UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS

CRIOPROTETORES E INIBIDORES DE PROTEASES NA PROTEÓLISE E GELEIFICAÇÃO DO SURIMI DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*) SOB ESTOCAGEM CONGELADA

EYNER GODINHO DE ANDRADE

MANAUS
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS

EYNER GODINHO DE ANDRADE

CRIOPROTETORES E INIBIDORES DE PROTEASES NA PROTEÓLISE E GELEIFICAÇÃO DO SURIMI DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*) SOB ESTOCAGEM CONGELADA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Pesqueiras.

Área de concentração: Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Antônio José Inhamuns

MANAUS
2016

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A553s

Andrade, Eyner Godinho de
Crioprotetores e inibidores de proteases na proteólise e geleificação do surimi de tambaqui (Colossoma macropomum) e matrinxã (Brycon amazonicus) sob estocagem congelada / Eyner Godinho de Andrade . 2016
143 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Antônio José Inhamuns da Silva
Tese (Doutorado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) - Universidade Federal do Amazonas.

1. surimi. 2. kamaboko. 3. composição. 4. inibidor de proteases. 5. peixes. I. Silva, Antônio José Inhamuns da. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

EYNER GODINHO DE ANDRADE

CRIOPROTETORES E INIBIDORES DE PROTEASES NA PROTEÓLISE E GELEIFICAÇÃO DO SURIMI DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*) SOB ESTOCAGEM CONGELADA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Pesqueiras.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Rogério Souza de Jesus COTI / INPA

Prof. Dr. Jackson Pantoja Lima IFAM

Prof. Dr. Marcondes Agostinho Gonzaga Júnior EST / UEA

Prof. Dr. Carlos Victor Lamarão Pereira FCA / UFAM

Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visanteiner DQJ/UEM

Dedico,

Ao meu pai Ivan Bentes de Andrade (*in memorian*), que, desde cedo, ensinou-me a importância de um trabalho bem feito.

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Arquiteto do Universo – DEUS, que sempre me deu sabedoria, tantas vezes quanto eu precisei, para trilhar pelo caminho da virtude.

Ao Prof. Dr. Antônio José Inhamuns, pela paciência e compreensão na orientação desta tese, indicando os caminhos para execução dos trabalhos.

À minha família, Ivan e Maria do Socorro (pais), Geisina (esposa), Maria Luísa (filha), Miguel (filho), Ivan Filho, Ivana, Rafael e Elisandro (irmãos), muito obrigado por entenderem toda minha ausência durante toda a minha formação acadêmica.

À minha avó Nídia Bentes que me recebeu e me apoiou durante meus estudos, desde a graduação até finalizar o doutorado, sempre sendo grande exemplo de força, superação e fé em Deus.

Aos colegas e amigos do ICSEZ/UFAM/PIN, que lutaram junto comigo durante o processo de liberação, para que eu pudesse realizar esse sonho e que me acompanharam até a conclusão.

Aos colegas e amigos do IFAM/CPA, os que ajudaram no meu segundo processo de liberação e os que assumiram minhas disciplinas durante o afastamento.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Tecnologia do Pescado/FCA/UFAM, Prof. Dr. Pedro Roberto de Oliveira, Ricardo Aparício Guimarães, Ana Beatriz, Karina Barbosa, Ivana Maciel e Fábio Lopes, que muito contribuíram durante as análises e processamento do pescado, além da convivência fraternal durante minha caminhada.

Aos colegas e amigos Euclides Luíz (Estudante de Eng. de Pesca) e Natália Uchoa (Eng^{a}. de Pesca), sem os quais esta tese não seria possível de ser realizada, meu muito obrigado.

Ao Dr. Rogério Souza de Jesus, Dr. Nilson Carvalho e Dra. Jerusa Andrade, por cederem as instalações e aparelhos do INPA/COTI para que eu realizasse várias análises da tese.

Ao Prof. Edmar Andrade, Prof. Pedro Queiroz, Doutoranda Anita Souza e Técnica Enedina Assunção (Dina), da UFAM, que muito contribuíram com equipamentos e análises durante os experimentos da tese.

Ao meu grande amigo Leonardo Maeda, que não mediu esforços para encontrar um fornecedor de pescado, mesmo fora de época, para que o “surimi” fosse elaborado com matéria-prima de ótima qualidade.

A Universidade Federal do Amazonas pela formação acadêmica, política e humanitária que me possibilitou, sendo minha segunda “casa” durante 19 anos, de 1997 a 2016, da graduação ao doutorado.

Ao CNPq que disponibilizou a bolsa de doutorado que foi imprescindível para as constantes viagens, além da compra de alguns materiais.

Em fim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste estudo e que, por ventura, eu não tenha citado.

“A vida é uma peça de teatro que não permite ensaios. Por isso, cante, ria, dance, chore e viva intensamente cada momento de sua vida, antes que a cortina se feche e a peça termine sem aplausos.”

Charles Chaplin

RESUMO

Este estudo avalia o rendimento, composição química, atividade autolítica, textura, e cor dos "surimi" de tambaqui e matrinxã, propondo melhorias na estocagem congelada e na geleificação térmica através do uso de crioprotetores e inibidores de proteases. Os estudos mostraram que durante o processamento há perdas que reduziram o rendimento passando de 40% para Carne Mecanicamente Separada (CMS) e 36% para o "surimi" de tambaqui e, para o matrinxã, os resultados foram de 48,5% e 40,5% para CMS e "surimi", respectivamente. A composição centesimal da CMS revelou que as lavagens sucessivas aumentaram do teor de umidade para ambos os peixes, obtendo-se um "surimi" de classe especial segundo o critério da umidade. Houve redução do teor proteico decorrente da remoção das proteínas sarcoplasmáticas durante a lavagem. A etapa reduziu ainda o teor de minerais, porém, não foi eficiente na remoção dos lipídios. Os dados da Capacidade de Retenção de Água (CRA) mostraram tendência a diminuição a partir dos 90 dias, independente do tipo de crioprotetor. A solubilidade proteica não apresentou grandes variações até o final do experimento. A textura foi sensivelmente afetada pelo tempo de estocagem, decrescendo a partir dos 90 dias. Os resultados foram confirmados pela eletroforese que revelou maior desnaturação da miosina a partir dos 120 dias de conservação. O uso da mistura de crioprotores a 4% de sacarose, 4% de sorbitol e 0,5% de tripolifosfato de sódio apresentou os melhores resultados para ambas as espécies. Os resultados para atividade autolítica mostraram que a proteína isolada de soja a 5% foi mais eficiente, inibindo em torno de 60% da atividade autolítica nos "surimi" de tambaqui e matrinxã. Tanto a soja como o extrato de batata apresentaram bons resultados indicando que as serino-proteases desempenharam importante papel na atividade proteolítica muscular de ambas as espécies. A adição de inibidores melhorou a elasticidade dos géis através do teste da dobra, onde todos os tratamentos obtiveram conceito AA. Os resultados de Força de Gel (gxcm) para o "kamaboko" de tambaqui mostraram que apenas o extrato de batata a 1% de adição não incrementou a textura, entretanto sendo estatisticamente igual ao controle. No "kamaboko" de matrinxã, a força de gel foi melhor nos tratamentos com ovoalbumina 5% e proteína isolada de soja

a 3% e 5%, mas apresentou resultados negativos para o extrato de batata. A proteína de soja e o extrato de batata causaram perdas na brancura do produto, porém manteve-se acima de 70%. Concluiu-se assim que a proteína isolada de soja é o inibidor mais eficiente para ambas as espécies.

Palavras-chave: surimi, kamaboko, composição, crioprotetor, inibidor de proteases, peixes.

ABSTRACT

This study evaluated the yield, chemical composition, autolytic activity, texture, and color of surimi of tambaqui and matrinxã, and proposed improvements in the frozen storage and thermal gelation steps through the use of cryoprotectants and protease inhibitors. Studies have shown that losses during processing reduce the yield from 40%, for mechanically deboned meat (MDM), to 36%, for tambaqui surimi, and in the case of matrinxã species, the results were 48.5% and 40.5% for MDM and surimi, respectively. The centesimal composition of MDM revealed that successive washes increased the moisture content in both fish, thus, obtaining a special class of surimi according to the moisture criterion. There was a reduction in protein content during the washing step due to the removal of sarcoplasmic proteins. This process also reduced the mineral content of the fish; however, it was not efficient in removing lipids. The water-holding capacity (WHC) data showed a tendency to decrease after 90 days of storage, regardless of the type of cryoprotectant used. Protein solubility did not show great variations until the end of the experiment. The texture was significantly affected by the length of the storage time, as it started, decreasing after 90 days. These results were confirmed by electrophoresis, which revealed significant denaturation of myosin after 120 days of storage. The use of a cryoprotectant mixture containing 4% sucrose, 4% sorbitol, and 0.5% sodium tripolyphosphate gave us the best results for both the species studied. The results for autolytic activity levels showed that 5% soy protein isolate treatment was most effective, inhibiting around 60% of the autolytic activity in surimi of tambaqui and matrinxã. Both soy and potato extracts gave good results which indicated that serine proteases play an important role in the muscle proteolytic activity of both species. The addition of inhibitors improved the elasticity of gels measured via a folding test, where all treatments obtained AA concept. The results obtained for gel strength measurements (g.cm) for tambaqui kamaboko showed that only potato extract treatment at 1% did not improve the texture, however this value was statistically equal to the control. In matrinxã kamaboko, the gel strength improved after the treatments with ovalbumin (5%) and soy protein isolate (3% and 5%), but decreased after treatment with potato extract. The soy protein isolate and potato extract caused losses in the "whiteness" of the product, however this value remained above 70%. To conclude, soy protein isolate is the most efficient inhibitor for both the species of fish studied here.

Keywords: *surimi, kamaboko, composition, cryoprotectants, protease inhibitor.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		Pág.
Figura 1:	Fabricação artesanal do “kamaboko”……..	23
Figura 2:	Formação de gel de miosina. (a) não aquecida; (b) formação de cluster no aquecimento precoce; (c) a formação de roda de margarida de miosina, cabeça-com-cabeça; (d) Desnaturação das partes da cauda; (e) grupos ligados através das caudas desnaturadas; (f) formação de rede de gel……	34
Figura 3:	Modelo esquemático da desnaturação (agregação) das proteínas α – helicoidais (topo) e desnaturação (desdobramento) das proteínas não-helicoidais (globulares) (abaixo) durante a estocagem congelada e sua prevenção pelos crioprotetores…….	39
Figura 4:	Exemplar de tambaqui……	49
Figura 5:	Exemplar de matrinxã…….	51
Figura 6:	Captura do pescado……...	52
Figura 7:	Separação mecânica …….	53
Figura 8:	Lavagem da CMS……	54
Figura 9:	Etapa de refino do “surimi”…….....	54
Figura 10:	Embalagem da CMS e do “surimi”……...	55
Figura 11:	Fluxograma de obtenção da CMS, “surimi” e avaliações preliminares…..	57
Figura 12:	Fluxograma do efeito dos crioprotetores sobre a desnaturação proteica..	60
Figura 13:	Fluxograma do efeito de inibidores de proteases na atividade autolítica..	62
Figura 14:	Texturômetro TA-XT2…….	64
Figura 15:	Forma de aço inoxidável……	64
Figura 16:	Aplicação do teste da dobra……..	66
Figura 17:	Fluxograma dos Efeitos da adição de inibidores de proteases sobre as propriedades do gel “Kamaboko”…….	66

Figura 18: Séries temporais da CRA do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento. CT = surimi sem crioprotetores; T1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); T2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); T3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%)……. 105

Figura 19. Séries temporais da CRA do matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento. CM = surimi sem crioprotetores; M1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); M2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); M3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%).. 106

Figura 20. Séries temporais da solubilidade proteica do surimi de tambaqui (Colossoma macropomum) por tratamento. CT = surimi sem crioprotetores; T1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); T2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); T3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%)…….. 108

Figura 21. Séries temporais da solubilidade proteica do matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento. CM = surimi sem crioprotetores; M1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); M2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); M3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%)…… 109

Figura 22. Séries temporais da força de gel do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento. CT = surimi sem crioprotetores; T1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); T2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); T3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%)…… 111

Figura 23. Séries temporais da força de gel do matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento. CM = surimi sem crioprotetores; M1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); M2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); M3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%). 112

Figura 24. Análise das proteínas miofibrilares de tambaqui e matrinxã em gel de plocrilamida descontinuo 5% staking gel e 12% running gel, 100 V, 25mA.30 µg por linha. Amostras (M) Marcador molecular, (T0) Controle tambaqui, (T1) tratamento 1 tambaqui, (T2) tratamento 2 tambaqui, (T3) tratamento 3 tambaqui, (M0) controle matrinxã, (M1) tratamento 1 matrinxã, (M2) tratamento 2 matrinxã, (M3) tratamento 3 matrinxã…….... 114

Figura 25. Atividade enzimática no "surimi" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento com inibidores de protease. BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%)…….. 126

Figura 26. Inibição da atividade enzimática no "surimi" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento com inibidores de protease. BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%)…….. 127

Figura 27. Atividade enzimática no "surimi" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento com inibidores de protease. C = "surimi" sem inibidor de protease; BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%)…….. 127

Figura 28. Inibição da atividade enzimática no "surimi" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento com inibidores de protease. BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%)…….. 128

Figura 29. Perfil eletroforético da Inibição da atividade enzimática no "surimi" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento com inibidores de protease. M= marcador molecular; C1=surimi sem incubação e sem inibidor; C2= surimi com incubação, sem inibidor; BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%)…….. 129

Figura 30. Perfil eletroforético da Inibição da atividade enzimática no "surimi" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento com inibidores de protease. M= marcador molecular; C1=surimi sem incubação e sem inibidor; C2= surimi com incubação, sem inibidor; BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%)…….. 130

Figura 31. Força de gel no "kamaboko" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%)……. 132

Figura 32. Força de gel no "kamaboko" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%)…… 134

Figura 33. Brancura do “kamaboko” de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após tratamento com inibidores de protease. C = “kamaboko” sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%)…… 135

Figura 34. Brancura do “kamaboko” de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após tratamento com inibidores de protease. C = “kamaboko” sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%)…… 136

LISTA DE TABELAS

		Pág.
Tabela 1.	Classificação das proteases……...	43
Tabela 2.	Rendimento em diferentes etapas do processamento do "surimi" a partir da separação mecânica (CMS)……	90
Tabela 3.	Composição Centesimal da CMS e do "Surimi" de tambaqui e matrinxã. ……	92
Tabela 4.	Textura do gel "kamaboko" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%). AA = não se rompe ao dobrar em quatro partes (extremamente elástico); A = não se rompe ao dobrar em duas partes (elasticidade moderada)…….	131
Tabela 05.	Textura do gel "kamaboko" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%). AA = não se rompe ao dobrar em quatro partes (extremamente elástico); A = não se rompe ao dobrar em duas partes (elasticidade moderada)…….	133
Quadro 1:	Escores de avaliação para teste da dobra em "kamaboko"……..	65

SUMÁRIO

		Pág.
	RESUMO……..	viii
	ABSTRACT…….	x
	LISTA DE ILUSTRAÇÕES……	xi
	LISTA DE TABELAS E QUADROS……	xv
1.	**INTRODUÇÃO GERAL**……..	18
2.	**REVISÃO DE LITERATURA**…….	22
2.1.	**"SURIMI" – HISTÓRIA DA PRODUÇÃO MUNDIAL**……	22
2.2.	**ESPÉCIES UTILIZADAS NA FABRICAÇÃO DO "SURIMI"**……..	26
2.3.	**TECNOLOGIA DE OBTENÇÃO DO "SURIMI"**……	29
2.4.	**CARACTERIZAÇÃO DO "SURIMI"**…….	31
2.5.	**FATORES QUE AFETAM A QUALIDADE DO "SURIMI"**…….	35
2.6.	**O USO DE CRIOPROTETORES NO "SURIMI"**……	37
2.7.	**PROTEASES – CONTROLE NO PROCESSAMENTO DO "SURIMI"**…….	42
2.7.1.	**Serino proteases**……	43
2.7.2.	**Cisteíno proteases**…….	44
2.7.3.	**Aspártico proteases**……..	45
2.7.4.	**Metaloproteases**……	46
2.8.	**LEGISLAÇÃO PARA "SURIMI"**…….……	48
2.9.	**TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818)**……..	49
2.10.	**MATRINXÃ (*Brycon amazonicus* Spix & Agassiz, 1819)**…….	51
3.	**MATERIAL E MÉTODOS** ……	52
3.1.	**Matéria-prima**……..	52
3.2.	**Obtenção da CMS**……..	52
3.3.	**Obtenção do "surimi"**……...	53
3.4.	**Embalagem e estocagem**…….	54
3.5.	**Avaliações preliminares**……...	55
3.5.1.	**Determinação do Rendimento**……...	55
3.5.2.	**Determinação do pH**……..	55
3.5.3.	**Determinação da composição centesimal**……..	56
3.6.	**Modelo de Estudo**……..	56
3.7.	**Análise Estatística**…….	56
3.8.	**Efeito dos crioprotetores sobre a desnaturação proteica**……..	58
3.8.1.	**Adição de crioprotetores**…….	58
3.8.2.	**Determinação da Capacidade de Retenção de Água (CRA)**……..	58
3.8.3	**Determinação da Solubilidade Protéica em NaCl a 5%**.....	58
3.8.4.	**Eletroforese (SDS-PAGE)**……	59
3.9.	**Efeito de inibidores de proteases na atividade autolítica**……...	61
3.9.1.	**Adição de inibidores**…….	61
3.9.2.	**Ensaio de atividade autolítica**…….	61
3.9.3.	**Eletroforese (SDS-PAGE)**…….	61
3.10.	**Efeitos da adição de inibidores de proteases sobre as propriedades do gel "Kamaboko"**…….	63

3.10.1. Preparo do Gel "Kamaboko"..... 63
3.10.2. Avaliação do Gel "Kamaboko"..... 63
3.10.3. Determinação da cor (brancura)..... 63
3.10.4. Avaliação da textura..... 64
3.10.5. Teste da dobra..... 65
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 67

CAPITULO I
RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS "SURIMIS" DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)..... 85
RESUMO..... 85
ABSTRACT..... 86
1. INTRODUÇÃO..... 87
2. MATERIAL E MÉTODOS..... 89
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 90
4. CONCLUSÕES..... 94
5. REFERÊNCIAS 95

CAPITULO II
AVALIAÇÃO DO EFEITO DE CRIOPROTETORES NAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS E TEXTURA DOS "SURMIS" DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)..... 99
RESUMO..... 99
ABSTRACT..... 100
1. INTRODUÇÃO..... 101
2. MATERIAL E MÉTODOS..... 103
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 105
4. CONCLUSÕES..... 115
5. REFERÊNCIAS 116

CAPITULO III
AVALIAÇÃO DO EFEITO DE INIBIDORES DE PROTEASES NA ATIVIDADE AUTOLÍTICA DOS "SURIMIS" DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*) 120
RESUMO..... 120
ABSTRACT..... 121
1. INTRODUÇÃO..... 122
2. MATERIAL E MÉTODOS..... 123
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 126
4. CONCLUSÕES..... 137
5. REFERÊNCIAS 138

5. CONCLUSÕES GERAIS..... 143

1. INTRODUÇÃO GERAL

O “surimi” é um produto obtido a partir da carne mecanicamente separada (CMS) de pescado, obtido por repetidas lavagens da carne triturada para remover gordura, pigmentos e outras substancias solúveis, seguida de adição de agentes crioprotetores (CORTEZ-VEGA; FONSECA; PRENTICE, 2012). Por meio da separação mecânica ou manual, se torna isento de ossos, escamas e pele. Através das lavagens adquiri a aparência de uma massa quase branca, sem odor e de alta qualidade nutricional (PARK, 2013, SUZUKI, 1981).

A composição química do “surimi” está diretamente ligada à composição da matéria-prima, além da eficiência das lavagens. Esta ultima pode remover parte dos componentes nutricionais, além de dar ao “surimi” características únicas, como a capacidade de formar géis proteicos (SUZUKI, 1981).

As etapas para obtenção do “surimi” afetam não só sua composição química como levam a perdas inerentes ao processamento que, influenciadas por diversos fatores, mostram efeitos no rendimento.

Macedo-Viegas et al. (2000) descrevem alguns destes fatores que podem influenciar no rendimento tais como sexo, tamanho ou idade e destreza do manipulador.

As espécies de peixes podem apresentar diferentes rendimentos de acordo com suas características intrínsecas como o bagre africano (*Clarias gariepinus*) que possui maior rendimento para os machos da espécie (SOUZA et al., 1998) ou a tilápia vermelha (*Oreochromis* sp.) cujo rendimento depende do tamanho (RIBEIRO et al., 1998).

O rendimento do “surimi” que antes chegava a 12%, nos dias atuais pode variar de 20 a 30%, dentre outros fatores, devido à introdução da separação mecânica e da tecnologia do “decanter” utilizado após a lavagem na recuperação do músculo (PARK, 2013).

Para avaliar a qualidade do “surimi” leva-se em conta, dentre outros fatores, a inocuidade, a textura, a coloração, o pH, a capacidade de retenção de água e a solubilidade das proteínas.

Em detrimento dos outros fatores, a textura é critica tanto no pescado como em seus subprodutos, uma vez que tanto afeta sua vida de prateleira como impede sua comercialização (SRIKET, 2014).

A textura e capacidade de reter água, típicas do “surimi”, dependem da qualidade e quantidade de proteínas miofibrilares (SOTELO, FILOMENA e RODRÍGUES, 2008).

As proteínas miofibrilares possuem alta capacidade de formar géis, propriedade que pode ser afetada na refrigeração ou congelamento (IBARRA, 2006).

A geleificação é promovida pelas proteínas actina e miosina, principalmente esta ultima, onde a obtenção de géis de alta qualidade depende da não agregação prévia das proteínas pelo aquecimento ou pelo congelamento (GÓMES-GUILLÉN et al., 1997).

Para prevenir o problema da agregação e da desnaturação das proteínas causadas pelo congelamento, substâncias crioprotetoras (açucares) são adicionadas ao “surimi”. A sacarose e o sorbitol, isolados ou misturados, são os mais utilizados pela indústria na proporção de 6 e 9% do peso de “surimi”. Costuma-se ainda adicionar tripolifosfato de sódio e/ou pirofosfato tetrassódico de 0,2 a 0,3%, que funcionam como agentes quelantes e ajudam a ajustar o pH (PARK e LIN, 2005).

O “surimi” quando aquecido forma um “hidrogel” segundo Lanier (1986), que por meio de ligações cruzadas das proteínas dispersas em água originam uma matriz tridimensional contínua, que aprisiona água em seus espaços interiores.

A obtenção de géis estáveis pode ser comprometida pelo fenômeno conhecido como “modori”, provocado pela ação de proteases estáveis ao calor, que são ativadas durante o tratamento térmico e que levam à ruptura da estrutura proteica organizada da miosina e provocam perdas na textura (SUZUKI, 1981). Para impedir a ação das

proteases endógenas, tem sido feito o uso de inibidores de proteases e novos métodos de lavagem.

Os inibidores de proteases estão presentes em alguns ingredientes alimentícios que possuem fatores antinutricionais como lecitina, fenóis, e outros fatores, que inibem a atividade das enzimas (BARRET, 1994). Diversos inibidores têm sido estudados para solucionar o problema da perda de textura em espécies de peixes que apresentam atividade proteolítica no músculo como a polaca do Alaska (*Gadus chalcogrammus*), o linguado (*Hippoglossus hippoglossus*), o peixe-lagarto (*Saurida* spp) e a carpa comum (*Cyprinus carpio*). Os inibidores mais utilizados atualmente são os de grau alimentício como a proteína isolada de soja, o extrato de vegetais como a batata, a albumina bovina e de aves, etc. Isso por que as proteínas do plasma sanguíneo, que vinham sendo amplamente utilizadas, sofreram algumas restrições, principalmente a do plasma bovino (BBP), apos o surgimento da doença comumente conhecida como “mal-da-vaca-louca” ou encefalopatia espongiforme bovina (BSE) (Park, 2013).

Uma das formas de avaliar a textura do “surimi” é através da análise do gel “kamaboko” que é uma das quatro formas básica de produtos a base de “surimi” (PARK, 2013).

O processo de obtenção do gel “kamaboko” está dividido em três etapas que envolvem várias trocas químicas e físico-químicas nas proteínas do músculo pescado (CARVALHO, 2003).

A primeira etapa é converter a proteína miofibrilar em um “sol” pela adição de 2,0 a 3,0% sal (NaCl) (OKADA, 1992). A segunda etapa é o “assentamento” ou “suwari”. Na qual a força de gel no “surimi” é incrementada pela passagem em temperaturas de “assentamento” que variam 0 a 40 ºC, antes do aquecimento (ALVAREZ e TEJADA, 1997). A terceira e ultima etapa é a formação do gel definitivo que se dá quando o gel é aquecido a temperaturas além da faixa onde há produção do “modori” (SHIMIZU et al., 1981). Nessa etapa forma-se a rede tridimensional, onde são melhoradas a coesividade e elasticidade, dependendo do grau de ordenamento da rede proteica durante o “assentamento” (AUTIO et al., 1989).

Assim, este estudo teve como objetivos: I – avaliar as mudanças no rendimento e composição química do tambaqui e matrinxã durante os processos de obtenção da carne mecanicamente separada (CMS) e do “surimi”; II - avaliar o efeito do uso de crioprotetores comerciais em diferentes percentuais nas propriedades funcionais e textura dos “surimis” de tambaqui e matrinxã sob estocagem congelada; III - avaliar o uso de inibidores de grau alimentício na atividade autolítica dos “surimis” de tambaqui e matrinxã e IV – avaliar o uso de inibidores de proteases de grau alimentício nas características de textura e cor dos “géis-kamaboko” obtidos dos “surimis” de tambaqui e matrinxã.

O tambaqui e o matrinxã constituem as duas espécies de maior produção em cativeiro na região Amazônica, além de terem ampla difusão na aquicultura em outras regiões do Brasil. O fenômeno do “modori” ocorre em várias espécies de peixes de águas frias pela grande quantidade de enzimas endógenas. Entretanto poucos estudos têm sido realizados para elucidar os mecanismos da geleificação em peixes tropicais, e muito menos espécies amazônicas. Este estudo torna-se importante para potencializar a utilização desses peixes na manufatura de produtos à base de “surimi”, constituindo-se uma alternativa para agregar valor ao pescado de água doce da região e incentivar a indústria pesqueira local.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. "SURIMI" – HISTÓRIA DA PRODUÇÃO MUNDIAL

O "surimi" teve sua origem no Japão em 1115 (MORRISSEY e TAN, 2000; SUZUKI, 2010) e desde então, vários produtos foram criados e modificados, como o kamaboko, satsumaage, chikuwa e hanpen, estas são as quatro formas básicas de produtos a base de "surimi" (PARK, 2013).

O "surimi" é uma massa de proteínas miofibrilares, obtida após vários processos, incluindo descabeçamento, evisceração, filetagem ou separação mecânica, lavagem, drenagem, refino, mistura de crioprotetores e congelamento (PARK, 2013).

De acordo com Suzuki (1981), trata-se de um concentrado de actomiosina, solúvel em soluções salinas, com habilidade de formar géis termoestáveis e com alta capacidade de retenção de água.

No inicio, o "surimi" era preparado manualmente. Após a filetagem e a lavagem, a drenagem era feita com pano, como se fazia com o queijo (Fig.1). Com o fim da Segunda Guerra Mundial, em 1945, equipamentos foram introduzidos e o volume de produção começou a crescer (SUZUKI, 2010). Entretanto, mesmo com o advento das máquinas para o processamento do "surimi", esse ainda necessitava ser preparado da matéria prima fresca, pois o congelamento e a estocagem congelada afetavam a habilidade de formar géis devido à desnaturação e por isso o "surimi" fresco era usado para preparar o kamaboko (PARK, 2013). Sendo assim, durante 30 anos, embora o número de plantas de kamaboko tenha crescido, a escala permaneceu pequena, dependente do trabalho familiar e da matéria prima capturada no mesmo dia (SUZUKI, 1981).

A estocagem congelada tornava a textura do "surimi" esponjosa, não servindo para a produção de kamaboko. Diante disso, um grupo de pesquisadores do Hokkaido Fisheries Research Station/Japão, liderados por Nishiya, investigou o problema e propôs a adição de sal, seguida de congelamento e cozimento, o que resultou em textura aceitável. Assim, o uso do "surimi" com sal e embutido como salsicha cresceu rapidamente. Mas o problema da adição de sal era que, durante a estocagem, ocorria a desnaturação das proteínas, o que Nishiya resolveu com a adição de açúcares, que atuavam como crioprotetores (PARK, 2013). Nishiya et al. (1960), descobriram a técnica para prevenir a desnaturação por congelamento através da adição de carboidratos de baixa massa molecular como a sacarose e o sorbitol, que estabilizam a actomiosina durante a estocagem.

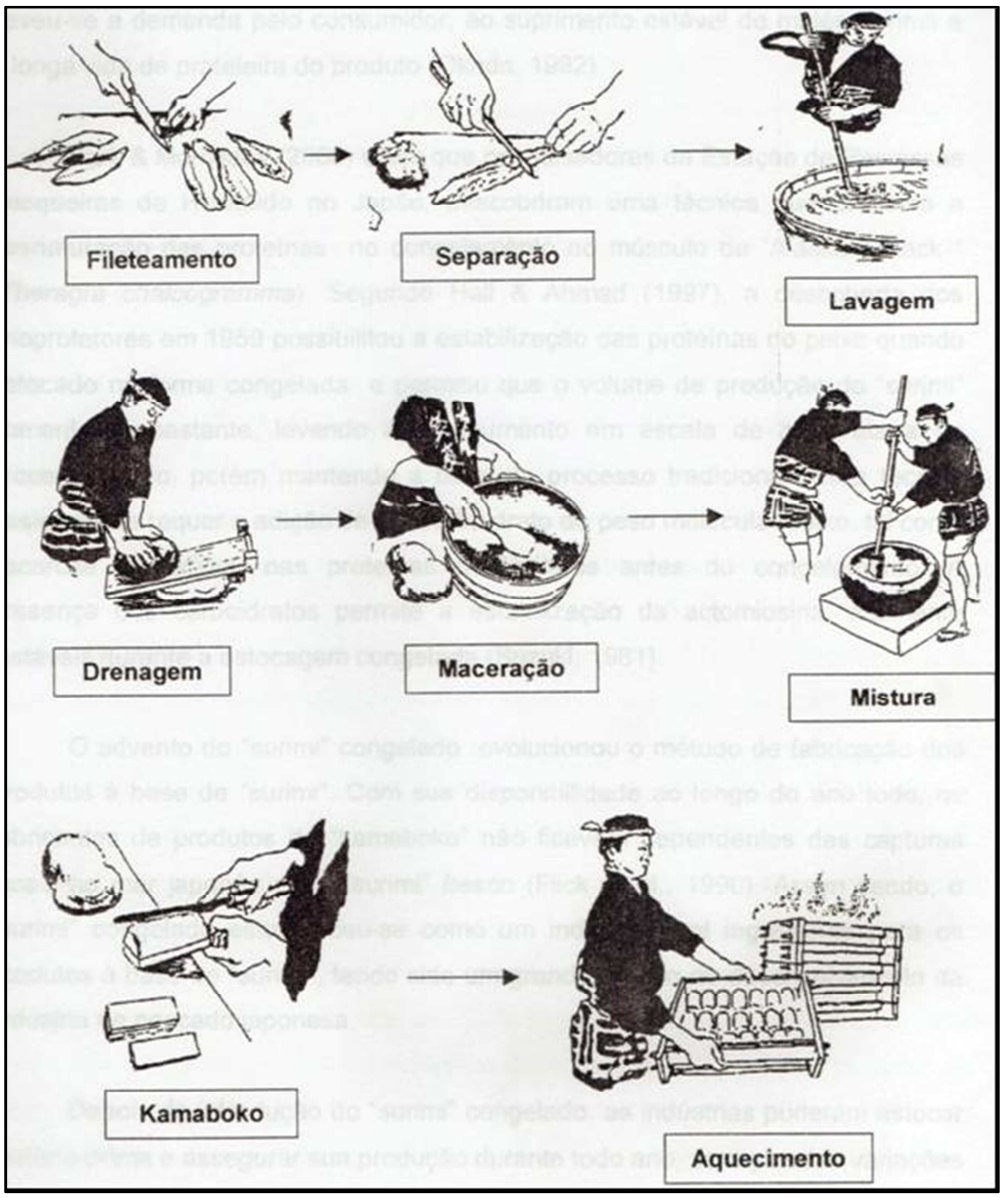


Figura 1: Fabricação artesanal do “kamaboko”.
Fonte: Lee (1986).

A descoberta dos crioprotetores revolucionou a indústria do “surimi” que expandiu significativamente de 1973 a 1976 (HALL e AHMAD, 1997; PARK, 2013).

A adição de açúcares ao “surimi” congelado tornou-se cientificamente sólida, não justificando mais a adição de sal antes do congelamento, a não ser para a produção de um tipo de “surimi” denominado “surimi kaen”, que é inferior na habilidade de formar géis, mas que tem uma textura excepcionalmente suave e nos dias atuais é preparado por encomenda no Japão (PARK, 2013).

O “surimi” congelado logo se tornou ingrediente indispensável para os produtos à base de “surimi”. Sua disponibilidade durante o ano inteiro, fez com que os fabricantes de kamaboko não dependessem mais das capturas locais no mar japonês e do “surimi” fresco (FLICK et al, 1990).

No inicio da produção de “surimi” congelado, os peixes mais usados foram corvina, corvina amarela, peixe-lagarto e enguias, capturados no mar do leste da China (PARK, 2013). Mas quando esses peixes ficaram escassos, grandes esforços foram feitos para estudar novas espécies que fossem adequadas para a produção de “surimi”. Uma dessas espécies foi o pollock do Alaska (*Theragra chalcograma*).

O pollock do Alaska (*Theragra chalcograma*) foi utilizado pela primeira vez no Nordeste do Japão, mas principalmente para a produção de *tarako* (ova salgada). Somente depois da extrusão era preparado o “surimi” que tinha baixa qualidade ou então era usado para produzir fertilizantes (SUZUKI, 2010; PARK, 2013).

Depois do ano de 1950, os pesquisadores do Hokkaido Fisheries Research Station investigaram métodos mais adequados para produzir “surimi” e kamaboko a partir de pollock (NISHIYA et al., 1960).

O inicio do processamento em alto mar se dá quando o pollock do Alaska começa a ser capturado no mar de Bering, localizado entre a Rússia e os Estados Unidos, e processado e congelado a bordo de grandes navios em 1965. Isso fez com que a indústria de “surimi” do Japão crescesse rapidamente. As capturas de pollock do Alaska no Japão eram de 370.000 toneladas métricas (TM) e a quantidade de produtos de pollock era de aproximadamente 470.000 TM. Mas em 1971, as capturas já eram cerca de 3.000.000 TM e a produção de “surimi” atingiu cerca de 1.100.000.000 TM, o registro mais alto no Japão (PARK, 2013).

Entretanto o Japão, como o maior consumidor de “surimi”, experimentou uma redução gradual desde 1975, quando consumia acima de 1.000.000 TM chegando a cerca de 500.000 TM entre 2008 e 2011. Tal diminuição do consumo se deve a dois principais fatores: (1) a geração mais jovem tem preferido o estilo ocidental com alimentos à base de carne; (2) o “surimi” japonês tem altíssima qualidade, mas como experimentou forte concorrência, produtos de baixa qualidade se estabeleceram no mercado, afastando o consumidor (PARK, 2013).

