

AValiação DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE HIDROLISADOS PROTEICOS DE PEROÁ (*Balistes capriscus*) ADVINDOS DE PIÚMA NO ESPÍRITO SANTO

ANNA CLARA DA SILVA KEFNER¹
ALEXANDRE MARTINS COSTA SANTOS²; KELLY RIBEIRO AMICHI³

RESUMO

Introdução: O Peroá (*Balistes capriscus*) é um importante recurso pesqueiro, sendo uma das espécies mais pescadas e consumidas no Estado do Espírito Santo (ES). Os resíduos provenientes de pescados podem ser usados para obtenção de coprodutos com capacidade bioativa que pode ser utilizado na indústria alimentícia. **Objetivo:** Avaliar a atividade antioxidante dos HPP de Peroá (*Balistes capriscus*) advindo de Piúma no ES, obtidos a partir diferentes tratamentos enzimáticos, visando a obtenção de HPP de resíduos de peroá com potencial antioxidante. **Material e métodos:** Esta é uma pesquisa experimental (*in vitro*), com tamanho amostral de 20g de resíduos de peroá utilizada para o processo de hidrólise e análise antioxidante pelo método FRAP. **Resultados:** A amostra adicionada com a enzima papaína obteve melhor resultado quanto ao grau de hidrólise, enquanto a amostra adicionada de bromelina apresentou melhor atividade antioxidante. **Conclusão:** Podemos concluir que os HPP de resíduos de peroá, possuem potencial para serem aplicados na indústria alimentícia. Todavia se faz necessário novas pesquisas para determinar a melhor destinação e comparação do método utilizado e até mesmo a utilização de outras partes dos resíduos.

Palavras-chave: Hidrolisado proteico de pescado; Indústria alimentícia; Atividade antioxidante.

ABSTRACT

Introduction: The Peroá (*Balistes capriscus*) is an important fishing resource, being one of the most fished and consumed species in the State of Espírito Santo (ES). Waste from fish can be used to obtain co-products with bioactive capacity that can be used in the food industry. **Objective:** To evaluate the antioxidant activity of PPH from Peroá (*Balistes capriscus*) from Piúma in ES, obtained from different enzymatic treatments, aiming to obtain PPH from peroá residues with antioxidant potential. **Material and methods:** This is an experimental research (*in vitro*), with a sample size of 20g of peroá residues used for the hydrolysis process and antioxidant analysis by the FRAP method. **Results:** The sample added with the enzyme papain obtained better results regarding the degree of hydrolysis, while the sample added with bromelain showed better antioxidant activity. **Conclusion:** We can conclude that HPP from peroá residues has the potential to be applied in the food industry. However, further research is needed to determine the best destination and comparison of the method used and even the use of other parts of the waste.

Keywords: Fish protein hydrolysate; Food industry; Antioxidant activity.

¹ Discente do curso de nutrição pelo Centro Universitário Salesiano. Vitória, Espírito Santo, Brasil.
Email: anna.kefner@souunisaes.com.br

² Docente Doutor na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Espírito Santo, Brasil.
Email: Alexandre.santos@ufes.br

³ Docente do curso de nutrição pelo Centro Universitário Salesiano. Vitória, Espírito Santo, Brasil.
Email: Kamichi@unisaes.br

1 INTRODUÇÃO

O pescado pode ser descrito como todo animal que vive em água doce ou salgada, possuindo cerca de 35% a 65% da matéria-prima caracterizada como partes comestíveis que são destinadas ao consumo humano, o restante do material não comestível, são denominados resíduos, que correspondem à pele, cabeça, carcaça, nadadeiras, vísceras, entre outros (FERNANDES, 2019).

Os resíduos geralmente são direcionados para o reaproveitamento, objetivando usá-los na forma de coprodutos. No caso dos resíduos de pescados, normalmente são produzidos coprodutos de baixo valor agregado como silagem e farinha de peixe, sendo aproveitados na alimentação animal, no entanto, os coprodutos possuem grande potencial pela sua vasta aplicação na indústria alimentícia (suplementos proteicos, produtos de panificação) e farmacêutica (PINTO *et al.*, 2017; SOUSA, 2019).

Segundo o boletim estatístico desenvolvido pela *Food and Agriculture Organization* (FAO), a produção mundial de pescados foi estimada em 178 milhões de toneladas em 2020 (FAO, 2022). No Brasil a produção de pescados é determinada segundo a Associação Brasileira da Piscicultura (PEIXE BR), onde, em 2022 atingiu produção estimada de 860,3 toneladas de peixes cultivados no Brasil (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA, 2023, p. 24)

Segundo o Boletim estatístico da pesca e aquicultura no Brasil, realizado pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), publicado em 2011, a região sudeste do Brasil está listada em 4º lugar, com a produção de 139 toneladas de pescados, sendo o Espírito Santo responsável pela produção de 15 toneladas, Minas Gerais 9 toneladas, Rio de Janeiro 80 toneladas e São Paulo 33 toneladas. (BRASIL, 2011.)

No Espírito Santo, uma das espécies exploradas é o Peroá de nome científico *Balistes capriscus* (Imagem 1), se destacando como um importante recurso pesqueiro com grande importância para comunidades pesqueiras ao longo da costa sudeste do Brasil (BRASIL, 2020; CRYSTELLO, 2021; BATISTA, 2022). O peroá possui uma ótima comercialização por apresentar diversas características que garantem valor ao consumidor, como o baixo custo, carne de boa qualidade com baixo teor de gordura (colesterol) e calorias, caracterizando-se como um alimento de alto valor nutricional. O Peroá é comercializado eviscerado, sem pele, restando apenas o corpo que possui a maior parte de sua carne, em alguns casos são vendidos com ou sem a cabeça, o que auxilia à movimentação da economia pesqueira dos municípios litorâneos, além da intensa comercialização no período do verão, em função do aumento do turismo na região (SILVA & SOARES, 2013).

Imagem 1 – Peroá coletado em Piúma – ES



Fonte: Batista, 2022.

De maneira a suprir as demandas do mercado consumidor, eleva-se a produção de pescados no Brasil e no mundo, paralelo a isso, os resíduos de pescados de peixarias e comércios são despejados em aterros e/ou lixões controlados ou não, e por vezes são descartados sem o manejo correto, contribuindo para a vulnerabilidade ambiental, social, econômica e pública (ISMAEL *et al.*, 2013; PIRES *et al.*, 2014; ROSSETTO; SIGNOR, 2021).

