



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE**

**ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS**

**FURG**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**SECAGEM DE ANCHOITA (*Engraulis anchoita*) NAS FORMAS DE FILÉ E PASTA  
MODIFICADA ENZIMATICAMENTE: PROPRIEDADES TERMODINÂMICAS E  
CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO**

**KELLY DE MORAES**

**Prof. Dr. LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO**  
ORIENTADOR

**RIO GRANDE, RS**

**2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**SECAGEM DE ANCHOITA (*Engraulis anchoita*) NAS FORMAS DE FILÉ E PASTA  
MODIFICADA ENZIMATICAMENTE: PROPRIEDADES TERMODINÂMICAS E  
CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO**

**KELLY DE MORAES**

Tese apresentada como parte  
dos requisitos à obtenção do  
título de Doutor em Engenharia  
e Ciência de Alimentos

**Prof. Dr. LUIZ ANTONIO DE ALMEIDA PINTO**  
ORIENTADOR

**RIO GRANDE, RS**

**2011**

Aos meus pais Hildegard e Alberto (*in  
memorian*), pelo encorajamento, amor e  
ensinamentos que formaram os  
alicerces de minha história.

A Isabella, minha filha, fonte de toda  
força e vontade que carrego comigo ao  
despertar de cada manhã

Dedico.

“O ser humano vivência a si mesmo, seus pensamentos como algo separado do resto do universo - numa espécie de ilusão de ótica de sua consciência. E essa ilusão é uma espécie de prisão que nos restringe a nossos desejos pessoais, conceitos e ao afeto por pessoas mais próximas. Nossa principal tarefa é a de nos livrarmos dessa prisão, ampliando o nosso círculo de compaixão, para que ele abranja todos os seres vivos e toda a natureza em sua beleza. Ninguém conseguirá alcançar completamente esse objetivo, mas lutar pela sua realização já é por si só parte de nossa liberação e o alicerce de nossa segurança interior”

*(Albert Einstein)*

## AGRADECIMENTOS

A DEUS por estar presente me proporcionando a vida, força de vontade e saúde para conquistar mais esta etapa.

Ao meu querido pai, que não está mais aqui, mas estará sempre presente em nossos corações...isso era o que você mais queria...esta conquista também é sua...eu tenho o melhor de você...não desisto nunca.....obrigada por ser sua filha...me orgulho muito disso...

A minha amada filha Isabella pelo carinho e compreensão, apesar da idade, nas horas que a mamãe precisava trabalhar...você é tudo pra mim!!!

Ao Eduardo, pelo carinho, apoio, confiança, incentivo e “financiamento”...passamos por momentos muito difíceis...essa vitória é nossa.

A minha mãe, a mulher mais forte que eu conheço, pelo amor dedicado em cada minuto, mesmo à distância, sempre me incentivou, protegeu e acreditou que eu alcançaria meus sonhos...

Aos meus irmãos, pelo carinho e pelo exemplo de profissionalismo... obrigada por sempre acreditarem em mim...

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Antônio de Almeida Pinto, pelo carinho, paciência, dedicação, profissionalismo, e principalmente por nos ensinar a “virar gente grande”...O Sr. é um excelente mestre...

Ao Dr. Paulo Nunes, sem a sua ajuda eu não teria conseguido...

À colega e amiga Catarina...pela amizade e paciência ao longo destes 11 anos...

Aos colegas de laboratório Ana Paula, Jaqueline, Bruna, Mery Luiza, Luana, Vanessa, Micheli, Guilherme, Sidney, Ériksen, Vódice e Jaques. Pela ajuda, amizade e convivência que tornaram possível a realização deste trabalho.

As professoras e ex. colegas de doutorado Elizangela e Valéria, pela amizade, convivência e exemplo de profissionalismo.

Aos doutorandos Willian, Micheli e Vivian, pela amizade, carinho e apoio na realização de uma parte do trabalho...adoro muito vocês...

Aos meus amigos Renata, Gustavo, Cláudia e Sandra...somos uma turma unida...muito obrigada pela amizade, carinho e apoio...adoro muito vocês...