Outro “golpe” para a indústria de “surimi” do Japão foi a Lei de Magnuson, aprovada em 1976, criando a Zona Econômica Exclusiva (ZEE) de 200 milhas, onde somente os Estados Unidos da América (E.U.A) poderiam explotar a pesca, o que, em termos práticos, acabou americanizando as capturas e o processamento do pollock do Alaska, promovendo a Indústria pesqueira daquele país. Embora a captura tenha ficado restrita aos E.U.A., outros países ainda poderiam, em empreendimentos conjuntos,

processar o pollock do Alaska. A combinação da habilidade de processamento japonesa e as capturas dos E.U.A. criaram a primeira oportunidade colaborativa – a Joint Venture operation (J/V) (PARK, 2013).

Na liderança da produção mundial do “surimi”, os E.U.A. foram rápidos em aprender as tecnologias de processamento e melhorar o rendimento que até 1990 era de 12 a 15% e em 2010 passou a ser de 25 a 30%. O aumento do rendimento se deu pelos esforços em manejar melhor as pescarias, à introdução do “decanter” em 1990 e melhorias na separação mecânica, que devem ser reconhecidas por contribuir para que as pescarias do pollock do Alaska e do Badejo do Pacífico, outra espécie muito utilizada para o “surimi”, sejam as mais sustentáveis do mundo. O resultado foi que o consumo de produtos de “surimi” nos E.U.A. passou de 30.000.000 TM em 1975 para perto de 80.000.000 TM em 2011 (PARK, 2013).

Na Europa, o primeiro “crabstick” foi levado por um holandês em 1979 e, em 1980. A França já importava do Japão como imitação de carne de caranguejo, o que logo foi substituído pelo termo bastão de “surimi” ou “crabstick”. Nos últimos 25 anos, 33 plantas de “crabstick” foram construídas na Europa e na Rússia e o consumo chegou a 230.000 TM em 2011. Entretanto, alguns navios fábrica encerraram atividade entre 2007 e 2011 devido à cotas de captura reduzidas (PARK, 2013).

Na América do Sul, no sul da Argentina, um estudo econômico começou a ser realizado em 1989 para a produção de “surimi” a partir de verdinho-austral (*Micromesistius australis*) e granadeiro-azul (*Macruronus novaezelandiae*). Nesse mesmo ano a produção de “surimi” iniciou com três navios fábrica e entre 1992 e 1993 mais três foram adquiridos. Entretanto em 2012, apenas dois (Centurion del Atlantico e Tai An) estavam ainda em operação. A pesca de verdinho-austral, recentemente foi certificada com selo de sustentabilidade e o “surimi” de ambas as espécies é vendido, principalmente, para o Japão (PARK, 2013).

No Chile, a produção de “surimi” começou em 1988 com o carapau-chileno (*Trachurus murphyi*), após a diminuição das capturas de lingue-de-Atka (*Pleurogrammus azonus*) no Japão. A produção chilena recebia orientação da indústria japonesa. E, até 1992 havia quatro fábricas que exportavam 2.000 TM para Rússia e Europa. Mas em 2008 a produção declinou devido a cotas baixas de captura e em 2010, após um terremoto no Chile, duas fábricas fecharam (PARK, 2013).

A produção de “crabstick” de “surimi” na América do Sul iniciou no ano de 1980 em Santa Elena na Argentina. Além dessa em Santa Elena, mais três fábricas se instalaram na América do Sul: Arteva no Uruguai, que foi fechada e substituída por Serrana/Maragol em 2013; MGS Foods no Brasil, e Free-Ko no Peru, esta última já não fabrica produtros de “surimi” (PARK, 2013).

A Fábrica Arteva encerrou a sua produção em 2011, devido a problemas financeiros. A nova empresa, Maragol, retomou a produção crabstick no Uruguai em 2012 e Santa Elena, na Argentina, também reduziu recentemente a sua produção (PARK, 2013).

O marior consumidor de surimi e seus produtos da América so Sul é o Brasil. A MGS Foods é a maior fabricante de crabstick na América do Sul e o mercado brasileiro consome cerca de 4.000 toneladas de crabstick por ano e 500 toneladas de outros porodutos de surimi (PARK, 2013).

2.2. ESPÉCIES UTILIZADAS NA FABRICAÇÃO DO "SURIMI"

A Merlusa do Alaska (*Theragra chalcograma*) é a espécie de maior importância na fabricação do "surimi". Possui carne branca, uniformidade no tamanho e dá um "surimi" de alta qualidade. Sua captura se iniciou na década de 1960 e é capturado em grandes volumes por navio de pesca costeira e pelos arrastões dos navios fábrica. A produção desse peixe já foi a segunda maior do mundo, com 3 milhões de toneladas, perdendo apenas para a Anchova Peruana (FAO, 2004).

A Pescada do Pacífico (*Merluccius productus*) passou a ser utilizada na produção de "surimi" a partir de 1990, chegando a representar 20% da produção nos Estados Unidos da América (PARK, 2005). O peixe tem carne branca, sabor delicado e boa textura sendo altamente valorizado. No entanto, possui níveis elevados de enzimas proteolíticas no tecido muscular atribuídos à presença do parasita myxosporideam que é endêmico em todos os estoques da espécie (SYLVIA e MORRISSEY, 1992; PATASHNIK et al., 1982; PARK, 2005)

O Linguado (*Atheresthes stomias*) é um peixe abundante na Costa Oeste dos Estados Unidos. O volume de captura desse peixe é estimado em mais de 100 toneladas. Assim como a Pescada do Pacífico, também apresenta proteases termoestáveis no tecido muscular, o que causou inclusive diminuição nas capturas (WASSON, 1992). No entanto, com o uso de inibidores de proteases de grau alimentício e novos métodos de lavagem, o problema tem sido solucionado. O linguado apresenta, ainda, outro inconveniente no seu processamento que é a falta de máquinas para filetar e para separação mecânica, uma vez que a maioria das máquinas no mercado são para peixes redondos. Embora haja máquinas adaptadas para peixes achatados, como o linguado, estas são para peixes com menos de 20 cm, o que gera outro problema uma vez que os cardumes da espécie são bastante desuniformes (PARK, 2005).

A Pescada Azul do Sul (*Micromesistius australis*), a Merluza Azul (*Macruronus novaezelandiae*) e a Merluza de Cola (*Macruronus magellanicus*) são recursos restritos a águas sub-Antárticas (NZ FISHERIES, 2004). A merluza é um dos principais pescados da Nova Zelândia, porém o potencial já atingiu seu pico na década de 1980 e representa apenas 3% da produção mundial de "surimi". O "surimi" feito da espécie é de excelente qualidade e gel forte (MACDONALD, 1994). O surimi da pescada azul é produzido principalmente na Argentina e Chile, embora haja alguns navios japoneses explorando o recurso em águas da Nova Zelandia. Sua produção se mantém estável em cerca de 30.000 toneladas (PARK, 2005).

A Pescada Azul do Norte (*Micromesistius poutassou*) produz um "surimi" de alta qualidade. O volume de captura tem aumentado desde os anos de 1990, quando havia apenas um barco fábrica francês, para atingir 7000 toneladas em 2003, com a entrada de um segundo navio para explotar o recurso nas Ilhas Faroé (Dinamarca) (PARK, 2005). A Pescada Chilena (*Merluccius gayii*) tem sido utilizada em pequenas quantidades no Chile, gerando cerca de 1000 toneladas por ano (PARK, 2005).

O "surimi" de baga-de-lagoa (*Nemipterus* spp.) é de alta qualidade e força de gel (YONGSAWATDIGUL et al., 2002), por isso sua captura aumentou drasticamente nos últimos anos. É encontrado na região do Pacífico Indo-Oeste em águas tropicais e subtropicais. No Japão, tem boa aceitabilidade, e é utilizado para produzir "kamaboko" e "kani-kama" (PARK, 2005).

O Peixe Lagarto (*Saurida* spp) é considerado um material de alta qualidade na produção de "surimi"e "kamaboko", devido ao alto rendimento, carne branca, sabor agradável e alta gelatinização. No entanto, a brancura e a habilidade em formar géis diminuem sensivelmente com o tempo, mesmo no gelo, por isso somente é utilizado no Japão quando muito fresco ((ITOH et al., 1995).

Devido a sua aparência e pele grossa, o olho-de-cão (*Priacanthus* spp.), não é consumido diretamente. Como matéria-prima para o "surimi", é similar ao baga-de-lagoa (PARK, 2005).

No Japão a espécie preferida pela indústria tradicional do "kamaboko" é a Corvina (*Sciaenidae*). O "kamaboko" da corvina é mais tenro que a da Merlusa do Alaska, por exemplo, por isso alcança altos valores de mercado (PARK, 2005).

Peixes pelágicos como a Cavala (*Pleurogrammus monopterygius*) têm sido tradicionalmente utilizados no Japão para a produção de "surimi" de baixo preço devido a carne escura, baixa força de gel e forte sabor de peixe (CHEN et al., 1996).

No Brasil várias espécies nativas e introduzidas têm sido avaliadas para a produção do "minced fish", do "surimi" e de seus produtos. A Tilápia Nilótica

(*Oreochromis niloticus*) espécie introduzida no Brasil nos anos de 1970 (WAS, 2004) tem sido estudada do ponto de vista do aproveitamento dos resíduos da filetagem (carcaças) para a elaboração de "surimi" apresentando ótimos resultados (FOGAÇA et al., 2015).

A Pescada Foguete (*Macrodon ancylodon*) é uma espécie de carne branca que apresenta um "surimi" de boa qualidade. A indústria brasileira produz o filé da espécie e grande parte dos resíduos é jogada fora. Pesquisas têm sido realizadas para o aproveitamento da carcaça na produção de "surimi" e de hidrolisados de pescado (KUHN et al., 2004).

O jundiá (*Rhamdia quelen*), estudado por Kuhn et al. (2008), apresentou resultados de força de gel próximos ao das espécies tradicionalmente utilizadas na fabricação do "surimi", mostrando-se uma espécie em potencial

O aracu (*Shizodon fasciatum*) é uma espécie amazônica de carne branca com muitas espinhas intramusculares (JESUS, 1998), que alcança 30 cm de comprimento e 750 g de peso (SANTOS et al., 1984). Pesquisas realizadas com a espécie mostram que o gel formado a partir do "surimi" de aracu é um gel de difícil "suwari - gel forte", portanto um gel fraco (CARVALHO, 2003), no entanto, com o uso de crioprotetores e inibidores de proteases pode ser melhor aproveitado.

O jaraqui (*Semaprochilodus* sp.) é uma espécie de grande importância na região amazônica por representar cerca de 30% da produção total de pescado (BATISTA, 1998). O peixe apresenta carne escura com muitas espinhas intramusculares que com processo de separação mecânica e métodos adicionais de lavagem pode ser uma espécie promissora para obtenção do "surimi". Carvalho (2003) avaliou o gel "kamaboko" da espécie que foi classificado como de difícil "modori-gel fraco" e fácil "suwari-gel forte".

O "minced fish" lavado de piranha preta (*Serrassalmus* sp.) foi estudado por Jesus et al. (2001) quanto à capacidade de formação de gel e apresentou um gel de boa qualidade, além de resultados de capacidade de retenção de água e estabilidade durante a estocagem congelada.

Os "minced fish" das espécies aracu (*Schizodon fasciatus*), branquinha (*Potamorhina latior*), branquinha-de-cabeça-lisa (*P. altamazonica*), curimatã (*Prochilodus nigricans*), jaraqui-de-escama-fina (*Semaprochilodus taeniurus*), jaraqui-de-escama-grossa (*S. insignis*), mapará (*Hypophthalmus edentatus*), pacu (*Metynnis hypsauchen*), pacú-manteiga (*Mylossoma duriventre*) e pirapitinga (*Piaractus brachypomum*) foram estudados por Jesus et al. (2001), quanto à estabilidade química e microbiológica durante a estocam congelada e mantiveram-se em condições de

consumo durante todo o experimento, o que gera expectativas promissoras para o uso das espécies na manufatura do “surimi”.

A qualidade sensorial, química, microbiológica e funcionalidade protéica dos “minced fish” de tambaqui (*C. macropomum*) e matrinxã (*B. amazonicus*) provenientes de pisciculturas em Manaus-Am, foi avaliada por Andrade et al., (2010) e permaneceram em qualidade de consumo durante 115 dias, configurando-se como uma nova fonte de matéria-prima para a indústria de pescado da região.

2.3. TECNOLOGIA DE OBTENÇÃO DO “SURIMI”

A obtenção do “surimi” inicia ainda durante a pesca, uma vez que o método de captura irá influenciar diretamente sobre a qualidade da matéria-prima, que deve ser de primeira qualidade, para não interferir na habilidade de formação de géis termoestáveis (KUDO et al., 1973).

Empresas de diversos países como Japão, Alemanha, Coréia e Estados Unidos da América desenvolveram máquinas separadoras bastante higiênicas e capazes de remover quase toda a carne do pescado, quando este é devidamente preparado e quando há bom ajuste do maquinário.

Segundo Pigott (1986), existem vários métodos para separação mecânica. Dois são mais comumente utilizados. O primeiro consiste em retirar a cabeça, as vísceras e lavar bem a cavidade abdominal antes de submeter o pescado à separação mecânica, onde o músculo é submetido à pressão entre uma cinta de teflon e um tambor em aço inoxidável com perfurações de 3-4 mm (TAKEDA, 1971). O outro consiste em retirar o filé do pescado e submetê-lo à trituração. O primeiro método tem maior rendimento de carne, no entanto, é necessário ter certos cuidados para que restos de vísceras sejam completamente removidos ou haverá problemas durante a estocagem congelada (PARK, 2005).

Uma etapa crucial na obtenção do “surimi” é a lavagem, pois remove as proteínas sarcoplasmáticas (solúveis em água), lipídios, sangue e outras impurezas que reduzem a capacidade de formação de gel (LANIER e LEE, 1992; PARK e MORRISSEY, 2000; CARVALHO, 2003). Além disso, uma lavagem eficiente pode levar a melhoria da cor e diminuição do odor forte de pescado (MEDINA e GARROTE, 2002).

Lin e Park (1997) afirmam que se deve levar em consideração para a obtenção de um “surimi” de qualidade a proporção de água e polpa, o número de lavagens, a

temperatura da água, o tempo de agitação da polpa com a água, o tempo de decantação da polpa e a eficiente eliminação da água de lavagem.

O número de lavagens irá depender da matéria prima utilizada (BORDERÍAS; TEJADA, 1987) e o volume de água também, segundo Lin e Park (1997). Para Hultin e Kelleher (2000) a proporção dever ser de 3 a 5 vezes o volume de água, mas pode chegar a até oito vezes, de acordo com Lin e Park (1997).

No entanto, segundo Chen et al., (1997), a extração dos componentes solúveis parece ser mais uma função do tempo de agitação do que da proporção de água. Para Lin e Park (1997), três lavagens de 5 minutos cada, em constante agitação, são adequadas, pois a carne não deve ficar muito tempo em contato com a água uma vez que é absorvida e fica difícil de remover no final.

Na etapa do refino, são retiradas impurezas como pele, espinhas finas, escamas e tecido conjuntivo. Em condições comerciais, telas de 1,5 a 1,7 mm são utilizadas para o refino. Entre 15 e 20% da carne é rejeitada no refino, passando novamente pelo refinador para gerar um "surimi" de segunda qualidade com mais impurezas, menor brancura e menor força de gel que é vendido a preços menores (KIM et al., 2003).

Um dos índices de qualidade do "surimi" é seu conteúdo de umidade que deve estar em torno de 80%. O "surimi" é classificado pelos fabricantes como especial quando tem 83% de umidade, de primeira classe quando tem 84% e de segunda classe quando tem 85% (CARVALHO, 2003). É comum na indústria se fazer o ajuste da umidade para cerca de 80%, uma vez que, durante as lavagens, o teor sobe de 82 a 85% para 90 a 92%. Esse ajuste normalmente é realizado em prensas de parafuso com telas de 0,5 a 1,5 mm. Também é costumeiro utilizar 0,1 a 0,3% de NaCl e $CaCl_2$, o que até pode aumentar a força de gel de imediato, mas sob estocagem congelada causa desnaturação protéica (PARK e LIN, 2005).

Para a remoção da água, existem diversos equipamentos. Na produção convencional, prensas de rosca ou hidráulicas são utilizadas para desidratar a carne de peixe. Há, porém, em escala industrial equipamentos que utilizam tanques cilíndricos onde a água e extraída por centrifugação. A centrifugação por meio do equipamento "decanter centrifuge" é feita para minimizar a perda de proteínas insolúveis (actina e miosina) durante a etapa de lavagem e eliminação da água (Alaska Fisheries Development Foundation, 1988).

Os crioprotetores são adicionados ao "surimi" para prevenir a agregação e desnaturação protéica causadas pelo congelamento. Sacarose e sorbitol, isolados ou misturados, são normalmente utilizados na indústria em proporções variando entre 6 e 9%. Além disso, costuma-se adicionar uma mistura de tripolifosfato de sódio e

pirofosfato tetrassódico de 0,2 a 0,3%, que funcionam como agentes quelantes e ajudam a ajustar o pH (PARK e LIN, 2005).

O avanço das pesquisas permitiu detectar que proteases termoestáveis eram responsáveis, em parte, pelo enfraquecimento do gel de "surimi". Por isso, desde 1991, inibidores de proetases são adicionados junto com os crioprotetores. Os mais utilizados são proteína de plasma bovino (PPB) - recentemente proíbido por causa do mal-da-vaca-louca, clara de ovo e extratos de batata, que são adicionados, ainda, a substâncias que intensificam a força de gel e a cor (PARK e LIN, 2005).

A etapa final do processamento do "surimi" é o congelamento, onde blocos de 10 kg são submetidos ao congelador de placas por 2,5 horas ou até que a temperatura interna atinja -25 ^{o}C. Após o congelamento, o "surimi" é embalado em sacos plásticos e caixas de papelão contendo dois blocos (CARVALHO, 2003).

2.4. CARACTERIZAÇÃO DO "SURIMI"

As proteínas do pescado são classificadas em três tipos de acordo com sua solubilidade: sarcoplasmáticas, miofibrilares e do estroma (MIRA, 2001).

As proteínas sarcoplasmáticas são solúveis, extraídas em água ou solução salina diluída, constituindo 25% das proteínas musculares (BELITZ e GROSCH, 1988; BARBUT, 2002). Grande parte dessas proteínas é de enzimas glicoliticas, englobando ainda outros compostos como hidrocarbonatos e íons inorgânicos (MENDES, 2001).

De acordo com Okada e Nakayama (1961), as proteínas sarcoplasmáticas não formam géis elásticos durante o aquecimento e quando não removidas, segundo Tejada (1994), diluem a concentração das proteínas miofibrilares, atacando-as e causando efeito adverso na geleificação do "surimi".

Proteínas miofibrilares são extraídas em soluções salinas concentradas e representam em torno de 60% das proteínas totais (KUHN e SOARES, 2002). Entre elas estão miosina, actina, tropomiosina e troponina. (BELITZ e GROSCH, 1988). Esse grupo confere às células musculares sua propriedade contráctil (KUHN e SOARES, 2002).

A geleificação das proteínas do músculo do peixe é promovida pelas proteínas miofibrilares, notadamente actina e miosina, derivando, principalmente, da cadeia pesada de miosina, onde a habilidade de formar géis de alta qualidade depende da não agregação prévia das proteínas pelo aquecimento ou pelo congelamento (GÓMES-

GUILLÉN et al., 1997; CARVALHO, 2003). De acordo com Lanier (2000), a tropomiosina parece não ter efeito na geleificação.

O grupo conhecido como proteínas do estroma, engloba as proteínas do tecido conectivo e de membrana como o colágeno, a elastina e mitocondrial (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). São insolúveis em água e solução salina e representam em torno de 10 a 15% das proteínas musculares (BELITZ e GROSCH, 1988).

Dentre as proteínas desse grupo, o colágeno é a mais importante devido à fabricação de gelatina, que tem sido minuciosamente estudada (MONTERO et al., 1990).

De acordo com Lanier (2000), na forma primária o colágeno é quase que totalmente insolúvel em água ou solução salina, portanto não participa da geleificação. Isso por que o processo de elaboração do "surimi" baseia-se na retirada de componentes solúveis em água e o colágeno é retido juntamente com as proteínas miofibrilares. Uma vez aquecido, esse colágeno pode converter-se em gelatina que é solúvel podendo interferir na geleificação miofibrilar e formar bolhas. Entretanto, de acordo com Montero et al. (1990), o pescado possui percentual muito pequeno de proteínas do estroma em relação às miofibrilares, assim tendo pouco efeito na habilidade de formar géis de "surimi".

O "surimi" é uma pasta de músculo de pescado onde parte da gordura é extraída e as proteínas miofibrilares concentradas, apresentando com isso alto valor biológico. Além do mais, sua produção pode ser feita com, praticamente, qualquer espécie de pescado, possibilitando a utilização de peixes com baixo valor comercial (GABY, 1997).

A composição do "surimi" está relacionada, entre outros fatores, à composição da matéria prima e à eficiência na lavagem em remover compostos que possam interferir na geleificação da actomiosina como as proteínas sacoplasmáticas e lipídios.

De acordo com Suzuki e Tsuchiya (2013) é limitado o número de informações e estudos sobre o "surimi", seus produtos, seu valor nutricional ou efeito sobre a saúde.

Em termos de composição química, segundo Venugopal e Shahidi (1995), peixes com umidade em torno de 75% são mais propícios para a manutenção das propriedades funcionais do "surimi".

No "surimi", os teores proteicos podem ter uma redução, dependendo do número de ciclos de lavagem e da força de compressão, de 12 a 17% quando comparado ao "minced fish" (SPENCER e TUNG, 1994). Além disso, a sazonalidade tem influência, como no "surimi" obtido a partir do Pollock do Alaska que pode apresentar variação nos

teores de proteínas de 14 a 19% dependendo da época do ano (PARK e MORRISSEY, 2000).

Teores de lipídios entre 0,39% e 1,63% são citados para “surimi” de peixes (MIRA E LANFER-MARQUEZ, 2005; KIRSCHNIK, 2007). Entretanto, muitas vezes os valores atingem patamares mais altos devido à gordura da região ventral dos peixes que pode ser maior (FOGAÇA, 2015).

Durante as lavagens ocorre a solubilização de minerais, por isso normalmente os teores são baixos em “surimi” como os encontrados por Mira e Lanfer-Marquez (2005) entre 0,28 e 0,57%.

A qualidade do “surimi” e de seus produtos é muito dependente do tipo e nível de contaminação microbiológica no pescado e nos ingredientes utilizados (SU et al., 2013). Essa contaminação muitas vezes advém da microflora natural do pescado que, por sua vez, varia grandemente com a localização geográfica e a temperatura da água. De maneira geral, as Gram-positivas mesófilas são associadas a peixes de águas quentes, enquanto que as Gram-negativas psicrotróficas predominam em espécies de águas frias (SU et al., 2013).

Os microrganismos encontrados em alimentos são principalmente bactérias deteriorantes. Entretanto, podem estar presentes algumas bactérias patogênicas para humanos, como a *Salmonella enteritidis*, a *Listeria monocytogenes*, os vibrios e algumas toxinas microbianas. Para essas, a legislação brasileira vigente estabelece limitações quanto à presença em produtos derivados de pescado refrigerados ou congelados: Coliformes a 45°C, tolerância de 10^2 (NMP); Estafilococos coagulase positiva, tolerância de 5×10^2 UFC g^{-1} e, no caso da *Salmonella* spp., ausência em 25g de amostra (BRASIL, 2001).

O armazenamento sob congelamento inibe a deterioração microbiana, mas podem ocorrer outras alterações como a desnaturação de proteínas musculares que afeta as propriedades estruturais e funcionais (CONNELL,1960).

A avaliação da qualidade do “surimi” leva em conta outros fatores além da inocuidade como a avaliação da textura, a coloração, o pH, a capacidade de retenção de água, a solubilidade das proteínas, dentre outros.

A textura no “surimi” é avaliada em termos de capacidade de formar um gel forte e elástico. Para a formação do gel, a técnica mais comum é o tratamento térmico (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CANÓVAS, 2004). Ocorre desnaturação das proteínas sob qualquer temperatura, porém, a taxa de desnaturação é mais lenta se a temperatura for mais baixa (LANIER et al., 2005).

A formação do gel a diferentes temperaturas produz qualidades variadas de gel, especialmente para diversas espécies de peixes. O fator tempo é muito importante para a indústria, por isso, de acordo com Benjakul et al., (2003) a indústria evita o uso de baixas temperaturas.

Para o aquecimento podem ser utilizados Banhos-Maria ou forno de aquecimento ôhmico. Qualquer um dos métodos pode promover o aquecimento linear a 90 ^{o}C por 30 a 40 minutos; a incubação a baixas temperaturas ("suwari") a 5 ^{o}C por 15 a 16 horas, 25 ^{o}C por 2 a 3 horas ou 40 ^{o}C por 1 a 2 horas; e ainda, a incubação a temperaturas medianas ("modori") a 55 ^{o}C por 30 minutos a 1 hora para espécies de águas frias ou 65 ^{o}C para "surimi" de peixes tropicais (PARK, 2013).

O "suwari" é formado a baixas temperaturas pela solubilização das proteínas miofibrilares que, ao serem hidratadas, criam uma rede proteica unida por pontes de hidrogênio. Já o "modori", formado a temperaturas médias, em torno de 60 ^{o}C, é o fenômeno de ruptura da estrutura da rede proteica, que é atribuído à ação de proteases termoestáveis. Quando se aquece o "suwari" a 90°C, forma um gel opaco denominado "kamaboko" e, nesse gel, a actomiosina por efeito do calor, aprisiona moléculas de água por ligações cruzadas e interações hidrofóbicas, formando uma rede homogênea e estável (YONGSAWATDIGUL et al.,2000, FOGAÇA, 2015).

Estudos feitos por diversos autores mostraram que a miosina (Figura 2) é principal contribuinte para a formação do gel e retenção de água em produtos de carne triturados (FUKAZAWA et al., 1961; MACFARLANE, 1977) .

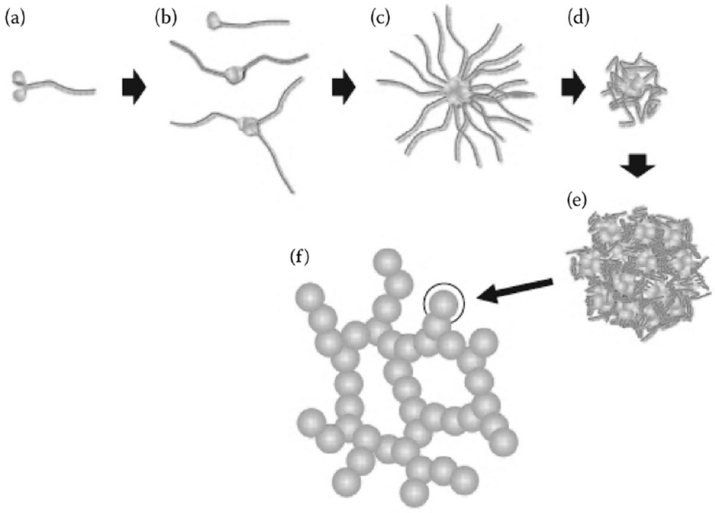


Figura 2: Formação de gel de miosina. (a) não aquecida; (b) formação de cluster no aquecimento precoce; (c) a formação de roda de margarida de miosina, cabeça-com-cabeça; (d) Desnaturação das partes da cauda; (e) grupos ligados através das caudas desnaturadas; (f) formação de rede de gel. **Fonte:** Park (2013).

Para a elaboração dos géis de pescado, o “surimi” é completamente descongelado e, durante o descongelamento, afirmam Martí-de-Castro et al., (1997), ocorre a eliminação de certa quantidade de água formada por cristais de gelo presentes no “surimi” e isso interfere na qualidade dos géis formados.

A capacidade de retenção de água (CRA) é um dos índices de qualidade empregados em alimentos cárneos que são submetidos à estocagem sob congelamento. De acordo com Lanier e Lee (1992), a redução da “CRA” se dá pela desnaturação proteica, resultando em diminuição da habilidade de formação de géis em pescado.

Além da “CRA”, a solubilidade proteica (SP) também é utilizada como indicativo de desnaturação das proteínas. Estudos afirmam que a diminuição da solubilidade proteica indica que ocorreram mudanças na estrutura e propriedades funcionais das proteínas musculares (GEIRSDOTTIR et al., 2007).

O resultado mais visível da desnaturação das proteínas em pescado congelado é a exsudação de líquidos, “Drip”, durante o descongelamento que, de acordo com Ironside e Love (1958), leva à perda do sabor de peixe.

2.5. FATORES QUE AFETAM A QUALIDADE DO “SURIMI”

A funcionalidade do “surimi” depende de sua composição química e esta, varia de espécie para espécie. Entre os fatores biológicos (intrínsecos) que afetam a qualidade do “surimi”, muito se tem destacado o papel das enzimas proteolíticas. An et al. (1994) identificaram, no Badejo do Pacífico, as catepsinas B, H e L que possuem comportamentos diferentes conforme o pH, temperatura e força iônica. As catepsinas B e H são removidas durante a etapa de lavagem. Já a catepsina L não. Essa protease tem atividade ótima a 55 ^{o}C e degrada a textura do “surimi” quando este é aquecido lentamente, tornando obrigatório o uso de inibidores (PARK e LIN, 2005).

Outros peixes como o linguado (GREENE e BABBIT, 1990), falsos-besugos (TOYOHARA e SHIMIZU, 1988), menhadem do Atlântico (BOYE e LANIER, 1988), rabeta-branca (TOYOHARA et al., 1990) e peixe-lagarto (ESTURK e PARK, 2003), também mostram degradação textural devido à enzimas termoestáveis em temperaturas que vaiam de 50 a 60 ^{o}C.

O Pollock do Alaska é um peixe que normalmente não mostra atividade proteolítica. No entanto, estudos recentes mostram que quando o músculo do pollock

está infestado por microsporia e *Ichithyophonus hoferi*, ocorre a degradação da textura dos géis de surimi e estes apresentam atividade proteolítica entre 50 e 60 ^{o}C (KIMURA et al., 2002; NOGUCHI, 2001).

No “surimi” preparado a partir de espécies com alto teor de gordura e músculo vermelho, como a cavala, o salmão e a sardinha, são necessários alguns cuidados para anular os efeitos dos lipídios e proteínas heme que podem causar a oxidação lipídica e desenvolver odores de ranço (TOKUNAGA e NISHIOKA, 1988). A literatura sugere que a adição de 0,1 a 0,5% de $NaHCO_3$ na primeira lavagem ajuda a eliminar as gorduras e o pirofosfato de sódio (0,1%) pode eliminar as proteínas heme (PARK e LIN, 2005).

A sazonalidade e a maturidade sexual são fatores que interferem na composição química dos peixes. (OGAWA, 1999). Variações na composição das espécies afetam os processos tecnológicos e com o “surimi” não é diferente. Na região amazônica, por exemplo, alguns peixes como o tambaqui, o pacu e a pirapitinga costumam acumular grandes quantidades de gordura durante os meses de fevereiro a julho, quando o rio está cheio, para executarem a migração reprodutiva nos meses de agosto a dezembro. Durante o período de migração e desova, a carne do pescado apresenta altos teores de umidade e baixos teores de proteínas e lipídios. Já na estação das chuvas a umidade é menor e os teores de proteínas e lipídios, bem pronunciados.

Em geral o “surimi” produzido na época de alimentação tem alta qualidade, enquanto que durante e após a desova o produto é de baixa qualidade devido ao excesso de umidade na carne e pH elevado que tendem a reter ainda mais água durante as lavagens e dificultar sua remoção (LEE, 1986).

O frescor do pescado é dependente do binômio tempo/temperatura. Por causa das enzimas endógenas, ativadas pelo aumento de temperatura, o pescado precisa ser processado o mais rápido possível (PARK e LIN, 2005) e a cadeia do frio precisa ser mantida.

Após a morte do pescado, ocorrem mudanças bioquímicas e biofísicas durante o *rigor mortis* e levam a mudanças significativas na funcionalidade das proteínas musculares. O ideal é processar o pescado logo após o *rigor*. Antes do rigor, no caso da merlusa, é difícil a retirada do odor, de várias membranas e contaminantes que afetam a qualidade do produto (PIGOTT, 1986). Entretanto Park et al., (1990) relataram que filés de tilápia em pré-rigor possuem maior rendimento, capacidade de formação de gel e menores perdas na cocção.

O ambiente ou localização geográfica parece ter influência na geleificação, pois Park e Lin (2005) observaram que espécies de águas frias dão um gel muito pobre quando preparado de pescado congelado, já o pescado de águas quentes, aparenta ter

maior estabilidade térmica e gera um gel de boa qualidade, podendo ser ainda melhor se preparado a partir de pescado fresco.

Fatores extrínsecos também podem afetar a qualidade do surimi. O método de captura pode afetar a qualidade do pescado causando injúrias que irão refletir na qualidade do "surimi". O manuseio a bordo na questão da higiene e do tempo e temperatura entre a captura o processamento são fatores a serem considerados. Assim como o local de pesca também pode afetar a produção do "surimi", no que se refere ao tamanho das espécies ou ao tempo que levarão para entregar o pescado na planta de processamento (PARK e LIN, 2005).

Alguns fatores associados à qualidade da água também interferem na qualidade do "surimi" como a temperatura, a dureza, o pH e a salinidade. A temperatura deve ser mantida sempre abaixo da temperatura de captura do pescado para não influenciar na funcionalidade protéica. Assim, peixes de águas quentes toleram temperaturas mais elevadas (até 5 ^{o}C). A água dura influencia na textura e coloração dos géis, portanto, águas moles com níveis mínimos de minerais como Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Mn^{2+} sao recomendadas para lavagem. Ofstad et al. (1993) pesquisaram a influência da adição de $CaCl_2$ e $MgCl_2$ na água de lavagem do surimi e verificaram que houve melhoria na força e tensão de cisalhamento. O pH deve ser mantido próximo àquele do pré-rigor (6,8-7,0) para obter maior retenção de água dos géis (PARK e LIN, 2005). O nível de cloro também deve ser verificado por causa de sua ação branqueadora e desodorização (LEE, 1986).

Há, ainda, fatores como a solubilização das proteínas miofibrilares durante o processamento decorrente da adição de sais. A proporção de água e peixe durante as lavagens que para peixes de água fria é de 4:1 a 8:1 e para os de água doce é 1:1 a 3:1 (LIN e PARK, 1996).

2.6. O USO DE CRIOPROTETORES NO "SURIMI"

O congelamento a baixas temperaturas é um método largamente aplicado na estocagem por longos períodos do "surimi" e seus derivados. Entretanto, na estocagem congelada pode haver perdas na funcionalidade das proteínas resultantes da desnaturação de proteínas miofibrilares (SHENOUDA, 1980).

De acordo comm Holt (2000) qualquer célula viva, se submetida ao processo de congelamento, sofre algum dano decorrente das interações água-soluto que ocorrem durante a formação de cristais de gelo (figura 3).

Mazur (1980) cita que os danos provocados pelo gelo intracelular dependem do tamanho dos cristais, onde grandes cristais podem causar danos mecânicos e os pequenos cristais não, a não ser quando são reaquecidos e recristalizados o que causaria um aumento do tamanho desses cristais causando danos severos.