Em 2019 foi aprovado pelo Conselho Estadual de Meio Ambiente (CONSEMA) o Plano Estadual de Resíduos Sólidos (PERS), que abrange todo o território capixaba, com a finalidade de descrever a forma correta de descarte para os resíduos sólidos. A LEI Nº 12.305, DE 2 DE AGOSTO DE 2010, instituída pela Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), apresenta o correto gerenciamento de resíduos sólidos, onde no art. 47, dispõe sobre as proibidas formas de destinação ou disposição final de resíduos sólidos ou rejeitos, sendo proibidos o(a) (BRASIL, 2010; ESPÍRITO SANTO, 2019):

- “I - Lançamento em praias, no mar ou em quaisquer corpos hídricos;
- II - Lançamento in natura a céu aberto, excetuados os resíduos de mineração;
- III - Queima a céu aberto ou em recipientes, instalações e equipamentos não licenciados para essa finalidade;
- IV - Outras formas vedadas pelo poder público.”

O descarte dos resíduos orgânicos em locais inadequados eleva os impactos ambientais, com a fermentação deste material, podendo levar a formação de ácidos orgânicos, como o “chorume”, além de aumentar a proliferação de vetores e pragas e apresentar mau cheiro no local de descarte (DECKER *et al.*, 2016).

Neste contexto, um material de alto valor biológico não pode ser desperdiçado, no entanto há estratégias para utilização dos pescados de forma integral. A indústria do beneficiamento de pescados está evoluindo cada vez mais para obter a destinação correta destes resíduos, sendo implementada economia circular, onde os resíduos podem ser aplicados de outras maneiras na indústria de alimentos, sendo utilizados na produção de coprodutos de baixo valor agregado (MACHADO *et al.*, 2020).

No entanto, vários coprodutos como óleos, colágeno, gelatina e peptídeos podem ser obtidos a partir de resíduos do processamento, possuindo potencial nutracêutico, propriedades antioxidantes e até antimicrobianas, apresentando-se como coprodutos de alto valor agregado (MONTROYA; SANCHEZ, 2022). De acordo com Oliveira e colaboradores (2015), a matéria prima do processamento de pescados se revela como superior em preparações de alto valor proteico, além de apresentar uma boa composição nutricional, constituído por: proteínas com funções e origens diferentes, ácidos graxos poli-insaturados, fosfolípidios, vitaminas solúveis e compostos bioativos, com diversas medidas a depender da espécie e material dos resíduos, esses componentes servem de incentivo e aumentam a importância da utilização dos resíduos (NEVES; MIRA; MARQUEZ, 2014; SHIRAHIGUE *et al.*, 2016; PINTO *et al.*, 2017)

Na alimentação animal, os resíduos de peixe são utilizados para a realização em formas de farinha e silagem, entretanto na alimentação humana, normalmente são utilizados na forma de farinhas, Hidrolisados Proteicos de Pescados (HPP), Carne Mecanicamente Triturada (CMT), entre outros (ALI *et al.*, 2022).

Segundo Santos e colaboradores (2018), os produtos biotecnológicos integram a base produtiva de diversos setores da economia, utilizando processos industriais mais seguros, limpos e eficientes, com isso o processo de hidrólise tem sido bastante estudado a fim de proporcionar a recuperação de nutrientes essenciais e compostos bioativos para a saúde humana e animal (BACO *et al.*, 2022).

Os HPP são coprodutos biologicamente ativos que possuem aplicabilidade na indústria alimentícia, farmacêutica, nutracêutica e alimentação animal. A escolha de enzimas proteolíticas e as condições de processo são importantes fatores que irão impactar no grau de hidrólise e, conseqüentemente, no perfil dos peptídeos obtidos e suas propriedades funcionais, antioxidantes e antimicrobianas (ESPINOZA; CASTILLO, 2022).

O processo de hidrólise, é realizado a partir da adição de enzimas proteolíticas em substrato contendo a fração proteica, a fim de obter a produção de HPP com diferentes estruturas e propriedades biofuncionais, com grande poder de digestibilidade intestinal, valor biológico, prebiótico e imunomoduladores. A maior parte dos estudos e aplicações industriais de HPP são direcionados para o uso de enzimas comerciais como a alcalase®, Brauzyn® e Protamex™, que aumentam o custo do processo (DIETERICH, 2014; HALIM *et al.*, 2016; GUTIÉRREZ-FLORES *et al.*, 2021).

Os hidrolisados apresentam elevada capacidade antioxidante, uma vez que, se relaciona com peptídeos bioativos que apresentam tamanho de 3 a 20 aminoácidos que podem se manter inativos dentro da sequência da proteína precursora, mas podem ser ativados a partir de hidrólises enzimáticas promovidas por peptidases em processos biotecnológicos ou durante a digestão gastrointestinal (MORA *et al.*, 2018; LUNELLI, 2015; SILVA *et al.*, 2021).

Atualmente, há escassez em informações sobre o impacto do consumo de HPP na saúde humana. As pesquisas encontradas demonstram limitações quanto a bioatividade *in vivo*; He e colaboradores (2015) utilizaram hidrolisado proteico de Yellowtail Kingfish (*Seriola lalandi*) para produção de empanados e bolo de peixe, observando seu desempenho em frituras. Em modelos animais, são encontradas pesquisas promissoras demonstrando que a utilização dos HPP em animais possuem propriedades benéficas para a saúde cardiovascular, neurológica, intestinal, renal e imunológica dos animais, como a pesquisa de Broggi e colaboradores (2017) que utilizou o hidrolisado proteico de resíduos de sardinha (*Sardinella sp.*) na alimentação de juvenis (filhotes) de Jundiá (*Rhamdia quelen*), apresentando resultados eficientes para estimular a alimentação e a ingestão de alimento (SOUZA, 2018; LEES; CARSON, 2020).

Apesar dos estudos que utilizam o hidrolisado na alimentação animal, seria interessante inovar em pesquisas para introduzir seu uso na alimentação humana, já que podem ser utilizados para aumentar a estabilidade de armazenamento de alimentos e emulsionar, espumar ou ser adicional em salsichas, maionese, bebidas, cremes, entre outros (SILVA, 2014; HALIM *et al.*, 2016; GONÇALVES, 2021).

Portanto, por ser uma fonte alternativa de proteína hidrolisada, se torna relevante estudos que demonstre o comportamento dos peptídeos em relação à atividade antioxidante, uma vez que compostos antioxidantes estão associados à proteção à saúde mesmo em pequenas concentrações podem retardar ou inibir a ação dos radicais livres produzidos pelo próprio organismo humano. Produtos com capacidade antioxidante podem ser utilizados na indústria de alimentos como aditivo ou conservante alimentar (FERREIRA, 2013, LACHNO *et al.*, 2019). As propriedades antioxidantes que encontramos nos peptídeos, estão diretamente relacionadas com a sua composição e estrutura. Alguns exemplos de aminoácidos que podem promover a atividade antioxidante são: tirosina, triptofano, metionina, cisteína e histidina (LUNELLI, 2015).

Diante do exposto, este estudo tem por objetivo geral, avaliar a atividade antioxidante dos HPP de Peroá (*Balistes Capriscus*) advindo da costa sul do estado do Espírito Santo, obtidos a partir diferentes tratamentos enzimáticos, visando a obtenção de HPP de resíduos de peroá com potencial antioxidante.