Aos amigos do posto Dani, Ana, Aninha”, Arian, Paulo, Charles e Cláudia, pela amizade e descontração na hora do cafezinho.

À professora Dra. Eliana Badiale Furlong, pelos ensinamentos, exemplo de profissionalismo, ética...Muito do que sei hoje aprendi com a Sra...

À professora Dra. Christiane, pela amizade e colaboração.

Aos Professores da Oceanografia Lauro Saint Pastous Madureira e Gilberto Henrique Griep, que tornaram possível a realização deste trabalho.

A todos os professores da pós-graduação, pelo conhecimento e aprendizado adquiridos.

Às secretárias Islanda e Aline, pela amizade, carinho e atenção ao longo deste período.

Ao Egidio (Tio do Xerox) que sempre se prontificou a receber em qualquer hora muito material para fotocopiar.

À Universidade Federal do Rio Grande, pela formação profissional.

Ao Governo Federal representado pela Capes e CNPq e ao povo Brasileiro, pelo incentivo à pesquisa.

## SUMÁRIO

<b>NOMENCLATURA.....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	4
1.1 Objetivos.....	7
1.1.1 Objetivo Geral.....	7
1.1.2 Objetivos Específicos.....	7
1.2 Antecedentes.....	7
<b>CAPÍTULO II</b>	
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 Aspecto nutricional do pescado.....	10
2.1.1 Estrutura e composição do músculo de pescado.....	10
2.1.2 Anchoita.....	11
2.2 Hidrólise enzimática de proteínas.....	14
2.2.1 Propriedades bioativas.....	17
2.3 Oxidação de lipídios e proteínas.....	18
2.4 Água nos alimentos.....	20
2.4.1 Isotermas de sorção.....	21
2.4.2 Propriedades termodinâmicas.....	23
2.5 Secagem.....	27
2.5.1 Cinética de secagem.....	30
2.5.2 Secagem em leito de jorro.....	32
<b>CAPÍTULO III</b>	
3 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	38
<b>ARTIGO 1: Isotermas de dessorção e propriedades termodinâmicas de filés de anchoita (<i>Engraulis anchoita</i>) in natura e modificado enzimaticamente.....</b>	<b>39</b>
1 Introdução.....	41
2 Material e Métodos.....	43
2.1 Material.....	43
2.2 Métodos.....	43
2.2.1 Obtenção de filé.....	43
2.2.2 Modificação enzimática.....	44
2.2.3 Obtenção das isotermas de sorção.....	44
2.3 Análise do dados.....	45
2.3.1 Modelos de isotermas.....	45
2.3.2 Cálculo das propriedades termodinâmicas.....	46
3 Resultados e Discussão.....	50
3.1 Isotermas de sorção.....	50
3.2 Propriedades termodinâmicas.....	54
4 Conclusão.....	67
5 Referências.....	68
<b>ARTIGO 2: Secagem convectiva de filé de anchoita: cinética de secagem e caracterização do produto final.....</b>	<b>73</b>
1 Introdução.....	75
2 Material e Métodos.....	76
2.1 Material.....	76
2.2 Secagem.....	77
2.2.1 Cinética de secagem.....	78