No pescado congelado ocorre perdas rápidas das propriedades funcionais, podendo ocorrer agregação protéica, diminuição na textura e na geleificação, e retenção de água (LANIER e LEE, 1992). Tais mudanças estruturais e físico-químicas, provocadas pela ruptura da integridade celular, de acordo com MacDonald e Lanier (1994), podem ser reduzidas com a adição de crioprotetores.

Os crioprotetores podem ser classificados de acordo com o mecanismo de ação em agentes crioprotetores penetrantes e agentes crioprotetores não penetrantes.

Os agentes crioprotetores penetrantes têm estruturas que promovem ligações de hidrogênio com a molécula da água, limitando a formação de cristais de gelo, retardando o crescimento dos cristais e reduzindo as concentrações de soluto no meio extracelular, com meio intracelular (Nash, 1966). Já os agentes crioprotetores não penetrantes, segundo Amann e Pickett (1987), são responsáveis por um mecanismo de proteção no meio extracelular em que alguns atuam através de um efeito osmótico, induzindo a saída da água do interior da célula para prevenir a formação de cristais de gelo, e outros promovem uma maior estabilidade da membrana plasmática.

Os crioprotetores (não penetrantes) aumentam a tensão superficial da água em volta da proteína, o que impede o congelamento, além de prevenir a retirada da água ligada e estabilizá-la em sua forma original durante a estocagem sob congelamento (TEIXEIRA e BEIRÃO, 1999).

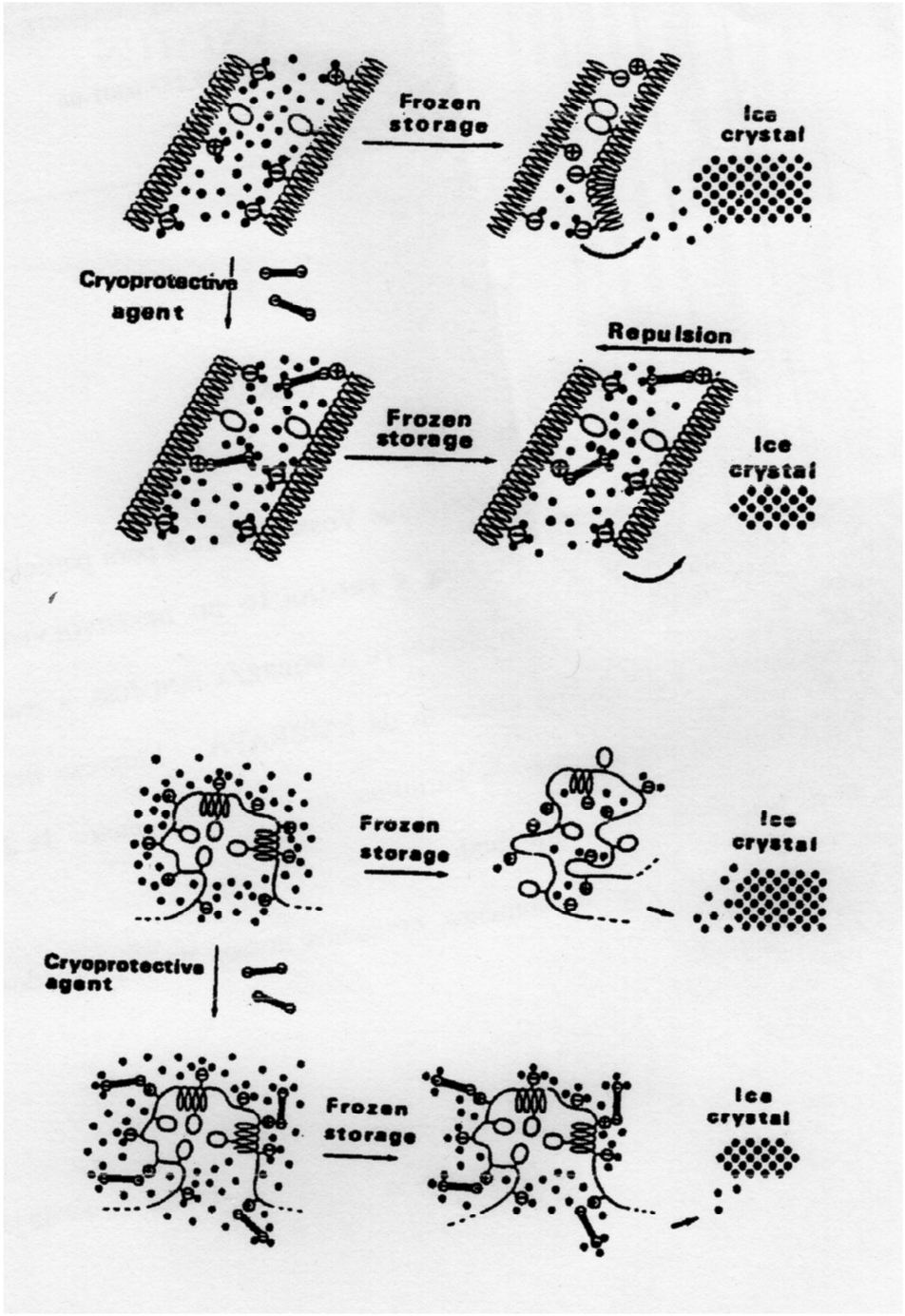


Figura 3: Modelo esquemático da desnaturação (agregação) das proteínas α – helicoidais (topo) e desnaturação (desdobramento) das proteínas não-helicoidais (globulares) (abaixo) durante a estocagem congelada e sua prevenção pelos crioprotetores. ----------⊕ = cadeia lateral catiônica; ---------⊖ = cadeia lateral aniônica; ---------◯ = cadeia lateral apolar; ⊖---------⊖ = crioprotetor dianiônico; • = molécula de água.
Fonte: Matsumoto (1980).

A adição de crioprotetores é uma das etapas mais importantes na fabricação do "surimi", pois estes promovem a estabilidade do produto no congelamento e estocagem congelada (NOPIANTI, HUDA e ISMAIL, 2011).

Originalmente, os crioprotetores eram adicionados ao "minced fish" lavado utilizando-se um misturador, o que nos dias atuais é feito com "cutters" ou "blenders" refrigerados (encamisados) para que a mistura seja rápida e mantenha a temperatura, evitando perda de qualidade durante o processo (PARK, GRAVES, DRAVES e YONGSAWATDIGUL, 2013).

Muitos crioprotetores com doçura reduzida e/ou baixo valor calórico têm sido estudados como proteínas hidrolisadas, amidos hidrolisados, poliálcool e oligossacarídeos (ZHANG, YAMASHITA e NOZAKI, 2002; XIONG et al., 2009).

Noguchi (1974) propôs alguns atributos químicos que caracterizariam os criprotetores quais sejam:

(1) A molécula deve possuir um grupo funcional essencial, como –COOH, -OH ou $–OPO_3H_2$ e mais um grupo suplementar como –COOH, NH_2, -SH, SO_3H e/ou $–OPO_3H_2$;
(2) Os grupos funcionais devem ser adequadamente espaçados e orientados em relação aos outros; e
(3) A molécula deve ser relativamente pequena.

Pesquisas apontam para o uso de carboidratos de baixo peso molecular como a sacarose e o sorbitol misturados ou individualmente a 9% (p:p), o que, além dos efeitos desejados, pode causar sabor adocicado e aumento de calorias em produtos de "surimi".

Segundo Dalimata e Graham (1997) dissacarídeos como, a sacarose, interagem com os grupos polares da membrana, promovendo sua estabilização. Essa interação envolve as ligações de hidrogênio das hidroxilas nos açúcares com os fosfatos dos fosfolipídios da membrana que, pela reposição de água ao redor das "cabeças" dos grupos fosfolipídicos previnem danos à membrana causados pela desidratação (DE LEEUW et al., 1993).

A sacarose tem sido adicionada a 6% em conjunto com tripolifosfato de sódio (1:1) e pirofosfato tetrasódico a 0,2-0,3% como agentes quelantes que inativam íons metálicos e ajustam o pH (PARK, GRAVES, DRAVES e YONGSAWATDIGUL, 2013).

Outro crioprotetor que tem sido investigado é o lactitol (4-O-(ß-D-galactopiranosil)-D-glucitol) que é um produto da hidrogenação da lactose, com baixa

caloria, porém mais adocicado que a sacarose (MACSWEENEY, 2009). Os estudos apontam para o uso no “surimi” em percentual que varia de 4-8% (SYCH et al., 1991).

A polidextrose é um pó que varia do branco ao creme que não possui odor, é praticamente sem doçura e tem baixíssima caloria (ROLLER e JONES, 1996). O uso da polidextrose como crioprotetor foi patenteado por Lanier e Akahane (1986) e Synch et al. (1991) mostraram que sua utilização a 8%, preserva as propriedades funcionais das proteínas miofibrilares por até 4 meses. Uma variação da polidextrose, a litesse, que contem 90% de polidextrose e fibras, foi utilizada por Sultanbawa e Lin-Chan (2001) a 8% e mostrou eficiência na manutenção da força de gel após oito ciclos de congelamento e descongelamento.

Carvajal et al. (1999) estudaram a Maltodextrina como potencial crioprotetor para proteínas musculares de peixes. Esta se mostrou eficiente para aumentar a habilidade de geleificação do “surimi” de pollock do Alaska estocado a -20 ^{o}C. Os mesmos autores afirmam ainda que as maltodextrina de baixo peso molecular são as mais efetivas, com mecanismo semelhante ao da sacarose e sorbitol.

De acordo com Arnoldi (2004), o crioprotetor trealose é um dissacarídeo não reduzido bem conhecido, sintetizado por uma variedade de organismo, também chamado de açúcar dietético, que tem propriedades de proteção contra a inativação térmica de enzimas devido a seu grande volume de hidratação (MACDONALD et al. 2000). Além disso, Ozako et al. (2005) utilizando percentuais de 0,5-7,5% encontraram aumentos na quantidade de água não congelada e diminuição da desnaturação proteica provocada pelo congelamento.

Fosfatos têm sido amplamente utilizados no processamento do “surimi”. São sais que contém fósforo e outros minerais entre eles o Tripolifosfato de sódio (STPP), pirofosfato de sódio (SPP), hexametafosfato de sódio (SHMP), pirofosfato tetrasódico (TSPP), pirofosfato tetrapotássico, hexametafosfato sódico (SHMP) e fosfato trisódico (TSP), (MOLINS, 1991).

O uso dos fosfatos reduz a viscosidade da pasta, além de aumentar a retenção de água, a capacidade da proteína em reabsorver líquidos, a habilidade de geleificação, a força e coesividade do gel (PARK, 2013).

O tipo de fosfato e as concentrações utilizadas têm influência sobre a qualidade dos géis de “surimi”. Geralmente são utilizadas concentrações entre 0,05 a 0,5% uma vez que concentrações maiores podem causar efeitos negativos na geleificação devido ao efeito quelante do íon cálcio. O pirofosfato de sódio apresenta um gel superior quando comparado aos outros fosfatos, principalmente quando em conjunto com $CaCl_2$ (JULAVITTAYANUKUL, et al., 2006). Já o hexametafosfato de sódio tem efeito adverso na geleificação de acordo com os mesmos autores.

2.7. PROTEASES – CONTROLE NO PROCESSAMENTO DO "SURIMI"

No pescado e seus derivados a diminuição da textura parece ser mais crítica, pois limita sua vida de prateleira e impede sua comercialização (SRIKET, 2014). Após a morte, durante a manipulação e a estocagem, as proteínas do pescado e derivados podem ser degradadas por proteases endógenas ou microbianas (SELVAKUMAR et al., 2002; SRIKET, 2014) processo que denomina-se autólise.

A hidrólise enzimática das proteínas exerce papel primordial em diversos processos fisiológicos como, por exemplo, a digestão, e é regulada pelos inibidores de proteases (García-Carreño, 1996). Nas diversas áreas do conhecimento, a utilização desses inibidores é fundamental como no controle de pragas, na prevenção de doenças como câncer e AIDS, e no controle da atividade proteolítica em alimentos.

Alguns ingredientes alimentícios possuem fatores antinutricionais como lecitina, fenóis, e outros fatores que inibem a atividade das enzimas chamadas proteinases, proteases ou peptidases que são enzimas que hidrolisam ligações peptídicas (BARRET, 1994). A esses fatores deu-se o nome de inibidores de proteases.

As proteases são classificadas de acordo com a reação catalisada ou com o aminoácido estratégico do sítio catalítico, sendo divididas em exopeptidases e endopeptidases (BEZERRA, VIEIRA e CARVALHO-JR, 2001).

As exopeptidases atuam nas extremidades da cadeia polipeptídica e são ainda divididas em serinocarboxipeptidases, metalocarboxipeptidases e cisteinacarboxipeptidases. Já as endopeptidases, atuam, preferencialmente, nas regiões internas da cadeia e são divididas em serinoendopeptidases, cisteinaendopeptidases, asparticoendopeptidases, metaloendopeptidases e endopeptidases (BEZERRA, VIEIRA e CARVALHO-JR, 2001).

A classificação das proteases pode, ainda, levar em conta sua sensibilidade ao pH em proteases ácidas, neutras e alcalinas. Entretanto, o método padrão de classificação da Enzyme Commission (EC) da International Union of Biochemists (IUB) está baseado no modo de catálise, dividindo as proteases em quatro grupos: Serino, Cisteino, Aspártico e metalo proteases (Tabela 1) (SRIKET, 2014).

2.7.1. Serino proteases

Serino ou alcalino proteases são denominadas assim devido possuírem uma serina "super-reativa" no sítio ativo (SIMPSON, 2000). São geralmente ativas em pH neutro ou alcalino, com ótimo variando de 7-11 e ponto isoelétrico entre 4 e 6 (SRIKET, 2014). A massa molecular está entre 18 e 35 kDa (KLOMKLAO, 2008).

De acordo com Klomklao et al. (2006), as tripsinas são os principais membros da família de serino proteases, especificamente as que hidrolisam proteínas e peptídeos no lado da carboxila dos resíduos de arginina e lisina.

Tipo de protease	Sítio ativo	pH ótimo	Massa molecular (kDa)	Fonte
Serino protease				
- Tripsina	Serina	7-11	18-35	Klomklao (2008)
- Quimotripsina				
Cisteíno protease				
- µ-Calpaína	Cisteína	5-7,5	80	Larsen et al. (2004)
- m-Calpaína			28	
- Catepsina B,H,L			20-37	
Aspártico protease	Ácido aspártico	2-4	35-46	Hughes et al. (2003)
- Pepsina			46-48	
- Catepsina D				
Metaloprotease	Zn^{2+}	6-8	69-74	Carmeli et al. (2004)

Tabela 1 – Classificação das proteases.
Fonte: Adaptada de Sriket (2014).

As tripsinas de peixes são como as dos mamíferos e se assemelham em termos de massa molecular, que varia de 22-30 kDa, composição de aminoácidos e sensibilidade a inibidores (SRIKET, 2014). A temperatura ótima vai de 35 a 65 ^{o}C (AHMAD et al., 2011) e sua atividade é bastante dependente da espécie e do pH (HULTMANN e RUSTAD, 2004).

Dentre os inibidores de serino proteases estão o ovoinibidor e ovomucoide, provenientes da clara de ovo que inibem a atividade proteolítica de tripsina bovina, α-quimotripsina, subtilisina, e alcalino proteases de microrganismos (STEVENS,1991; YONGSAWATDIGUL, HEMUNG e CHOI, 2013).

Suzuki et al., (1990) relatam que no plasma sanguíneo de porquinhos-da-índia existem quatro inibidores para tripsina que são contrapsina, α_1-antiproteinase, α_2-macroglobulina e murinoglobulina.

Inibidores de serino proteases podem ser facilmente encontrados no reino vegetal, por exemplo em grãos como soja, feijão-de-lima e tubérculos, além de uma variedade de inibidores encontrados em batatas como o inibidor carboxypeptidase (BIRK, 1976).

2.7.2. Cisteíno proteases

Agrupam-se nessa família várias catepsinas lisossomais, citosólico calpaínas, além de proteases de parasitas (SRIKET, 2014).

As calpaínas são proteases que necessitam do íon cálcio para ativação e o pH ótimo varia de neutro para alcalino em torno de 7,5 de acordo com Maddock et al., (2005).

As catepsinas ou proteases cisteíno lisossomais, desempenham importante papel em vários processos fisiológicos, por exemplo, a degradação de proteínas (TURK et al., 2000). Dentre elas, foram purificadas em peixes e mariscos as catepsinas B, C, H, L e S, e estas são as principais responsáveis na quebra das proteínas intracelulares (AOKI et al., 2004).

A atividade das catepsinas ocorre em pH ácido, sendo maior entre 3 e 4, mas algumas apresentam atividade a pH 7,0, no entanto, a atividade da maioria das catepsinas é insignificante a baixas temperaturas de acordo com Balti et al., (2010).

Em peixes, as catepsinas B, H e L, mostram atividade maior no período de desova do que na alimentação (ASHIE e SIMPSON, 1997). No músculo do salmão, por exemplo, ocorre o crescimento dos níveis de catepsinas indicando seu papel nas mudanças decorrentes da maturação sexual e migração reprodutiva (RILEY, 2005).

Pesquisas feitas por Bahuaud et al., (2010) indicam que as catepsinas B e L sejam as principais enzimas responsáveis pelo amolecimento muscular do salmão do Atlântico (*Salmo salar* L.). No músculo de linguado a catepsina L é a maior responsável pela autólise a altas temperaturas (VISESSANGUAN et al., 2001). Isso sugere que a catepsina seja talvez a responsável para desintegração da matriz estrutural muscular exercendo papel fundamental na perda de textura de peixes e mariscos. E, como a maioria dos produtos a base de "surimi" sofre aquecimento, é provável que atue fortemente na degradação dos géis protéicos.

A clara de ovo de galinha também mostrou inibição para várias cisteíno proteases como ficina, papaína, catepsinas B, H, L, e dipepdil peptidase (ANASTASI et al., 1983). Além da clara do ovo, inibidores de cisteíno proteases foram encontrados em tubérculos, soja, milho e arroz (ABE, KONDO e ARAI, 1987; ABE e WHINTAKER, 1988; ROWAN et al., 1990; HINES, OSUALA e NIELSEN, 1991).

2.7.3. **Aspártico protease**s

São mais conhecidas como proteases ácidas. Elas dependem de resíduos de ácido aspártico para ter atividade catalítica. São produzidas por várias células e tecidos, pertencendo à família das pepsinas que incluem pepsinas e quimosinas como a catepsina D (SRIKET, 2014).

O papel das catepsinas D na diminuição da textura de peixes e mariscos não é muito claro. Aoki (2000) detectou catepsinas D nos músculos claros e escuros de 24 espécies de pescado, não havendo diferença nem entre os tipos de músculo, nem tampouco entre peixes de mar ou de água doce. Wang et al., (2007), verificou baixa atividade em *Clupea harengus* L., *Salmo salar* L., e *Anarhichas lupus* L..

2.7.4. Metaloproteases

As metaloproteases incluem enzimas de várias origens como grandes organismos, cobras e bactérias. Para se tornarem cataliticamente ativas, necessitam de átomos de Zinco (SRIKET, 2014). Entre elas está a família das Zinco endopeptidades que são responsáveis pela degradação do colágeno extracelular (CARMELI et al., 2004). Não apresenta grande papel na degradação dos géis de "surimi".

Os inibidores de grau alimentício têm sido muito utilizados na produção de "surimi" de diversas espécies de peixes.

A Proteína do Plasma Bovino (BPP) e a clara de ovo, por exemplo, foram eficazes em géis de badejo, linguado, menhaden do Atlântico e pollock do Alaska (PARK, 2013).

Lanier et al., (1981) relataram o uso de extratos de batata para inibir proteases no "surimi" de corvina do Atlântico, badejo do Pacífico e Linguado.

Proteínas do soro do leite, um subproduto da fabricação de queijos, diminuíram a degradação proteolítica em badejo do Pacífico e peixe-lagarto, embora não tenham sido tão efetivas quanto o BPP (WEERASINGHE, et al., 1996).

O BPP é o mais eficaz inibidor comercial, com melhor inibição para cisteíno proteases, no músculo do badejo do Pacífico uma vez que predomina a catepsina L, enquanto que a clara do ovo é mais eficaz para serino proteases afirmam Weerasinghe, et al., (1996).

Lamb-Sutton (1995) relata que o BPP é um inibidor de amplo espectro nas quatro classes de proteases. De acordo com Seymour et al (1997) o BPP tem efeito sinergético com a transglutaminase, inibidor endógeno por isso é tão eficaz.

Apesar de sua eficácia na inibição de proteases, o BPP, teve o uso limitado devido ao surto de encefalopatia espongiforme bovina (BSE, ou "doença-da-vaca-louca"). Por isso o plasma sanguineo de outras fontes como o frango e os suínos foi investigado (Park, 2013).

Proteínas do plasma de frango têm melhorado as propriedades texturais do "surimi" de espécies tropicais como anchova e peixes-lagarto, e também no linguado e badejo do Pacífico (RAWDKUEN, BENJAKUL e VISESSANGUAN, 2006).

A adição de proteínas do plasma suíno contem inibidores que inibiram a tripsina e papaína, bem como melhoraram a força de ruptura do gel de “surimi” de varais espécies tropicais. Lee et al., (2000) demonstraram que a L-cininogênio, um da família cistantina, promoveu a inibição da catepsina endógena e melhoria estrutural do “surimi” de cavala.

Embora as proteínas do plasma de frango e suíno melhorem os géis de “surimi”, seu uso é bastante limitado devido darem um aspecto amarelado ao se adicioná-los ao “surmi”. Além disso, para a comunidade islâmica, proteínas plasmatica, principalmente suína, são proibidas (Park, 2013).

As proteínas sarcoplasmáticas têm sido investigadas quanto a melhoraria das propriedades texturais de surimi por inibição de proteases, embora não esteja disponível em escala comercial, havendo entretanto potencial tecnológico para recuperação de proteínas a partir de água de lavagem de “surimi” (SIRIANGKANAKUN e YONGSAWATDIGUL, 2012).

No músculo, a transglutaminase é uma protease endógena do pescado, do tipo transferase, que forma ligações cruzadas entre resíduos de lisina e glutamina presente nas proteínas, resultando em grandes redes protéicas que modificam as características nos alimentos. Seu efeito é exclusivamente sobre as propriedades das proteínas como capacidade de geleificação, capacidade de retenção de água, estabilidade térmica, etc. (KURAIASHI et al., 2001).

A formação do gel chamado “suwari”, também denominado fenômeno de “assentamento”, tem sido associada à atividade da transglutaminase endógena (TGase) do pescado (KUHN e SOARES, 2002).

Na catálise pela transglutaminase, o grupo tiol de uma cisteína ataca a cadeia lateral do resíduo de glutamina, formando um complexo acil-enzima e amônia. Em seguida, uma amina primária entra no lugar da enzima, formando uma glutamina carboxilada modificada e se a ligação proteica envolve lisina, a ligação cruzada ocorre via N(γ-glutaminil) L-lisina, levando a formação de agregados protéicos irreversíveis (MACEDO e SATO, 2005) como o gel “suwari”.

O gel de “surimi” é diferente dos géis formados a partir de outras proteínas de origem animal, pois sua textura, perceptível à mastigação, é semelhante à do pescado “in natura” a qual, expressa em força de gel, é o principal indicador de qualidade e de preço no “surimi” (AN et al., 1996).

2.8. LEGISLAÇÃO PARA "SURIMI"

A legislação brasileira para pescado e seus produtos derivados necessita de ampla revisão, pois ainda existem diversas lacunas em termos de limites para o uso de aditivos, padronização de processos de fabricação de produtos e índices de qualidade. No que diz respeito ao "surimi" e produtos a base deste, a Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), estabelece os padrões microbiológicos sanitários que são:

- Para produtos derivados de pescado (surimi e similares) refrigerados ou congelados, tolerância de $5x10^2$ para Estafilococos coagulase positiva/g, ausência de *Salmonella* sp./25g e tolerância de 10^3 para Coliformes a 45°C/g.

- Para os produtos à base de pescado refrigerados ou congelados (hamburgueres e similares), tolerância de 10^3 para Estafilococos coagulase positiva/g, ausência de *Salmonella* sp./25g e tolerância de 10^2 para Coliformes a 45°C/g. Esse mesmo padrão se aplica a pescados pré-cozidos, empanados ou não, refrigerados ou congelados.

O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), do Ministério da Agricultura, Abastecimento e Pecuária (MAPA) criado em 29 de março de 1952, pelo Decreto nº 30.691, dispõe sobre a classificação dos estabelecimentos de pescado e derivados, sobre as condições das instalações, equipamentos e higiene, inspeção *post mortem*, padrões de identidade, registro e análise dos produtos e etc. (BRASIL, 1952).

Para o "surimi" destacam-se três artigos do RIISPOA que fazem menção direta:

- Artigo 464, que defini o termo **"surimi"** diz que o mesmo "é o produto congelado obtido a partir da carne mecanicamente separada de pescado, submetida a lavagens sucessivas, drenagem e refino, adicionado de ingredientes e aditivos crioprotetores".

- Art. 465, que define os **Produtos à base de "surimi"** que "são aqueles produtos congelados elaborados com "surimi", adicionados de ingredientes e aditivos".

- Artigo 480, refere-se à obrigatoriedade da prévia lavagem e evisceração do pescado a ser destinado à elaboração de "surimi" e produtos a base de "surimi", para a alimentação humana, qualquer que seja a forma de seu processamento, além de vários outros produtos de pescado citados no documento.

Os aditivos mais utilizados na fabricação do “surimi” são a sacarose, o sorbitol e os fosfatos, além do cloreto de sódio, os amidos e mais recentemente os inibidores de proteases que podem ser de grau alimentício ou não (PARK, 2005).

O RIISPOA não faz menção aos aditivos utilizados especificamente para o preparo do “surimi”. De maneira geral, estabelece que não ha limite para o uso do cloreto de sódio (BRASIL, 1952), sendo o sabor fator limitante (MACARI, 2007), e que o amido pode ser adicionado a pastas (onde se incluem as feitas com pescado) e patês na proporção de até 10% (BRASIL, 1952).

Outros aditivos para produtos à base de pescado somente são encontrados na Legislação Internacional. O Parlamento Europeu, e seu Conselho, estabelece os seguintes limites para aditivos em “surimi”: sacarose 5g/kg, trifosfatos 1g/kg e o sorbitol, pode ser adicionado a “*quantum satis*” (EUROPEAN UNION, 1995).

O uso de inibidores de proteases tem sido bastante estudado, entretanto, ainda não foram estabelecidos limites para adição dessas substâncias no “surimi”, que têm sido utilizadas entre 0,5 a 8%.

2.9. TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818)



Figura 4: Exemplar de tambaqui.
Fonte: acervo pessoal.

O tambaqui é o maior caracídeo da América do sul, pertence à classe Actinopterigii, é da ordem dos Characiformes, da família Characidae e seu gênero é

Colossoma (ARAUJO-LIMA; GOMES, 2005). Recebe ainda a denominação de cachama, cachama negra, gamitana e Black pacu (KUBITZA, 2004). Esse peixe pode atingir até 1 metro de comprimento e 30 kg de peso (ARAUJO-LIMA; GOMES, 2005).

A distribuição natural da espécie abrange a bacia dos Rios Amazonas e Orinoco, com desembarques expressivos, na Venezuela, Perú, Bolívia e Brasil. Os maiores desembarques estão na Amazônia Central, sistema Solimões-Amazonas, sendo Manaus o principal porto consumidor (COSTA, BARTHEM; BITTENCOURT, 2001).

A participação do tambaqui nos desembarques da região de Manaus-AM no final da década de 1970 era de 40% de acordo com Petrere Jr. (1978). Entretanto, a captura declinou nos anos 1980 e a espécie entrou em sobrepesca, afirmam Merona e Bittencourt (1988).

A espécie, atualmente, encontra-se na lista do IBAMA de espécies de peixes protegidas pelo defeso e, segundo Ono (2005), o potencial de mercado, a disponibilidade do recurso e o clima favorável fazem da atividade de piscicultura uma atividade promissora no cenário regional.

A produção da pesca extrativa do tambaqui no ano de 2010, de acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2011), foi de 4.234,9 toneladas, valor que vêm se mantendo em torno de 4 ton. desde 2009, indicando que a produção de ambientes naturais estagnou, embora tenha que se fazer uma resalva sobre a grande dificuldade de se obter dados estatísticos da pesca na Amazônia, o que pode ocasionar subestimação dos resultados.

No que se refere à produção aquícola continental brasileira, a tilápia e o tambaqui são as espécies mais cultivadas, totalizando juntas 67,0% da produção nacional de pescado cultivado (BRASIL, 2011). De acordo com as estatísticas oficiais do MPA em 2010, foram despescadas 111.084,1 toneladas de tambaqui de criadouros. Para o ano de 2014, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE (IBGE, 2014), a produção nacional foi de 139.209,1 toneladas, correspondente a 29,3% do total e 56,0% a mais que no ano anterior.

A piscicultura no Estado do Amazonas está concentrada em três espécies, o pirarucu, o matrinxã e o tambaqui que é o peixe mais cultivado. Dados no MPA (BRASIL, 2012) estimaram uma produção de 12.000 toneladas de tambaqui no ano de 2010. Em 2012, as estatísticas da Secretaria Executiva de Pesca e Aquicultura do Amazonas – SEPA/SEPROR estimaram que a produção de tambaqui foi de aproximadamente 16.000 toneladas (LIMA et al., 2015).

É a terceira espécie mais cultivada no Brasil, justificando quaisquer esforços em se estudar sua cadeia produtiva e demais possibilidades de aproveitamento integral.

2.10. MATRINXÃ (*Brycon amazonicus* Spix & Agassiz, 1819)



Figura 5: Exemplar de matrinxã.
Fonte: acervo pessoal.

O matrinxã é um peixe nativo da Bacia Amazônica (HOWES, 1982). A taxonomia da espécie é confusa e até pouco tempo era denominada *Brycon cephalus*, sendo recentemente denominada *Brycon amazonicus* (LIMA, 2003).

A espécie *Brycon amazonicus* está classificada na classe Actinopterygii, ordem Characiformes, família Characidae e gênero *Brycon* de acordo com GOMES e URBINATI (2005).

Em termos de desembarque esse peixe teve, nos anos de 1990, grande importância nos mercados da região Amazônica, chegando a ser a quarta espécie mais capturada (BATISTA e PETRERE JR., 2003).

As estatísticas da pesca extrativa para o ano de 2010, de acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2011), apontam para um desembarque de 5.094,7 toneladas. No que diz respeito à piscicultura, o matrinxã contribuiu com a produção nacional de pescado com 5.702,1 toneladas no ano de 2010 (BRASIL, 2011) e 10.717,7 ton. no ano de 2014 (IBGE, 2014).

No Estado do Amazonas é a segunda espécie mais criada, com produção no ano de 2014 de 8,4 toneladas, o que equivale a aproximadamente 80,0% da produção

nacional, contribuindo para a balança comercial com R$ 68.600,00, segundo o IBGE (2014).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. **Matéria-prima:** o "surimi" foi obtido a partir de tambaqui (*C. macropomum*) com peso médio de 2,6 kg, e matrinxã (*B. amazonicus*) com peso médio de 1,7 kg, provenientes de viveiros de piscicultura da região metropolitana de Manaus-AM. Os peixes foram mortos por hipotermia em caixa de isopor com água e gelo. Em seguida foram acondicionados em isopor com gelo na proporção 2:1 (gelo:peixe) e transportados até a Coordenação de Pesquisas em Tecnologia de Alimentos (CPTA) no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) onde foi realizada a separação mecânica do músculo do pescado, das peles e espinhas, obtendo assim a CMS.



Figura 6: captura do pescado.
Fonte: acervo pessoal.

3.2. **Obtenção das CMS:** o pescado foi primeiramente descabeçado, eviscerado e lavado, e somente depois aberto em bandas para evitar contaminação microbiana e com proteases viscerais. A separação mecânica foi realizada em

máquina BAADER modelo 964 na CPTA/INPA. A CMS foi então acondicionada em sacos plásticos de 10 kg e transportada em caixas de isopor com gelo até o Laboratório de Tecnologia do Pescado da Universidade Federal do Amazonas, onde foi realizado o restante do processamento e análises (Figura 7).



Figura 7: Separação mecânica.
Fonte: acervo pessoal.

3.3. **Obtenção do "Surimi":** a CMS foi submetida a três ciclos de lavagem em água gelada (0 a 5 ^{o}C) e de pH ajustado para 6,5 (adição de 0,5% de bicarbonato de sódio), para manter a capacidade de retenção de água. Para retirada do excesso de água, a CMS lavada foi submetida à pressão de 1,5 tons por 5 minutos em sacos de fibras de algodão em Prensa Hidráulica. O refino foi realizado em peneira ABNT 30 – 0,6 mm.



Figura 8: Lavagem da CMS.
Fonte: acervo pessoal.



Figura 9: Etapa de refino do “surimi”.
Fonte: acervo pessoal.

3.4. **Embalagem e Estocagem:** as amostras de “surimi” foram embaladas em sacos de polietileno com fecho hermético de 500 g, congeladas a –25°C e estocadas em congelador comercial a –18 °C. O “surimi” (para cada espécie) foi dividido em 6 lotes com 500g cada. Para tanto foram necessários 15 indivíduos de cada espécie.

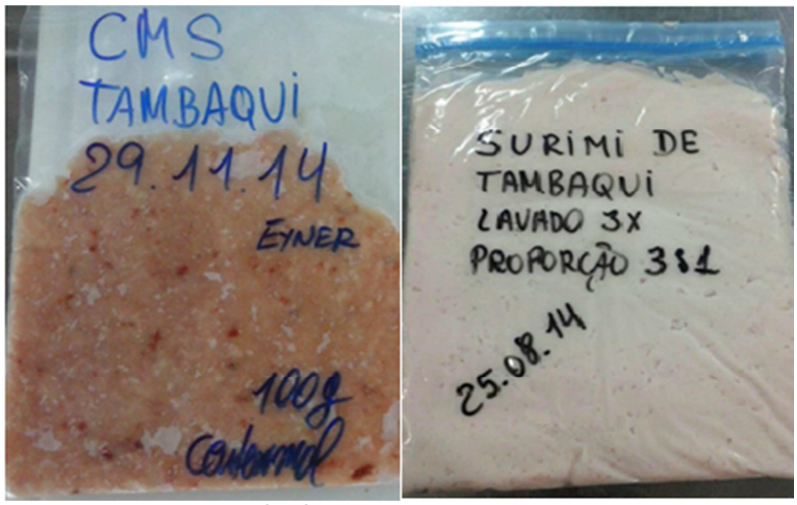


Figura 10: embalagem da CMS e do "surimi".
Fonte: acervo pessoal.

3.5. Avaliações preliminares:

3.5.1. Determinação do Rendimento: para o cálculo do rendimento foi utilizada a equação:

$$\text{Rendimento da "CMS"}\ (\%) = \frac{\text{Peso da "CMS"} \times 100}{\text{Peso total dos peixes inteiros}}$$

Após as lavagens foi aplicada a mesma equação para o cálculo do rendimento do "surimi".

$$\text{Rendimento do "surimi"}\ (\%) = \frac{\text{Peso do "surimi"} \times 100}{\text{Peso total dos peixes}}$$

3.5.2. Determinação do pH: foram pesadas, 10 g das amostras homogeneizada em 100 mL de água destilada, decantando-se o sobrenadante e lido em potenciômetro. O resultado foi expresso como média de triplicata, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2008). O pH da CMS foi

medido somente durante o preparo do “surimi” para ajustar o pH da água de lavagem.

