade (estufa 105°C), métodos 31.1.08, 31.4.02, 31.1.04 e 31.1.02 conforme a AOAC (1997), respectivamente. Os pães foram avaliados pelo conteúdo de umidade (estufa 105°C) e pelo teor protéico (método de Kjeldhal – N x 5,7).

Polpa de pescado

A elaboração da polpa de pescado foi realizada a partir da matéria-prima inteira seguida da retirada de cabeça, vísceras, aletas, pele e a trituração dos filés em moedor de carne (Eberle). A carne de pescado moída foi submetida a três

lavagens com água destilada a uma temperatura de 7°C com agitação manual durante 5 min, para retirada de sangue, lipídios e sujidades responsáveis pelo odor de pescado; após cada ciclo de lavagem, a carne foi prensada em pano e obtida a polpa úmida, utilizada no processo de hidrólise enzimática.

Hidrolisado de pescado

A polpa de pescado úmida foi homogeneizada com solução tampão pH 8 através de liquidificador de facas duplas (Arno) e submetida à reação enzimática com a enzima na concentração escolhida do teste. A reação foi realizada em reator de vidro de 250 mL com jaqueta conectado a um banho ultratermostático para o controle da temperatura e agitada mediante agitador de eixo hélice (Quimis). A reação enzimática foi interrompida com adição de ácido tricloroacético (TCA 6,25%) para a determinação do grau de hidrólise ou por aquecimento (95°C durante 15 min). O hidrolisado integral foi submetido a secagem em estufa com circulação forçada de ar a 70°C até 12% de umidade, moído, peneirado e acondicionado em recipientes herméticos e denominado hidrolisado de pescado seco integral para depois ser incorporado aos pães em estudo. O processo pode ser observado no fluxograma da Figura 1.

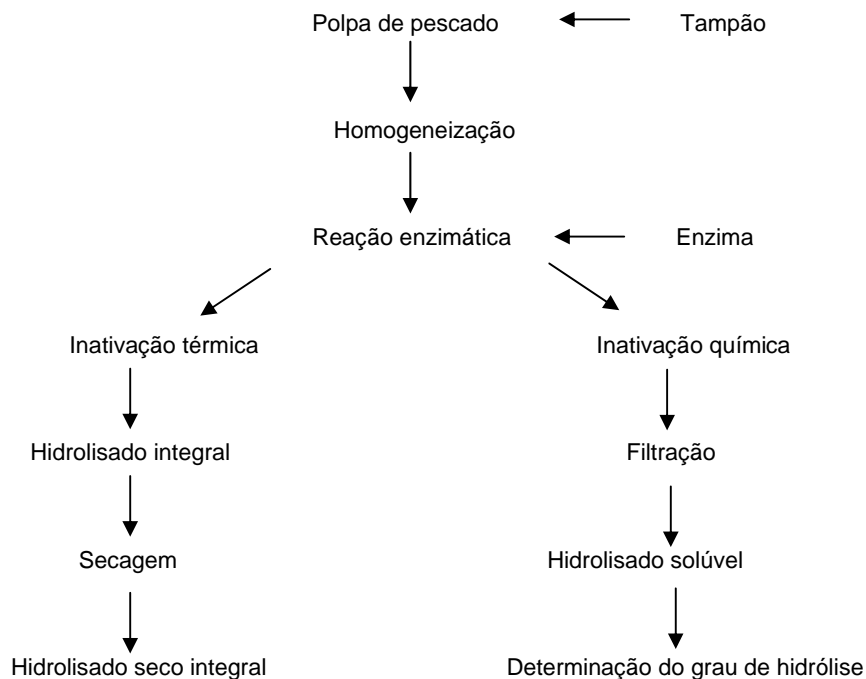


Figura 1. Fluxograma de elaboração do hidrolisado protéico de pescado e determinação do grau de hidrólise.

Condições de reação e determinação de grau de hidrólise

As condições de reação de hidrólise para a obtenção do hidrolisado seco integral foram as seguintes: proporção de substrato/tampão 1:1 (m/v), concentração de 1% (m/m) enzima/substrato, temperatura de 50°C, pH 8 e 60 min de reação.

Para a determinação do grau de hidrólise da enzima proteolítica utilizou-se a metodologia adaptada por PEZOA & SALAS-MELLADO (1979) que consistiu em tomar uma

alíquota de 6 mL do hidrolisado que foi inativada pela adição de 4 mL de TCA 6,25%, deixada em repouso por 10 min, filtrada em papel filtro e determinadas as proteínas solúveis no filtrado mediante o método de LOWRY et al. (1951). Para determinar a concentração de proteínas solúveis foi necessária a construção de uma curva utilizando albumina como substância padrão.