2 METODOLOGIA

2.1 DESENHO ESTUDO

É uma pesquisa descritiva e experimental (*in vitro*), sendo de caráter transversal e de abordagem quantitativo. Este estudo é caracterizado como quantitativo, pois envolverá mensuração de variáveis pré-determinadas e análise objetiva de dados coletados.

O tamanho amostral utilizado foi de 20g de resíduos de peroá triturados e utilizados para reter a Fração Proteica solúvel, realizar o tratamento enzimático a partir da adição das enzimas papaína, bromelina e tripsina e realizar a análise antioxidante pelo método de redução de ferro⁺³ (FRAP).

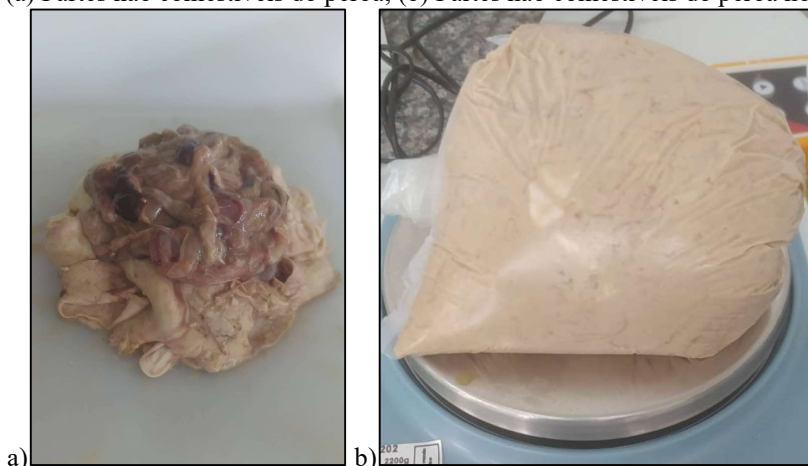
Esta pesquisa foi desenvolvida no Programa Institucional de Iniciação Científica (PIIC) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). O processamento da matéria prima e obtenção do extrato proteico foi realizado no laboratório do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) em Piúma. Os ensaios enzimáticos e análise antioxidante foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Biofísica Molecular de Proteínas (LB2MP)/CCS/UFES, com suporte do Laboratório de Biotecnologia Aplicada ao Agronegócio (LBAA), do Labiom/Ufes.

2.2 COLETA DE DADOS

2.2.1 Obtenção dos resíduos de peroá (*Balistes capriscus*)

O pescado utilizado foi adquirido com pescadores no litoral sul do Estado do Espírito Santo. O pescado foi acondicionado em caixa isotérmica sob temperatura de até 5°C (com gelo) até o processamento (no máximo 12h). As partes não comestíveis como fígados e aparelho digestivo do peroá foram extraídas e processadas em liquidificador até obtenção de uma pasta homogênea (Imagem 2), que foi acondicionada imediatamente à temperatura de congelamento para inibição da ação autolítica e para realização das próximas análises.

Imagem 2 – (a) Partes não comestíveis do peroá; (b) Partes não comestíveis do peroá homogeneizadas



Fonte: Arquivo do próprio autor, 2023.

2.2.2 Extração da fração proteica solúvel

A fração proteica solúvel foi extraída pelo método químico por solubilização em meio alcalino e ácido, descrito por Arnesen e Gilberg (2006), com algumas adaptações. A amostra foi homogeneizada em água destilada (1:1), ajustando-se o meio para pH 11, com agitação por 15 minutos, seguida de centrifugação a 8000 x g em centrífuga Eppendorf R por 15 minutos a 4°C. A fração lipídica foi removida. O sobrenadante foi reservado (4°C) e o sedimento foi submetido à nova extração em água com pH 11 por mais 15 minutos, repetindo a etapa de centrifugação.

O sedimento foi novamente submetido à extração em água destilada, com ajuste para pH 2, agitação por mais 15 minutos e centrifugação a 8000 x g a 4°C por 15 minutos. O sobrenadante foi recolhido e adicionado às porções extraídas anteriormente. O extrato das 3 etapas foi ajustado para pH 7, com agitação por 15 minutos, e posterior centrifugação por 60 minutos a 8000 x g, a 4°C. Posteriormente o sobrenadante foi filtrado, liofilizado e pesado resultando na Fração Proteica solúvel, sendo armazenada no ultra-freezer para as próximas análises (Imagem 3).

Imagem 3 – a) Subproduto triturado e pesado; b) Medidas para solubilização; c) Amostra liofilizada e pesada



Fonte: Elaboração do próprio autor, 2023.

2.2.3 Tratamento enzimático da Fração Proteica solúvel

A fim de obter maior concentração de peptídeos, a Fração Proteica solúvel foi submetida a um processo de hidrólise enzimática, utilizando as enzimas comerciais Papaína (P), Bromelina (B) e Tripsina (T). As condições de hidrólise foram definidas a partir de dados conhecidos das enzimas (temperatura e pH ótimo), disponíveis na literatura. O Quadro 1 apresenta o resumo dos tratamentos enzimáticos realizados no experimento.

Quadro 1 – Resumo dos tratamentos enzimáticos.

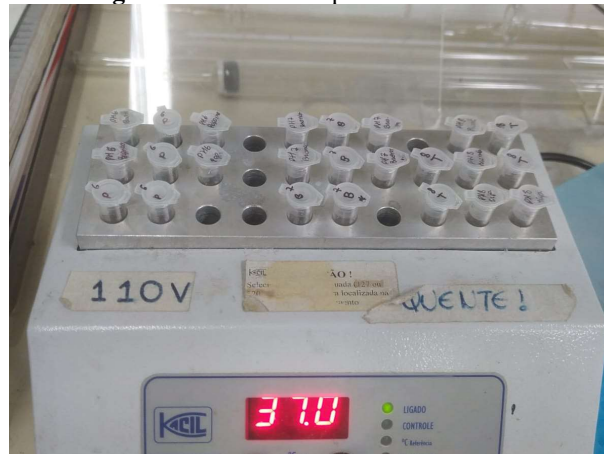
Enzima	Tampão ¹	pH	Temperatura	Concentração (E / S)	Tempo (min)
Papaína	0,1 M Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄	6,0	37°C	3%	0
					180
					360
Bromelina	0,1 M Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄	7,0	37°C e 50°C	3%	0
					180
					360
Tripsina	0,1 M Na ₂ HPO ₄ -NaH ₂ PO ₄	8,0	37°C	3%	0
					180
					360

Fonte: Produção do próprio autor, 2023.

¹Nota: tampão ajustado para cada pH utilizado.