2.3	Metodologia Analítica .....	80
2.3.1	Composição proximal.....	80
2.3.2	Solubilidade .....	80
2.3.3	Digestibilidade <i>in vitro</i> .....	81
2.3.4	Lisina e metionina disponíveis.....	81
2.3.5	Atividade antioxidante específica .....	82
2.3.6	Cor .....	83
2.3.7	Oxidação lipídica.....	83
2.4	Análise Estatística.....	84
3	Resultados e Discussão.....	84
3.1	Cinética de secagem.....	84
3.2	Caracterização da matéria prima e dos produtos desidratados .....	90
4	Conclusão .....	98
5	Referências.....	99
	<b>ARTIGO 3: Otimização e cinética de secagem convectiva em camada delgada de uma pasta modificada enzimaticamente obtida de anchoita.....</b>	<b>106</b>
1	Introdução .....	108
2	Material e Métodos.....	110
2.1	Material .....	110
2.2	Obtenção da pasta modificada enzimaticamente .....	110
2.3	Secagem da pasta de anchoita modificada .....	111
2.3.1	Cinética de secagem.....	112
2.3.2	Delineamento Experimental .....	114
2.4	Metodologia Analítica .....	114
2.4.1	Composição proximal.....	114
2.4.2	Oxidação lipídica.....	114
2.4.3	Lisina disponível .....	115
2.4.4	Atividade antioxidante específica .....	116
2.4.5	Cor.....	116
2.5	Análise Estatística.....	117
3	Resultados e Discussão.....	118
3.1	Caracterização da pasta modificada úmida.....	118
3.2	Cinética de Secagem da pasta modificada.....	119
3.3	Análise estatística da secagem .....	125
3.3.1	Otimização estatística .....	128
4	Conclusão .....	134
5	Referências.....	135
	<b>ARTIGO 4: Secagem em leite de jorro de pasta de anchoita modificada enzimaticamente: avaliação da qualidade protéica.....</b>	<b>141</b>
1	Introdução .....	143
2	Material e Métodos.....	145
2.1	Material .....	145
2.2	Obtenção da suspensão protéica modificada enzimaticamente .....	145
2.3	Secagem.....	145
2.3.1	Delineamento experimental.....	146
2.4	Metodologia analítica .....	147
2.4.1	Composição proximal.....	147
2.4.2	Determinação do grau de hidrólise.....	147
2.4.3	Lisina disponível .....	148
2.4.4	Atividade antioxidante específica .....	148
2.4.5	Quantificação dos aminoácidos.....	149
2.5	Análise estatística .....	150
3	Resultados e Discussão.....	151

3.1	Caracterização do MNM e da SPME.....	151
3.1.1	Análise estatística da secagem.....	153
3.1.2	Avaliação da qualidade protéica.....	157
4	Conclusão.....	160
5	Referências.....	161
<b>CAPÍTULO IV</b>		
4	CONCLUSÃO GERAL.....	168
4.1	Sugestões para trabalhos futuros.....	169
<b>CAPÍTULO V</b>		
5	REFERÊNCIAS.....	171
<b>CAPÍTULO VI</b>		
6	APÊNDICE.....	189

## NOMENCLATURA

$a_i$	parâmetro de ajuste	
$A_i$	parâmetro de ajuste	
$A_{H_2O}$	área de uma molécula de água	$m^2$
$a^*$	vermelho/verde	
AAE	atividade antioxidante específica	$(\mu M_{DPPHseq}/g_{ptna\ sol\ min})$
$a_w$	atividade de água	
$b^*$	amarelo/azul	
$b_n$	coeficientes regressão modelo estatístico	
$C_B$	constante modelo BET	
$C_G$	constante do modelo GAB	
Def	Difusividade efetiva mássica	$(m^2/s)$
$D_0$	Fator pré exponencial de Arrhenius	$(m^2/s)$
DRM	desvio relativo médio	(%)
$E_a$	energia de ativação	$(kJ/mol)$
EQ	escore químico	
E:S	Relação enzima:substrato	
$F_c$	F de “Fisher” calculado	
$F_t$	F de “Fisher” tabelado	
GH	grau de hidrólise	(%)
GL	graus de liberdade	
k	constante modelo GAB	
$K_B$	Constante de Boltzman	$(J/K)$
$K_n$	constante de secagem	$(min^{-1})$
$L^*$	luminosidade preto/branco	
L	espessura da amostra	(m)
Lm	espessura média da amostra	(m)
MAGH	modificado alto grau de hidrólise	
MBGH	modificado baixo grau de hidrólise	
MDA	malonaldeído	
MMED90	músculo modificado enzimaticamente desidratado a 90°C	
MMED110	músculo modificado enzimaticamente desidratado a 110°C	
MNM	músculo não modificado	