3.5.3. Determinação da Composição Centesimal: foram determinados os percentuais de umidade, lipídios, cinza e proteína da CMS e do “surimi” seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolpho Lutz (SÃO PAULO, 2008) e A.O.A.C. (1990), constando das médias de três determinações.

3.6. **Modelo de Estudo:** trata-se de um estudo experimental de avaliação do uso de crioprotetores e inibidores de proteases sobre o “surimi” e o gel “kamaboko” de tambaqui e de matrinxã.

3.7. **Análise Estatística:** os dados referentes ao estudo com crioprotetores foram avaliados através de um modelo de delineamento em blocos completos casualizados e com repetição no tempo, submetidos à ANOVA (α = 5%), para comparação de médias e Tukey 5% a posteriori. Para os testes com inibidores de proteases foi feito um delineamento inteiramente casualizado e submetido à ANOVA e tukey 5%. A significância de 95% foi adotada para a análise dos resultados (ZAR, 1996).

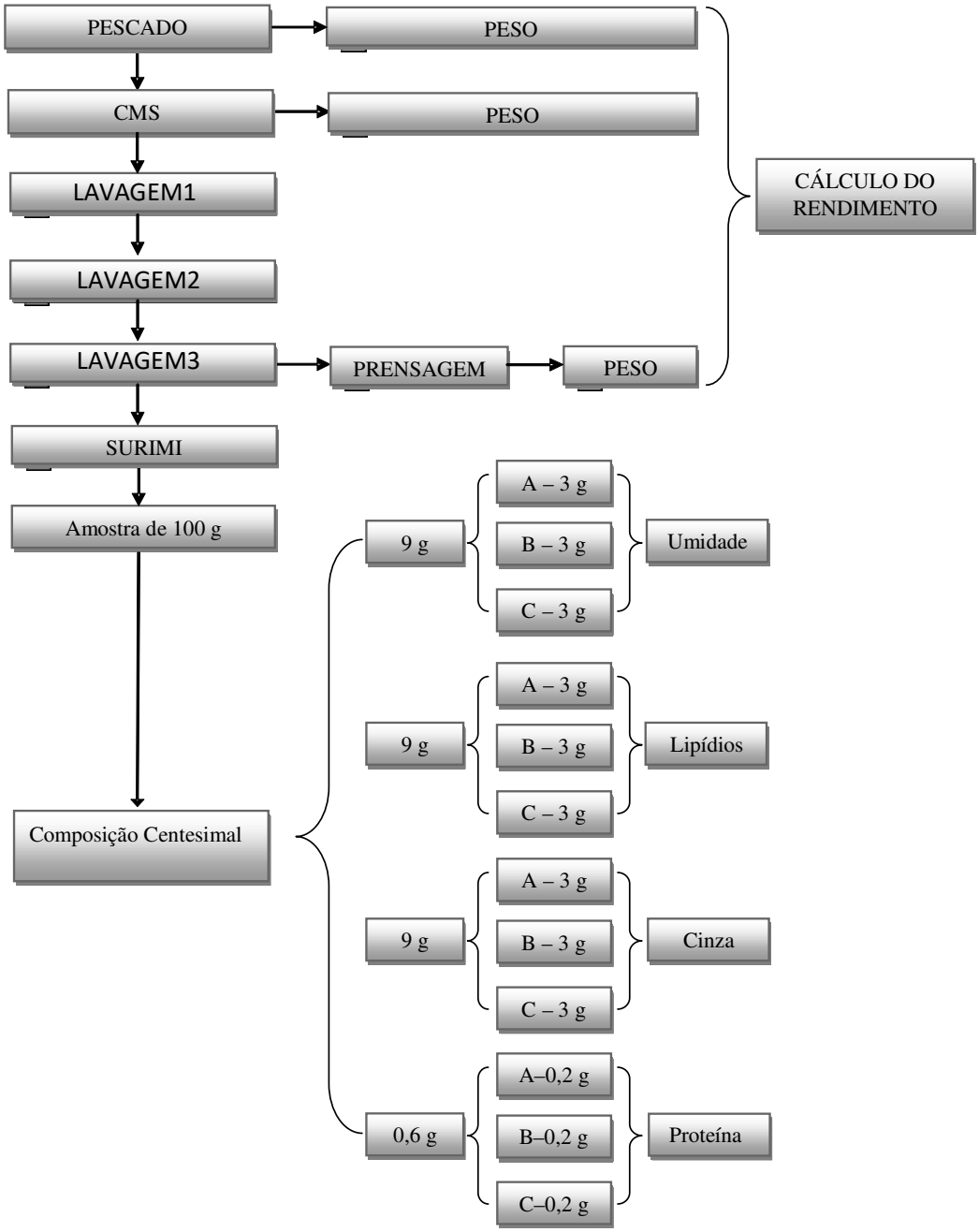


Figura 11. Fluxograma de obtenção da CMS, “surimi” e avaliações preliminares.

3.8. Efeito dos crioprotetores sobre a desnaturação proteica.

3.8.1. Adição de crioprotetores: à CMS obtida após lavagem e prensagem foram acrescentados os crioprotetores comumente utilizados na indústria do surimi (YONGSAWATDIGUL et al., 2000), tais quais: *tratamento 1* (sacarose 1%, sorbitol 1%, tripolifosfato de sódio 0,1%), *tratamento 2* (sacarose 2%, sorbitol 2%, tripolifosfato de sódio 0,3%) e *tratamento 3* (sacarose 4%, sorbitol 4%, tripolifosfato de sódio 0,5%). Para avaliar a desnaturação provocada pelo processo de separação mecânica e pelas condições de estocagem, foram retiradas amostras de "surimi" com e sem crioprotetores a cada 30 dias durante 6 meses. Para mensuração da desnaturação proteica e definição do percentual mais eficiente de crioprotetores, foram utilizados os seguintes testes:

3.8.2. Determinação da Capacidade de Retenção de Água (CRA): foi utilizada a técnica de Roussel e Cheftel (1990) modificada por Souza (2001). Foi expressa como g% de água retida em cada 100 gramas de água presente na amostra antes de centrifugar. As análises foram feitas em triplicata a cada 30 dias, utilizando-se 3g da amostra triturada e homogeneizada, pesada em um tubo de centrífuga com tiras de papel de filtro comprimidas no fundo do tubo e centrifugada a 3.000 RPM por 10 minutos.

3.8.3. Determinação da Solubilidade Protéica em NaCl a 5%: Foi utilizada a técnica descrita por Iroside e Love (1958), onde 1 g da amostra foi homogeneizado em tubo de falcon de 50mL com cerca de 15mL de solução de NaCl 5% refrigerada em pH 7. O homogeneizado foi lavado e completado com NaCl 5% e centrifugado a 14000 RPM por 40 minutos. Uma alíquota de 200 µL do sobrenadante (proteína solúvel) foi retirada e a solubilidade foi determinada em triplicata, a cada 30 dias, pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951).

3.8.4. Eletroforese (SDS-PAGE): Para confirmação de possíveis alterações nas proteínas musculares em decorrência do congelamento, assim como avaliar a eficiência dos crioproteores na prevenção da desnaturação proteica, foi determinado o perfil das bandas proteica do "surimi", por meio da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) (HUIDOBRO, MONTERO e BORDEIRAS, 1998). A coloração dos géis foi em solução contendo ácido acético 10% (v/v), álcool isopropílico 25% (v/v) e Coomassie Brilliant Blue R-250 0,05% por, aproximadamente, 40 minutos. Os géis foram descorados em solução contendo 10% (v/v) de ácido acético e 25% (v/v) de álcool isopropílico, renovando-se a solução a cada 30 minutos até obtenção de revelação nítida (WEBER e OSBORN, 1969). As análises foram feitas a cada 30 dias.

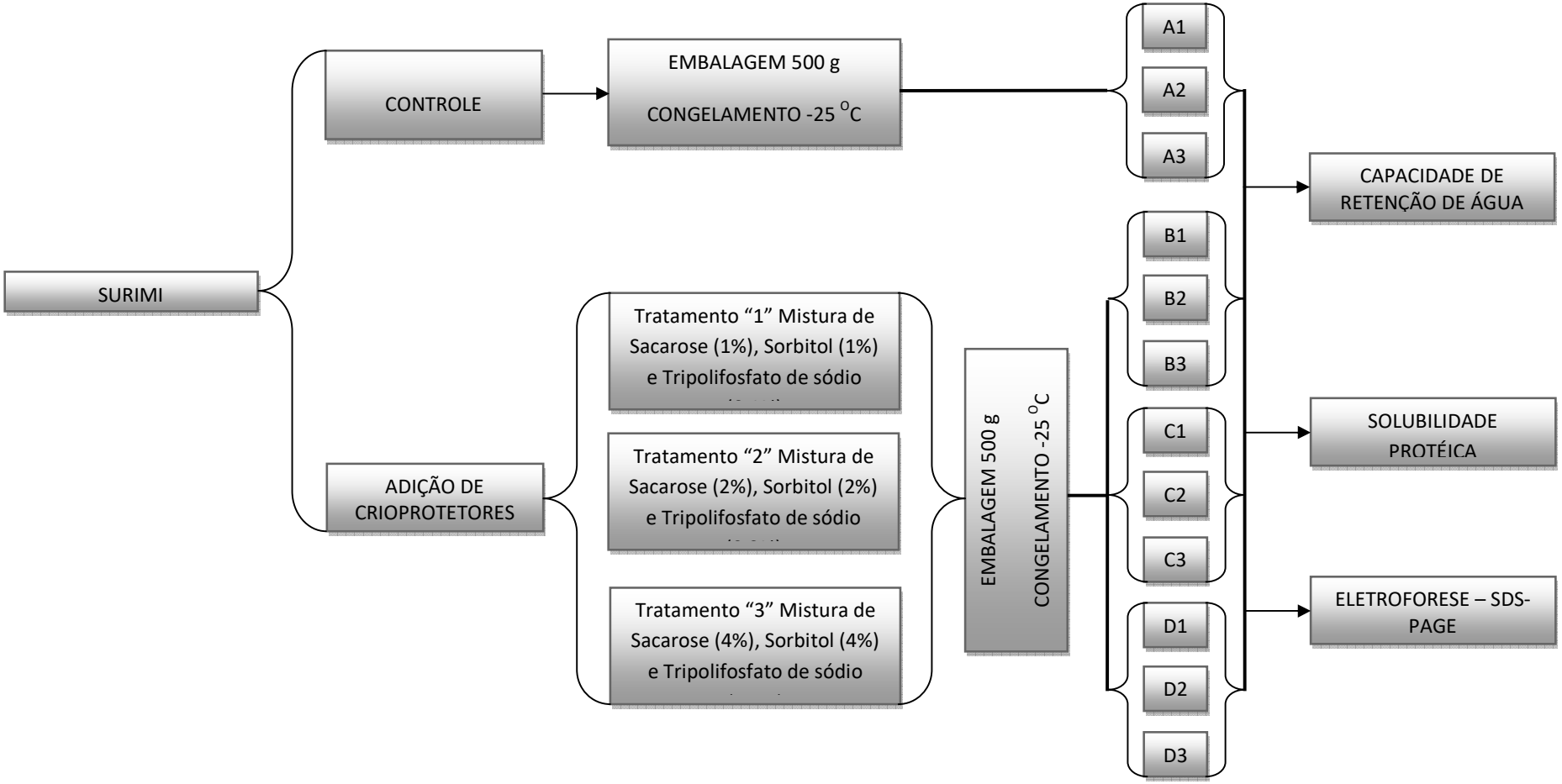


Figura 12. Fluxograma do efeito dos crioprotetores sobre a desnaturação proteica.

3.9. Efeito de inibidores de proteases na atividade autolítica.

3.9.1. Adição de inibidores: foram adicionados ao "surimi" os inibidores de proteases: extrato de batata (1, 3, e 5%), Ovo albumina (1, 3, e 5%) e Isolado proteico de soja (1, 3, e 5%), a fim de determinar o inibidor mais eficiente e o percentual mais adequado. Para medir os efeitos dos inibidores sobre as proteases foi realizado o ensaio de atividade autolítica como descrito:

3.9.2. Ensaio de atividade autolítica: Foi realizada de acordo com o método de Morrissey et al., (1993). Os inibidores nas concentrações pré-determinadas foram adicionados ao "surimi" (3 g) e homogeneizados. As amostras com e sem inibidores foram incubadas em "banho-maria" a 60º C por 60 min, uma vez 60-65 ºC é a temperatura que dá a autólise máxima de peixes tropicais (BENJAKUL, LEELAPONGWATTANA e VISESSANGUAN, 2003). Em seguida, 27 mL de tricloroacético ácido (TCA-5%) resfriado foram adicionados para terminar a reação de autólise. A mistura foi então centrifugada a 4000 RPM por 10 minutos em centrífuga refrigerada a 4 ^{O}C. A concentração de peptídeos solúveis liberados no sobrenadante foi medida pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951). O percentual de inibição foi calculado da seguinte forma:

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{\text{tirosina (sem inibidor)} - \text{tirosina (com inibidor)}}{\text{tirosina (sem inibidor)}} \times 100$$

3.9.3. Eletroforese (SDS-PAGE): Para se verificar as alterações ocorridas nas bandas proteicas do "surimi" em decorrência da atividade de enzimas proteolíticas, bem como a eficiência dos inibidores de proteases, foi utilizada a técnica já descrita no item 3.8.4.

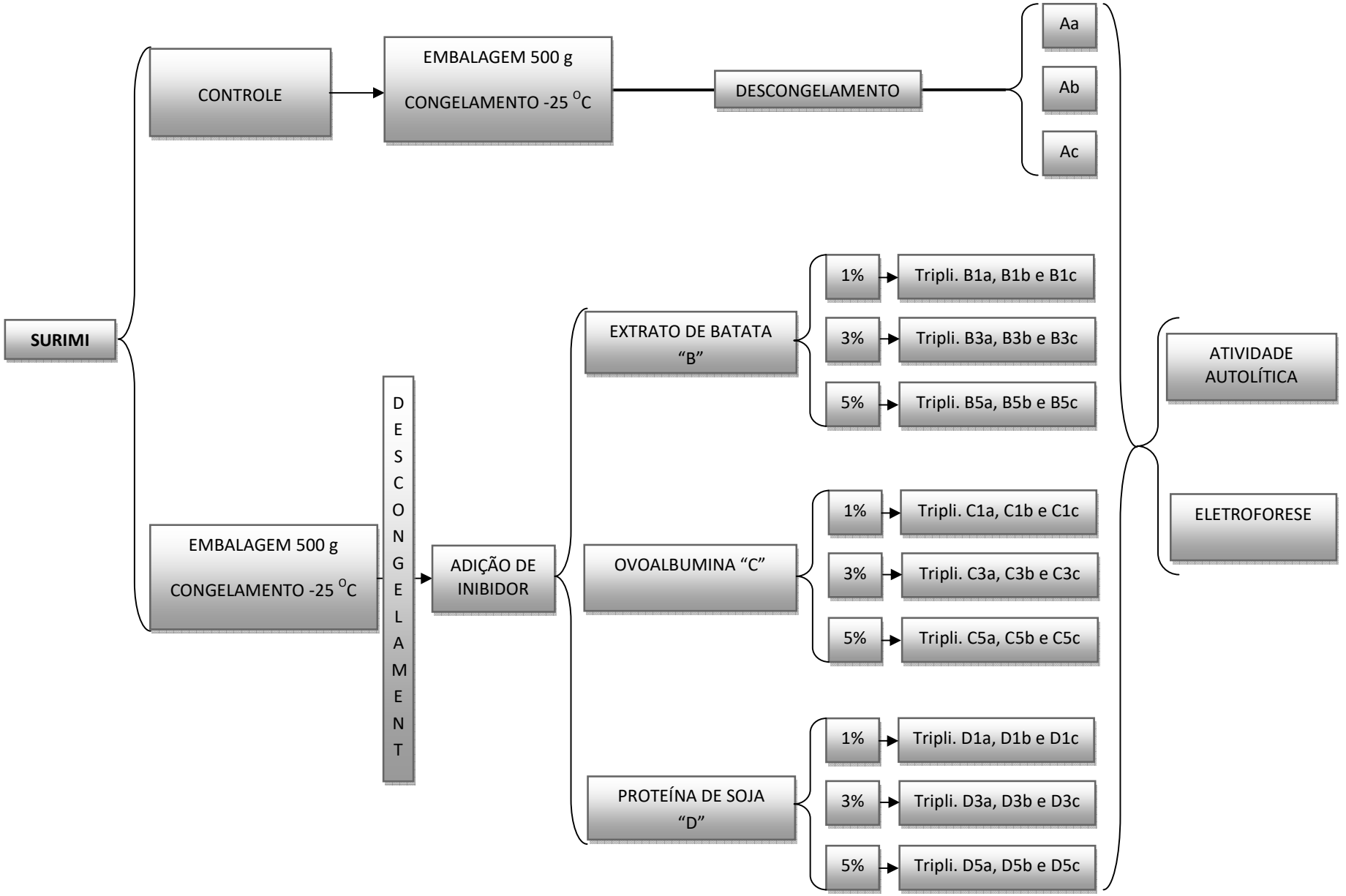


Figura 13. Fluxograma do efeito de inibidores de proteases na atividade autolítica.

3.10. **Efeitos da adição de inibidores de proteases sobre as propriedades do gel "Kamaboko":**

3.10.1. Preparo do Gel "Kamaboko": O gel kamaboko foi preparado e analisado uma única vez para cada espécie após 48h do preparo do "surimi" para garantir o máximo frescor da matéria prima e a máxima formação de gel, sem interferência do tempo de conservação. À amostra controle e a cada tratamento com os três tipos de inibidores e suas diferentes concentrações (48 réplicas para cada espécie) foram adicionados 3% de sal e misturados por 5 min, controlando a temperatura com gelo para não ultrapassar 5 ^{o}C. Foram adicionados 3g da pasta em cápsulas de 3,0cm de diâmetro por 3,0cm de altura (SUZUKI, 1981; CARVALHO, 2003). O tratamento térmico foi aplicado de acordo com o realizado por Benjakul et al. (2004), onde os géis foram aquecidos em "banho Maria" a 40 ^{o}C por 30 min., seguidos de 90 ^{o}C por mais 20 min. para avaliação da atividade autolítica. Após o tratamento térmico, as amostras foram transferidas para banhos gelados (0 a 5 ^{o}C) por 15 min. e armazenadas à temperatura de refrigeração por 24 h. antes das análises (SUZUKI, 1981; CARVALHO, 2003).

3.10.2. Avaliação do Gel "Kamaboko": foram feitas avaliações instrumentais em Texturômetro, aplicando-se os testes de força de ruptura (g) e deformação (mm) em amostras cilíndricas do gel "kamaboko" com 3 cm de Ø e 3 cm de espessura para se determinar a força do gel (g.cm) (SUZUKI, 1981; CARVALHO, 2003). Além disso, foi realizado o teste da Dobra (SUZUKI, 1981) e Teste de Brancura (LANIER, HART e MARTIN, 1991).

3.10.3. Determinação da cor (brancura): o percentual de brancura dos "kamabokos" foi determinado de acordo com o recomendado por Park (1994). A determinação foi realizada no Laboratório de Bioquímica de Alimentos do INPA/COTI, com auxílio de um fotocolorímetro Kônica Minolta CR 400 (D65). Amostras cilíndricas (3cmx3cm) de "kamaboko" foram analisadas em quadruplicata, descartando-se a média mais distante. Obtiveram-se os parâmetros *L**, *a** e *b** e aplicou-se na equação abaixo para o cálculo do percentual de brancura: Brancura (%) = $100 - \left| (100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2} \right|^{1/2}$

3.10.4. Avaliação da textura: a textura do gel “kamaboko” foi realizada usando um texturômetro Stable Micro Systems, modelo TA-XT2 (Fig. 14). A resistência dos géis foi determinada sobre amostras cilíndricas obtidas pelo tratamento térmico de amostras de “surimi” de 3cm altura e 3cm de diâmetro em formas em aço inox (Fig. 15). Os tratamentos térmicos aplicados foram de 40^{o}C por 30 min. e 90^{o}C por 20 min. Os geis foram resfriados em água com gelo por 15 min. e estocados a 4^{o}C por 24 horas antes dos testes. A Força de gel (g.cm) foi determinada usando um probe cinlíndrico com diametro 5 mm na velocidade de 1,0 mm/s, como realizado por Carvalho (2003).



Figura 14. Texturômetro TA-XT2.
Fonte: acervo pessoal.



Figura 15. Forma de aço inoxidável.
Fonte: acervo pessoal.

3.10.5. Teste da dobra: foi realizado como recomendado por Suzuki (1981). Amostras cilíndricas de “kamaboko”com 30 mm de diâmetro e 3mm de espessura e aproximadamente 2g de peso foram dobradas em quatro, primeiro pela metade, seguida novamente pela metade (Figura - 16). O teste indicou se a amostra possuia flexibilidade ou dureza, características importantes para se determinar a qualidade do gel. Os geis foram classificados de acordo com o Quadro 01, proposto por Suzuki (1984).

Quadro 1. Escores de avaliação para teste da dobra em “kamaboko”.

CLASSIFICAÇÃO	RELAÇÃO	RESULTADO DA DOBRA	GRAU DE ELASTICIDAE
Grau 5	AA	• Não se rompe ao dobrar em quatro partes;	• Extremamente elástico;
Grau 4	A	• Não se rompe ao dobrar em duas partes;	• Elasticidade moderada;
Grau 3	B	• Se rompe ao drobrar uma vez, com ruptura gradual;	• Ligeiramente elástico;
Grau 2	C	• Se rompe imediatamete ao dobrar-se;	• Não elástico;
Grau 1	D	• Se rompe com a pressão dos dedos.	• Pobre.

Fonte: Suzuki (1984).



Figura 16. Aplicação do teste da dobra.
Fonte: acervo pessoal.

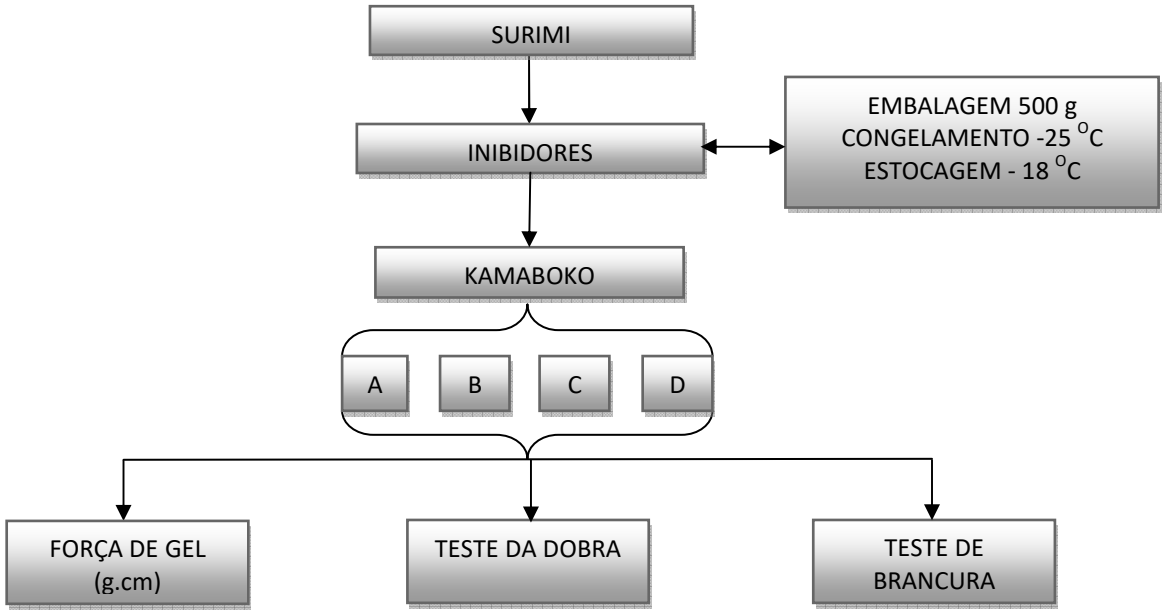


Figura 17. Fluxograma dos Efeitos da adição de inibidores de proteases sobre as propriedades do gel “Kamaboko”:

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, K.; KONDO, H.; ARAI, S. Purification and characterization of a rice cysteine proteinase inhibitor. ***Agric Biol Chem*** 51:2763–2768, 1987.

ABE, M.; WHITAKER, JR. Purification and characterization of a cysteine proteinase inhibitor from the endosperm of corn. ***Agri Biol Chem*** 52:1583–1584, 1988.

AHMAD, M.; BENJAKUL, S.; OVISSIPOUR, M.; PRODPRAN, T. Indigenous proteases in the skin of unicorn leatherjacket (*Alutherus monoceros*) and their influence on characteristic and functional properties of gelatin. ***Food Chemistry***, 127(2): 508-515. 2011.

ALASKA. **The use of decanter centrifuge in surimi processing**. Alaska Fisheries Development Foundation. Informative, June. 1988.

AMANN, R.P.; PICKETT, B.W. Principles of cryopreservation and review of cryopreservation of stallion spermatozoa. ***Journal of Equine Veterinary Science***, v. 07, p. 145-173, 1987.

ANASTASI, A.; BROWN, M.A.; KEMBHAVI, A.A.; NICKLIN, M.J.; SAYERS, C.A.; SUNTER, D.C.; BARRETT, A.J. Cystatin, a protein inhibitor of cysteine proteinase. Improved purification from egg white, characterization, and detection in chicken serum. ***Biochem J.*** 211:129–138, 1983.

ANDRADE, E. G.; JESUS, R. S.; FALCÃO, P. T.; LESSI, E. “Minced” de pescados de la acuicultura amazônica: evaluación de calidad. ***Infopesca Internacional,*** n.44, p.39-43, 2010.

AN, H.; PETERS, M.Y.;SEYMOUR,T.A. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. ***Trends in Food Science and Technology***, v.7, p.321-326, 1996.

AN, H.; WEERASINGHE, V.; SEYMOUR, T.A.; MORRISSEY, M.T. Cathepsin degradation of Pacific whiting surimi proteins. ***J. Food Sci****., 59,* 1013–1033, 1994.

AOKI, T. Distribution of cathepsins in red and white muscles among fish species. ***Fisheries Science*** 66(4): 776-782. 2000.

AOKI, H.; AHSAN, M.N.; WATABE, S. Molecular and enzymatic properties of a cathepsin L-like proteinase with distinct substrate specificity from northern shrimp (*Pandalus borealis*). ***Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology***, 174 (1): 59-69. 2004.

ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (orgs.). ***Espécies nativas para piscicultura no Brasil.*** Santa Maria: UFSM, 2005.

ARNOLDI, A. Functional Foods, Cardiovascular Disease and Diabetes. **Woodhead Publishing and CRC Press**, England and North America, pp: 465. 2004.

ASHIE, I.N.A.; SIMPSON, B.K. Purification and characterization of cathepsin L from hepatopancreas of carp *Cyprinus carpio*. ***Comparative Biochemistry and Physiology*** - B 115(B): 531-537. 1997.

BAHUAUD, D.; GAARDER, M.; VEISETH-KENT, E.; THOMASSEN, M. Fillet texture and protease activities in different families of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). ***Aquaculture*** 310 (1-2): 213-220. 2010.

BALTI, R.; HMIDET, N.; JELLOULI, K.; NEDJAR-ARROUME, N.; GUILLOCHON, D.; NASRI, M. Cathepsin D from the hepatopancreas of the cuttlefish (*Sepia officinalis*): Purification and characterization. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 58(19): 10623-10630. 2010.

BARBUT, S. **Poultry products processing: an industry guide.** Boca Raton: CRC Press, 548p. 2002.

BARRETT, A. J. Classification of peptidases. ***Methods in Enzymology***. New York, academic press. 244: 1-59. 1994.

BATISTA, V. S.; INHAMUNS, A.J.; FREITAS, C.E.C.; FREIRE-BRASIL, D. Characterization of the fishery in riverine communities in the Low-Solimões/High-Amazon region. ***Fisheries Management and Ecology***, 5:101-117, 1998.

BATISTA, V.S.; PETRERE JR., M. Characterization of the commercial fish production landed at Manaus, Amazonas State, Brazil. ***Acta Amazonica***, Manaus, 33 (1); 53-66. 2003.

BELITZ, H. D. e GROSCH, W. **Química de los Alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1988, 813p.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; THONGKAEW, C.; TANAKA, M. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. ***Food Research International***, 36 (8), 787-795. 2003.

BEZERRA, R.S.; VIEIRA, V.L.A.; CARVALHO-JR, L.B. Proteases no trato digestivo de peixes. ***Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*** - nº 22- setembro/outubro. p. 46-49. 2001.

BIRK,Y. Proteolytic Enzymes. Part B. In: ***Methods in Enzymology***, *Vol XLV*. L Lorand, ed. New York: Academic Press, p. 695–739. 1976.

BORDERÍAS, A.J.; TEJADA, M. El "surimi". ***Ver. Agroquim. Techn. Aliment.,*** v. 27, n.1, p.1-14. 1987.

BOYE, S.M.; LANIER, T. C. Effect of heat stable alkaline protease activity of Atlantic menhaden (*Brevoorti tyrannus*) on surimi gels. ***J. Food Sci.,*** v. 53, p. 1340 – 1398. 1988.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. SECRETARIA DE MONITORAMENTO E CONTROLE DA PESCA E AQUICULTURA. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, 2011.** Brasília. 2011. 60 p. Disponível em <http://www.mpa.gov.br>. Acesso em: 22 de janeiro de 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA -MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura***.* Governo Federal: Brasília, fev. 2012. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/ images/Docs/Informacoes_e_Estatísticas/Boletim %20Estat%C3%ADstico%20MPA%20 2010.pdf>. 128p. Acesso em: 20 de janeiro de 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. ANVISA. Resolução no 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil,** Brasília, DF, 02 de janeiro de 2001. Seção 1.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA.Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o **R.I.I.S.P.O.A.** Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil,** Rio de Janeiro, 29 de março de 1952.

BRAZ SILVA, M. A. JESUS, R. S. Alterações na composição química e capacidade de formação de gel em "minced fish" lavado e não lavado de peixes de água doce da Amazônia. ***In: XII Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca***, 2001, Paraná. Completo. Foz do Iguaçu: Associação dos Engenheiros de Pesca da Região Sul, 2001. v. Único.

CARMELI, E.; MOAS, M.; REZNICK, A. Z.; COLEMAN, R. Matrix metalloproteinases and skeletal muscle: A brief review. ***Muscle and Nerve*** 29(2): 191-197. 2004.

CARVAJAL, P.A.; MACDONALD, G.A.; LANIER, T.C. Cryostabilization mechanism of fish muscle proteins by maltodextrins. ***J. Cryobiol.,*** 38: 16-26. 1999.

CARVALHO, N. L. de A. **Efeitos de fatores físicos e químicos sobre a formação de géis em surimi de duas espécies de peixes comerciais da Amazônia.** Manaus, INPA/UFAM, Biologia Tropical e Recursos Naturais, 2003. 145p. (Tese de Doutorado).

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal:

FUNEP, 1994. 409p.

CONNELL, J.J. Studies on the proteins of fish skeletal muscle. ***Biochem.,*** v. 75, p. 530-534. 1960.

COSTA, R. L. F.; BARTHEM, R. B.; BITTENCOURT, M. M. A pesca do tambaqui, *Colossoma macropomum*, com enfoque na área do médio Solimões, Amazonas, Brasil. ***Acta Amazonica*****.** Manaus 31(3): 449-468. 2001.

CHEN, H.H.; LOU, S.N.;. CHEN, T.Y; CHEN, Y.W.; LEE, C.H.. Gelation properties of horse mackerel (*Trachurus japaonicus*) surimi as affected by operation condition. ***Food Sci.,*** v. 23, p. 45–55, 1996.

CHEN, H.H. CHIU, E.M.; HUANG, J.R. Color and gel-forming properties of Horse mackerel (*Trachurus japonicus*) as related to washing conditions. ***Jounal Food Science.,*** v. 62, n5, p. 985-991. 1997.

DALIMATA, A.M.; GRAHAM, J.K. Cryopreservation of rabbit spermatozoa using acetamida in combination with trehalose and metyl cellulose. ***Theriogenology***, v. 49, p. 831-841, 1997.

DE LEEUW, F.E.; DE LEEUW, A.M.; DEN DAAS, J.H.G.; COLENBRANDER, B.; VERKLEIJ, A.J. Effects of various crioprotective agents and membranestabilizing compounds on bull sperm membrane integrity after cooling and freezing. ***Cryobiology***, v. 30, p. 32-44, 1993.

EUROPEAN UNION. Directive N^{o} 95/2/EC, of 20 February 1995. On food additives other than colours and sweeteners. ***Official Journal,*** N^{o} L 61, 18. 3. 1995, p. 1.

ESTURK, O.; PARK, J.W. Thermal stability of fish proteins from various species. Abstract #102-2. Presented at the ***IFT Annual Meeting***, Chicago, IL. July 12–16, 2003.

FAO. ***State of the World Fisheries and Aquaculture****.* FAO Fisheries web site (www.fao.org/sof/sofia/index_en.htm), 2004.

FLICK, G.J.; BARUA, M.A.; HENRIQUEZ, L.G. Processing finfish. **In:**Martin, R.E.; Flick, G.J. Ed. ***The seafood industry*****.** New York: Academic Press, p. 117-164, 1990.

FOGAÇA, F.H.S. ; OTANI, F. S.; PORTELLA, C. G.; GONZAGA, L.; SANTANA, L. S.. Caracterização de surimi obtido a partir da carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo e elaboração de fishburger. ***Semina. Ciências Agrárias****,* Londrina. v. 36, p. 765-776, 2015.

FUKAZAWA, T.; YASUI,T.; HASHIMOTO,Y. Effect of storage conditions on some physicochemical properties in experimental sausage prepared from fibrils. ***J Food Sci.*** 26 (4):331–36, 1961.

GABY, Y. C. G. **Surimi: composição e manufatura**. Belém, PA, 1997. 98 p. Monografia (Especialização), Tecnologia e Conservação do Pescado, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará.

GARCÍA-CARREÑO, F.L. Proteinases inhibitors. ***Trends in Food Science & Technology****. V. 7. p. 197-204. June. 1996.*

GEIRSDOTTIR, M.; HLYNSDOTTIR, H.; THORKELSSON, G.; SIGURGISLADOTTIR, S. Solubility and viscosity of herring (*Clupea harengus*) proteins as affected by freezing and frozen storage. ***Journal of Food Science***. V. 72, n. 7. p. 376-380. 2007.

GREENE, D.H.; BABBITT, J. Control of muscle softening and protease parasite interactions in arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). ***J. Food Sci.,*** v. 55, p. 579–580, 1990.

GÓMEZ-GUILLÉN, C.; MENDES, R.; MOTERO, P. The effect of washing water parameters (pH, hardness and sodium pyrophosphate content) on the water holding capacity and gelation characteristics of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. Madrid: ***Instituto del Frio,*** 38p. 1997.

GOMES, L.C.; URBINATI, E.C. Matrinxã (*Brycon amazonicus*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (orgs.). ***Espécies nativas para piscicultura no Brasil.*** Santa Maria: UFSM, 2005.

HALL, G.M.; AHMAD, N.H. Surimi and fish mince products. **In:** ***Fish Processing Technology.*** GM Hall, ed. London, UK: Blackie Academic and Professional, 1997, pp 74–91.