As amostras adicionadas de enzimas foram então nomeadas como: P, B, B50 e T. As demais amostras para controle sem adição de enzimas foram nomeadas como: C6, C7, C7-50 e C8. Todas as amostras foram aquecidas em bloco digestor a 37°C e apenas as amostras B50 e C7-50 foram aquecidas a 50°C (Imagem 4), sendo retirada uma alíquota de 2ml nos tempos 0, 180 e 360 minutos. Posteriormente as amostras foram congeladas em 20°C para interromper o processo de hidrólise, e armazenada para as demais análises.

Imagem 4: Amostra em processo de hidrólise



Fonte: Elaboração do próprio autor, 2023.

2.2.4 Determinação do Grau de hidrólise da Fração Proteica solúvel

A fim de avaliar o grau de hidrólise do HPP, foi utilizado o método OPA (o-ftaldeído) descrito por Church e colaboradores (1993) e modificado por Nielsen e colaboradores (2001). Essa metodologia fundamenta-se na reação de grupos amino primários com OPA, sendo esta monitorada a 340nm, utilizando serina como padrão. O reagente OPA foi preparado utilizando Tetraborato e Sódio (Bórax), Dodecil Sulfato de Sódio (SDS), Ditioneitol (DTT), OPA, etanol e água ultrapura, as quantidades foram seguidas de acordo com o material consultado. O padrão serina foi preparado adicionando-se a Serina em água ultrapura. As amostras foram preparadas em diferentes concentrações e adicionados 1,5mL de OPA, a amostra, após 2 min de reação foi lida em absorbância a 340 nm no leitor de placas. O grau de hidrólise é definido como o percentual de ligações peptídicas clivadas, calculado a partir de 3 equações dispostas abaixo.

$$\text{Serina} - \text{NH}_2 = \frac{(\text{abs. amostra} - \text{ab. branco})}{(\text{abs. padrão} - \text{a. branco})} \times 0,9516 \times V \times \frac{100}{X \times P} \quad (1)$$

Onde: X= massa da amostra em g

P= % proteína total da amostra

V= volume da solução em L

$$h = \frac{(\text{Serina} - \beta)}{\alpha} \quad (2)$$

Onde:

β para proteína de peixe = 0,4

α para proteína de peixe = 1

$$\text{GH (\%)} = \frac{h}{h_{\text{tot}}} \times 100 \quad (3)$$

Nota: h = n° de ligações peptídicas hidrolisadas

htot = é o n° total de ligações peptídicas por equivalente de proteína, sendo este dependente da composição aminoácida do material.

2.2.5 Avaliação da atividade antioxidante dos HPP

A atividade antioxidante das amostras foi realizada de acordo com o método de Poder Antioxidante Redutor de Ferro³⁺ (FRAP), através do método sugerido por Yildirim e colaboradores (2001) segundo modelo desenvolvido na EMBRAPA (RUFINO, 2006). Para a utilização da solução FRAP foi preparado anteriormente o tampão acetato 0,3M com pH 3,6, a solução TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) 10mM e a solução aquosa de Cloreto Férrico

20mM, sendo preparado de acordo com a metodologia apresentada. Para o preparo do padrão, foi diluído o Sulfato Ferroso 2mM em água ultrapura. As amostras foram preparadas em diferentes concentrações adaptado para microplaca, a fim de avaliar a atividade antioxidante. Posteriormente, foi adicionado à microplaca 7,2µL da amostra em diferentes concentrações, 21,6µL de água Ultra Pura e 200µL da solução FRAP, sendo disposto na placa em triplicata (Imagem 5), mantendo a amostra o máximo possível ao abrigo de luz, em seguida, foi adicionado ao leitor de placas aquecido a 37°C por 30 minutos e logo realizado a leitura em absorvância de 595 nm.



Fonte: Produção do próprio autor, 2023.

Nota: poço A, B, C, F, G e H, de 1 a 5 corresponde à amostra; poço A6, B6, C6.

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos neste estudo foram expressos pela média \pm desvio padrão de triplicatas. Os dados foram analisados pelo Excel (Versão 2310) usando a análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de comparação múltipla (Tukey). O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Tratamento enzimático da Fração Proteica solúvel e Determinação do grau de hidrólise

Após o tratamento enzimático, foi realizado os cálculos para determinar o grau de hidrólise. Os resultados obtidos foram avaliados seguindo a ANOVA e teste Tukey, os valores obtidos estão dispostos nas tabelas 1 e 2 segundo a média \pm desvio padrão, a 5% de probabilidade.

Tabela 1 – Resultados do grau de hidrólise (GH%) em diferentes tempos nas amostras sem adição de enzimas expressos em média \pm desvio padrão.

Tratamento	GH%		
	0 minutos	180 minutos	360 minutos
C6 ¹	14,60 _{bb} ² \pm 0,23	5,39 _{bb} \pm 0,79	9,81 _{ab} \pm 0,17
C7	12,59 _{ab} \pm 0,24	2,41 _{bb} \pm 0,05	9,83 _{ab} \pm 0,35
C7-50	12,59 _{ab} \pm 0,24	6,29 _{bb} \pm 0,29	9,62 _{ab} \pm 0,06
C8	10,38 _{bb} \pm 0,17	9,51 _{bb} \pm 0,16	7,99 _{bb} \pm 0,30

Fonte: Elaboração do próprio autor, 2023.

Nota¹: C6: amostra controle em pH 6; C7: amostra controle em pH 7; C7-50: amostra controle em pH 7, em temperatura de 50°C; C8: amostra controle em pH 8.

Nota²: Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas e maiúscula nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

Após o tratamento dos dados das amostras sem adição de enzimas, foi observado que há uma diferença significativa entre as amostras. Segundo Nielsen e colaboradores (2001) para a produção de HPP como ingrediente dietético, fórmulas de alimentos infantis e bebidas desportivas; estes possuem uma ampla gama de grau de hidrólise de cerca de 10% a 50%. No entanto, os valores obtidos nas amostras sem adição de enzimas não foram significativos, uma vez que o processo de autólise pode ser interrompido pelo processo químico (alteração de pH) e térmico (mudança de temperatura). Em sua pesquisa Gonçalves (2011), determinou que os valores baixos no processo de hidrólise referem-se à autólise do pescado, processo este de valor natural, onde há a ação de enzimas proteolíticas da biota intestinal. Uma vez que, por natureza, todo o tecido animal possui enzimas proteolíticas, sejam elas de origem intrínseca ou extrínsecas, principalmente, por fontes bacterianas que logo após o abate, iniciam-se as reações de autólise (BEERLI; BEERLI; LOGATO, 2004).

Em contrapartida, os valores obtidos a partir do processo de hidrólise enzimática não foram como o esperado, como observado na tabela 2.

Tabela 2 – Resultado do grau de hidrólise (GH%) em diferentes tempos nas amostras com adição de enzimas expressos em média \pm desvio padrão.