MQ	média quadrática	
N	número de observações	
$N_0$	número de Avogadro	(moléculas/mol)
$n_i$	parâmetro de ajuste cinética secagem	
PB	pele para baixo	
PB2L	pele para baixo escoamento pelos dois lados	
PC	pele para cima	
$PER_{est}$	coeficiente de eficiência protéica estimado	
PM	peso molecular água	(g/mol)
$q_{st}$	calor isostérico de sorção líquido	(kJ/mol)
$Q_{st}$	calor total de sorção	(kJ/mol)
R	constante universal dos gases	(kJ/mol.K)
$R^2$	coeficiente de determinação	
$r_c$	raio crítico	(m)
$r_p$	raio poro	(nm)
REQM	raiz quadrada do erro médio	
RLD	redução da lisina disponível	(%)
$S_0$	área superficial de sorção	(m <sup>2</sup> /g)
S:L	relação sólido líquido	
SQ	soma quadrática	
SPME	suspensão protéica modificada enzimaticamente	
t	tempo	(min)
$t$	espessura do filme da multicamada	(nm)
T	temperatura	(K)
TBA	índice de ácido tiobarbitúrico	(mg <sub>MDA</sub> /kg <sub>amostra, bs</sub> )
$T_{hm}$	temperatura média harmônica	(K)
$T\beta$	temperatura isocinética	(K)
$v_{jm}$	velocidade de jorro mínimo	(m/s)
$V_m$	volume molar adsorbato estado líquido	(m <sup>3</sup> /mol)
X	conteúdo de umidade	kg/kg <sub>sólido seco</sub>
$X_0$	umidade inicial	kg/kg <sub>sólido seco</sub>
$X_e$	umidade de equilíbrio	kg/kg <sub>sólido seco</sub>
$X_m$	umidade de monocamada	kg/kg <sub>sólido seco</sub>
$X_n$	variáveis codificadas	kg/kg <sub>sólido seco</sub>
$X_{e_i}$	umidade de equilíbrio experimental	kg/kg <sub>sólido seco</sub>

$X_{p_i}$	umidade de equilíbrio predita pelo modelo	$\text{kg/kg}_{\text{sólido seco}}$
$Y$	adimensional de água livre	
$Y_n$	resposta predita pelo planejamento experimental	
$\Delta h_d$	Entalpia diferencial de sorção	(kJ/mol.K)
$\Delta S_d$	Entropia diferencial de sorção	(J/mol.K)
$\Delta h_{in}$	Entalpia integral de sorção	(kJ/mol.K)
$\Delta S_{in}$	Entropia integral de sorção	(J/mol.K)
$\phi$	<i>Spreading pressure</i> ou potencial de superfície	(J/m <sup>2</sup> )
$\lambda$	calor latente de vaporização da água	(kJ/mol)

## ABREVIATURAS

$aa_{\text{ess}}$	aminoácidos essenciais
bs	base seca
bu	base úmida
est	estimado
ptna	proteína
seq	sequestrado
sol	solúvel
V	vazão
[ ]	concentração
T	temperatura

## LISTA DE TABELAS

Tabela1: Modelos empíricos e semi-empíricos para secagem de alimentos. ....	32
<b>ARTIGO 1: Isotermas de dessorção e propriedades termodinâmicas de filés de anchoita (<i>Engraulis anchoita</i>) <i>in natura</i> e modificado enzimaticamente</b>	
Tabela 1: Diferentes modelos para determinação das isotermas de sorção. ....	45
Tabela 2: Parâmetros estimados para os modelos selecionados de equações de isoterma de sorção para filés <i>in natura</i> e modificado enzimaticamente em diferentes condições. ....	53
Tabela 3: Valores de área superficial específica de dessorção calculados pelos modelos de GAB para as amostras de filé <i>in natura</i> , MBGH e MAGH em diferentes temperaturas. ....	55
Tabela 4: Tamanho médio dos poros para os filés <i>in natura</i> , MBGH e MAGH, à diferentes temperaturas e conteúdo de umidade. ....	66
<b>ARTIGO 2: Secagem convectiva de filé de anchoita: cinética de secagem e caracterização do produto final</b>	
Tabela 1: Valores dos coeficientes e parâmetros dos modelos de ajuste de curvas de secagem em camada delgada para os filés de anchoita. ....	88
Tabela 2: Valores experimentais de difusividade efetiva de umidade para pasta modificada de anchoita nas diferentes condições de secagem. ....	89
Tabela 3: Caracterização do filé <i>in natura</i> e desidratado nas diferentes condições. ....	92
<b>ARTIGO 3: Otimização e cinética de secagem convectiva em camada delgada de pasta modificada enzimaticamente obtida de anchoita</b>	
Tabela 1: Resultados das análises para a pasta de anchoita modificada enzimaticamente úmida. ....	118
Tabela 2: Parâmetros de ajuste para isoterma de dessorção da pasta modificada. ..	119
Tabela 3: Valores dos coeficientes e parâmetros estatísticos dos modelos de ajuste de curvas de secagem da pasta modificada de anchoita. ....	123
Tabela 4: Valores experimentais de difusividade efetiva de umidade para pasta modificada de anchoita nas diferentes condições de secagem. ....	124
Tabela 5: Resultados da matriz do planejamento experimental fatorial para os experimentos de secagem da pasta de anchoita modificada enzimaticamente. .	126
Tabela 6: Análise de variância (ANOVA) para os modelos estatísticos da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para as respostas TBA, RLD, perda AAE. ....	130