O grau de hidrólise da enzima proteolítica testada foi determinado mediante a relação da quantidade de proteínas solúveis após a reação enzimática determinada pelo método

de LOWRY et al. (1951) e da quantidade de proteínas totais presentes no substrato determinado pelo método de Kjeldahl expresso em porcentagem, como mostra a equação 1.

$$\%GH = \frac{Ps}{Pt} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Onde: Ps = Proteínas solúveis, expressa como mg de albumina;

Pt = Proteínas totais, expressas em mg.

Formulação e elaboração do pão

A formulação do pão tipo fôrma sem adição de hidrolisado, denominado padrão foi a seguinte: farinha de trigo [com 10% de proteínas, 13,2% de umidade e com as seguintes características alveográficas: W 294x10⁻⁴ Joules, G 193cm³ e P/L 1,37] (100%), fermento biológico prensado [*Saccharomyces cerevisiae*] (3%), açúcar (5%), gordura (2%), sal (2%), vitamina C (90 ppm) e água (59%). O pão enriquecido com hidrolisado apresentou a mesma formulação, mas com a adição de 5% de hidrolisado de pescado seco integral. O pão saborizado apresentou a mesma formulação do pão enriquecido, mas com a adição de orégano (0,15%), alho (0,75%), cebola (0,75%), salsa (0,25%), cebolinha (0,25%) e ajinomoto (0,25%), todos em base à farinha.

Na elaboração do pão, os ingredientes secos foram misturados junto com o hidrolisado seco integral durante 3 min com velocidade baixa em batedeira de laboratório (Arno). Posteriormente adicionaram-se os ingredientes líquidos e a gordura com velocidade alta durante 6 min até obtenção de uma massa bem desenvolvida que foi cortada em pedaços de 80 g e boleada, após foi moldada e submetida a fermentação em estufa a 30°C durante 95 min e forneada a 220°C por 20 min. Após uma hora de resfriamento dos pães foi realizada a avaliação tecnológica e sensorial.

Avaliação tecnológica e sensorial dos pães

A avaliação dos pães tipo fôrma foi realizada pela determinação do volume específico e das notas das características tecnológicas do pão. O volume específico (mL.g⁻¹) foi obtido pela razão entre o volume aparente (mL), realizado por deslocamento de sementes (PIZZINATTO et al., 1993) e a massa do pão (g) após o forneamento. O volume específico foi determinado em triplicata e expresso a média e o desvio padrão. As notas das características internas e externas do pão foram conferidas segundo planilha de EL-DASH (1978), realizadas em duplicata e expressas em valores médios.

O teste de aceitação para a avaliação do pão enriquecido e do pão enriquecido e saborizado foi realizado pela escala hedônica de 9 pontos (LAWLESS & HRYMANN, 1999) e calculada a aceitação dos pães por 38 julgadores não treinados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação química da matéria prima e da polpa de pescado

A Tabela 1 apresenta a composição proximal do filé e da polpa úmida de cabrinha (*Prionotus Punctatus*).

Tabela 1 - Composição proximal (b.u) do filé e da polpa de cabrinha (*Prionotus Punctatus*)

Componentes (%)*	Filé de cabrinha	Polpa lavada
Proteína	19,7 ± 0,8	9,1 ± 0,4

Umidade	77,5 ± 0,7	89,0 ± 1,2
Lipídios	1,4 ± 0,1	0,6 ± 0,09
Cinzas	1,4 ± 0,3	0,3 ± 0,06

* Média ± desvio padrão

A polpa lavada úmida de cabrinha utilizada na elaboração do hidrolisado protéico de pescado apresentou 9,1% de proteínas totais. O filé de cabrinha apresentou um baixo teor de lipídios (1,4%) e um teor adequado de proteínas (19,7%). Nota-se também que com o processo de lavagem aumentou o conteúdo de umidade e diminuiu os teores de lipídios e proteínas (Tabela 1). A diminuição do teor lipídico é vantajosa para a estabilidade química da polpa de pescado, mas a diminuição do teor protéico é indesejável, visto que se deseja utilizar o hidrolisado para aumentar o conteúdo protéico do pão.

Determinação do grau de hidrólise e teor protéico do hidrolisado integral

O hidrolisado de pescado com a enzima Novozym[®] apresentou 23,7% de grau de hidrólise, esta enzima está recentemente sendo estudada e não foi encontrado valores na literatura para fins de comparação. No entanto, segundo SANTOS (2006) que estudou o efeito da enzima proteolítica Flavourzyme na obtenção de hidrolisado de cabrinha (*Prionotus punctatus*), nas mesmas condições de tempo e temperatura de reação, o grau de hidrólise encontrado foi de 24,7%.