Tratamento	GH%		
	0 minutos	180 minutos	360 minutos
P¹	7,34 _{bB} ² \pm 0,24	6,00 _{bB} \pm 0,15	9,38 _{aB} \pm 0,30
B	9,55 _{aA} \pm 0,71	7,73 _{bB} \pm 0,12	9,83 _{aA} \pm 0,35
B50	9,55 _{aA} \pm 0,71	8,76 _{bB} \pm 0,13	10,16 _{bB} \pm 0,43
T	9,27 _{aA} \pm 0,26	9,99 _{bA} \pm 0,14	9,22 _{bA} \pm 0,40

Fonte: Elaboração do próprio autor, 2023.

Nota¹: P: amostra com adição de papaína; B: amostra com adição de bromelina; B50: amostra com adição de bromelina, em temperatura de 50°C; T: amostra com adição de tripsina.

Nota²: Médias e desvio padrão seguidas de letras minúsculas distintas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

Após a obtenção dos resultados do grau de hidrólise para as amostras com adição de enzimas, estes foram estipulados com nível de diferença significativo ($p < 0,05$). Comparando as amostras adicionadas com enzimas, podemos verificar que os valores obtidos não apresentam diferença significativa quando aplicado o teste Tukey. Pode-se observar que o tempo em relação ao tipo de enzima utilizada fez com que as amostras aumentassem o percentual no tempo 360 minutos, no entanto, apesar dos valores não serem significativos, ainda sim é possível deduzir que houve, mesmo que pouco, a clivagem da proteína em peptídeos.

Segundo o que abordamos anteriormente sobre a pesquisa de Nielsen e colaboradores (2001), ao avaliarmos as amostras isoladamente em seus tempos de hidrólise, observamos que a amostra que está inserida nos parâmetros estipulados pelos pesquisadores é a amostra adicionada da enzima Bromelina no tempo de 50°C.

Neste trabalho não foi possível classificar a amostra segundo suas características físico-químicas, no entanto os pesquisadores Schmidt e Salas-Mellado (2009) estudaram hidrólise proteica enzimática com Alcalase e Flavozyme, relatando a influência da água nas reações proteolíticas durante o processo de hidrólise. Com isso, pescados com altos teores de umidade podem apresentar valores grau de hidrólise maiores quando comparados aos pescados com valores baixos em umidade, pois a quantidade de água contida no pescado, pode de certa forma, potencializar o processo.

Atualmente não existem muitas pesquisas utilizando os coprodutos de peróá, sendo assim, aumenta-se a dificuldade em comparar os dados de umidade em relação ao encontrado na

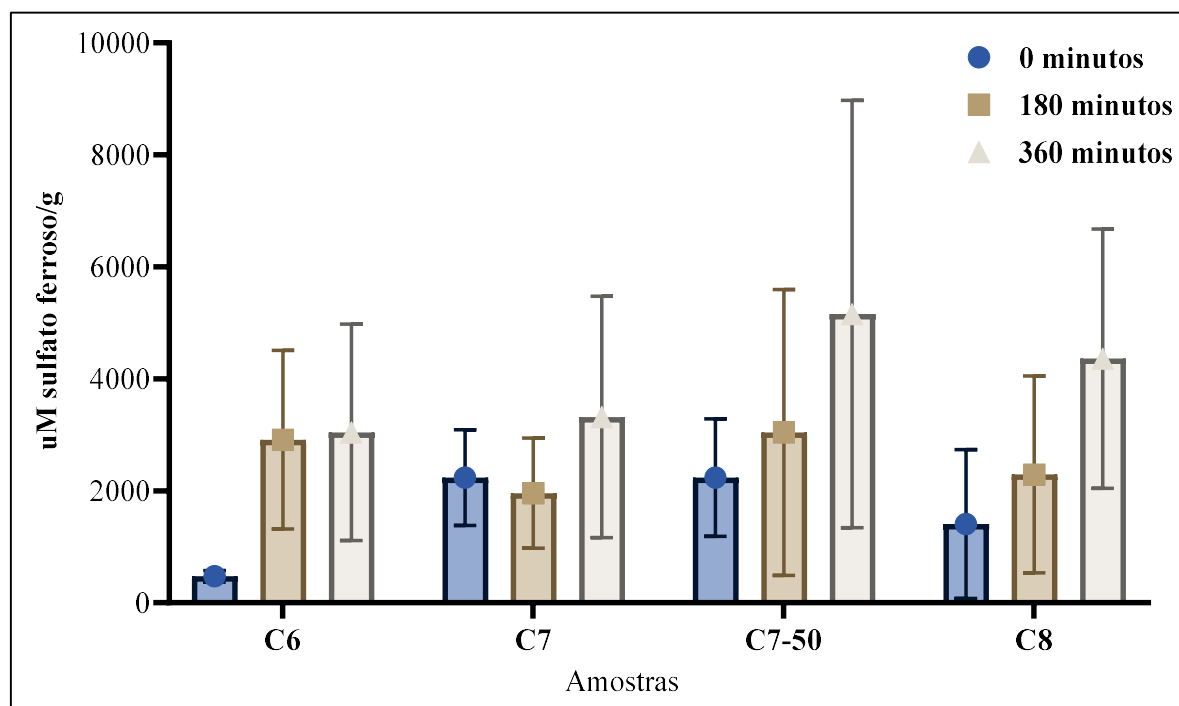
literatura, mas pesquisadores já estão se empenhando para buscar esses resultados, como Menezes (2017), que em sua pesquisa realizou caracterização físico-química de HPP de cabeças de peroá (*Balistes capriscus*), nesta pesquisa foram obtidos os valores de umidade com 78,26%, e com o mínimo e máximo do grau de hidrólise sendo de 02,48% a 70% respectivamente. Lunelli (2015) em seu trabalho com a reciclagem de resíduos do processamento de tilápia (*Oreochromis niloticus*) visando a obtenção de hidrolisado proteico como coprodutos, obteve valores de umidade com 63,6%, apresentando no tempo de 120 minutos valores de grau de hidrólise de 25,28% para a enzima papaína, 14,10% para a enzima Neutrase e 14,97% para a enzima Pepsina. De acordo com os resultados apresentados por estes pesquisadores, fica nítido como a espécie e enzimas utilizadas modificam os valores de grau de hidrólise (Schmidt e Salas-Mellado, 2009). No presente estudo não foi possível avaliar a composição centesimal das partes não comestíveis do peroá, sendo assim, se torna importante a realização de novas pesquisas para comparação destes dados.

3.2 Avaliação da atividade antioxidante das frações de peptídeos obtidas

O método FRAP possibilita determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas de compostos puros. Este é indicado pelo aumento da absorbância dado pela capacidade de transferir elétrons, reduzindo os radicais livres e fornecendo uma estimativa de atividade antioxidante (FARIAS, 2017).

Os resultados obtidos foram avaliados seguindo a ANOVA e o teste de Tukey, mas não possuíram diferença estatística, onde os valores excederam o 5% de probabilidade. Os resultados estão expressos no Gráfico 1.