HINES, M.E.; OSUALA, C.I.; NIELSEN, S.S. Isolation and partial characterization of a soybean cystatin cysteine proteinase inhibitor of coleopteran digestive proteolytic activity. ***J Agric Food Chem*** 39:1515–1520, 1991.

HOLT, W.V. Basics aspects of frozen stroge of semen. ***Animal Reproduction Science***, v. 62, p. 3-22, 2000.

HOWES, M. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). ***Bulletin Br. Museum Natural History (Zool.),*** Cambridge, v.43, n.1, p. 1-47, 1982.

HULTIN, H.O.; KELLEHER, S.D. Surimi processing from dark muscle fish. In: PARK, J.W. (Ed.). ***Surimi and Surimi Seafood.*** 1 rd ed. New York: Marcel Dekker, p.59-77, 2000.

HULTMANN, L.; RUSTAD, T. Iced storage of Atlantic salmon (*Salmo salar*) - effects on endogenous enzymes and their impact on muscle proteins and texture. ***Food Chemistry***, 87(1): 31-41. 2004.

IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal 2014. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal/2014/ppm 2014.pdf Acesso em 25 de janeiro de 2016.

ITOH, Y.; MAEKAWA T.; SUWANSAKORNKUL, P.;OBATAKE, A.. Seasonal variation in gel-forming characteristics of three lizard species. ***Fish Sci.,*** 61, 942–947, 1995.

IRONSIDE, J. I. M.; LOVE, R. M. Studies on protein denaturation in frozen fish – I - Biological factors influencing the amounts of soluble and insoluble protein present in the muscle of the north sea cod. ***J. Sci. Food Agric.,*** 9, September, p. 597-604. 1958.

JESUS, R. S. ***"MINCED FISH" – Alternativa de Produto de Pescado como alimento.*** Monografia apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos para exame de qualificação de doutorado. p. 41, 1998.

JESUS, R. S.; LESSI, E.; TENUTA-FILHO, A. Estabilidade de "minced fish" de peixes amazônicos durante o congelamento. ***Ciência e Tecnologia de Alimentos,*** Campinas v.21 (2) p.144-148, maio-agosto. 2001.

JULAVITTAYANUKUL, O.; BENJAKUL, S. VISESSANGUAN, W. effest of phosphate compounds on gel-forming ability of surimi from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). ***J. Food Hydrocoloids,*** 20: 1153-1163. 2006.

KIM, Y. S.; PARK, J. W.; CHOI, Y. J. New approaches for the effective recovery of fish proteins and their physicochemical characteristics. ***Fisheries Science,*** v.69, p. 1231–1239, 2003.

KIMURA, I.M.; SUGIMOTO, M.; TOYODA, K.; SEKI, N.; ARAI, K.; FUJITA, T. A study on the cross-links reaction of myosin in kamaboko “suwari” gels. ***Nippon Suisan Gakkaishi***. N. 57, p.1386-1396. 1991.

KIRSCHNIK, P. **Avaliação da estabilidade de produtos obtidos de carne mecanicamente separarda de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)** Jaboticabal, 2007, 91 f. (Tese de Doutorado em Aqüicultura, Faculdade de Ciências Agronômicas e Veterinárias, Centro de Aqüicultura da UNESP).

KLOMKLAO, S. Digestive proteinases from marine organisms and their applications. ***Songklanakarin Journal of Science and Technology***, 30(1): 37-46. 2008.

KLOMKLAO, S.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KISHIMURA, H.; SIMPSON, B. K. Proteolytic degradation of sardine (*Sardinella gibbosa*) proteins by trypsin from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) spleen. ***Food Chemistry***, 98(1): 14-22. 2006.

KUBITZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. ***Panorama da Aquicultura,*** março/abril, 2004.

KUDO, G.; OKADA, M.; MIVAUCHI, D. Gel-forming capacity of washed and unwashed flesh of some Pacific coast species of fish. ***Mar. Fish. Rev.***, v.35, p.10. 1973.

KUHN, C.R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; VENDRUSCOLO, J.L.; SOARES, G. J. D. Surimi of King Weakfish (*Macrodon ancylodon*) Wastes: Texture Gel Evaluation with Protease Inhibitors and Transglutaminase. ***Brazilian Arch. of Biol. and Tech.*** V.47, n. 6: p. 895-901, November, 2004.

KUHN, C. R.; SOARES, G. J. D. Proteases e inibidores no processamento de surimi. ***Revista Brasileira de Agrociência,*** v.8, n.1, p.5-11, 2002.

KUHN, C.R.; TORRES, L.M.; ALFARO, A.T.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOARES, G.J.D. Avaliação reológica e físico-química da gelificação térmica do surimi de jundiá. ***Pesquisa Agropecuária Brasileira***, *43* (12), p. 1793-1798. 2008.

KURAIASHI, C.; YAMAZAKI, K.; SUSA, Y. Transglutaminase: its utilization in the food industry. ***Food ReviewsInternational***, 17(2), 221-246, 2001.

LAMB-SUTTON, Y. **The possible role of alpha-2-macroglobulin in the inhibition of fish muscle heat-stable proteases**. MS thesis, North Carolina State University, 1995.

LANIER, T.C. Surimi gelation chemistry. In: Park, J.W. ed. **Surimi and Surimi Seafood.** 1 rd ed. New York: Marcel Dekker, p. 237-261. 2000.

LANIER, T.C.; AKAHANE, T. Methods of retarding denaturation of meat products. United States Patent 4572838.1986.http://www.freepatensonline.com/4572838.html.

LANIER, T.C.; CARVAJAL, P.; YONGSAWATDIGUL, J. Surimi gelation chemistry. In: Park, J.W. ed. **Surimi and Surimi Seafood.** 2 rd ed. New York: Marcel Dekker, p. 436-447. 2005.

LANIER, T. C.; LEE, C. M. ***Surimi Technology****.* New York: Marcel Dekker, p.167–180. 1992.

LANIER, T.C.; LIN, T.S.; HAMANN, D.D.; THOMAS, F.B. Effects of alkaline protease in minced fish on texture of heat-processed gels. ***J. Food Sci.*** 46:1643–1645, 1981.

LEE, C. M. Surimi manufacturing and fabrication of surimi based products. ***Food Technol.,*** 40 (3), p.115–124, 1986.

LEE, J.J.; TZENG, S.S.; WU, J.; JIANG, S.T. Inhibition of thermal degradation of mackerel surimi by pig plasma protein and L-kininogen. ***J. Food Sci.*** 65:1124–1129, 2000.

LIMA, F.C.T. Subfamily Bryconinae (Characins, Tetras). In: REIS, R.E.;KULANDER, S.O.; FERRAIS JR., C.J. (Orgs.). ***Check Listo f the Freshwater Fishes of South andCentral America.*** Porto Alegre: EDPURCS, 2003, P. 174-181.

LIMA, J.P; SANTOS, S.M.; OLIVEIRA, A.T.; ARAUJO, R.L.; SILVA, J.A.L.; ARIDE, P.H.R. Pró-Rural Aquicultura: Relatos das Principais Ações de Extensão Tecnológica e um Panorama do Setor Aquícola do Estado do Amazonas, Brasil. ***Nexus Revista de Extensão do IFAM.*** v.1, n.1, Abr. p. 35-45. 2015.

LIN, T. M.; PARK, J. W. Effective washing conditions reduce water usage for surimi processing. ***J. Aquatic Food Product Tecnol.,*** v.6, n.2, p. 65-79. 1997.

MACARI, S. M. **Desenvolvimento de formulação de embutido cozido à base de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).** Curitipa, Paraná, 2007, 75p. (Dissertação de Mestrado).

MACDONALD, G.A.; LANIER, T.C. Actomyosin stabilization to freeze-thaw and heat denaturation by lactate salts. ***J. Food Sci.,*** 59, p.101–105, 1994.

MACDONALD, G.A.; LANIER, T.C.; CARVAJAL, P.A. Stabilization of protein in surimi. In: PARK, J.W. (Ed.). ***Surimi and Surimi Seafood.*** 1 rd ed. New York: Marcel Dekker, p.91-125, 2000.

MACDONALD, G.A.; STEVENS, J.; LANIER, T.C.. Characterization of hoki and Southern blue whiting compared to Alaska Pollock surimi. ***J. Aqua Food Prod. Technol.,*** 3(1), 19–38, 1994.

MACEDO, J. A.; SATO, H. H. Propriedades e aplicações da transglutaminase microbiana em alimentos**. *Alim. Nutr.***, v.16, n.4, p.413-419, 2005.

MACFARLANE, J.; SCHMIDT, G.; TURNER, R. Binding meat pieces: A comparison of myosin, actomyosin, and sarcoplasmatic proteins as binding agents. ***J Food Sci***. 42:1603–5, 1977.

MACSWEENEY, P.L.H. **Advanced dairy chemistry. Vol.3. Lactose, water, salts and minor constituents**. Springer, New York, pp: 152. 2009.

MADDOCK, K.R.; HUFF-LONERGAN, E.; ROWE, L.J.; LONERGAN, S. M. Effect of pH and ionic strength on µ- and m-calpain inhibition by calpastatin. ***Journal of Animal Science***, 83(6): 1370. 2005.

MARTÍ DE CASTRO, M.A.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; MONTERO, P. Influence of frozen storage on textural properties of sardine (*Sardina pilchardus*) minced gels. ***Food Chem.,*** v.60, n.1, p. 85-93. 1997.

MATSUMOTO, J.J. Chemical deterioration of muscle proteins during frozen storage. In J.R. Whitaker and M. Fujimaki, Eds. **Chemical Deterioration of Proteins**. Advances in Chemistry Series, No. 123. Washington, D.C.: American Chemical Society, p.95 - 124.1980.

MAZUR, P. Freezing of living cells: mechanisms and implications. ***American Journal Physiology***, v. 247, p.125-142, 1980.

MEDINA, J. R.; GARROTE, R. L. Determining washing conditions during the preparation of frozen storage from surubi (*Pseudoplatystome coeuscans*) using response surface methodology. ***J. Food Sci.,*** v.67, n.94, p. 1445-1461.2002.

MENDES, R. **Polpa e surimi de pequenos pelágicos da costa portuguesa.** Lisboa, 2001, 205f. (Dissertação de Investigador Auxiliar, Instituto de Investigação das Pescas e do Mar).

MIRA, N. V. M. **Utilização de surimi para a obtenção de hidrolisados proteicos com baixo teor de fenilalanina**. São Paulo, 2001, 146p. (Tese Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP).

MIRA, N. V. M.; LANFER-MARQUEZ, U. M. Avaliação da composição centesimal, aminoácidos e mercúrio contaminante de surimi. ***Ciência e Tecnologia de Alimentos*****,** v. 25, n. 4, p. 665-671, out-dez, 2005.

MOLINS, R.A. **Phosphates in Food**. CRC Press, Inc., Boca Raton.1991.

MONTERO, P.; BORDERÍAS, J.; TURNAY, J.; LEYZARBE, M.A. Characterization of hake (*Merluccius merluccius,* L.) and trout (*Salmo irideus,* Gibb) collagen. ***Jounal. Agric. Food. Chem.,*** v. 38, p. 604-609. 1990.

MORRISSEY, M. T. TAN, S. World resources for surimi. In: PARK, J. W. ed. ***Surimi and surimi seafood***. 1 ed. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 1-21.

NASH, T. Chemical constitution and physical properties of compounds able to protect living cells against damage due to freezing and thawing. ***Cryobiology***, New York, p.179-220, 1966.

NISHIYA, K.; TAKEDA, F.; TAMOTO, K.; TANAKA, O.; KUBO, T. Studies on freezing of surimi (fish paste) and its application. III. Influence of salts on quality of fish meat. ***Monthly Report of Hokkaido Fisheries Research Laboratory***, Fisheries Agency, Japan 17:373–83, 1960.

NOGUCHI, S. The control of denaturation of fish muscle protein during frozen storage. PhD. Thesis, Sophia University, Japan. 1974.

NOGUCHI, S. Effect of parasites on the quality of frozen surimi. Presented at the ***11th World Congress of Food Science and Technology,*** Seoul, Korea. April 22–27, 2001.

NOPIANTI, R.; HUDA, N.; ISMAIL, N. A review on the loss of the functional properties of proteins during frozen storage and the improvement of gel-forming properties of surimi. ***AJFT.*** 6(1): p.19-30. 2011.

NZ Fisheries. **Summary of assessments of sustainability and current TACC and recent catch levels and the status of stocks for the 2000–2001 fishing year** — Southern blue whiting fishery. New Zealand Ministry of Fisheries (www.fish.govt.nz), 2004.

OFSTAD, R.; GRAHL-MADSEN, E.; GUNDERSEN, B.; LAURITZEN, K.; SOLBERG, T.; SOLBERG, C. Stability of cod (*Gadus morhua* L.) surimi processed with C_2aC_1 and M_2gC_1 added to the wash water. ***Intl. J. Food Sci. and Technol***. v. 28, 419-427, 1993.

OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado.** Vol. 1. Livraria Varela, São Paulo, 430p. 1999.

OKADA, M.; KAKAYARMA, M. The effect of oxidants on jeliiy strength of kamaboko. ***Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*****,** v.27, p.203. 1961.

ONO, E.A. Cultivar peixes na Amazônia: Possibilidade ou utopia? ***Panorama da Aqüicultura***. 15:41-48. 2005

OSAKO, K.; HOSSAIN, M.A.; KUWAHARA, K.; NOZAKI, Y. Effect of trehalose on the gel-forming ability, state of water and myofibril denaturation of horse mackerel (*Trachurus japonicus*) surimi during frozen storage. ***Jounal Fish Science***, 71:367-373. 2005.

PARK, J. W. Functional protein additives in surimi gels. ***J. Food Sci.*** 59:525-527. 1994.

PARK,J.W. **Surimi and Surimi Seafood**, 2rd ed. 923p., New York: Marcel Dekker. 2005.

PARK,J.W. **Surimi and Surimi Seafood**, 3rd ed. 666p., CRC Press, Boca Raton, FL. 2013.

PARK, J.W.; GRAVES, D.; DRAVES, R.; YONGSAWATDIGUL, Y. Manufacture of surimi harvest to frozen block. In: PARK,J.W. **Surimi and Surimi Seafood**, 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL. p.56-96, 2013.

PARK, J. W.; LIN, T. M. J. Surimi: manufacturing and evaluation. In: PARK, J. W. (Ed). ***Surimi and surimi seafood.*** 2 rd ed. New York: Marcel Dekker, p. 33-106, 2005.

PARK, J.W.; MORRISSEY, M.T. Manufacturing of surimi from light muscle fish. In: PARK, J.W. (Ed.). ***Surimi and Surimi Seafood.*** 1 rd ed. New York: Marcel Dekker, p.23-58, 2000.

PATASHNIK, M.; GRONINGER, H.S.; BARNETT, H.; KUDO, G.; KOURY, B. Pacific whiting (*Merlucius productus*). I. Abnormal muscle texture caused by Myxosporidean induced proteolysis. ***Mar. Fish Rev.,*** 44(5), 1–12, 1982.

PETRERE JR., M. Pesca e Esforço de Pesca no Estado do Amazonas. II. Locais, métodos de captura e estatísticas de desembarque. ***Acta Amazônica***, Manaus, v.8 (supl.), p. 1-54, 1978.

PIGOTT, G. M. Surimi: the “high tech” raw materials from minced fish flesh. ***Food Reviews Int.,*** 2, 213–246, 1986.

RAWDKUEN, S.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; LANIER, T.C. Partial purification and characterization of cysteine proteinase inhibitor from chicken plasma. ***Comp. Biochem. Physiol.*** Part B 144:544–552, 2006.

RILEY, A. P. Food policy, control, and research. ***Nova Science Pub Inc***. 2005.

ROLLER, S.; JONES, S.A. **Handbook of Fat Replacers**. ed. S. Roller and S.A. Jones, CRC Press, Boca Raton, Fla. 1996.

ROWAN, A.D.; BRIZIN, J.; BUTTLE, D.J.; BARRET, A.J. Inhibition of cysteine proteinases by a protein inhibitor from potato. ***FEBS Lett*** 269:328–330, 1990.

SANTOS, G.M.; JEGU, M.; MERONA, B. **Catálogo de peixes comerciais do baixo rio Tocantins: projeto Tucuruí.** Manaus: Eletronorte/INPA, 83p. il. 1984.

SELVAKUMAR, S.; BINDHUMOL, V.; GERALDINE, P. Quality changes in freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* (H. Milne Edwards) during storage. ***A.J.M.B.E.S.*** 4(1): 37-41. 2002.

SEYMOUR, T.A.; PETERS, M.Y.; MORRISSEY, M.T.; AN, H. Surimi gel enhancement by bovine plasma proteins. ***J. Agri. Food Chem***. 45:2919–2923, 1997.

SIMPSON, B. K. Digestive proteinases from marine animals. In: N. F. Haard and B. K. Simpson (Eds.), **Seafood enzymes: utilization and influence on postharvest seafood quality** (pp. 531-540). New York: Marcel Dekker. 2000.

SIRIANGKANAKUN, S.; YONGSAWATDIGUL, J. Trypsin inhibitory activity and gel-enhancing effect of sarcoplasmic proteins from common carp. ***J. Food Sci.*** 77:C1124–C1130, 2012.

SYLVIA, G.; MORRISSEY, M.T.. ***Pacific Whiting: Harvesting, Processing, Marketing and Quality Assurance.*** Corvallis, OR: Oregon Sea Grant, 1992.

SPENCER, K.E. & TUNG, M. A. Surimi processing from fatty fish. **In:** SHAHIDI, F. e BOTTA, J.R., **Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality**, Bishopbriggs, Glasgow G64 2 NZ, UK, ed. Chapman & Hall, 1994, cap.15, p. 288-319.

SRIKET, C. Proteases in fish and shellfish: Role on muscle softening and prevention. ***International Food Research Jounal***. 21(1): 433-445, 2014.

SULTANBAWA, Y.; LI-CHAN, I.M. Strutural changes in natural actomyosin and surimi from ling cod (*Ophiodon elongates*) during frozen storage in the absence or presence of cryoprotectants. ***J. Agric. Food Chem.,*** 49: p.4716-4725. 2001.

SHENOUDA, S.Y. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. ***Adv. in Food Res****.,* 26, 275–311, 1980.

STEVENS, L. Egg white proteins. ***Comp Biochem Physiol****,* Part B 100:1–9, 1991.

SU, Y.C.; DAESCHEL, M.A.; FRAZIER, J. JACZYNSKI, J. Microbiology and Pasteurization. **In:** PARK, J.W. Ed. **Surimi and surimi seafood.** 3rd ed. 666p., CRC Press, Boca Raton, FL. 2013.

SUZUKI, T. **Tecnología de las proteínas de pescado y krill**. Zaragoza: Acribia. 230 p. il. 1981.

SUZUKI, T. History of surimi technology and its future. ***Presented at the 1st Surimi Forum Japan*** (July 20–21), Tokyo, Japan, 2010.

SUZUKI, T.; TSUCHIYA, T. Nutrition and Health Benefits of Surimi Seafood. **In:** PARK, J.W. Ed. **Surimi and surimi seafood.** 3rd ed. 666p., CRC Press, Boca Raton, FL. 2013.

SUZUKI, Y.; YOSHIDA, K.; ICHIMIYA, T.; YAMAMOTO, T.; SINOHARA, H. Trypsin inhibitors in guinea pig plasma: Isolation and characterization of contrapsin and two isoforms of α-1-antiproteinase and acute phase response of four major trypsin inhibitors. ***J Biochem****,* 107:173–179, 1990.

SYCH, J.; LACROIX, C.; ADAMBOUNOU, L.T.; CASTAIGNE, F. The effect of low-or non-sweet additives on the stability or protein functional properties of fronzen cod surimi. ***Int. J. Food Sci. Technol.***, 26: 185-197, 1991.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Color and textural parameters of pressurized and heat-treated surimi gels as affected by potato starch and egg white. ***Food Research International***. 37: 767–775. 2004.

TAKEDA, F.. Technological history of frozen surimi industry. ***New Food Ind****., v.*13, p.27–31, 1971.

TEIXEIRA, A.M.; BEIRÃO, L.H. Efeitos de agentes crioprotetores na capacidade de retenção de água em pasta de pescado utilizando-se a técnica de análise de superfície de resposta. ***B.CEPPA***, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 71-82, jan./jun.1999.

TEJADA, M. Gelation of miofibrilar fish proteins**.** ***Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.*****,** v.34, n.3, p. 257-272, 1994.

TOKUNAGA, T.; NISHIOKA, F. The improvement of technology for surimi production from fatty Japanese sardine. In proceedings of a national technical conference, ***Fatty Fish Utilization: Upgrading from Feed to Food***, Raleigh, NC. UNC Sea Grant Publication 88-04. 1988.

TOYOHARA, H; SHIMIZU, Y. Relation between the modori phenomenon and myosin heavy chain breakdown in the threadfinbream gel. ***Agric. Biol. Chem.,*** v. 52, p. 255–257, 1988.

TOYOHARA, H.; KINOSHITA, M.; SHIMIZU, Y. Proteolytic degradation of threadfin-bream meat gel. ***J Food Sci***., 55:259–260, 1990.

TURK, B.; TURK, D.; TURK, V. Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers. ***Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology***, 1477(1-2): 98-111. 2000.

VENUGOPAL, V. & SHAHIDI, F. Value-added products from underutilized fish species. ***Crit Rev Food Sci Nutr.,*** v. 35, n. 5, p. 431-453, 1995.

VISESSANGUAN, W.; MENINO, A. R.; KIM, S. M.; AN, H. Cathepsin L: A predominant heat-activated proteinase in arrowtoothflounder muscle. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry*** 49(5): 2633-2640. 2001.

WANG, P. A.; STENVIK, J.; LARSEN, R.; MAEHRE, H.; OLSEN, R. L. Cathepsin D from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) liver. Isolation and comparative studies. ***Comparative Biochemistry and Physiology*** Part B 147(3): 504-511. 2007.

WAS. ***A tilapia na América Latina – introdução e situação atual.*** *World Aquaculture Society*. (https://www.was.org). 2004.

WASSON, D.H.. Fish muscle proteases and heat-induced myofibrillar degradation: A review. ***J. Aquat. Food Prod. Tech.,*** 1, 23–41, 1992.

WEERASINGHE, V.C.; MORRISSEY, M.T.; CHUNG, Y.; AN. H. Whey protein concentrate as a proteinase inhibitor in Pacific whiting surimi. ***J. Food Sci****.* 61:367–371, 1996.

XIONG,G.; CHENG, W.; YE, L.; DU, X.; ZHOU, M.; LIN, R.; GENG, S.; CHEN, M.; CORKE, H.; CAI, Y. Effects of konjac glucomannan on physicochemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). ***Jounal Food Chemistry,*** *n.*116, p. 413–418. 2009.

YONGSAWATDIGUL, J.; WORRATAO, A.; PARK, J.W.. Effect of endogenous transglutaminase on threadfin bream surimi gelation. ***J. Food Sci.,*** 67, 3258–3263, 2002.

YONGSAWATDIGUL, Y.; HEMUNG, B.; CHOI, Y.J. Proteolytic Enzymes and Control in Surimi. In: PARK,J.W. **Surimi and Surimi Seafood**, 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL. p.141-159, 2013.

ZHANG, N.; YAMASHITA, Y.; NOZAKI, Y. Effect of protein hydrolysate from Antarctic krill meat on the state of water and denaturation by dehydration of lizard fish myofibrils. ***Fisheries Science***, n. 68, p.672–679. 2002.

ZAR, J.H. 1996. **Biostatistical Analysis**, 3rd edn. Prentice Hall International Editions, Upper Saddle River, NJ, USA.

CAPÍTULO I

RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS "SURIMIS" DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)

RESUMO

Os efeitos das etapas de processamento do "surimi" no rendimento e composição centesimal foram avaliados para o tambaqui e matrinxã. O rendimento e os teores médios de umidade, proteína, lipídios, cinza e Nifext foram determinados para CMS e "surimi". Os resultados mostraram que durante as etapas de processamento há perdas que reduziram o rendimento passando de 40% para Carne Mecanicamente Separada (CMS) e 36% para o "surimi" de tambaqui e, para o matrinxã, os resultados foram de 48,5% e 40,5% para CMS e "surimi", respectivamente. A composição centesimal da CMS revelou que o tambaqui é uma espécie semigorda e o matrinxã, um peixe altamente gordo. As lavagens sucessivas levaram a aumento do teor de umidade para ambos os peixes, obtendo-se um "surimi" de classe especial segundo o critério da umidade. Houve redução do teor proteico decorrente da remoção das proteínas sarcoplasmáticas durante a lavagem. A etapa reduziu ainda o teor de minerais, porém, não foi eficiente na remoção dos lipídios. A análise estatística indicou diferença significativa, tanto entre as espécies quanto entre a CMS e o "surimi" em todos percentuais, excetuando-se o NIFEXT.

Palavras-chave: surimi; matrinxã; tambaqui; rendimento; composição.

ABSTRACT

The effects of the processing stages of "surimi" on its total yield and proximate composition were evaluated for two fish species, tambaqui and matrinxã. The total yield, average levels of moisture, protein and, lipid content, ash content, and nitrogen-free extract (Nifext) were determined for mechanically deboned meat (MDM) and surimi obtained after various processing steps. The results showed that during the various stages of processing, there were losses that reduced the yield from 40% for MDM to 36% for tambaqui surimi and, in the case of matrinxã fish, these results were 48.5% and 40.5% for MDM and surimi, respectively. The centesimal composition of MDM revealed that tambaqui is a semi-fat species while matrinxã is a fish with a high fat content. Successive washes led to an increase in the moisture content of both fishes, obtaining a special class of surimi according to the moisture criterion. There was a reduction in protein content due to the removal of sarcoplasmic proteins during the washing step. This step also reduced the mineral content; however, it was not efficient in removing lipids. The statistical analysis indicated significant differences, both between species and between MDM and surimi, for all the measured parameters, except for Nifext.

Keywords: *surimi, matrinxã, tambaqui, yield, composition.*

1. INTRODUÇÃO

A composição química do pescado pode apresentar diferenças de acordo com a idade, o sexo e a estação do ano, influenciando diretamente na padronização de produtos e subprodutos pesqueiros (LOVE, 1957; CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). Por isso, a sua determinação em matérias-primas e produtos acabados é de grande importância para a indústria alimentícia.

O “surimi” é um produto que, por meio da separação mecânica ou manual, torna-se isento de ossos, escamas e pele, e que passa por seguidos ciclos de lavagem, refino e centrifugação ou prensagem, até tornar-se uma massa quase branca, sem odor e de alta qualidade nutricional (PARK, 2013, SUZUKI, 1981).

Dentre outros fatores, a composição química do “surimi” está diretamente relacionada com a composição da matéria-prima e a eficiência da etapa de lavagem. Esta ultima pode remover parte dos componentes nutricionais, além de dar ao “surimi” características únicas, como a capacidade de formar géis proteicos (SUZUKI, 1981).

Para a elaboração do “surimi”, os peixes com teor médio de umidade próximo a 75% são mais propícios, uma vez que, segundo Venugopal e Shahidi (1995), matem as propriedades funcionais como capacidade de retenção de água, solubilidade proteica, etc.

Com relação ao conteúdo de proteínas do “surimi”, este pode apresentar uma redução de 12 a 17% de acordo com o número de lavagens e a força de compressão durante a prensagem, uma vez que removem as proteínas sarcoplasmáticas, principalmente (SPENCER e TUNG, 1994). Além disso, algumas espécies como a Pollaka do Alaska podem ainda apresentar reduções no nível proteico em determinada época do ano (PARK e MORRISSEY, 2000) devido a períodos reprodutivos ou de restrição alimentar, refletindo na composição do produto final.

A lavagem também pode remover grande parte dos lipídios presentes no “surimi”. Kirschnik (2007) afirma que o teor lipídico do “surimi” pode variar entre 0,39% e 1,63%. Os valores podem ser mais altos quando há grande quantidade de gordura ventral na matéria-prima (FOGAÇA, 2015), o que é comum em algumas espécies de pescado.

Os teores de minerais, geralmente, são baixos no “surimi”, pois a lavagem também promove sua solubilização. Mira e Lanfer-Marquez (2005) descrevem teores entre 0,28 e 0,57% de minerais totais em amostras de “surimi”.

Além de ter efeitos sobre a composição química da matéria-prima, a elaboração do “surimi” leva a perdas inerentes ao processamento e influenciadas por diversos fatores que afetam seu rendimento.

Estudos de rendimento em processamento de pescado descrevem alguns destes fatores que podem influenciar no rendimento tais como sexo, tamanho ou idade e destreza do manipulador (MACEDO-VIEGAS et al., 2000).

Algumas espécies de peixes apresentam diferentes rendimentos conforme suas características intrínsecas como o bagre africano que possui maior rendimento para os machos da espécie (SOUZA et al., 1998) ou a tilápia vermelha cujo rendimento depende do tamanho (RIBEIRO et al., 1998).

O rendimento do “surimi” passou de 12 a 15% em 1990, para 20 a 30% em 2010, dentre outros fatores, devido à introdução da separação mecânica e da tecnologia do “decanter” utilizado após a lavagem na recuperação do músculo (PARK, 2013).

No presente estudo, avaliam-se as mudanças no rendimento e composição química do tambaqui e matrinxã durante os processos de obtenção da carne mecanicamente separada (CMS) e do “surimi”.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Matéria-prima: o "surimi" foi obtido a partir de tambaqui (*C. macropomum*) com peso médio de 2,6 kg, e matrinxã (*B. amazonicus*) com peso médio de 1,7 kg, provenientes de viveiros de piscicultura da região metropolitana de Manaus-AM. Os peixes foram mortos por hipotermia e acondicionados em isopor com gelo na proporção 2:1 (gelo:peixe) e transportados até o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA/COTI) onde foi realizada a separação mecânica do músculo do pescado, das peles e espinhas, obtendo assim a CMS. Para a obtenção da CMS, o pescado foi descabeçado, eviscerado, lavado, e aberto em bandas. A separação mecânica foi realizada em máquina BAADER modelo 964 na CPTA/INPA. Na elaboração do "surimi", a CMS foi submetida a três ciclos de lavagem em água gelada (0 a 5 ^{o}C) e de pH ajustado para 6,5. O "surimi" foi submetido à pressão de 1,5 tons por 5 minutos em sacos de fibras de algodão em Prensa Hidráulica, para retirada do excesso de água. O refino foi realizado em peneira ABNT 30 – 0,6 mm. As amostras de "surimi" foram embaladas em sacos de 500 g, congeladas a –25^{o}C e estocadas em congelador comercial a –18 ^{o}C.

2.2. Determinação do Rendimento: para o cálculo do rendimento foi utilizada a equação:

$$\text{Rendimento da "CMS"(\%)} = \frac{\text{Peso da "CMS" x 100}}{\text{Peso total dos peixes}}$$

Após as lavagens foi aplicada a mesma equação para o cálculo do rendimento do "surimi".

2.3. Determinação da Composição Centesimal: foram determinados os percentuais de umidade, lipídios, cinza, proteína e NIFEXT da CMS e do "surimi" seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolpho Lutz (SÃO PAULO, 2008) e A.O.A.C. (1990), constando das médias de três determinações.

2.4. Análise estatística: foi realizado um delineamento inteiramente casualizado e submetido à ANOVA e Tukey. A significância de 95% foi adotada para a análise dos resultados (ZAR, 1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RENDIMENTO

Os dados de rendimento de 14 exemplares de tambaqui (*Colosoma macropomum*) com comprimento padrão médio de 25,4 cm e peso médio de 2,56 kg, mostraram que após separação mecânica obteve-se um aproveitamento de músculo (CMS) de 40,0%% e que realizados três ciclos de lavagem com relação água:CMS de 3:1 obteve-se 36,0% de "surimi", Tabela 2.

Tabela 2: Rendimento em diferentes etapas do processamento do "surimi" a partir da separação mecânica (CMS).

Etapa do processamento	Espécies	
	Tambaqui	**Matrinxã**
Peixe inteiro (kg)	35,900	40,768
CMS (kg)	14,391	19,758
Rendimento de CMS (%)	**40,0**	**48,5**
Surimi (kg)	12,956	16,521
Rendimento de surimi (%)	**36,0**	**40,5**

Os dados da CMS estão um pouco acima dos encontrados no estudo de Gil e Bello (1986) onde rendimento de "polpa" de tambaqui (CMS) de tamanho mediano variando entre 1,5-3,0 kg foi de 37,5%. Entretanto para a carne obtida a partir do filé apresentou o mesmo rendimento encontrado pelos autores.

Em exemplares menores de tambaqui com peso de 0,7 a 1,5 kg investigados por Gil e Bello (1986) e com peso médio de 1,0 kg por García (1999) os resultados de rendimento de "polpa" foram de 35,23 kg e 35,24 kg, respectivamente.

Gil e Bello (1986) afirmam que peixes maiores obtêm maiores rendimentos de "polpa" e que tambaquis com peso variando entre 3,0 e 5,0 kg resultaram em rendimento médio de 38,96% de "polpa". Entretanto, em experimento realizado com tambaqui de 25 cm e 800 g, Andrade et al. (2010) obtiveram rendimento 37,44% e Lima e Carvalho (2005) estudando o tambaqui produzido em tanques-rede com 26,6

cm e 605 g e obtiveram rendimento de 44,52%, o que revela que outros fatores podem afetar o rendimento como o ajuste da máquina separadora, por exemplo.

Com base nos resultados obtidos e dos estudos de outros autores é possível afirmar que o rendimento de CMS para o tambaqui pode variar com os diferentes tamanhos comerciais, situando-se, porém entre 35 e 45%.

O matrinxã (*Brycon amazonicus*), após separação mecânica de 22 exemplares, com comprimento padrão médio de 30,2 cm e peso médio de 1,85 kg, rendeu 48,5% de músculo (CMS) que após três lavagens nas mesmas condições do "surimi" de tambaqui, resultou em rendimento de 40,5% de "surimi".

Estudando a influência das estações hidrológicas no rendimento corporal de diversos peixes amazônicos, Souza e Inhamuns (2011) obtiveram para o matrinxã rendimento de filé sem pele variando de 30,5% a 31,6% entre seca e cheia. Resultados próximos a estes, 36,6% e 37,2% foram encontrados por GOMIERO et al. (2003) quando avaliaram a influência de diferentes cortes de cabeça na filetagem do matrinxã.

Os resultados revelam que o rendimento de CMS de matrinxã está dentro do esperado se considerados os resultados de rendimento de filé para a espécie na região amazônica que ficam em torno de 30%, o que levaria a um ganho de 18,5% de músculo na separação mecânica e, mesmo após três ciclos de lavagem, as perdas na obtenção do "surimi" foram reduzidas, em torno de 8%.

De acordo com Jesus (1998), após a separação mecânica o rendimento de carne pode variar de 52 a 72% a partir do pescado decapitado e eviscerado. Se considerado que os dados deste estudo foram obtidos a partir do pescado inteiro, os resultados estão dentro do esperado para ambas as espécies.

3.2 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição química de peixes pode variar grandemente de acordo com a idade, sexo e estação do ano (LOVE, 1957), sendo seu conhecimento de grande importância para padronização de produtos e fornecendo subsídios para dietas (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

Segundo os critérios desenvolvidos por Ackman (1989), os peixes são divididos em quatro categorias de acordo com o teor de lipídios: magros (menor que 2% de gordura); baixo teor de gordura (2-4% de gordura); semigordo (4-8% de gordura); e altamente gordo (maior que 8% de gordura). Com base na composição química das CMS, o tambaqui foi classificado como semigordo e o matrinxã como altamente gordo.