O hidrolisado seco integral que foi adicionado aos pães apresentou um teor de 65% de proteínas e 12% de umidade. Segundo NILSANG et al. (2005) o hidrolisado protéico obtido a partir de concentrado solúvel de pescado e hidrolisado com a enzima Flavourzyme apresentou 66,4% de proteínas e umidade de 7,24%.

Avaliação química dos pães

O pão padrão apresentou 34,8% de umidade, 7,8% de proteínas, 1,6% de cinzas e 1,5% de lipídios. Os valores dos componentes apresentados pelo pão padrão estão dentro do esperado para este tipo de produto. Na Tabela 2 são apresentados o conteúdo protéico e a umidade dos pães para efeito de comparação da quantidade de proteínas, considerando o produto final em base seca.

Tabela 2 - Conteúdo de umidade e proteína do pão padrão e do pão enriquecido com hidrolisado

Componente*	Pão padrão		Pão 5% hidrolisado	
	(%)	b.u	b.u	b.s
Umidade	34,8 ± 0,9	--	33,3 ± 0,7	--
Proteína	7,8 ± 0,2	11,9 ± 0,5	11,5 ± 0,3	17,2 ± 0,6

* Média ± desvio padrão

Observando-se os valores de proteínas expressos na Tabela 2, constata-se um aumento de 3,7% em base úmida e de 5,3% em base seca, resultante da adição de hidrolisado de pescado no pão.

Avaliação tecnológica dos pães

Os valores de volume específico dos pães são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Volume específico do pão padrão e do pão com hidrolisado

Produto	Volume específico (mL.g ⁻¹)*
Pão padrão	3,47 ± 0,24
Pão com hidrolisado	3,75 ± 0,19

* Média ± desvio padrão.

O volume do pão é uma das características tecnológicas mais importantes quando o produto é avaliado sensorialmente. Através da Tabela 3 verifica-se um aumento no volume específico do pão com hidrolisado em relação ao padrão. O hidrolisado por ser constituído de moléculas menores de proteínas consegue misturar-se bem à massa dando como resultado um aumento no volume em relação ao pão padrão o que é um resultado positivo do ponto de vista do consumidor. Estes resultados sugerem que o hidrolisado de pescado teve um melhor desempenho que o concentrado protéico de pescado (CPP) como mostrado por SIDWELL & HAMMERLE (1970) que comprovaram que a adição do CPP alterou as características extensigráficas e farinográficas da massa levando a diminuição do volume e perda da qualidade tecnológica do pão.

Na Tabela 4 são apresentadas as notas das características externas, internas, aroma e sabor do pão.

Tabela 4 - Características tecnológicas do pão padrão e do pão enriquecido com hidrolisado

Atributo	Valor Máximo	Pão padrão	Pão com hidrolisado
Características Externas			
Cor da crosta	10	7,8	8,0
Quebra	5	4,0	4,5
Simetria	5	4,0	4,5
Característica da crosta	5	4,0	4,0
Características Internas			
Cor do miolo	10	9,0	7,0
Estrutura cel. Miolo	10	7,5	6,0
Textura do miolo	10	9,0	8,0
Aroma	10	8,0	6,8
Sabor	15	13,0	10,0
Total	80	66,3	58,8

Comparando-se as notas das características externas dos pães, verifica-se que a adição de hidrolisado influenciou positivamente na cor da crosta, na quebra e na simetria, confirmada pelo aumento destas três características no pão enriquecido. Por outro lado, verifica-se que as características internas apresentaram uma queda dos valores conferidos ao pão enriquecido, mostrando que a adição de hidrolisado de pescado afetou negativamente o produto, assim como o sabor e o aroma. Tendo em vista que há pessoas que rejeitam o sabor a pescado, decidiu-se adicionar saborizantes para amenizar o efeito da adição de hidrolisado de pescado ao pão.

Avaliação sensorial dos pães enriquecidos e saborizados

A Figura 2 apresenta o número de julgadores que escolheram as opções mostradas na legenda do gráfico que vão desde a resposta "gostei extremamente" a "desgostei extremamente" para os pães enriquecidos com 5% de hidrolisado de pescado e os pães com 5% de hidrolisado e saborizados.