Gráfico 1 – Atividade antioxidante pela redução do ferro (FRAP) nas amostras sem adição de enzimas



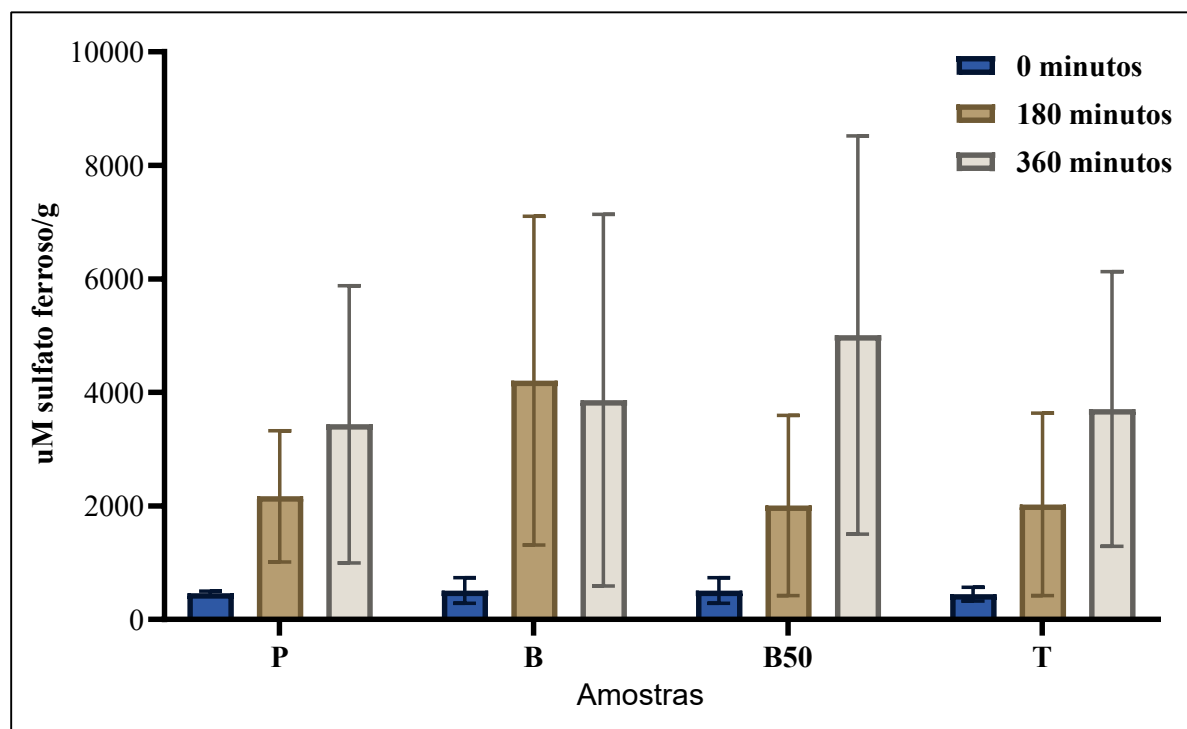
Fonte: Elaboração do próprio autor, 2023.

Nota: C6: amostra controle em pH 6; C7: amostra controle em pH 7; C7-50: amostra controle em pH 7, em temperatura de 50°C; C8: amostra controle em pH 8.

Depois de avaliar os resultados obtidos com as amostras sem adição de enzima, pode-se observar que estas apresentam diferença pouco significativa. Ao avaliar os resultados obtidos no gráfico acima, observa-se que apesar dos valores obtidos no grau de hidrólise as amostras Controle também apresentam valores crescentes quanto atividade antioxidante.

Por outro lado, as amostras adicionadas de enzimas (Gráfico 2) obtiveram resultados diferentes quando comparado com as amostras sem adição de enzimas.

Gráfico 2 – Atividade antioxidante pelo método FRAP nas amostras com adição de enzimas



Fonte: Elaboração do próprio autor, 2023.

Nota: P: amostra com adição de papaína; B: amostra com adição de bromelina; B50: amostra com adição de bromelina, em temperatura de 50°C; T: amostra com adição de tripsina.

No ensaio de atividade antioxidante pelo poder de redução de Fe^{3+} , observou-se que as amostras hidrolisadas com adição de enzimas estão em ordem crescente no gráfico apresentado. Podemos observar que as amostras em tempo de 360 minutos apresentam maiores colunas visto que, em comparação com o grau de hidrólise, este é o tempo que apresenta melhores resultados de hidrólise, pois, por estar mais tempo na temperatura ideal para a clivagem das proteínas, torna-se possível encontrar sequência de peptídeos bioativos. A amostra que apresentou melhor desempenho foi a amostra adicionada com a enzima bromelina a temperatura de 50°C. No entanto, por não possuir pesquisas acerca do tema do presente trabalho, é difícil a comparação dos resultados com dados obtidos com o mesmo pescado e método antioxidante, entretanto, ao comparar a atividade antioxidante disponível na literatura por outros pesquisadores, observamos que Klompong e colaboradores (2007), em seu estudo demonstrou que apenas os hidrolisados com 25% de grau de hidrólise com a enzima Flavourzyme foi o que possuiu maior poder redutor, se comparado com a enzima alcalase. Apesar de não ter sido utilizadas estas enzimas no presente estudo, pode-se observar os resultados encontrados por outros pesquisadores. Alguns pesquisadores explicam que diversos fatores podem atuar durante o processo de hidrólise, como o tipo de enzima e sua relação com o substrato utilizado, as concentrações e meios de reação, a composição do substrato, a estrutura e hidrofobicidade dos

peptídeos também são muito importantes com relação à presença de propriedades antioxidantes em HPP, bem como a presença do aminoácido na posição adequada na sequência que forma o peptídeo (CHEN, et al., 1996; RAJAPAKSE et al., 2005).

Alguns pesquisadores utilizaram hidrolisados proteicos de diferentes pescados para a conservação e inativação da oxidação nos alimentos, como Quadros e colaboradores (2020) que analisaram a aplicação de hidrolisados proteicos provenientes de tambaqui (*Colossoma macropomum*) como antioxidante natural na conservação de carne bovina moída, os resultados obtidos pelos pesquisadores foram satisfatórios, e relevantes para a conservação; Latorre e colaboradores (2021) avaliaram os efeitos de coberturas comestíveis de amido enriquecidas com hidrolisados proteicos de camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) prolongando a vida útil de maçãs, e obtiveram bons resultados quanto a conservação.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do apresentado, podemos concluir que os resíduos de peróá (*Balistes capricus*) possuem potencial para serem utilizados como matéria prima para a produção de hidrolisado proteico de pescados, tornando-se um coproduto de alto valor agregado, sendo capaz de ser apresentada como uma alternativa biotecnológica, ou seja, há possibilidade do hidrolisado proteico de pescados ser utilizado para desenvolvimento de produtos que proporcione o melhor aproveitamento do pescado pelas indústrias. Todavia, alguns resultados ainda precisam de novas comparações, fazendo-se necessário novas pesquisas utilizando os coprodutos e tratamentos enzimáticos para obtenção de peptídeos bioativos com capacidade antioxidante, e até mesmo a utilização de outras partes dos resíduos.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica (IC) concedida, a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) pela possibilidade de participação no Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) 2022/2023 e ao Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) e UFES que disponibilizaram o espaço e alternativas para o desenvolvimento do projeto. Agradeço ao Laboratório de Análises Biomoleculares (LABIOM) do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFES, por sua assistência técnica, ao Laboratório de Bioquímica e Biofísica Molecular de Proteínas (LB²MP) e ao Centro Universitário Salesiano (UNISALES) que proporcionou o conhecimento para desenvolver o trabalho científico.