Na elaboração do “surimi”, a etapa de lavagem é necessária para remover substâncias solúveis em água, como proteínas sarcoplasmáticas, lipídios, sangue, pigmentos e outros materiais indesejáveis (LEE, 1986). A lavagem também tem o objetivo, segundo Lee (1986), de concentrar as proteínas miofibrilares e aumentar a força e elasticidade dos géis, essenciais para os produtos de “surimi”.

Na Tabela 02 estão apresentados os resultados das determinações da composição centesimal da carne mecanicamente separada (CMS) e do “surimi” para ambas as espécies, após três ciclos de lavagem. É possível observar que houve aumento no conteúdo de umidade de 71% para 81% para o tambaqui e de 68% para 75% para o matrinxã.

Abdel-Aal et al. (2014) avaliando “surimi” de carpa comum (*Cyprinus carpio*) submetido a quatro ciclos de lavagem (3:1) obtiveram teor médio de umidade de 76%. Mello et al. (2010) estudaram a produção de “surimi” do resíduos de filetagem de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e obtiveram um “surimi” com umidade de 80,82% após três ciclos de lavagem.

De acordo com Suzuki (1981) para se alcançar maior produtividade e qualidade no produto final, o “surimi” deve apresentar umidade em torno de 80%, sendo classificado como segue: *Classe especial – 77%; primeira classe – 78%; e segunda classe 79%.* Para os fabricantes de “surimi”, a classificação com base no teor de umidade é diferente, *83% classe especial; 84% de primeira classe; e 85% de segunda classe.*

Utilizando a classificação dos fabricantes podem-se classificar ambos os “surimi” na **classe especial**, pois estão abaixo de 83% de umidade.

Tabela 3. Composição Centesimal da CMS e do “Surimi” de tambaqui e matrinxã.

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	**TAMBAQUI**		**MATRINXÃ**	
	CMS	**SURIMI**	**CMS**	**SURIMI**
UMIDADE	71,76 ±0,46 **aA**	81,30 ±0,72 **aB**	68,42 ±0,23 **bA**	75,27 ±0,29 **bB**
PROTEÍNA	20,21 ±0,14 **aA**	12,52 ±0,22 **aB**	20,17 ±0,03 **bA**	16,36 ±0,09 **bB**
LIPÍDIOS	6,13 ±0,03 **aA**	4,06 ±0,06 **aB**	10,02 ±0,01 **bA**	6,69 ±0,36 **bB**
CINZA	0,92 ±0,00 **aA**	0,14 ±0,01 **aB**	0,99 ±0,01 **bA**	0,22 ±0,01 **bB**
***NIFEXT**	0,98 ± 0,53 **aA**	1,98± 0,98 **aA**	0,40± 0,06 **bB**	1,46± 0,41 **bB**

* Fração não nitrogenada determinada por diferença / Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística (p<0,05); letras minúsculas indicam comparação entre espécies e maiúsculas entre etapas de processamento.

Os teores de umidade da CMS de tambaqui encontrados neste estudo assemelham-se ao estudo de Cartolino e Jesus (2011) que avaliaram a composição

de cortes de tambaqui congelado, onde obtiveram teores de umidade de 71,27%, 77,49% e 77,65% para costela, lombinho e posta, respectivamente.

Ao compararem-se os demais percentuais da composição química da CMS do tambaqui foi possível notar proximidade com os da pesquisa de Sales e Maia (2013), que determinaram a composição química da porção muscular dorsal de tambaqui e chegaram a valores médios de umidade de 68%, além de 22,6% de proteína, 6,6% de lipídios e 2,7% de cinza.

Quanto ao teor de água presente na CMS de matrinxã observou-se claramente a relação inversa entre umidade e lipídios, quando se comparam os resultados deste estudo à bibliografia. Macedo-Viegas et al. (2000), por exemplo, encontram valores altos de lipídio (18,4%) e baixo teor de umidade (60,6%). Andrade et al. (2010) obtiveram valores menores para lipídios (5,5%) e o teor de umidade aumentou para 74,1%.

Para a CMS de matrinxã foi possível notar a mesma tendência de diversos estudos com a espécie com altos valores de proteínas e lipídios como relatou Macedo-Viegas et al. (2000) que encontraram valores de 19,05% de proteína e 18,43% de lipídios. Batista et al. (2004) estudaram a conservação da espécie em gelo e obtiveram valores mais próximos a este estudo, com proteína total de 18,4% e lipídios de 7,5%. Andrade et al. (2010) avaliaram a qualidade do “minced fish” de matrinxã e chegaram a teor proteico de 18,6% e fração lipídica de 5,5%.

Os resultados mostram que teor médio de proteínas teve redução bastante acentuada, por volta de 38,05% após três ciclos de lavagem, passando de 20% para 12% no “surimi” de tambaqui. Isto se deve à remoção de proteínas sarcoplasmáticas, solúveis em água, durante as lavagens, como observado por Carvalho (2003). Entretanto, Abdel-Aal et al. (2014), afirmam que na lavagem pode haver perdas de proteínas sarcoplasmáticas de 20% até 25%, o que pode indicar que neste estudo pode ter havido perda também de proteínas miofibrilares durante processo de drenagem.

No processamento da CMS de matrinxã em “surimi” as perdas foram de 18,8%, corroborando com Abdel-Aal et al. (2014) e indicando não terem havido perdas de proteínas miofibrilares na drenagem.

Durante a lavagem, parte considerável de lipídios é removida e, segundo Kirschnik (2007), os teores de lipídios para “surimi” de peixes variam entre 0,39% e 1,63%. Os dados apresentados mostram, porém que, mesmo após três ciclos de lavagem, o percentual de lipídios no “surimi” de tambaqui pouco diminuiu passando de 6,13% para 4,06%, e o de matrinxã de 10,02% para 6,69%, o que indica que aprimoramentos nos parâmetros da lavagem como proporção água:CMS, tempo, agitação, temperatura, pH e outros necessitam ser melhor estudados para a espécie.

Os resultados embora apresentem elevados teores de lipídios, estão em consonância com pesquisas realizadas com espécies amazônicas. Carvalho (2003) estudando o "surimi" de Aracu (*Shizodon fasciatum*) e Jaraqui (*Semaprochilodus spp.*) obteve 2,27% e 2,78% de percentual de redução de lipídios respectivamente, enquanto que esta pesquisa alcançou para o tambaqui 2,07% de remoção de gordura e para o matrinxã 3,33%. Somando-se a isso o fato de que é comum ao pescado proveniente de cativeiro acumular certa quantidade de gordura na região ventral do corpo, conforme descrito por Fogaça (2015) que patamares maiores de lipídios em "surimi" são encontrados devido à gordura da região ventral de peixes que pode ser maior.

A lavagem, conforme relatam Elyasi et al. (2010) e Abdelaal et al. (2014), diminui as quantidades de minerais no "surimi". Abdelaal et al. (2014) observaram uma redução de 0,99% para 0,24%. O resultado da Tabela 02 mostra tendência similar.

Os resultados da análise estatística indicam diferença significativa, tanto entre as espécies quanto entre a CMS e o "surimi" para todos componentes nutricionais, com exceção do NIFEXT que não apresentou diferença entre CMS e "surimi", mostrando, entretanto diferença estatística entre as espécies.

4. CONCLUSÕES

- O tambaqui foi considerado uma espécie semigorda e o matrinxã, altamente gorda;
- A composição centesimal do "surimi" foi influenciada pelo processamento e a tendência dos componentes nutricionais é de diminuição, com exceção da umidade;
- A lavagem reduziu o teor de proteínas, minerais, lipídios e nifext, entretanto os teores de lipídios ainda são altos para "surimi", indicando ineficiência no processo;
- O conteúdo de proteína no "surimi" de tambaqui sofreu reduções acima de 25%, indicando perda de proteínas miofibrilares, provavelmente na lavagem.

5. REFERÊNCIAS

ABDEL-AAL, H. A., MOHAMED, H. M. A., HAMMAM, A. M.; ELHOSAN, R.M. **Physical, chemical and sensory evaluation of Common carp fish (Cyprinus Carpio) surimi**. 4th Conference of Central Laboratory for Aquaculture Research, 409-425. 2014.

ACKMAN, R. G. Nutritional composition of fats in seafood. ***Progress in Food and Nutrition Science***, v. 13, p. 161-241, 1989.

ANDRADE, E. G.; JESUS, R. S.; FALCÃO, P. T.; LESSI, E. "Minced" de pescados de la acuicultura amazônica: evaluación de calidad. ***Infopesca Internacional,*** n.44, p.39-43, 2010.

A.O.A.C. **Oficial Methods of Analysis**. Association of Official Analytical Chemist.

Washington, D.C. 15Ed., 1990.

CARTONILHO, M.M.; JESUS, R.S. Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado. ***Pesq. agropec. bras.***, Brasília, v.46, n.4, p.344-350, abr. 2011.

CARVALHO, N.L. de A. **Efeitos de fatores físicos e químicos sobre a formação de géis em surimi de duas espécies de peixes comerciais da Amazônia.** Manaus, INPA/UFAM, Biologia Tropical e Recursos Naturais, 2003. 145p. (Tese de Doutorado).

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: Funep, 1994. 409p.

ELYASI, A.; ABADI,Z .R .; SAHARI, M. A.; ZARE, P. Chemical and microbial changes of fish fingers made from mince and surimi of common Carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) ***Inter Food Res J***, 17: 915-920. 2010.

FOGAÇA, F.H.S. ; OTANI, F. S.; PORTELLA, C. G.; GONZAGA, L.; SANTANA, L. S.. Caracterização de surimi obtido a partir da carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo e elaboração de fishburger. ***Semina. Ciências Agrárias****,* Londrina. v. 36, p. 765-776, 2015.

GARCÍA, M.A. **Obtención de Ensilado de Pescado a partir de Subproductos de Cachama (*Colossoma macropomum*) y su evaluación físico – química y microbiológica como fuente potencial de proteína para alimentación animal**. UNELLEZ – CONICIT. 68 p.. 1999.

GIL,W.; BELLO, R.A. "Evaluación de la pulpa de cachama (*Colossoma macropomum*) mantenida en congelación". **XXXVI Convención Anual de la ASOVAC**. 16-21 Noviembre. Valencia, Venezuela, 1986.

GOMIERO, J.S.G.; RIBEIRO, P.A.P. FERREIRA, M.W. LOGATO, P.V.R. Rendimento de carcaça de peixe matrinxã (*Brycon cephalus*) nos diferentes cortes de cabeça. ***Cienc. Agrotec***., v.27, p.211-216, 2003.

JESUS, R. S. ***"MINCED FISH" – Alternativa de Produto de Pescado como alimento.*** Monografia apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos para exame de qualificação de doutorado. p. 41, 1998.

KIRSCHNIK, P. **Avaliação da estabilidade de produtos obtidos de carne mecanicamente separarda de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)** Jaboticabal, 2007, 91 f. (Tese de Doutorado em Aqüicultura, Faculdade de Ciências Agronômicas e Veterinárias, Centro de Aqüicultura da UNESP).

LEE, C. M. Surimi manufacturing and fabrication of surimi based products. ***Food Technol.,*** 40 (3), p.115–124, 1986.

LIMA, C.A.S.; CARVALHO, N.L. de A. Caracterização tecnológica e viabilidade econômica do "minced" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) produzido a partir da criação em tanques-rede. ***In: XIV Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, 2005, Ceará.*** Fortaleza: Associação dos Engenheiros de Pesca do Ceará, 2005. v. único.

LOVE, R.M. The biochemical composition of fish. **In: BROWN, M.E. The physiology of fishes**. New York, Academic Press, v. 1, p. 401-15. 1957.

MACEDO-VIEGAS, E.M.; SCORVO, C.M.D.F.; VIDOTTI, R.M.; SECCO, E.M. Efeito das classes de peso sobre a composição corporal e o rendimento de processamento de matrinxã (*Brycon cephalus*). ***Acta Scientiarum*** 22(3):725-728, 2000.

MELLO, S.C.R.P.; FREITAS, M.Q.; SÃO CLEMENTE, S.C. et al. Caracterização química e bacteriológica de polpa e surimi obtidos do espinhaço residual da filetagem de tilápia. ***Rev. Cienc. Rural,*** v.40, p.648-653, 2010.

MIRA, N. V. M.; LANFER-MARQUEZ, U. M. Avaliação da composição centesimal, aminoácidos e mercúrio contaminante de surimi. ***Ciência e Tecnologia de Alimentos*****,** v. 25, n. 4, p. 665-671, out-dez, 2005.

PARK,J.W. **Surimi and Surimi Seafood**, 3rd ed. 666p., CRC Press, Boca Raton, FL. 2013.

PARK, J.W.; MORRISSEY, M.T. Manufacturing of surimi from light muscle fish. In: PARK, J.W. (Ed.). ***Surimi and Surimi Seafood.*** 1 rd ed. New York: Marcel Dekker, p.23-58, 2000.

RIBEIRO, L.P.; LIMA, L.C.; TURRA E.M.; QUEIROZ, B.M.; RIBEIRO, T.G.; MIRANDA, M.O.T. Efeito do peso e do operador sobre o rendimento de filé em tilápia vermelha Orechromis spp. **In: AQÜICULTURA BRASIL'98**. 1998, Recife. Anais/Proceedings... Recife: ABRAq. 1998. v.2. p. 773-778.

SALES, R.O.; MAIA, E.L. Composição química e classes de lipídios em peixe de água doce tambaqui, *Colossoma macropomum*, *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.* v.7, n.2, p.31-44. 2013.

SÃO PAULO. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Químicos e Físicos para Análises de Alimentos**. 4ºed. São Paulo, Secretaria do Estado de Saúde. 1020 p. 2008.

SOUZA, A.F.L. INHAMUNS, A.J. Análise de rendimento cárneo das principais espécies de peixes comercializadas no Estado do Amazonas, Brasil. ***Acta Amazonica.*** vol. 41 (2), p. 289 – 296. 2011.

SOUZA, M. L. R., LIMA, S., FURUYA, W.M., PINTO, A. A., LOURES, B. T. R. R. Sex related efectes on the processing yield of African catfish (Calrias gariepinus). **In: AQÜICULTURA BRASIL'98**. 1998, Recife. Anais/Resumos... Recife: ABRAq. 1998. p. 321.

SPENCER, K.E. & TUNG, M. A. Surimi processing from fatty fish. **In: SHAHIDI, F. e BOTTA, J.R., Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality**, Bishopbriggs, Glasgow G64 2 NZ, UK, ed. Chapman & Hall, 1994, cap.15, p. 288-319.

SUZUKI, T. **Tecnología de las proteínas de pescado y krill**. Zaragoza: Acribia. 230 p. il. 1981.

VENUGOPAL, V. & SHAHIDI, F. Value-added products from underutilized fish species. ***Crit Rev Food Sci Nutr.*****,** v. 35, n. 5, p. 431-453, 1995.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**, 3rd edn. Prentice Hall International Editions, Upper Saddle River, NJ, USA. 1996.

CAPÍTULO II

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE CRIOPROTETORES NAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS E TEXTURA DOS "SURMIS" DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E DE MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do uso de crioprotetores sobre as propriedades funcionais e textura dos "surimis" de tambaqui e matrinxã durante a estocagem congelada. Foram determinados ao longo de 180 dias de estocagem a -18 ^{o}C as variações na Capacidade de Retenção de Água (CRA) , solubilidade proteica, textura e o perfil eletroforético. Os resultados mostraram que a CRA diminuiu aos 90 dias e manteve-se entre 42,8% e 72,23% para o tambaqui e 67,01% e 87,49% para o matrinxã. A solubilidade proteica não apresentou grandes variações até o final do experimento. A textura foi sensivelmente afetada pelo tempo de estocagem, decrescendo a partir dos 90 dias. Os resultados foram confirmados pela eletroforese que revelou maior desnaturação da miosina a partir dos 120 dias de conservação. O uso da mistura de crioprotores a 4% de sacarose, 4% de sorbitol e 0,5% de tripolifosfato de sódio apresentou os melhores resultados para ambas as espécies.

Palavras-chave: tambaqui, matrinxã, congelamento, crioprotetor, surimi.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of using cryoprotectants on the functional properties and texture of surimi of tambaqui and matrinxã during their frozen storage period. Variations in water-holding capacity (WHC), protein solubility, texture, and electrophoretic profile were determined over 180 days of storage at -18 °C. The results showed that WHC decreased during 90-day storage period and remained between 42.8% and 72.23% for tambaqui and 67.01% and 87.49% for matrinxã. Protein solubility did not show great variations until the end of the experiment. The texture of the species was significantly affected by the storage duration and it gradually decreased after the first 90 days. These results were confirmed by electrophoresis, which revealed greater levels of denaturation of the protein myosin, after 120 days of storage. The use of a cryoprotectant mixture containing 4% sucrose, 4% sorbitol, and 0.5% sodium tripolyphosphate gave the best results for both the species studied.

Keywords*: tambaqui, matrinxã, freezing, cryoprotectants, surimi.*

1. INTRODUÇÃO

A avaliação da qualidade do “surimi” leva em conta outros fatores além da inocuidade como a avaliação da textura, a coloração, o pH, a capacidade de retenção de água, a solubilidade das proteínas, dentre outros.

As características desejáveis de textura e capacidade de reter água, típicas do “surimi”, dependem da qualidade e quantidade de proteínas miofibrilares (SOTELO, FILOMENA e RODRÍGUES, 2008). Estas possuem alta capacidade de formar géis, propriedade que pode ser afetada durante a estocagem sob refrigeração ou congelamento (IBARRA, 2006).

A geleificação das proteínas do músculo do peixe é promovida pelas proteínas miofibrilares, actina e miosina, onde a habilidade de formar géis de alta qualidade depende da não agregação prévia das proteínas pelo aquecimento ou pelo congelamento (GÓMES-GUILLÉN et al., 1997).

Para prevenir a agregação e a desnaturação proteicas causadas pelo congelamento, substâncias crioprotetoras são adicionadas ao “surimi”. Os açucares sacarose e sorbitol, isolados ou misturados, são normalmente utilizados na indústria em proporções variando entre 6 e 9%. Além disso, costuma-se adicionar uma mistura de tripolifosfato de sódio e pirofosfato tetrassódico de 0,2 a 0,3%, que funcionam como agentes quelantes e ajudam a ajustar o pH (PARK e LIN, 2005).

Na avaliação da qualidade de alimentos cárneos que são submetidos à estocagem congelada é utilizada a capacidade de retenção de água (CRA). De acordo com Lanier e Lee (1992), a redução da “CRA” se dá pela desnaturação proteica, resultando em diminuição da habilidade de formação de géis em pescado.

A solubilidade proteica (SP) também é utilizada como indicativo de desnaturação de proteínas. A diminuição da solubilidade proteica indica que ocorreram mudanças na estrutura e propriedades funcionais das proteínas musculares (GEIRSDOTTIR et al., 2007).

A textura parece ser mais crítica no pescado e seus derivados, pois sua diminuição limita a vida de prateleira e impede sua comercialização (SRIKET, 2014). A força de gel é o principal indicador de qualidade e de preço no “surimi”. Diferente dos géis formados a partir de outras proteínas de origem animal, sua textura é perceptível à mastigação e semelhante à do pescado “*in natura*” (AN et al., 1996).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do uso de crioprotetores comerciais em diferentes percentuais nas propriedades funcionais e textura dos “surimis” de tambaqui e matrinxã sob estocagem congelada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Adição de crioprotetores: a cada "surimi", preparados a partir do tambaqui e matrinxã, após três ciclos de lavarem, prensagem a 1,5 ton. por 5 min. e refino em peneira (ABNT 30 – 0,6mm) foram adicionadas as misturas de crioprotetores, tais quais: *tratamento 1* (sacarose 1%, sorbitol 1%, tripolifosfato de sódio 0,1%), *tratamento 2* (sacarose 2%, sorbitol 2%, tripolifosfato de sódio 0,3%) e *tratamento 3* (sacarose 4%, sorbitol 4%, tripolifosfato de sódio 0,5%). Foram retiradas amostras de "surimi" com e sem crioprotetores a cada 30 dias durante 6 meses.

2.2. Determinação da Capacidade de Retenção de Água (CRA): foi utilizada a técnica de Roussel e Cheftel (1990) modificada por Souza et al. (2014). As análises foram feitas em triplicata a cada 30 dias, utilizando-se 3g da amostra e centrifugando a 3.000 RPM por 10 minutos. Os resultados foram expressos em g%.

2.3. Determinação da Solubilidade Protéica em NaCl a 5%: Foi utilizada a técnica descrita por Iroside e Love (1958), onde 1,0 g da amostra foi homogeneizado em tubo de falcon de 50mL com cerca de 15mL de solução de NaCl 5% refrigerada em pH 7,0. O homogeneizado foi lavado e completado com NaCl 5% e centrifugado a 14000 RPM por 40 minutos. Uma alíquota de 200 µL do sobrenadante (proteína solúvel) foi retirada e a solubilidade foi determinada em triplicata, a cada 30 dias, pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951).

2.4. Eletroforese (SDS-PAGE): Para avaliar a eficiência dos crioprotetores na prevenção da desnaturação proteica, foi determinado o perfil das bandas proteicas do "surimi", por meio da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) (HUIDOBRO, MONTERO e BORDEIRAS, 1998). A coloração dos géis foi em solução

contendo ácido acético 10% (v/v), álcool isopropílico 25% (v/v) e Coomassie Brilliant Blue R-250 0,05% por, aproximadamente, 40 minutos. Os géis foram descorados em solução contendo 10% (v/v) de ácido acético e 25% (v/v) de álcool isopropílico, renovando-se a solução a cada 30 minutos até obtenção de revelação nítida (WEBER e OSBORN, 1969). As análises foram feitas a cada 30 dias.

2.5. Preparo do Gel "Kamaboko": O gel "kamaboko" foi preparado e analisado para cada espécie a cada 30 dias durante 180 dias de estocagem a -18 ºC. À amostra controle e a cada tratamento, foram adicionados 3% de sal e misturados por 5 min, a temperatura de 5 ^{o}C. Em cápsulas de 3,0cm de diâmetro por 3,0cm de altura (SUZUKI, 1981; CARVALHO, 2003) foram adicionados 3g do "surimi". No tratamento térmico os géis foram aquecidos em "banho Maria" a 40 ^{o}C por 30 min., seguidos de 90 ^{o}C por mais 20 min. (BENJAKUL et al., 2004). Após o tratamento térmico, as amostras foram transferidas para banhos gelados (0 a 5 ^{o}C) por 15 min. e armazenadas à temperatura de refrigeração por 24 h. antes das análises (SUZUKI, 1981; CARVALHO, 2003).

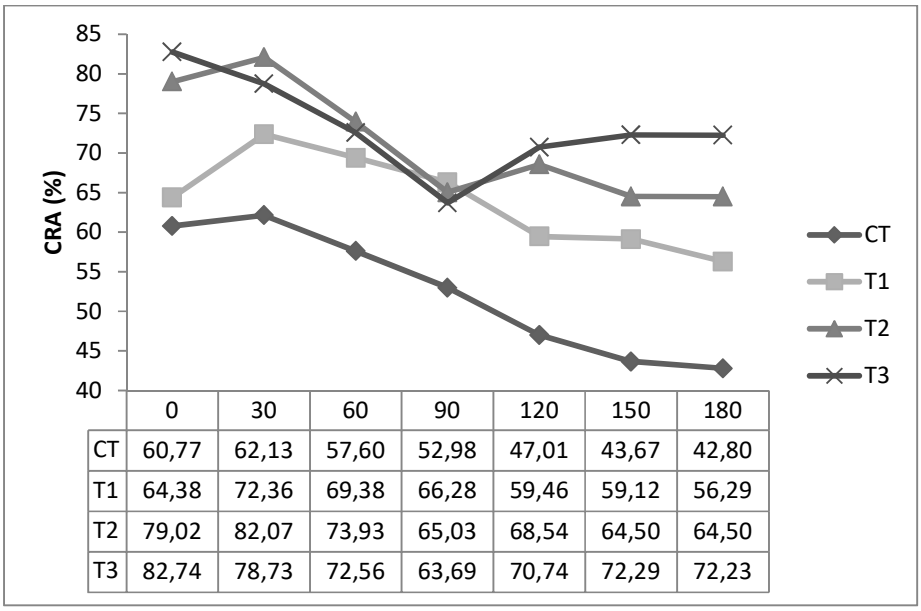
2.6. Avaliação da textura: a textura do gel "kamaboko" foi realizada usando um texturômetro Stable Micro Systems, modelo TA-XT2 (Fig. 14). A resistência dos géis foi determinada sobre amostras cilíndricas obtidas pelo tratamento térmico de amostras de "surimi" de 3cm altura e 3cm de diâmetro em formas em aço inox. A Força de gel (g.cm) foi determinada usando um probe cinlíndrico com diametro 5 mm na velocidae de 1,0 mm/s como realizado por Carvalho (2003). As análises foram realizadas em 6 amostra para cada tratamento mais o controle.

2.7. Análise Estatística: os dados foram avaliados através de um modelo de delineamento em blocos completos casualizados e com repetição no tempo, submetidos à ANOVA (α = 5%), para comparação de médias e Tukey 5% a posteriori.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA (CRA)

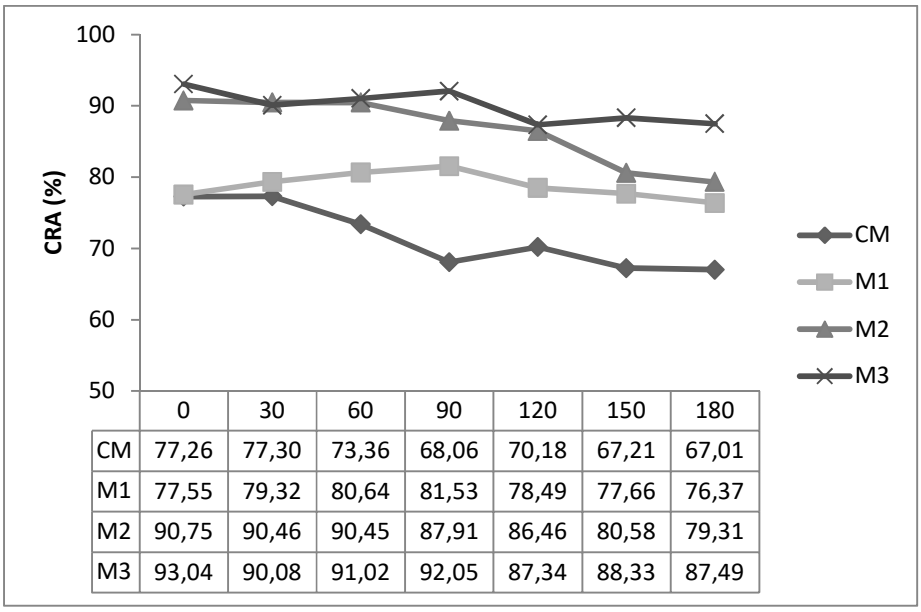
De acordo com Carvalho (2003) há uma tendência de queda nos valores da Capacidade de Retenção de Água (CRA) ao longo do tempo de estocagem. A figura 06 apresenta a variação mensal da CRA no "surimi" de tambaqui estocado a -18 ^{o}C durante seis meses, onde notou-se claramente, a queda no percentual na retenção de água a partir do terceiro mês, independente do percentual de crioprotetor utilizado. Além disso, quando se comparam os tratamentos pode-se afirmar que os tratamentos T2 e T3 mostraram os melhores resultados e não apresentaram diferenças significativas entre si ao nível de 5% (*p-valor=0,156754*).



	0	30	60	90	120	150	180
CT	60,77	62,13	57,60	52,98	47,01	43,67	42,80
T1	64,38	72,36	69,38	66,28	59,46	59,12	56,29
T2	79,02	82,07	73,93	65,03	68,54	64,50	64,50
T3	82,74	78,73	72,56	63,69	70,74	72,29	72,23

Figura 18. Séries temporais da CRA do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento. CT = surimi sem crioprotetores; T1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); T2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); T3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%).

O “surimi” de matrinxã, de maneira geral, apresenta a mesma tendência do “surimi” de tambaqui na diminuição dos valores de CRA a partir do terceiro mês de estocagem sob congelamento. Ao nível de 5% de significância os resultados mostraram diferenças entre os crioprotetores e o controle e entre os tratamentos, sendo, portanto o tratamento T3 mais eficiente na manutenção da CRA ao longo da estocagem congelada.



	0	30	60	90	120	150	180
CM	77,26	77,30	73,36	68,06	70,18	67,21	67,01
M1	77,55	79,32	80,64	81,53	78,49	77,66	76,37
M2	90,75	90,46	90,45	87,91	86,46	80,58	79,31
M3	93,04	90,08	91,02	92,05	87,34	88,33	87,49

Figura 19. Séries temporais da CRA do matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento. CM = surimi sem crioprotetores; M1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); M2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); M3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%).

Carvalho (2003) avaliou a CRA de amostras de “surimi” mantidas em gelo de duas espécies amazônicas e verificou que aos 23 dias a CRA decresceu de 85 e 83% para 78,4 e 79,9% para jaraqui e aracu, respectivamente.

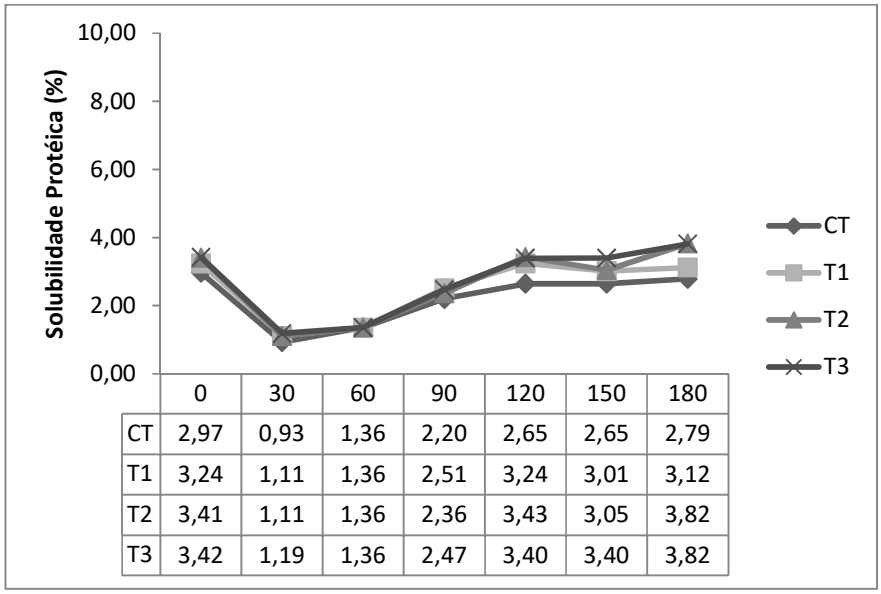
Souza et al. (2014) avaliou o “minced fish” de jaraqui, aracu e mapará e relatou que aos 150 dias de estocagem congelada a CRA manteve-se em 75%, 70% e 85%, respectivamente.

Braz-Silva e Jesus (2001) avaliando “minced fish” lavado e não-lavado de jaraqui e piranha-preta relatam que para o jaraqui houve decréscimo nos valores de CRA durante o experimento e que para a piranha-preta, embora com oscilações, os “minced fish” mantiveram os valores muito próximos no inicio e ao final de 180 dias de estocagem congelada. Andrade et al. (2010) avaliando o “minced fish” de tambaqui e matrinxã observaram a mesma tendência.

Comparando os dados bibliográficos aos resultados deste estudo, é possível dizer que, aparentemente, o “minced” apresenta maior estabilidade da CRA que o “surimi” na estocagem congelada e que, até o terceiro mês de estocagem, a CRA se mantém estável, a partir daí decrescendo com o tempo de estocagem, independentemente do tratamento que seja aplicado.

3.2. SOLUBILIDADE PROTÉICA (SP)

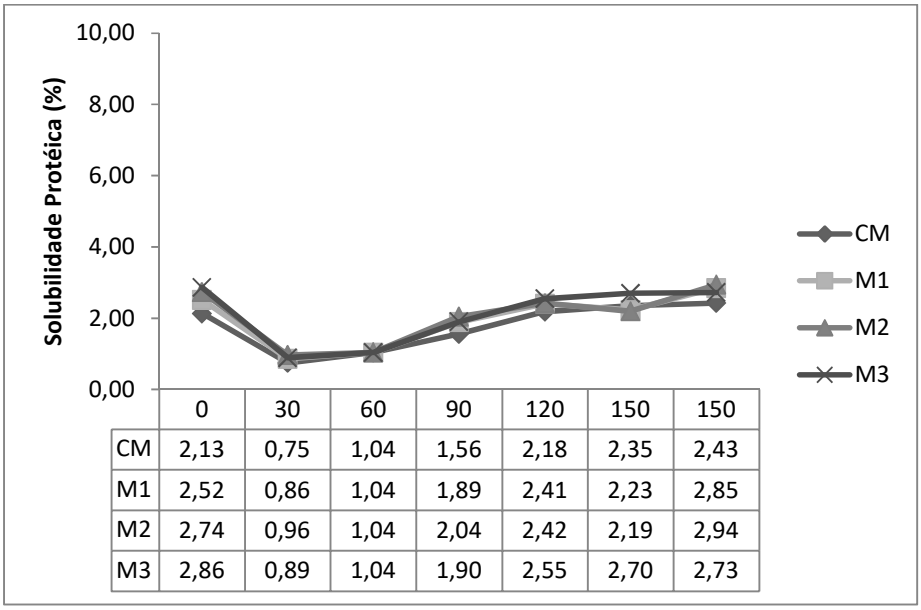
As figuras 20 e 21 mostram o mesmo comportamento para os “surimi” de tambaqui e matrinxã quanto à solubilidade das proteínas em solução salina a 5%. Os resultados indicam pequena redução de dois pontos percentuais no primeiro mês de estocagem congelada, seguida de aumento e tendência à estabilização próxima ao valor inicial. A diminuição se deve, provavelmente, à desnaturação por congelamento e/ou agregação que sofrem as proteínas (MATSUMOTO, 1980) e que promove a formação de enlaces inter e/ou intramoleculares e filamentos entrecruzados que insolubilizam a actomiosina (Park et al., 1987) afetando portanto o parâmetro solubilidade proteica.



	0	30	60	90	120	150	180
CT	2,97	0,93	1,36	2,20	2,65	2,65	2,79
T1	3,24	1,11	1,36	2,51	3,24	3,01	3,12
T2	3,41	1,11	1,36	2,36	3,43	3,05	3,82
T3	3,42	1,19	1,36	2,47	3,40	3,40	3,82

Figura 20. Séries temporais da solubilidade proteica do surimi de tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento. CT = surimi sem crioprotetores; T1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); T2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); T3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%).

As análises estatísticas mostraram para o “surimi” de tambaqui que ao nível de 5% de significância, houve diferenças entre os tratamentos (p=0,00027) e que o tempo tem influência sobre a solubililidade (p=3,47e-11). O tratamento T1 foi o que obteve a menor variação entre o inicio e o fim do experimento.



	0	30	60	90	120	150	150
CM	2,13	0,75	1,04	1,56	2,18	2,35	2,43
M1	2,52	0,86	1,04	1,89	2,41	2,23	2,85
M2	2,74	0,96	1,04	2,04	2,42	2,19	2,94
M3	2,86	0,89	1,04	1,90	2,55	2,70	2,73

Figura 21. Séries temporais da solubilidade proteica do matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento. CM = surimi sem crioprotetores; M1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); M2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); M3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%).