#### **ARTIGO 4: Secagem em leite de jorro de pasta de anchoita modificada enzimaticamente: avaliação da qualidade protéica**

Tabela 1: Variáveis e níveis estudados no processo de secagem em leite de jorro da suspensão protéica de anchoita modificada enzimaticamente. ....	147
Tabela 2: Resultados das análises para o músculo não modificado e da suspensão protéica de anchoita modificada enzimaticamente. ....	151
Tabela 3: Resultados da matriz do planejamento experimental misto para os experimentos de secagem em leite de jorro da suspensão. ....	153
Tabela 4: Análise de variância dos fatores de estudo da secagem em leite de jorro para as respostas consideradas.....	155
Tabela 5: Perfil de aminoácidos e escore químico (EQ) para os músculos modificados enzimaticamente desidratados a 90°C (MMED90) e 110°C (MMED110).....	158

#### **APÊNDICES**

Tabela 1: Valores de atividade de água, para várias concentrações de ácido sulfúrico, em diferentes temperaturas.....	189
Tabela 2: Concentração de proteína para determinação da AAE dos filés in natura e desidratados.....	189
Tabela 3: Solubilidade e concentração de proteína para determinação da AAE da pasta modificada úmida e desidratada. ....	190
Tabela 4: Solubilidade e concentração de proteína para determinação da AAE da SPME e do produto desidratado.....	190

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Anchoita ( <i>Engraulis anchoita</i> ).....	11
Figura 2: Estimativa da composição proximal de pescados gordos, incluindo a anchoita, em função do conteúdo de água nas migrações.....	13
Figura 3: Isotermas de sorção típicas de alimentos.....	22
Figura 4: Representação esquemática dos três estágios de mecanismo de sorção em alimentos. ....	22
Figura 5: Esquema do processo de secagem de um material sólido. ....	27
Figura 6: Curva da taxa de secagem em função da umidade.....	28
Figura 7: Diagrama esquemático de um leito de jorro cone-cilíndrico.....	33
<b>ARTIGO 1: Isotermas de dessorção e propriedades termodinâmicas de filés de anchoita (<i>Engraulis anchoita</i>) in natura e modificado enzimaticamente</b>	
Figura 1: Dados das isotermas de dessorção a 50, 60 e 70°C, para: a) filé; b) MBGH; c) MAGH. ....	51
Figura 2: Curvas de $[-\ln(a_w)]$ versus $(1/T)$ , em diferentes conteúdos de umidade: (a) Filé <i>in natura</i> ; (b) MBGH- modificado baixo grau de hidrólise; (c) MAGH- modificado alto grau de hidrólise.....	56
Figura 3: Calor total de dessorção para filé de anchoita in natura e modificado enzimaticamente.....	57
Figura 4: Variação da entropia diferencial para filés <i>in natura</i> , MBGH e MAGH em função da umidade de equilíbrio. ....	59
Figura 5: Entalpia diferencial em função da entropia diferencial para filés <i>in natura</i> , MBGH e MAGH.....	60
Figura 6: <i>Spreading pressure</i> em função da atividade de água, das amostras de filés <i>in natura</i> , MBGH e MAGH em diferentes temperaturas. ....	61
Figura 7: Curvas de $[-\ln(a_w)]$ versus $(1/T)$ , em diferentes <i>spreading pressure</i> : (a) Filé; (b) MBGH; (c) MAGH. ....	62
Figura 8: Entalpia integral de dessorção do filé, MBGH e MAGH em diferentes conteúdos de umidade.....	63
Figura 9: Entropia integral de dessorção do filé, MBGH e MAGH em diferentes conteúdos de umidade.....	65
<b>ARTIGO 2: Secagem convectiva de filé de anchoita: cinética de secagem e caracterização do produto final</b>	