5 REFERÊNCIAS

- ALI, A. et al. Research Progress on Nutritional Value, Preservation and Processing of Fish-A Review. **Foods**, v. 11, n. 22, p. 25, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods11223669>. Acesso em: 20 abr. 2023.
- ARNESEN, J. A.; GILDBERG, A. Extraction of muscle proteins and gelatine from cod head. **Process Biochemistry – Elsevier**. Norway, v. 41, 3rd ed., p. 697-700, mar. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.09.001>. Acesso em: 11 abr. 2023.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. **Anuário 2023 – Peixe BR da Piscicultura**. São Paulo. 2023. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario/>. Acesso em: 15 mai. 2023.
- BACO, N. et al. Antibacterial activity of functional bioactive peptides derived from fish protein hydrolysate. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 967, n. 1, p. 12019, jan. 2022. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/967/1/012019>. Acesso em: 3 mai. 2023
- BATISTA, P. F. S. **Aspectos preliminares acerca da biologia do peroá, Balistes Capriscus (GMELIN, 1788), no Espírito Santo, Brasil**. 2022. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Pesca) – Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Piúma, Espírito Santo, 2022.
- BEERLI, E. L.; BEERLI, K. M. C.; LOGATO, P. V. R. Silagem ácida de resíduos de truta (*Oncorhynchus mykiss*), com a utilização de ácido muriático. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 195–198, fev. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542004000100026>. Acesso em: 29 aug. 2023.
- BRASIL. 2010. Lei nº 12305 de 02 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos e altera a Lei no 9.605, de 12 de Fevereiro de 1998. **Diário Oficial da União**: Seção 1. Brasília, DF, n. 147, p. 3-7, 3 ago. 2010.
- BRASIL. 2011. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**, Brasil, v. 1, p. 60, 2011.
- BRASIL. 2020. Instrução normativa nº 53, de 1º de setembro de 2020. **Diário oficial da união**, Brasília, DF, 4 set. de 2020. Seção 1, 4 p.
- BROGGI, J. A. et al. Hidrolisado proteico de resíduo de sardinha como atrativo alimentar para juvenis de jundiá. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 2, p. 505-512, abr. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8348>. Acesso em: 21 jun. 2023.
- CHEN, H. M; et al. Antioxidant activity of design peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 44, p. 2619–23, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf950833m>. Acesso em: 29 ago. 2023.
- CHURCH, F. C. Spectrophotometric Assay Using o-Phthaldialdehyde for Determination of Proteolysis in Milk and Isolated Milk Proteins. **Journal of Dairy Science**, [s. l.], v. 66., 1st ed., p. 1219-1227, aug. 1983. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)81926-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81926-2). Acesso em: 1 out. 2023.
- CRYSTELLO, D. C. B. **Alguns aspectos da pesca no estado do Espírito Santo, Sudeste do Brasil**. 2021. 2021. 50 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2021.

DECKER, A. T. et al. Avaliação dos possíveis impactos ambientais dos resíduos de pescado na localidade de Pelotas/RS. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, Pelotas – RS, v.2, n.1, p.1-10, jul. 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/>. Acesso em: 01 set. 2023.

DIETERICH, F. **Desenvolvimento, avaliação físico-química e biológica de hidrolisado proteico de resíduos agroindustriais para surubim**. 2014. 88 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2014.

ESPINOZA, D.; CASTILLO, A. Avances tecnológicos en la obtención, identificación y producción de hidrolizados proteicos de residuos de pescado por acción enzimática: propiedades bioactivas y tecnofuncionales, aplicación en alimentos, mercado y regulación. **Scientia Agropecuaria**, [s. l.], may. 2022. v. 13, n. 2, p. 135-148. Disponível em: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172022000200008. Acesso em: 18 set. 2023.

ESPÍRITO SANTO. **Plano estadual de resíduos sólidos do Espírito Santo**. Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Governo do Estado do Espírito Santo. 2019.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022**. Rome: FAO, 2022. 266p. Disponível em: <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cc0461en>. Acesso em: 15 mai. 2023

FARIAS, T. C. **Obtenção enzimática de hidrolisado protéico de soja com atividade antioxidante para uso em alimentos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

FERNANDES, N. I. **Desenvolvimento e caracterização de concentrados proteicos de tambacu**. 2019. Trabalho de conclusão de curso (graduanda em Engenharia de Aquicultura) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2019.

FERREIRA, A. C. M. **Aplicação de métodos de conservação e análise bromatológica em hidrolisado proteico obtido a partir de resíduos do processamento de tilápia *Oreochromis Niloticus* em diferentes temperaturas de armazenamento**. 2013. 76 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

GONÇALVES, A. F. N. **Hidrolisados proteicos de víscera residual de sardinha na alimentação de trutas arco-íris**. 2021. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado). Universidade do Estado de Santa Catarina, 2019.

GONÇALVES, A.A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo : Atheneu, 2011.

GUTIÉRREZ-FLORES, L. A. et al. Hidrolizado de músculo de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) apto para el consumo humano características físicoquímicas, microbiológicas y sensoriales. **Ciências Agroindustriais**, v. 11, n. 1, p. 47-55, ene. 2021. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/oaiart?codigo=8085134>. Acesso em: 20 set. 2023.

HALIM, N. R. A.; YUSOF, H. M.; SARBON, N. M. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology - Elsevier**, [s. l.], v. 51, p. 24-33, may. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.02.007>. Acesso em: 17 out. 2023.

HE, S.; FRANCO, C.; ZHANG, W. Fish Protein Hydrolysates: Application in Deep-Fried Food and Food Safety Analysis. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 80, n. 1, p. E108-E115,

jan. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12684>. Acesso em: 13 mai. 2023.

ISMAEL, L. L. et al. Avaliação de composteiras para reciclagem de resíduos orgânicos em pequena escala. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 28–39, 2013. Disponível em: <https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/2403>. Acesso em: 23 set. 2023.

KLOMPONG, V. et al. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. **Food chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1317-1327, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>. Acesso em: 29 ago. 2023.