Os dados estatísticos da ANOVA mostraram diferenças entre os tratamentos (p=0,021) e influência do tempo (p=8,6e-11) nos resultados. Embora os valores de solubilidade para o tratamento M3 sejam maiores, nota-se que o tratamento foi mais eficiente, pois tem a menor variação entre o inicio e o fim do experimento (0,13%).

Diversos autores indicam que durante a estocagem sob congelamento, a solubilidade proteica apresenta redução gradativa com o tempo (RAWDKUEN et al., 2009; SOUZA et al., 2014; SHABANPOUR e ETEMADIAN, 2016). Entretanto, de maneira geral, pode-se afirmar que não houve grandes mudanças no parâmetro solubilidade para ambos os “surimi” que se mantiveram estáveis ao longo de seis meses de estocagem congelada, não apresentando variações maiores de um ponto percentual, indicando eficiência dos crioprotetores.

3.3. TEXTURA (FORÇA DE GEL)

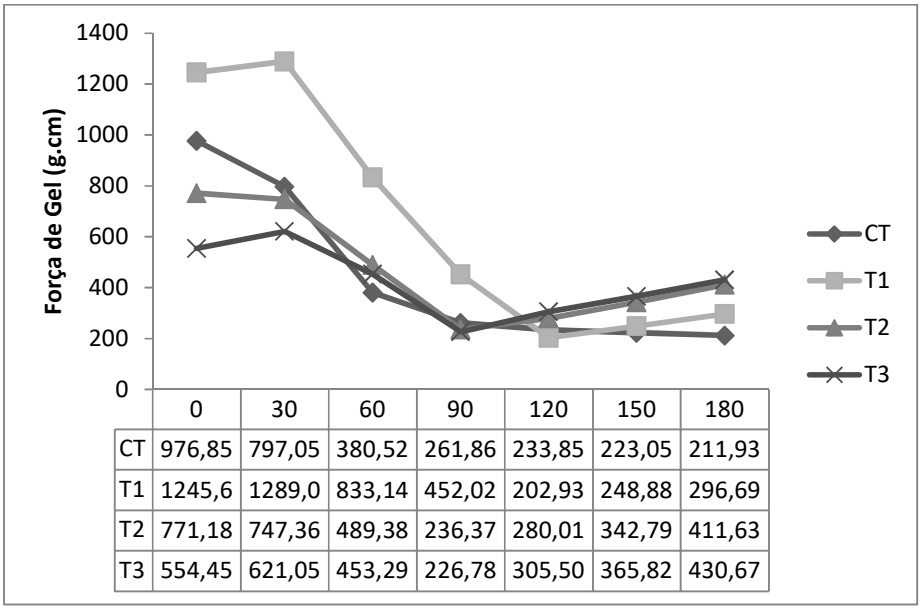
As figuras 22 e 23 mostram o desempenho das diferentes misturas de crioprotetores sobre a Força de Gel (g.cm), bem como o efeito do tempo de estocagem nos “surimi” de tambaqui e matrinxã.

Anwar et al. (2013) avaliaram o efeito de crioprotetores sobre a qualidade do surimi estocado a -20 ^{o}C e obtiveram valores entre 96,01 g.cm para o controle e 309,35 g.cm para mistura de 4% de sacarose e 0,2% de quitosana.

Scott et al. (1988) avaliaram o efeito da estocagem congelada sobre o “surimi” de Pollaka do Alaska e encontram valores para força de gel de aproximadamente 380 g.cm e 510 g.cm para “surimi” com 75% e 76% de umidade respectivamente no inicio do experimento e, após 300 dias, os valores decaem significativamente para 145 g.cm e 180 g.cm respectivamente.

Medina e Garrote (2002) avaliaram o efeito da mistura de dois crioprotetores sobre o “surimi” de surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) e encontram força de gel variando de 264,5 – 245,0 g.cm e 235,5-190,5 g.cm para sacarose/sorbitol e maltodextrina/sorbitol, respectivamente.

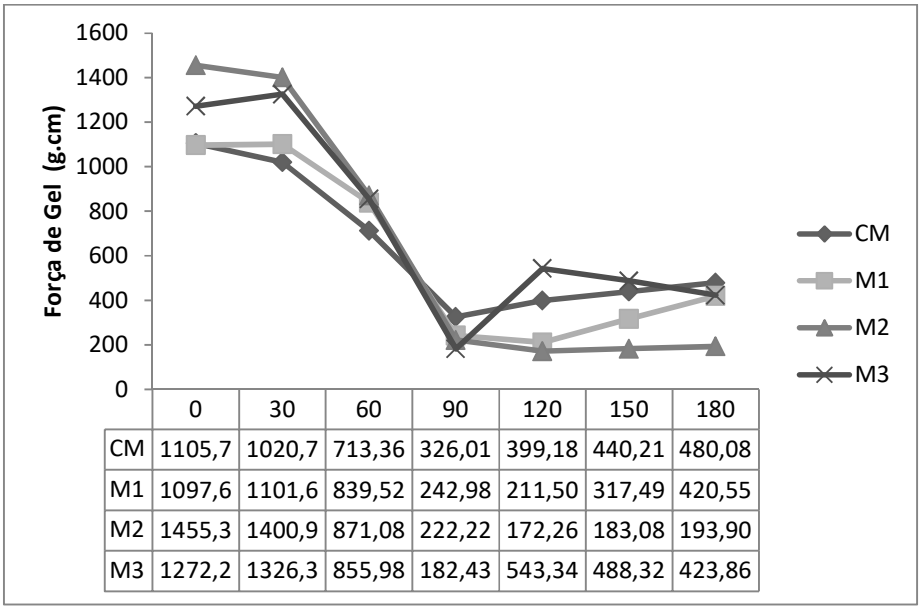
Avaliando os resultados encontrados na literatura, pode-se afirmar que os resultados para este estudo ficaram muito acima, partindo de valores entre 554,4 e 976,8 g.cm no inicio do experimento, e finalizando as análises com médias de 211,9 e 430,6 g.cm.



	0	30	60	90	120	150	180
CT	976,85	797,05	380,52	261,86	233,85	223,05	211,93
T1	1245,6	1289,0	833,14	452,02	202,93	248,88	296,69
T2	771,18	747,36	489,38	236,37	280,01	342,79	411,63
T3	554,45	621,05	453,29	226,78	305,50	365,82	430,67

Figura 22. Séries temporais da força de gel do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento. CT = surimi sem crioprotetores; T1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); T2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); T3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%).

Os dados do “surimi” de tambaqui revelaram que no início e após 30 dias, os valores médios de força de gel dos tratamentos foram bastante próximos, decaindo a partir de 90 dias até 150 dias, quando apresentaram tendência à estabilidade até o final do experimento. Os resultados da ANOVA mostraram que ao nível de 5% de significância (p=0,0638) não houve efeito dos tratamentos sobre a força de gel. Entretanto houve forte influência do tempo nos resultados, provocando notada diminuição a partir de 60 e 90 dias de estocagem (p=3,19e-05).



	0	30	60	90	120	150	180
CM	1105,7	1020,7	713,36	326,01	399,18	440,21	480,08
M1	1097,6	1101,6	839,52	242,98	211,50	317,49	420,55
M2	1455,3	1400,9	871,08	222,22	172,26	183,08	193,90
M3	1272,2	1326,3	855,98	182,43	543,34	488,32	423,86

Figura 23. Séries temporais da força de gel do matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento. CM = surimi sem crioprotetores; M1 = surimi com sacarose (1%), sorbitol (1%) e tripolifosfato de sódio (0,1%); M2 = surimi com sacarose (2%), sorbitol (2%) e tripolifosfato de sódio (0,3%); M3 = surimi com sacarose (4%), sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%).

Para o "surimi" de matrinxã, ao nível de 5% de significância, pode-se afirmar que os tratamentos tiveram o mesmo efeito sobre a força de gel (p=0,42). Entretanto, o tempo apresentou influência nos resultados para a força de gel, para os tratamentos a partir de 90 dias (p=2,59e-09), provocando a diminuição da força de gel, provavelmente devido à ruptura das ligações que formam a rede de gel promovida pela desnaturação proteica durante a estocagem congelada.

3.4. ANÁLISE DO PERFIL ELETROFORÉTICO

Nos eletrogramas (géis de eletroforese), identifica-se a Miosina com a proteína de maior massa molecular com aproximados 200 kDa. SOTELO et al. (2008) afirmam que a densidade das bandas da miosina diminui durante o tratamento térmico, devido ao fenômeno do "assentamento" onde se dá uma agregação

proteica, gerando as ligações cruzadas interpeptídicas, que dão origem a rede tridimensional, retendo grande quantidade de água e formando o gel de “surimi”.

Analisando a Figura 24, nota-se que, a partir dos 120 dias de estocagem, a miosina (MHC) apresenta novas bandas com tamanhos menores, evidenciando produtos de sua degradação/desnaturação (Fig.24-e,f,g). A actina não apresenta o mesmo padrão, o que indica, possivelmente, maior estabilidade à estocagem congelada. Resultados semelhantes foram obtidos por Benjakul et al. (1997) em seu estudo sobre pescada do Pacífico, que revelou a miosina (MHC) mais propensa à degradação proteolítica do que o outras proteínas, por exemplo a actina.

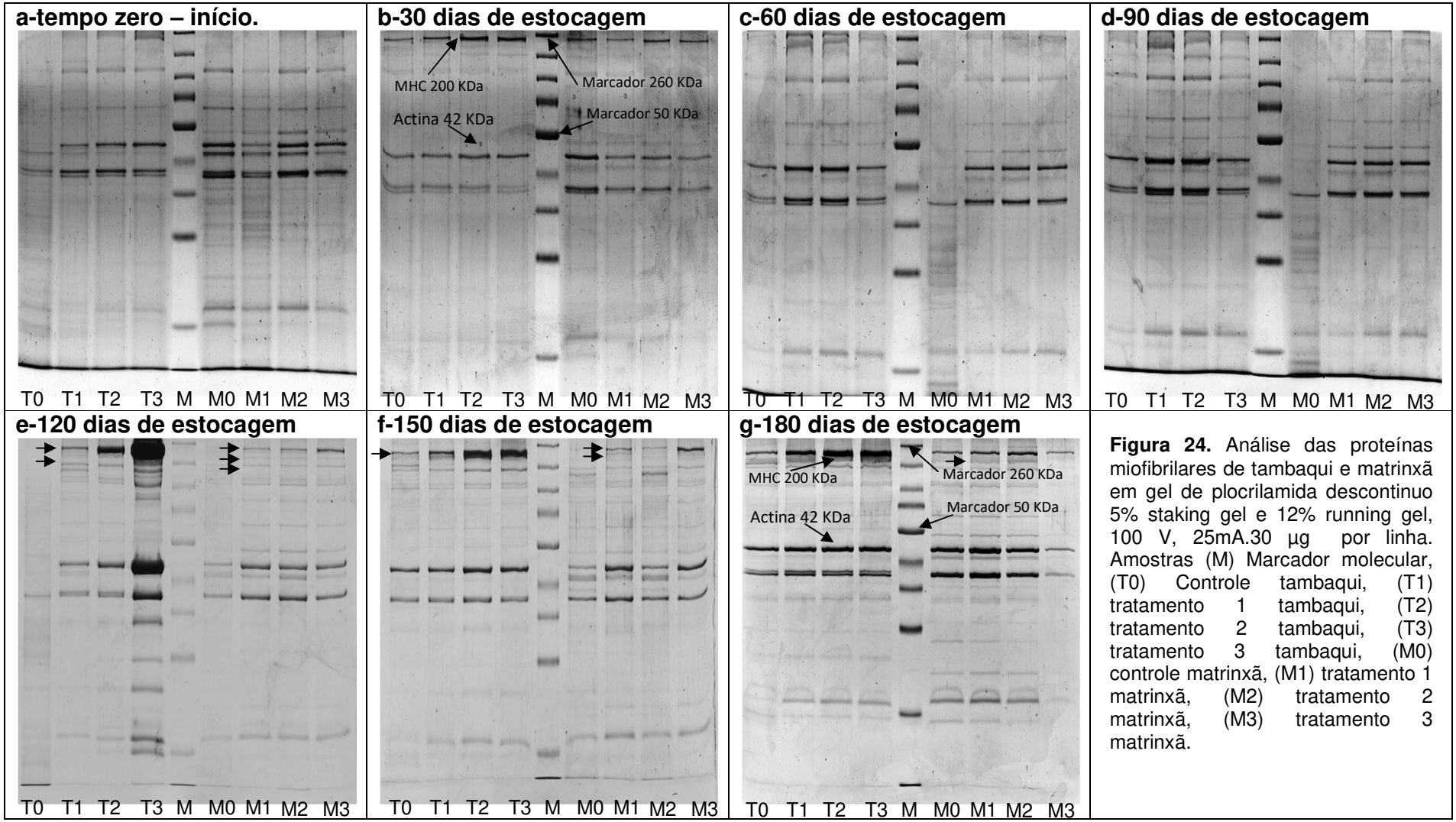


Figura 24. Análise das proteínas miofibrilares de tambaqui e matrinxã em gel de plocrilamida descontinuo 5% staking gel e 12% running gel, 100 V, 25mA.30 µg por linha. Amostras (M) Marcador molecular, (T0) Controle tambaqui, (T1) tratamento 1 tambaqui, (T2) tratamento 2 tambaqui, (T3) tratamento 3 tambaqui, (M0) controle matrinxã, (M1) tratamento 1 matrinxã, (M2) tratamento 2 matrinxã, (M3) tratamento 3 matrinxã.

4. CONCLUSÕES

- A capacidade de retenção de água (CRA), sofre forte influência do tempo de estocagem congelada, sendo mais eficientes os crioprotetores adicionados ao nível de 4% de sacarose, 4% de sorbitol e 0,5% de tripolifosfato de sódio;
- A solubilidade proteica, embora apresente diferença estatística para os tratamentos e o tempo, não mostrou grandes variações ao longo da estocagem congelada;
- Os tratamentos não tiveram fortes efeitos sobre a textura dos géis, entretanto o tempo de estocagem diminuiu significativamente os resultados a partir dos 90 dias sob congelamento;
- O perfil eletroforético confirmou as alterações provocadas pelo tempo de estocagem congelada, sendo mais pronunciadas a partir dos 120 dias de conservação.

5. REFERÊNCIAS

AN, H.; PETERS, M.Y.;SEYMOUR,T.A. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. ***Trends in Food Science and Technology***, v.7, p.321-326, 1996.

ANDRADE, E. G.; JESUS, R. S.; FALCÃO, P. T.; LESSI, E. "Minced" de pescados de la acuicultura amazônica: evaluación de calidad. ***Infopesca Internacional,*** n.44, p.39-43, 2010.

ANWAR C.; TSAO, C. - Y.; HSIAO, H. - I.. EFFECT OF CRYOPROTECTANTS ON THE QUALITY OF SURIMI DURING STORAGE AT - 20 ^{o}C. ***Annals. Food Science and Technolog,*** Vol. 14, Issue 2., 199 – 205. 2013.

BENJAKUL, S.; MORRISSEY, M. T. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry***, 45, 3423–3430. 1997.

BRAZ SILVA, M. A. JESUS, R. S. Alterações na composição química e capacidade de formação de gel em "minced fish" lavado e não lavado de peixes de água doce da Amazônia. ***In: XII Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca***, 2001, Paraná. Completo. Foz do Iguaçu: Associação dos Engenheiros de Pesca da Região Sul, 2001. v. Único.

CARVALHO, N.L. de A. **Efeitos de fatores físicos e químicos sobre a formação de géis em surimi de duas espécies de peixes comerciais da Amazônia.** Manaus, INPA/UFAM, Biologia Tropical e Recursos Naturais, 2003. 145p. (Tese de Doutorado).

GEIRSDOTTIR, M.; HLYNSDOTTIR, H.; THORKELSSON, G.; SIGURGISLADOTTIR, S. Solubility and viscosity of herring (*Clupea harengus*) proteins as affected by freezing and frozen storage. ***Journal of Food Science***. V. 72, n. 7. p. 376-380. 2007.

GÓMEZ-GUILLÉN, C.; MENDES, R.; MOTERO, P. The effect of washing water parameters (pH, hardness and sodium pyrophosphate content) on the water holding capacity and gelation characteristics of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. Madrid: ***Instituto del Frio,*** 38p. 1997.

HUIDOBRO, A.; MONTERO, P.; BORDEIRAS , A. J. Emulsifing properties of na ultrofiltered protein from minced fish wash water. ***Food Chemistry.***, 61, 339 – 343. (1998).

IBARRA, L. Efectos sobre la calidad y funcionalidad del músculo de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) sometido al almacenamiento en hielo. México: ***Instituto tecnológico de TEPIC***; 2006.

IROSIDE, J.I.M.; LOVE, R.M. Studies on protein denaturation on frozen fish. I. Biological factors influencing the amounts of soluble and insoluble protein present in the muscle of the North Sea Cod. ***Journal of Sciences Food Agriculture***, 9(9):597-604. 1958.

LANIER, T. C.; LEE, C. M. ***Surimi Technology***. New York: Marcel Dekker, p.167–180. 1992.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L. Protein measurement with the folin phenol reagent. ***Biol. Chem***., v.193, p. 265–275, 1951.

MATSUMOTO, J.J. Chemical deterioration of muscle proteins during frozen storage. In J.R. Whitaker and M. Fujimaki, Eds. **Chemical Deterioration of Proteins**. Advances in Chemistry Series, No. 123. Washington, D.C.: American Chemical Society, p.95 - 124.1980.

MEDINA, J. R.; GARROTE, R. L. Determining washing conditions during the preparation of frozen storage from surubi (*Pseudoplatystome coeuscans*) using response surface methodology. ***J. Food Sci.,*** v.67, n.94, p. 1445-1461.2002.

PARK, J. W.; LIN, T. M. J. Surimi: manufacturing and evaluation. In: PARK, J. W. (Ed). ***Surimi and surimi seafood.*** 2 rd ed. New York: Marcel Dekker, p. 33-106, 2005.

RAWDKUEN, S.; SAI-UT, S.; KHAMSORN, S.; CHAIJAN, M.; BENJAKUL, S. Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process. ***Food Chemistry***, 112, 112-119. 2009.

ROUSSEL, H.; CHEFTEL, J. C. Mechanisms of gelation of sardine: influence of thermal processing and various additives on texture and protein solubility of Kamaboko gels. ***Journal Food Science Technology.*** Oxford, v. 25, p 260. 1990.

SCOTT, D. N.; PORTER, R.W.; KUDO, G.; MILLER,R.; KOURY, B. Effect of freezing and frozen storage of Alaska pollock on the chemical and gel forming properties of surimi. ***J. Food Sci***. 53(2):353-358. 1988.

SHABANPOUR, B.; ETEMADIAN, Y. The shelf-life of conventional surimi and recovery of functional proteins from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) muscle by an acid or alkaline solubilization process during frozen storage. ***IJFS***. 15 (1):281-300. 2016.

SOTELO, I.D.; FILOMENA, A.A.; RODRÍGUEZ, J.P. Evaluación de lãs propriedades Del cajro (*Phractocephalus hemiliopterus*) como potecial para la obtención de surimi y proteuctos derivados. ***Rev. MVZ Córdoba***. 13(3):1456-1463. 2008.

SOUZA, F. C. A.; JESUS, R.S.; AGUIAR, J.P.L.; DUNCAN, W.L.P. Estabilidade da carne mecanicamente separada de Aracu (*Schizodon fasciatum*), Jaraqui (*Semaprochilodus* spp.) e Mapará (*Hypophthalmus edentatus*) estocados sob congelamento. ***Bioikos***, Campinas, 28(2):87-94, jul./dez., 2014.

SRIKET, C. Proteases in fish and shellfish: Role on muscle softening and prevention. ***International Food Research Jounal***. 21(1): 433-445, 2014.

SUZUKI, T. **Tecnología de las proteínas de pescado y krill**. Zaragoza: Acribia. 230 p. il. 1981.

WEBER, K.; OSBORN, M. The reliability of molecular weith determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamid gel electrophoresis. ***J. Biol. Chem.,*** v.244, n.16, p. 4406-4412, 1969.

ZAR, J.H. 1996. **Biostatistical Analysis**, 3rd edn. Prentice Hall International Editions, Upper Saddle River, NJ, USA.

CAPÍTULO III

EFEITO DE INIBIDORES DE PROTEASES NA ATIVIDADE AUTOLÍTICA E PROPRIEDADES DO GEL "KAMABOKO" DOS "SURIMIS" DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E MATRINXÃ (*Brycon amazonicus*)

RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar o uso de inibidores de grau alimentício na atividade autolítica e sua influência na obtenção do gel "kamaboko" dos "surimis" de tambaqui e matrinxã. Os inibidores de proteases: extrato de batata (1, 3, e 5%), Ovoalbumina (1, 3, e 5%) e Isolado proteico de soja (1, 3, e 5%) foram adicionados aos "surimis" de cada espécie, e a atividade autolítica, perfil eletroforético e características de textura e cor foram avaliadas. Os resultados mostraram que a proteína de soja a 5% foi mais eficiente, inibindo em torno de 60% da atividade autolítica nos surimis de tambaqui e matrinxã. Tanto a soja como o extrato de batata apresentaram bons resultados indicando que as serino-proteases possam desempenhar importante papel na atividade proteolítica muscular de ambas as espécies. Na avaliação da textura e cor, os resultados mostraram que a adição de inibidores melhorou a elasticidade dos géis através do teste da dobra, onde todos os tratamentos obtiveram conceito AA. Os dados de Força de Gel (gxcm) para o "kamaboko" de tambaqui mostraram que apenas o extrato de batata a 1% de adição não incrementou a textura, entretanto sendo estatisticamente igual ao controle. No "kamaboko" de matrinxã, a força de gel foi melhor nos tratamentos com ovoalbumina 5% e proteína isolada de soja a 3 e 5%, mas apresentou resultados negativos para o extrato de batata. A proteína de soja e o extrato de batata causaram perdas na brancura do produto, embora tenham ficado acima de 70%. Concluiu-se assim que a proteína isolada de soja é o inibidor mais eficiente para ambas as espécies.

Palavras-chave: proteinases, gel-kamaboko, surimi, tambaqui, matrinxã.

ABSTRACT

This study was aimed at evaluating the use of food grade inhibitors during the autolysis process and their influence on obtaining kamaboko gel from surimi of tambaqui and matrinxã. Protease inhibitors present in potato extract (1, 3, and 5%), ovalbumin (1, 3, and 5%) and soy protein isolate (1, 3, and 5%) were added to the surimi of each species, and their autolytic activity, electrophoretic profile, texture, and color characteristics were evaluated. The results showed that 5% soy protein isolate was the most effective, inhibiting around 60% of the autolytic activity in surimi of tambaqui and matrinxã. Both soybean and potato extracts yielded good results which indicated that serine proteases can play an important role in the muscle proteolytic activity of both the species. Further, the results of texture and color evaluation showed that the addition of inhibitors improved the elasticity of the gels, measured via a folding test, where all treatments obtained AA concept. Gel strength measurements (g.cm) for tambaqui "kamaboko" indicated that only the potato extract (1%) treatment did not improved its texture; however, it was statistically equal to that of the control. In the case of the kamaboko gel obtained from matrinxã, gel strength improved after the treatments with ovalbumin (5%) and isolated soy protein (3% and 5%), but presented negative results when potato extract was used. Soy protein and potato extracts caused losses in the "whiteness" of the product, although the values were still above 70%. To conclude, soy protein isolate acted as the most efficient inhibitor for both the species.

Keywords: *Enzyme Inhibition, proteinase, surimi, tambaqui, matrinxã.*

1. INTRODUÇÃO

O “surimi” é um produto intermediário de pescado semiprocessado, obtido por repedidas lavagens da carne triturada para remover gordura, pigmentos e outras substancias solúveis, seguida de adição de agentes crioprotetores (COSTEZ-VEJA; FONSECA; PRENTICE, 2012). Teve sua origem no Japão em 1115 (MORRISSEY e TAN, 2000; SUZUKI, 2010) e desde então, vários produtos foram criados e modificados, como “kamaboko”, “satsumaage”, “chikuwa” e “hanpen”, as quatro formas básicas de produtos a base de “surimi” (PARK, 2013).

No “surimi”, a textura é um dos mais importantes atributos, avaliada no “kamaboko”, por meio de testes na capacidade de geleificação - uma propriedade funcional das proteínas de peixe. A formação desses géis constitui a base da fabricação de produtos análogos elaborados a partir do “surimi” ou pescado triturado (CARVALHO, 2003).

Os géis de proteínas de pescado, afirma Lanier (1986), são “hidrogéis” formados por ligações cruzadas, quando as proteínas são dispersas em água e que originam uma matriz tridimensional contínua, que aprisiona água em seus espaços interiores. A formação dos géis pode ser comprometida pelo fenômeno conhecido como “modori” (gel fraco) que é provocado pela ação de proteases estáveis ao calor, ativadas durante o tratamento térmico, que promovem a ruptura da estrutura proteica organizada da miosina, provocando perda da textura (SUZUKI, 1981).

As proteases são classificadas de acordo com o modo de catálise, em quatro grupos: Serino, Cisteino, Aspártico e metalo proteases (SRIKET, 2014). Os grupos que estão mais associados à diminuição das textura no “surimi” são o grupo serino - onde as principais proteases são a tripsina e quimotripsina (Klomklao, 2008); e o grupo das cisteíno-proteases – onde estão as Catepsinas B,H,L, bem como a µ-Calpaína e m-Calpaína (LARSEN et al., 2004).

Com o uso de inibidores de proteases de grau alimentício e novos métodos de lavagem, o problema tem sido solucionado. Os inibidores de proteases estão presentes em alguns ingredientes alimentícios que possuem fatores antinutricionais como lecitina, fenóis, e outros fatores, que inibem a atividade das enzimas

chamadas proteinases, proteases ou peptidases, que hidrolisam ligações peptídicas (BARRET, 1994).

A Proteína do Plasma Bovino (BPP) é o mais eficaz inibidor comercial, com melhor inibição para cisteíno proteases, no músculo do badejo do Pacífico uma vez que predomina a catepsina L, enquanto que a clara do ovo é mais eficaz para serino proteases afirmam Weerasinghe, et al., (1996).

Apesar de sua eficácia na inibição de proteases, o BPP, teve o uso limitado devido ao surto de encefalopatia espongiforme bovina - BSE, ou "doença-da-vaca-louca", por isso novos inibidores tem sido investigados (PARK, 2013).

O uso de inibidores de proteases tem sido bastante estudado, entretanto, ainda não foram estabelecidos limites para adição dessas substâncias no “surimi”, que têm sido utilizadas entre 0,5 a 8%.

Este estudo teve por objetivo avaliar o uso de inibidores de grau alimentício na atividade autolítica dos “ surimis” de tambaqui e matrinxã e nas características de textura e cor dos “géis-kamaboko” obtidos dos “surimis”.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Adição de inibidores: foram adicionados a cada “surimi”, preparados a partir do tambaqui e matrinxã, após três ciclos de lavarem, prensagem a 1,5 ton. por 5 min. e refino em peneira (ABNT 30 – 0,6mm), os inibidores de proteases: extrato de batata (1, 3, e 5%), Ovoalbumina (1, 3, e 5%) e Isolado proteico de soja (1, 3, e 5%). Foram divididos em três lotes e imediatamente analisados em triplicata.

2.2. Ensaio de atividade autolítica: para medir os efeitos dos inibidores sobre as proteases foi realizado o ensaio de atividade autolítica de acordo com o método de Morrissey et al. (1993). Os inibidores nas concentrações pré-determinadas foram adicionados ao “surimi” (3 g) e homogeneizados. As amostras com e sem inibidores foram incubadas em “banho-maria” a 60º C por 60 min. Em seguida, 27 mL de tricloroacético ácido (TCA-5%)

resfriado foram adicionados para terminar a reação de autólise. A mistura foi centrifugada a 4000 RPM por 10 minutos em centrífuga refrigerada a 4 ^{o}C. A concentração de peptídeos solúveis liberados no sobrenadante foi medida pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951). As análises foram em triplicata e o percentual de inibição foi calculado da seguinte forma:

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{\text{tirosina (sem inibidor)} - \text{tirosina (com inibidor)} \times 100}{\text{tirosina (sem inibidor)}}$$

2.3. Eletroforese (SDS-PAGE): Para se verificar as alterações ocorridas nas bandas protéicas do "surimi" em decorrência da atividade de enzimas proteolíticas, bem como a eficiência dos inibidores de proteases, foi utilizada a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) (HUIDOBRO, MONTERO e BORDEIRAS, 1998). A coloração dos géis foi em solução contendo ácido acético 10% (v/v), álcool isopropílico 25% (v/v) e Coomassie Brilliant Blue R-250 0,05% por, aproximadamente, 40 minutos. Os géis foram descorados em solução contendo 10% (v/v) de ácido acético e 25% (v/v) de álcool isopropílico, renovando-se a solução a cada 30 minutos até obtenção de revelação nítida (WEBER e OSBORN, 1969).

2.4. Preparo do Gel "Kamaboko": O gel "kamaboko" foi preparado e analisado para cada espécie após 48h do preparo do "surimi". À amostra controle e a cada tratamento totalizando 48 réplicas para cada espécie, foram adicionados 3% de sal e misturados por 5 min, a temperatura de 5 ^{o}C. Em capsulas de 3,0cm de diâmetro por 3,0cm de altura (SUZUKI, 1981; CARVALHO, 2003) foram adicionados 3g do "surimi". No tratamento térmico os géis foram aquecidos em "banho Maria" a 40 ^{o}C por 30 min., seguidos de 90 ^{o}C por mais 20 min. (BENJAKUL et al., 2004). Após o tratamento térmico, as amostras foram transferidas para banhos gelados (0 a 5 ^{o}C) por 15 min. e armazenadas à temperatura de refrigeração por 24 h. antes das análises (SUZUKI, 1981; CARVALHO, 2003).

2.5. Determinação da cor (brancura): o percentual de brancura dos “surimi’ foi determinado de acordo com o recomendado por Park (1994), com auxílio de um fotocolorímetro Kônica Minolta CR 400 (D65). Amostras cilíndricas (3cmx3cm) de “kamaboko” foram analisadas em quadroplicata, descartando-se a média mais distante. Obteve-se os parâmetros *L**, *a** e *b** e aplicou-se na equação abaixo para o cálculo do percentual de brancura:

$$\text{Brancura (\%)} = 100 - \left| (100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2} \right|^{1/2}$$

2.6. Avaliação da textura: a textura do gel “kamaboko” foi realizada usando um texturômetro Stable Micro Systems, modelo TA-XT2 (Fig. 14). A resistência dos géis foi determinada sobre amostras cilíndricas obtidas pelo tratamento térmico de amostras de “surimi” de 3cm altura e 3cm de diâmetro em formas em aço inox. A Força de gel (g.cm) foi determinada usando um probe cinlíndrico com diametro 5 mm na velocidae de 1,0 mm/s como realizado por Carvalho (2003). As análises foram realizadas em 6 amostra para cada tratamento mais o controle.

2.7. Teste da dobra: foi realizado em amostras cilindricas de 30 mm de diâmetro e 3 mm de espessura com aproximadamente 2 g de peso. As amostram são dobradas em quatro, primeiro pela metade, seguida novamente pela metade. Os geis foram classifcados de acordo com o proposto por Suzuki (1981).

2.8. Análise Estatística: os dados foram avaliados através de um delineamento inteiramente casualizado e submetido à ANOVA e tukey 5%. A significância de 95% foi adotada para a análise dos resultados (ZAR, 1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ATIVIDADE AUTOLÍTICA

Os resultados para medida de atividade autolítica (Tirosina µg/g) revelaram que o isolado proteico de soja (SP) em 5%, foi o inibidor de proteases com maior eficácia (p=2e-16). Os dados da ANOVA indicaram que houve diferença significativa entre os tratamentos e o controle ao nível de 5% (Figura 25).

O isolado proteico de soja (SP) é um inibidor que atua no sítio ativo de serino-proteases prevenindo, por exemplo, a degradação do músculo de camarão de água-doce como demonstraram Sriket et al. (2012) em seu estudo.

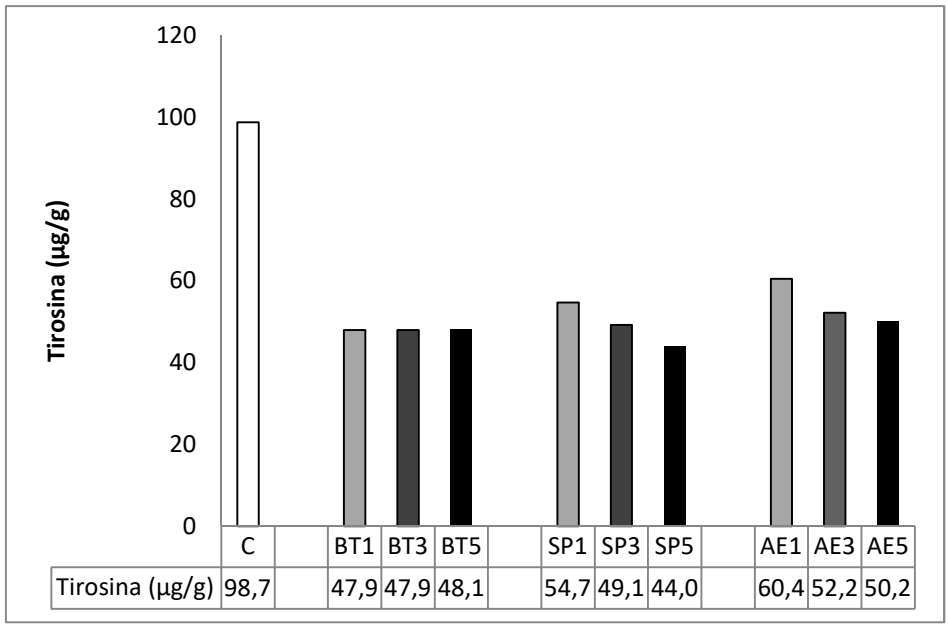


Figura 25. Atividade enzimática no "surimi" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento com inibidores de protease. BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%).

A Figura 26 apresenta o percentual de inibição dos tratamentos testados indicando que o tratamento SP5 inibiu a atividade de proteases em 55,39%, favorecendo a geleificação térmica.

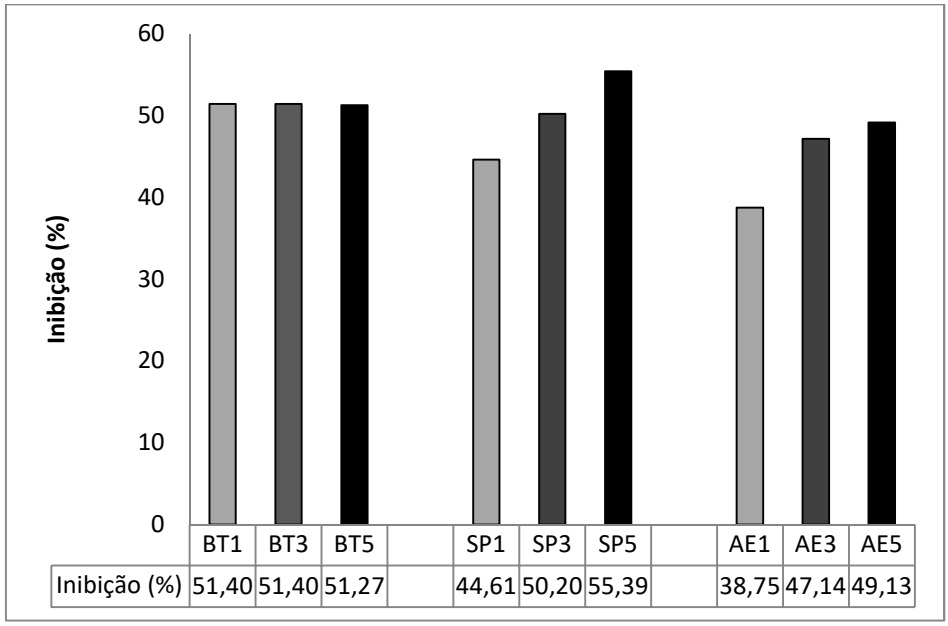


Figura 26. Inibição da atividade enzimática no "surimi" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento com inibidores de protease. BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%).