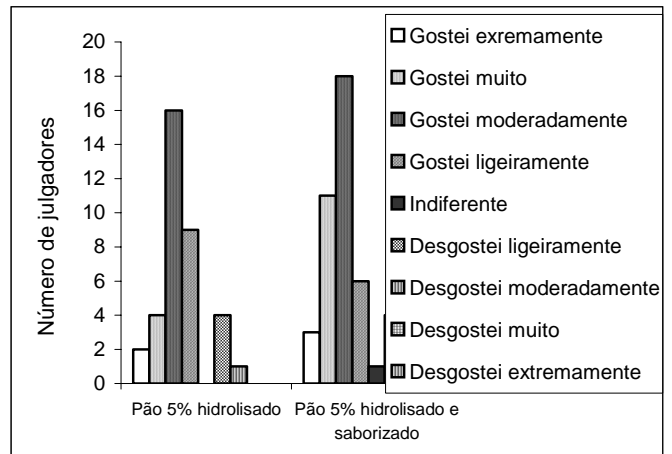


Figura 2 - Avaliação sensorial dos pães enriquecidos com 5% de hidrolisado e com 5% de hidrolisado e saborizado

A maioria dos julgadores "gostou moderadamente" das amostras dos pães enriquecidos com hidrolisado de pescado, sendo que para o pão enriquecido e saborizado teve um número maior de julgadores que optaram pela resposta "gostei muito" quando comparado com o pão não saborizado, demonstrando que a inclusão dos temperos na formulação melhorou a aceitação do pão pelos julgadores (Figura 2). O índice de aceitação dos 38 julgadores foi de 72% para o pão com hidrolisado e 76% para o pão com hidrolisado e saborizado. Os temperos presentes no pão mascararam o sabor a pescado, característica rejeitada por alguns provadores, levando a uma maior aceitação.

CONCLUSÕES

- A adição de hidrolisado de pescado aumentou em 5,3% o teor de proteínas (b.s) nos pães enriquecidos quando comparado com o pão padrão, constatando o aumento deste componente, que era o objetivo principal do trabalho.
- A adição de hidrolisado aos pães afetou positivamente as características tecnológicas aumentando o volume específico e as notas das características externas dos pães.
- Os pães enriquecidos apresentaram um alto índice de aceitação (72%) por parte dos provadores, mostrando-se aptos ao consumo.
- A aceitabilidade do pão saborizado foi superior em relação ao pão não saborizado.

REFERÊNCIAS

- AACC – American Association of Cereal Chemists. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. St. Paul, 1995.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**, v. 1-2, Arlington, 1997.
- ELDASH, A.A. Standardized mixing and fermentation procedure for experimental baking test. **Cereal Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 436-446, St. Paul, 1978.
- LAWLESS, H.T.; HRYMANN; H. **Sensory evaluation of food**. Principles and practices. Gaithersburg, Maryland, 1999.

MELLADO et al. Produção de hidrolisado de cabrinha (*Prionotus punctatus*) e o efeito na composição química e características tecnológicas de pão

KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B.A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. University of Massachusetts at Amherst, v. 40, n. 1, p. 43-81, Amherst, 2000.

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR A.L.; et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. v. 193, n.1, p. 265-275, Maryland, 1951.

NEVES, R.A.M.; MIRA, N.V.M.; MARQUEZ, U.M.L. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 1, p. 101-108, Campinas, 2004.

NILSANG S, LERTSIRI S, SUPHANTHARIKA M, et al. Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Fish Soluble Concentrate by Commercial Proteases. **Journal of Food Engineering**. University of California, v. 70, n. 4, p. 571-578, Davis, California, 2005.

PEZOA, V.; SALAS-MELLADO, M. M. **Obtenção de um concentrado de proteínas de pescado para alimentos, pelo**

método enzimático, utilizando as próprias enzimas do pescado. 1. ed., Divisão de Imprensa da FURG, Rio Grande, RS, 1979. 42 p.

PIZZINATTO, A.; MAGNO, C.P.R.; CAMPAGNOLLI, D. M. F.; et al. **Avaliação tecnológica de produtos derivados da farinha de trigo (pão, macarrão, biscoitos)**. Centro de Tecnologia de Farinhas e Panificação, Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), 54 p. Campinas, SP, 1993.

SANTOS, S.D. **Obtenção e avaliação de hidrolisado enzimático obtido a partir de pescado de baixo valor comercial**. Rio Grande, 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações**. Varela, São Paulo, SP, 1996.

SIDWELL, V. D.; HAMMERLE, O. A. Changes in physical and sensory characteristics of doughs and of bread containing various amounts of fish protein concentrates and lysine. **Cereal Chemistry**. v. 47, n. 6, p. 738-745, St. Paul, 1970.