Figura 1: Esquema da unidade experimental do secador de bandejas com escoamento paralelo do ar .....	78
Figura 2: Taxa de secagem em função da umidade para os filés de anchoita desidratados a 50, 60 e 70 °C para as disposições do filé e escoamento do ar ...	85
Figura 3: Adimensional de água livre em função do tempo para amostras dos filés de anchoita desidratados a 50, 60 e 70 °C para as disposições dos filés e do escoamento do ar. ....	87
Figura 4: Representação linear de Arrhenius da difusividade efetiva de umidade das amostras de filés de anchoita desidratada. ....	90
<b>ARTIGO 3: Otimização e cinética de secagem convectiva em camada delgada de uma pasta modificada enzimaticamente obtida de anchoita</b>	
Figura 1: Isotermas de dessecção da pasta de anchoita modificada enzimaticamente nas temperaturas de 60, 70 e 80 °C. (valores em triplicata) .....	119
Figura 2: Taxa de secagem em função da umidade para a pasta de anchoita modificada (60, 70 e 80 °C) para as diferentes espessuras.....	121
Figura 3: Adimensional de água livre em função do tempo para a pasta de anchoita modificada nas diferentes temperaturas e espessuras:.....	122
Figura 4: Representação linear de Arrhenius da difusividade efetiva da pasta de anchoita modificada enzimaticamente.....	125
Figura 5: Gráfico de Pareto da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para os efeitos estimados padronizados das respostas: (a) TBA; (b) RLD; (c) Perda AAE.....	129
Figura 6: Superfície de resposta da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para índice de TBA.....	131
Figura 7: Superfície de resposta da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para redução da lisina disponível. ....	132
Figura 8: Superfície de resposta da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para perda da atividade antioxidante.....	133
<b>ARTIGO 4: Secagem em leito de jorro de pasta de anchoita modificada enzimaticamente: avaliação da qualidade protéica</b>	
Figura 1: Esquema do equipamento para secagem em leito de jorro cônico.....	146
Figura 2: Gráfico de Pareto da secagem da suspensão de anchoita modificada enzimaticamente para os efeitos estimados padronizados das respostas: (a) lisina disponível; (b) AAE.....	155

Figura 3: Interação dos efeitos da temperatura, vazão de alimentação e concentração da suspensão para as respostas: (a) lisina disponível; (b) atividade antioxidante específica (AAE). .....	156
---	-----

## **APÊNDICES**

Figura 1: Secador bandejas. ....	191
Figura 2: Secador leite de jorro. ....	191
Figura 3: Curva fluidodinâmica do leite de jorro.....	192
Figura 2: MMED90 .....	192

# CAPÍTULO I

---

(RESUMO GERAL, ABSTRACT, INTRODUÇÃO GERAL)