O inibidor de proteases SP5 também apresentou melhores resultados no "surimi" de matrinxã. A ANOVA indicou que ao nível de 5% de significância houve diferença entre os tratamentos e o controle, bem como dentre os tratamentos (p=0,00062) (Figuras 27 e 28).

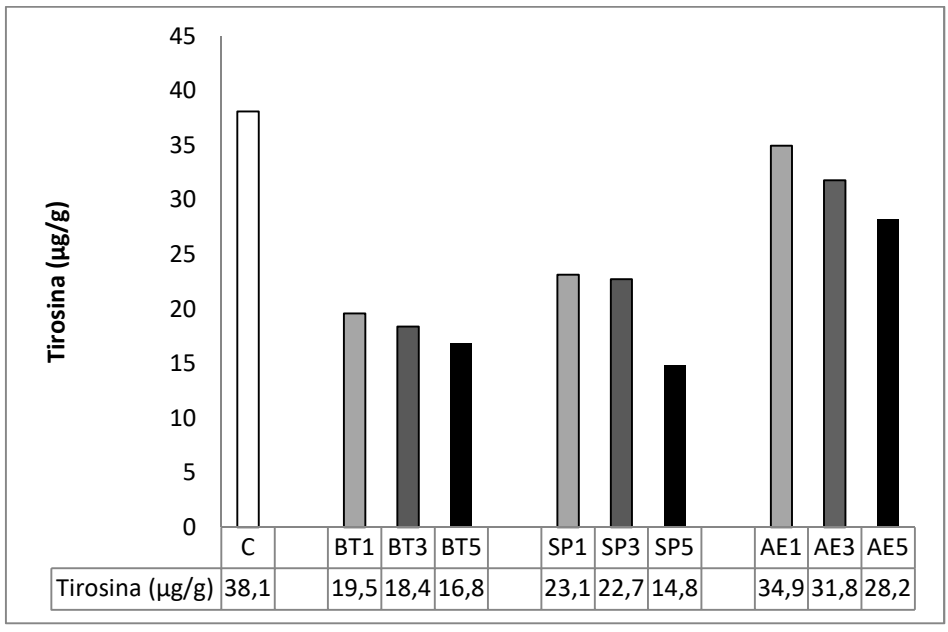


Figura 27. Atividade enzimática no "surimi" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento com inibidores de protease. C = "surimi" sem inibidor de

protease; BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%).

Ao se avaliar os dados por meio do teste de Tukey, encontraram-se indícios para se rejeitar a hipótese de igualdade de média para os pares de tratamentos: BT5-BT1, C-BT5, SP1-BT1, SP5-BT5, SP1-C e SP5-SP1, ou seja, esses pares de tratamento diferiram no resultado do efeito.

O extrato de batata é usado como inibidor atuando no sítio ativo das cisteíno e serino proteases, incrementando a força de gel do "surimi", conforme afirmaram Feeney e Osuga (1988) e Benjakul et al. (2001) em seus estudos.

Os resultados apresentados na figura 28, apenas confirmaram que a atividade autolítica foi menor em SP5 e, portanto com maior percentual de inibição, chegando a 60,8%.

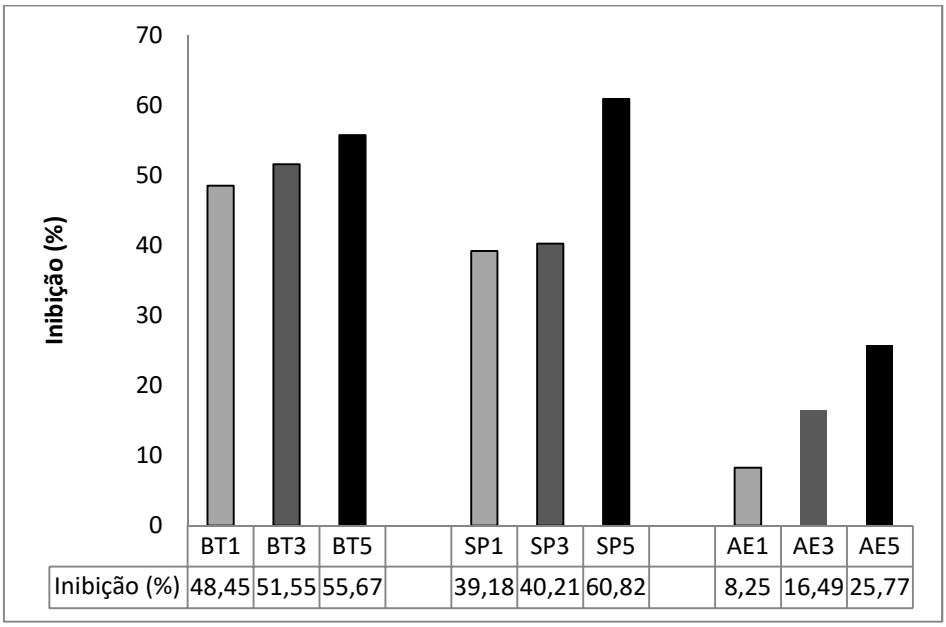


Figura 28. Inibição da atividade enzimática no "surimi" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento com inibidores de protease. BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%).

A ovoalbumina foi testada em três níveis por Benjakul et al. (2004) em "surimi" de peixe-lagarto que encontraram percentual de inibição próximo de 40%, enquanto que para esse estudo o máximo alcançado foi de 28,2% para o tambaqui

e 25,7% para o matrinxã. Os autores afirmam que a ovoalbumina é um inibidor para enzimas do tipo Tripsina e que previne a degradação dos géis de “surimi”.

3.2. PERFIL ELETROFORÉTICO

As Figuras 29 e 30 mostraram que, nos géis de eletrofores, a intensidade da banda foi maior na cadeia pesada da miosina (MHC), na actina e troponina. Nesse estudo as observações foram feitas principalmente quanto às alterações na MHC e actina.

De acordo com SOTELO et al. (2008) a densidade das bandas da miosina diminui durante o tratamento térmico, devido ao fenômeno do “assentamento” onde se dá uma agregação proteica, ficando as bandas mais “apertadas”. Em ambos os géis de eletroforese a intensidade das bandas foi variada.

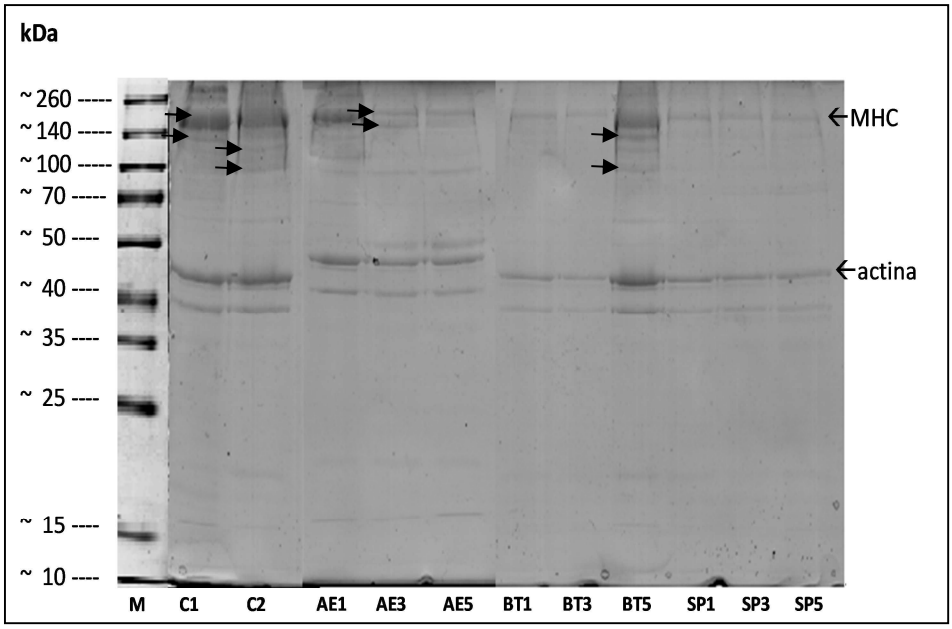


Figura 29. Perfil eletroforético da Inibição da atividade enzimática no “surimi” de tambaqui (*Colossoma macropomum*) por tratamento com inibidores de protease. M= marcador molecular; C1=surimi sem incubação e sem inibidor; C2= surimi com incubação, sem inibidor; BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%).

O perfil eletroforético do “surimi” de tambaqui (Fig.29) mostrou que a miosina, com exceção dos tratamentos BT3, SP1, SP2 e SP5, apresenta bandas com

tamanhos menores indicando que houve autólise das proteínas. A actina não apresentou mudanças perceptíveis.

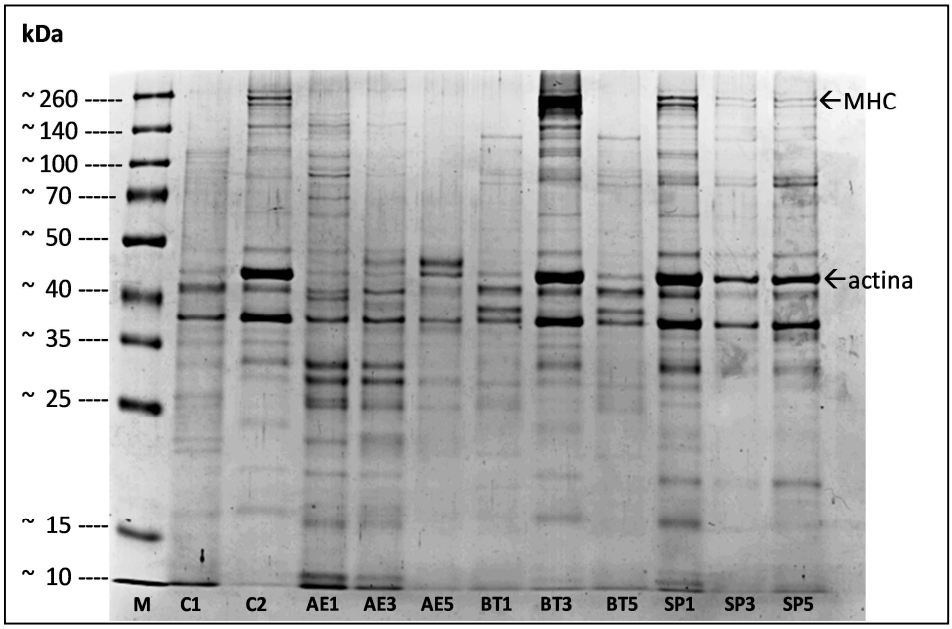


Figura 30. Perfil eletroforético da Inibição da atividade enzimática no "surimi" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) por tratamento com inibidores de protease. M= marcador molecular; C1=surimi sem incubação e sem inibidor; C2= surimi com incubação, sem inibidor; BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%); AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%).

No perfil de eletroforese do matrinxã (Fig.30), considerando que o tratamento térmico diminui a intensidade das bandas e que, quando a proteína analisada apresenta bandas de tamanhos menores ao seu redor é indicativo de autólise, foi possível observar que em todos os tratamentos houve autólise da MHC e que a actina também sofreu autólise em alguns casos.

Em ambos os géis não foi possível estabelece uma correlação entre os resultados da análise de atividade autolítica.

3.3. TEXTURA (FORÇA DE GEL E TESTE DA DOBRA)

A diminuição da textura em peixes e produtos de pescado é critica, pois limita sua vida de prateleira e impede sua comercialização (SRIKET, 2014).

A Tabela 4 apresenta o teste da dobra para o "kamaboko" de tambaqui onde os resultados foram iguais para todos os tratamentos, diferindo, porém do controle. Resultados semelhantes foram obtidos por Carvalho (2003) avaliando o "kamaboko" de jaraqui com aquecimento a 40°C/30 min. seguido de 90°C/30 min. O mesmo não ocorreu com o aracu que obteve conceito "C"- não elástico.

TRATAMENTO	FORÇA DE GEL (g.cm)	TESTE DA DOBRA
C	347,54 ± 15,53	A
AE1	474,32 ± 9,14	AA
AE3	477,51 ± 14,29	AA
AE5	590,52 ± 39,52	AA
BT1	341,95 ± 14,38	AA
BT3	478,05 ± 2,01	AA
BT5	530,48 ± 9,99	AA
SP1	562,90 ± 41,68	AA
SP3	581,70 ± 16,62	AA
SP5	623,79 ± 4,39	AA

Tabela 4. Textura do gel "kamaboko" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%). AA = não se rompe ao dobrar em quatro partes (extremamente elástico); A = não se rompe ao dobrar em duas partes (elasticidade moderada).

Os resultados de Força de Gel (gxcm) para o "kamaboko" de tambaqui estão apresentados na Figura 31. Ao nível de 5% de significância, não houve diferença entre BT1 e o controle. Todos os outros tratamentos tiveram efeito positivo sobre a textura, com valores acima de 400 gxcm. Carvalho (2003) encontrou valores próximos a estes, trabalhando com jaraqui (*Semaprochilodus* spp.). Jafarpour,

Hajiduon e Aie (2012) afirmam em seu estudo com carpa comum que o incremento em ovoalbumina aumenta a força de gel podendo chegar a 41% em relação ao controle. Efeito semelhante foi encontrado por Reppond e Babbitt (1993) para linguado e polaca e por Benjakul et al. (2004) para peixe-lagarto.

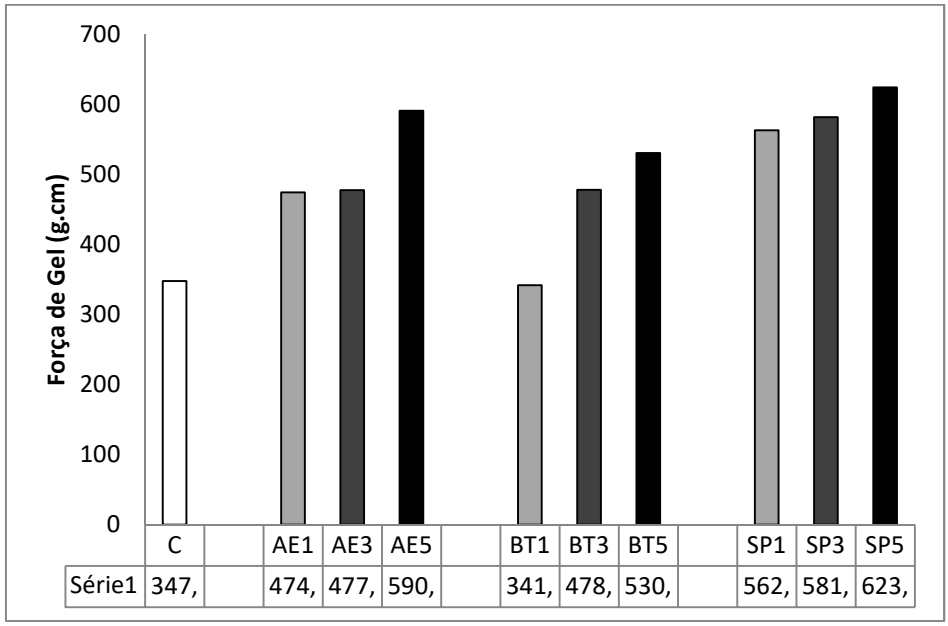


Figura 31. Força de gel no "kamaboko" de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%).

O teste da dobra para o "kamaboko" de matrinxã obteve conceito "AA" – extremamente elástico em todos os tratamentos, enquanto que o controle obteve conceito "A" – elasticidade moderada, indicando efeito positivo dos inibidores de proteases.

TRATAMENTOS	FORÇA DE GEL (g.cm)	TESTE DA DOBRA
C	422,83 ± 12,61	A
AE1	387,33 ± 12,95	AA
AE3	473,14 ± 20,91	AA
AE5	853,02 ± 14,43	AA
BT1	504,15 ± 15,24	AA
BT3	498,58 ± 23,19	AA
BT5	582,70 ± 3,55	AA
SP1	532,79 ± 14,05	AA
SP3	848,19 ± 37,80	AA
SP5	901,40 ± 35,93	AA

Tabela 05. Textura do gel "kamaboko" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%). AA = não se rompe ao dobrar em quatro partes (extremamente elástico); A = não se rompe ao dobrar em duas partes (elasticidade moderada).

Os resultados para a textura do "kamaboko" de matrinxã apresentados na Figura 32, demonstraram que, com exceção do tratamento AE1 (ovoalbumina 1%) todos os outros inibidores levaram a incrementos na textura do produto, embora não tenha havido diferenças estatísticas entre AE1 e o controle. Os demais inibidores, em todos os percentuais, apresentaram diferenças estatísticas com o controle, demonstrando eficiência na inibição de proteases e consequente melhoria da textura.

Os inibidores ovoalbunina a 5% (AE5) e proteína isolada de soja a 3% e 5% (SP3 e SP5), alcançaram os melhores resultados para a força de gel, não apresentando diferença estatística entre si ao nível de 5% de significância.

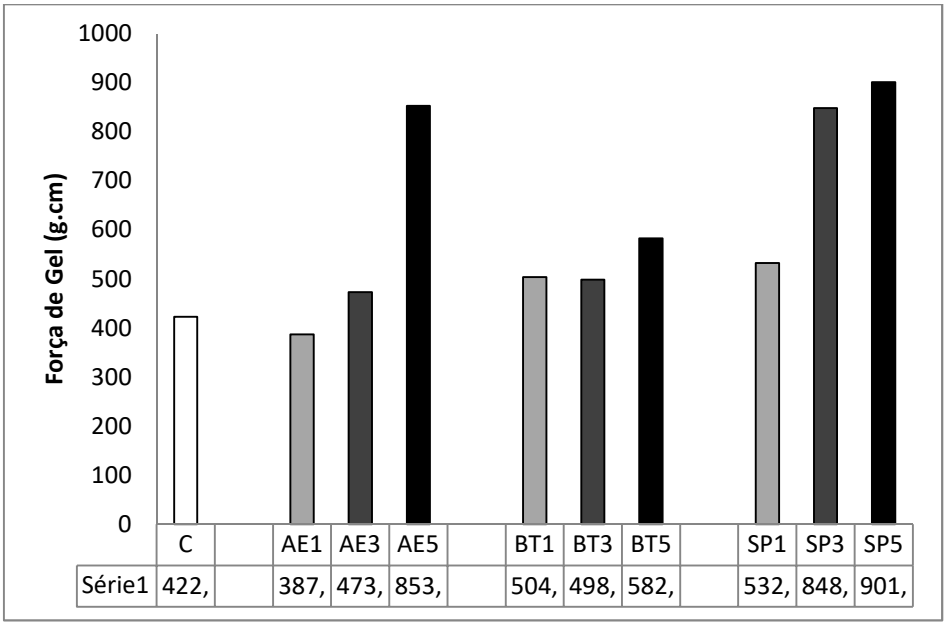


Figura 32. Força de gel no "kamaboko" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%).

3.4. AVALIAÇÃO DA COR (BRANCURA)

Em conjunto com a textura, a cor é um dos atributos considerados importantes na elaboração do "surimi" e seus derivados.

Os resultados apresentados na Figura 33 indicam que a proteína isolada de soja (SP) apresentou efeito negativo na cor do "kamaboko" de tambaqui, diminuindo significativamente a brancura quando comparada ao controle ($p<0,05$). Os tratamentos SP3 e SP5 apresentaram o mesmo efeito entre si, diferindo estatisticamente de SP1. Os resultados corroboram com o estudo de Jafarpour, Hajiduon e Aie (2012) que ao adicionarem proteína de soja ao "surimi" de carpa comum acima de 10% observaram redução da brancura.

Tabilo-Munizaga e Barbosa-Canovas (2004) testaram o extrato de bata a 4% verificaram aumento da brancura. Jafarpour, Hajiduon e Aie (2012) avaliaram a adição de extrato de batata e chegaram à conclusão que a adição de 1% melhora a cor do produto e a adição de 6% não mostrou diferença com o controle. Efeitos negativos, entretanto foram observados na concentração de 12%. Neste estudo,

adições de 1, 3 e 5% alteraram significativamente a cor do “kamaboko” diminuindo a brancura em relação ao controle.

O uso da Ovoalbumina em todas as concentrações afetou positivamente a brancura, não apresentado diferenças estatísticas com o controle (p>0,05). Jafarpour, Hajiduon e Aie (2012) obtiveram o mesmo efeito em gel de “surimi” de carpa quando adições de 1, 2 e 3% melhoraram a brancura, mas não mostraram efeito estatístico. Em contraste, Park (1994) avaliou a adição 1% e notou redução da brancura em polaca do Alaska.

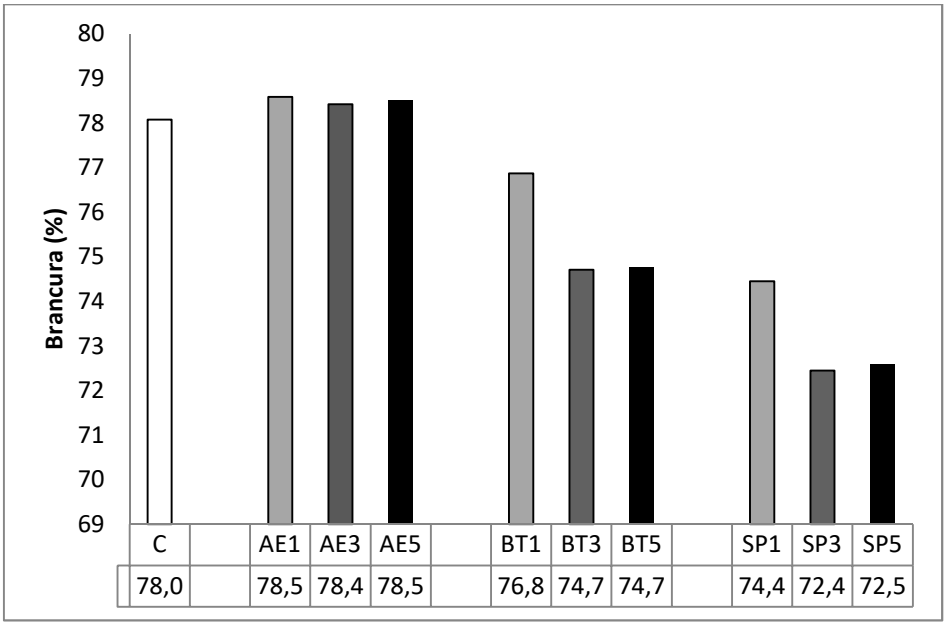


Figura 33. Brancura do “kamaboko” de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após tratamento com inibidores de protease. C = “kamaboko” sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%).

No “kamaboko” de matrinxã (Fig. 34), o efeito do extrato de batata foi adverso, diminuindo a brancura em relação ao controle nos níveis de 3% e 5% (p<0,05). Apenas a 1% de adição não houve diferença com o controle (p=1,00).

A adição de proteína isolada de soja a 1% (SP1) mostrou efeito positivo aumentando a brancura, não apresentando diferença estatística com o controle com 95% de significância. Em nível de 3 e 5%, houve diminuição da brancura no “kamaboko”. Para o gel de “surimi” de carpa comum, Jafarpour, Hajiduon e Aie

(2012) concluíram que a adição de até 10% de proteína de soja não afeta significativamente a brancura, contrapondo a este estudo.

O uso da ovoalbumina nos percentuais de 1, 3, e 5% promoveu aumento da brancura, não apresentado, entretanto, diferenças estatísticas com o controle.

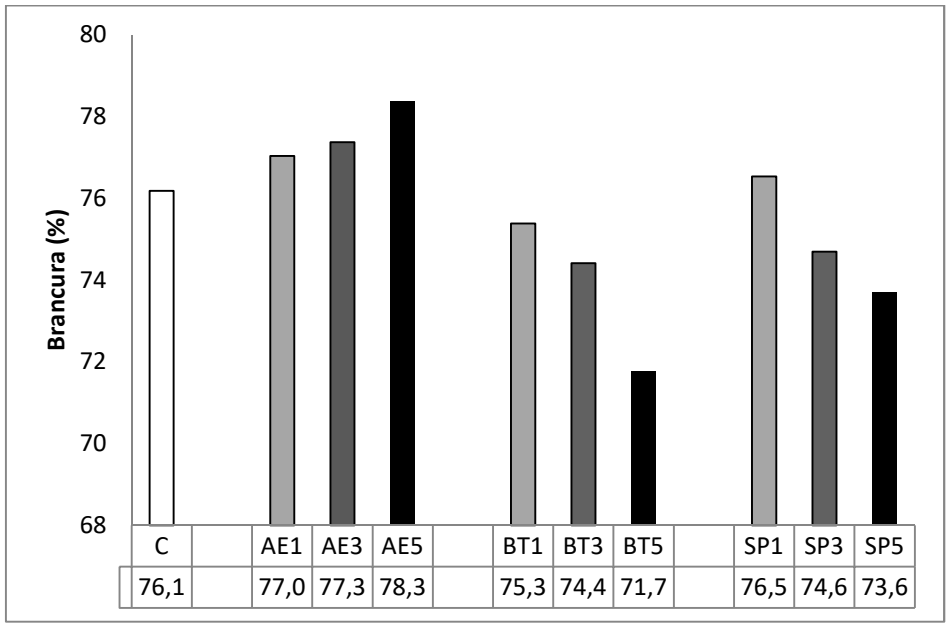


Figura 34. brancura do "kamaboko" de matrinxã (*Brycon amazonicus*) após tratamento com inibidores de protease. C = "kamaboko" sem inibidores; AE = ovoalbumina (1, 3, e 5%); BT = extrato de batata (1, 3, e 5%); SP = isolado proteico de soja (1, 3, e 5%).

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados conclui-se que o isolado proteico de soja (SP) foi o inibidor mais eficiente inibindo em torno de 60% da atividade autolítica em ambos os "surimis".

Os inibidores isolado proteico de soja e extrato de batata apresentaram bons resultados para inibição da autólise no "surimi", o que leva a concluir que é provável que as serino-proteases, tripsina e/ou quimotripisna, sejam as principais proteases nos músculo das espécies estudadas, o que se torna um campo aberto a futuras investigações.

Ao se confrontar os resultados de textura e cor, conclui-se que o uso da Ovoalbumina promoveu os melhores resultados.

A proteína de soja isolada alcançou bons resultados para a textura, no entanto o incremento acima de 1% causa perdas na coloração do produto que mesmo assim permaneceu acima de 70%.

Concluiu-se assim que a proteína isolada de soja é o inibidor mais eficiente para ambas as espécies.

5. REFERÊNCIAS

ALVAREZ, C.; TEJADA, M. Influence of texture of suwari gels on kamaboko gels made from sardine (*Sardina poilchardus*) surimi. ***J. of the Scien. of Food and Agruculture.*** 79, p.472-480. 1997.

AUTIO, K.; KIESVAARA, M. POLVINEN, K. Heat-induced gelation of minced raibow trout (*Salmo gairdnen*): effect pH, sodium chloride and setting. ***J. Food Sci.*** vol. 54, p. 805-812. 1989.

BARRETT, A. J. Classification of peptidases. ***Methods in Enzymology***. New York, academic press. 244: 1-59. 1994.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; SRIVILAI, C. Porcine plasma protein as proteinase inhibitor in bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) muscle and surimi. ***Journal of the Science of Food and Agriculture***. 81(10): 1039-1046. 2001.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TUEKSUBAN, J.; TANAKA, M. Effect of some protein additives on proteolysis and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*). ***Food Hydrocolloids.*** 18(3): 395-401. 2004.

CARVALHO, N.L. de A. **Efeitos de fatores físicos e químicos sobre a formação de géis em surimi de duas espécies de peixes comerciais da Amazônia.** Manaus, INPA/UFAM, Biologia Tropical e Recursos Naturais, 2003. 145p. (Tese de Doutorado).

CORTEZ-VEGA, W.R.; FONSECA, G.G.; PRENTICE, C. Comparisons of the Properties of Whitemouth Croaker (*Micropogonias furnieri*) Surimi and Mechanically

Deboned Chicken Meat Surimi-Like Material. ***Food and Nutition Science***, vol. 3, p. 1480-1483. 2012.

FEENEY, R. E.; OSUGA, D. T. Egg-white and blood-serum proteins functioning by no covalent interactions: Studies by chemical modification and comparative biochemistry. ***Journal of Protein Chemistry*** 7(6): 667-687. 1988.

HUIDOBRO, A.; MONTERO, P.; BORDEIRAS , A. J. Emulsifing properties of na ultrofiltered protein from minced fish wash water. ***Food Chemistry.***, 61, 339 – 343. 1998.

HUNT, A.; GETTY, K.J.K. PARK, J.W. Roles of starch in surimi seafood: A review. ***Food Reviews International***. 25: 299-312. 2009.

JAFARPOUR, A. HAJIDUON, H.-A. AIE, M.R. A comparative study on effect of egg white, soy protein isolate and potato starch on functional properties of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi gel. ***Journal Food Process Technology***.vol. 3, n.11, p. 1-6. 2012.

KLOMKLAO, S. Digestive proteinases from marine organisms and their applications. ***Songklanakarin Journal of Science and Technology***, 30(1): 37-46. 2008.

KUMAZAWA, Y.; NUMAZAWA, T.; SEGURO, K.; MOTORY, M. Suppression of surimi gel setting by inhibitors, ***Journal of Food Science.*** vol. 60, p. 715-717. 1995.

LANIER, T.C.; AKAHANE, T. Methods of retarding denaturation of meat products. United States Patent 4572838.1986.http://www.freepatensonline.com/4572838.html.

LARSEN, A. K.; VEYRA, T. D.; JIA, Z.; WELLS, A.; DUTT, P.; ELCE, J. S. Expression of human, mouse, and rat m-calpains in *Escherichia coli* and in murine fibroblasts. ***Protein Expression and Purification*** 33(2): 246-255. 2004.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L. Protein measurement with the folin phenol reagent. ***Biol. Chem***., v.193, p. 265–275, 1951.

MORRISSEY, M.T.; WU, J.W.; LIN, D.D.; AN, H. Effect of food grade protease inhibitor on autolysis and gel strength of surimi. ***J. Food Sci.*** 58: 1050-1054. 1993.

MORRISSEY, M. T. TAN, S. World resources for surimi. In: PARK, J. W. ed. ***Surimi and surimi seafood***. 1 ed. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 1-21.

OKADA, M. History of surimi technology in Japan. **In:** LANIER, T.C.; LEE, C.M. **Surimi Technology**, ed. New York: Marcel Dekker, p. 3-21. 1992.

PARK, J. W. Functional protein additives in surimi gels. ***J. Food Sci.*** 59:525-527. 1994.

PARK,J.W. **Surimi and Surimi Seafood**, 3rd ed. 666p., CRC Press, Boca Raton, FL. 2013.

REPPOND, K.D.; BABBITT, J.K. Protease inhibitors affect physical properties of arrowtooth flounder and Walleye Pollock surimi. ***Journal of Food Science***, v.58, p.96-98, 1993.

SHIMIZU, Y.; MACHIDA, R.; TAKANAMI, S. Species variation in the gel-forming characteristics of fish meat paste. ***Bulletin of the Japanese Socity of Scientific Fisheries,*** vol. 47, p. 95-104. 1981.

SOTELO, I.D.; FILOMENA, A.A.; RODRÍGUEZ, J.P. Evaluación de lãs propriedades Del cajro (*Phractocephalus hemiliopterus*) como potecial para la obtención de surimi y proteuctos derivados. ***Rev. MVZ Córdoba***. 13(3):1456-1463. 2008.

SRIKET, C.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; HARA, K.; YOSHIDA, A. Retardation of post-mortem changes of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored in ice by legume seed extracts. ***Food Chemistry*** 135(2): 571-579. 2012.

SRIKET, C. Proteases in fish and shellfish: Role on muscle softening and prevention. ***International Food Research Jounal***. 21(1): 433-445, 2014.

SUZUKI, T. **Tecnología de las proteinas de pescado y krill**. Zaragoza, España: Ed. Acríbia, 1981.

SUZUKI, T. History of surimi technology and its future. ***Presented at the 1st Surimi Forum Japan*** (July 20–21), Tokyo, Japan, 2010.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CANOVA, G. V. Pressurized and heat-treated surimi gels as affected by potato starch and egg White: microstructure and water-holding capacity. ***Lebensmittel-Wissenschaft und-Technol.*** 38:47-57. 2005.

WEBER, K.; OSBORN, M. The reliability of molecular weith determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamid gel electrophoresis. ***J. Biol. Chem.,*** v.244, n.16, p. 4406-4412, 1969.

WEERASINGHE, V.C.; MORRISSEY, M.T.; CHUNG, Y.; AN. H. Whey protein concentrate as a proteinase inhibitor in Pacific whiting surimi. ***J. Food Sci****.* 61:367–371, 1996.

ZAR, J.H. 1996. **Biostatistical Analysis**, 3rd edn. Prentice Hall International Editions, Upper Saddle River, NJ, USA.

5. CONCLUSÕES GERAIS

Com base no teor de lipídios o tambaqui foi considerado uma espécie semigorda e o matrinxã, altamente gorda. A composição química foi influenciada pelo processamento que reduziu os componentes nutricionais, exceto a umidade. A lavagem reduziu do teor de proteínas, minerais, lipídios e nifext, entretanto os teores de lipídios ainda são altos para "surimi", indicando ineficiência no processo. O conteúdo de proteínas no "surimi" de tambaqui sofreu reduções acima de 25%, indicando perda de proteínas miofibrilares, provavelmente na lavagem.

A capacidade de retenção de água foi influenciada pelo tempo de estocagem congelada, sendo mais eficientes os crioprotetores adicionados ao nível de 4% de sacarose, 4% de sorbitol e 0,5% de tripolifosfato de sódio.

A solubilidade proteica, não mostrou grandes variações ao longo da estocagem congelada.

Os crioprotetores não tiveram fortes efeitos sobre a textura dos géis, entretanto o tempo de estocagem provocou diminuição a partir dos 90 dias sob congelamento.

O perfil eletroforético confirmou as alterações provocadas pelo tempo de estocagem congelada, sendo mais pronunciadas a partir dos 120 dias de conservação.

Dentre os inibidores, a proteína isolada de soja (SP) foi mais eficiente inibindo em torno de 60% da atividade autolítica em ambos os "surimis".

A proteína isolada de soja e o extrato de batata apresentaram bons resultados para inibição da autólise, o que leva crer que as serino-proteases, tripsina e/ou quimotripisna, sejam as principais proteases nos músculo das espécies estudadas. Entretanto pesquisas necessitam ser feitas para confirmação.

Ao se confrontar os resultados de textura e cor, notou-se que a ovoalbumina promoveu melhores resultados e que a proteína de soja isolada alcançou bons resultados para a textura, no entanto o incremento acima de 1% causa perdas na coloração do produto que, mesmo assim, permaneceu acima de 70%. Portanto, a proteína isolada de soja é o inibidor mais indicado para ambas as espécies.