LACHNO, A. S. et al. Bioaditivos e aditivos naturais em alimentos: Corantes, antioxidantes e aromatizantes. **Boletim Técnico-Científico**, [s. l.], v. 5, n. 2, 2019. Disponível em: <https://periodicos.iffarroupilha.edu.br/index.php/boletim-tecnico-cientifico/article/view/233>. Acesso em: 29 ago. 2023.

LATORRES J. M. et al. Efeito de coberturas comestíveis de amido enriquecidas com hidrolisados proteicos de camarão branco (*litopenaeus vannamei*) sobre vida útil de maçãs. **Editora Científica Digital eBooks**, [s. l.], p. 296–311, 2021. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.37885/210404268>. Acesso em: 29 ago. 2023.

LEES, M.; CARSON, B. P. The Potential Role of Fish-Derived Protein Hydrolysates on Metabolic Health, Skeletal Muscle Mass and Function in Ageing. **Nutrients**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 2434. Aug. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu12082434>. Acesso em: 5 jun. 2023.

LUNELLI, T. **Reciclagem de resíduos do processamento de tilápia (*Oreochromis niloticus*) visando obter hidrolisado proteico como coproduto**. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-14122015-095239/>. Acesso em: 29 ago. 2023.

MACHADO, T. M. et al. Economia circular e resíduo de pescado. **Brazilian Journal of Environmental Sciences (RBCIAMB)**, v. 55, n. 4, p. 525-535, mai. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5327/Z2176-947820200677>. Acesso em: 22 jun. 2023.

MENEZES, J. L. S. **Desenvolvimento e caracterização físico-química de hidrolisado proteico de peróá (*Balistes capriscus*) produzido a partir de coprodutos**. Piúma, 2017. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Pesca) - Instituto Federal do Espírito Santo, Piúma, 2017.

MONTOYA, J. E. Z.; SANCHEZ, A. F. The Hydrolysates from Fish By-Product, An Opportunity Increasing. **Hydrolases – IntechOpen**, [s. l.], p. 174 – 200, fev. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/intechopen.102348>. Acesso em: 15 set. 2023.

MORA, L.; ARISTOY, M-C.; TOLDRÁ, F. Bioactive Peptides. **Encyclopedia of Food Chemistry – Elsevier**, Valencia. 2019. p. 381–389. nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22397-4>. Acesso em: 20 set. 2023.

NEVES, R. . M.; MIRA, N. V. M.; MARQUEZ, U. M. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. **Food Science and Technology**, v. 24, p. 101-108, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000100019>. Acesso em: 25 set. 2023.

- NIELSEN, P. M.; PETERSEN, D.; DAMBMANN, C. Improved Method for Determining Food Protein Degree of Hydrolysis. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 66, p. 642-646, jun. 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2001.TB04614.X>. Acesso em: 1 out. 2023.
- OLIVEIRA, M. S. R. *et al.* Utilização de enzimas proteolíticas para produção de hidrolisados proteicos a partir de carcaças de frango desossadas manualmente. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s. l.], v. 18, p. 199-210, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.4414>. Acesso em: 17 ago. 2023.
- PINTO, B. V. V.; *et al.* VILARINHO B. O resíduo de pescado e o uso sustentável na elaboração de coprodutos. **Revista Mundi Meio Ambiente e Agrárias**, Curitiba – PR, v.2, n.2, p. 15-26, jul./dez., 2017. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.21575/25254790rmmma2017vol2n2223>. Acesso em: 14 set. 2023.
- PIRES, D. R. *et al.* Aproveitamento do resíduo comestível do pescado: Aplicação e viabilidade. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal – PB, v. 9, n. 5, p. 34 – 46, dez. 2014. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7389661>. Acesso em: 16 out. 2023.
- QUADROS, C. C. *et al.* Aplicação de hidrolisado proteico proveniente de tambaqui (*Colossoma macropomum*) como antioxidante natural na conservação de carne bovina moída. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 7., 2020. Rio Grande do Sul. **Anais...** Rio Grande do Sul: sbCTA-RS, 2020. p. 662-667.
- RAJAPAKSE, N. *et al.* Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. **Food Research International**, [s. l.], v. 38, p. 175–82, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.002>. Acesso em: 29 out. 2023.
- ROSSETTO, J. F.; SIGNOR, A. Inovações tecnológicas empregadas em coprodutos gerados pelo processamento do pescado. **Medicina Veterinária e Biotecnia - Pubvet**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 1–11, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n04a796.1-11>. Acesso em: 20 set. 2023.
- RUFINO, M. D. S. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **EMBRAPA**. 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/664098/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pelo-metodo-de-reducao-do-ferro-frap>. Acesso em: 01 ago. 2023.
- SANTOS, A. M. C. *et al.* Biotecnologia branca para um mundo verde. **Editora CRV**, Curitiba-PR, 1 ed., v. 1, 118 p., 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.24824/978854442550.3>. Acesso em: 3 jun. 2023.
- SCHMIDT, C. G.; SALAS-MELLADO, M. Influência da ação das enzimas alcalase e flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. **Química Nova**, v. 32, p. 1144-1150, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500012>. Acesso em: 29 jun. 2023.
- SHIRAHIGUE, L. D. *et al.* The feasibility of increasing lipid extraction in tilapia (*Oreochromis niloticus*) waste by proteolysis. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 25, n. 2, p. 265-271, feb. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10498850.2013.845276>. Acesso em: 08 mai. 2023.

SILVA, J. C. et al. Possibilidades proteicas do processamento agroindustrial de peixes. **CIAGRO**, Pernambuco, ed. 1, p. 367-384, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.31692/978-65-88970-17-1.367-384>. Acesso em: 19 mai. 2023.

SILVA, J. F. X. **Produção, caracterização e métodos de conservação de hidrolisado proteico provenientes de resíduos do processamento de Tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2014. 162 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Pós-graduação em Ciências Biológicas, 2015.

SILVA, M. H.; SOARES, G. S. S. **Boletim Estatístico da Pesca do Espírito Santo**. Ano 2013. Programa de estatística pesqueira do Espírito Santo. n. 2. ed. UFES, Vitória: 94 p., 2013.

SOUSA, V. F. **Preparação e caracterização de hidrolisados proteicos de tilápia**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar) – Universidade de Lisboa, Lisboa, 2019.

SOUZA, R. G. **Desenvolvimento e Avaliação do hidrolisado proteico a partir da hidrólise enzimática de coprodutos de atum (*Thunnus alalunga*)**. 2018. 56 f. Monografia (graduação) - Instituto Federal do Espírito Santo, Campus Piúma, Coordenadoria de Curso Superior de Engenharia de Pesca, 2018.

YILDIRIM A.; MAVI A.; KARA A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal Agric Food Chem**, [s. l.], v. 49, 2001, p.4083–9 <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0103572> Acesso em: 20 mai. 2022.