## RESUMO GERAL

O objetivo deste trabalho foi estudar a secagem de filés de anchoita *in natura* e modificados enzimaticamente, em secadores de leito fixo (camada delgada) e leito móvel (leito de jorro), sendo avaliadas as propriedades termodinâmicas e as características do produto final. Em relação às propriedades termodinâmicas, a modificação enzimática dos filés de anchoita promoveu aumento da umidade de monocamada e das constantes relacionadas às multicamadas. Isto levou a um aumento de até 170% na intensidade da ligação da água, mostrada através das entalpias diferencial e integral, e uma diminuição 193% no número de sítios ativos livres e 520% da mobilidade molecular, mostrada através das entropias diferencial e integral, respectivamente. Com a hidrólise também ocorreu aumento, em média, de 29% na área superficial de sorção e diminuição do tamanho dos poros. O processo de dessorção mostrou ser controlado pela entalpia, sendo espontâneo para o filé *in natura* e não espontâneo para o modificado. Com respeito à cinética de secagem, o aumento da intensidade da ligação da água e diminuição do tamanho dos poros, com a modificação enzimática, acarretou maior dificuldade remoção de água, o que foi comprovado pela diminuição da difusividade efetiva de umidade (Def) do material modificado ( $0,74 \times 10^{-10}$  a  $1,84 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s) em relação aos filés *in natura* com pele voltada para baixo ( $3,3 \times 10^{-10}$  a  $8,6 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s), nas temperaturas estudadas (50, 60 e 70°C). Na secagem dos filés, a menor alteração ocorreu na condição de 60°C para as amostras secas pelos dois lados. Nesta condição, a solubilidade, digestibilidade *in vitro* e atividade antioxidante específica (AAE) diminuíram 25%, 6% e 10%, respectivamente; os conteúdos de lisina e metionina disponíveis foram de 7,21 e 2,64 g/100g<sub>proteína</sub>, respectivamente; o índice de TBA de 1,16 mg<sub>MDA</sub>/kg; a atividade antioxidante específica de 1,91 μM<sub>DPPHseq</sub>/g<sub>ptna sol</sub>min. Em relação à secagem da pasta modificada enzimaticamente, a melhor condição de operação foi a uma temperatura de 60 °C e espessura de 2,5 mm. Nestas condições os produtos apresentaram baixa oxidação lipídica (0,93mg<sub>MDA</sub>/kg), redução na lisina disponível de 16%, estando dentro do limite recomendado para pescado, e perda de 20% na AAE. Na secagem em leito de jorro da suspensão protéica modificada enzimaticamente (SPME), a menor redução no conteúdo de lisina disponível (9%) e a menor perda na AAE (8%) ocorreram a temperatura do ar de entrada de 90°C, concentração da suspensão de 6,5% e vazão de alimentação da suspensão de 200 mL/h. O produto desidratado em leito de jorro caracterizou-se como uma fonte protéica de elevado valor biológico, considerando o perfil de seus aminoácidos essenciais, pois foi capaz de atender às recomendações nutricionais recomendadas pela FAO/WHO.

**Palavras chave:** proteínas de pescado, hidrólise enzimática, isotermas de sorção, propriedades termodinâmicas, secagem convectiva, leito de jorro.

## ABSTRACT

The aims of this work was to study the drying of *in natura* anchovy fillets and enzymatic modified in fixed bed (thin layer) and moving bed (spouted bed) dryers, it was being evaluated the thermodynamic properties and the final product characteristics. In relation to the thermodynamic properties, the enzymatic modification of anchovy fillets showed an increase in monolayer moisture and in constant related to multilayer. Which led to an increase of 170% the intensity of water bound, shown through the differential and integral enthalpies, and a decrease of 193% in the number of free active sites and 520% of the molecular mobility, shown through the differential and integral entropies, respectively. With the enzymatic hydrolysis was also increased of 29% on sorption surface area and consequent reduction in pore size. The desorption process showed to be controlled by enthalpy, being spontaneous for the fillet and non-spontaneous for the modified. With respect to drying kinetics, the increased intensity of water bound and decreased pore size, with the enzymatic modification, resulted in a more difficult removal of water, which can be shown by decreased effective moisture diffusivity ( $Def$ ) of the modified material (from  $0.74 \times 10^{-10}$  to  $1.84 \times 10^{-10}$   $m^2/s$ ) in relation to *in natura* fillet with skin side down (from  $3.3 \times 10^{-10}$  to  $8.6 \times 10^{-10}$   $m^2/s$ ) at studied temperatures (50, 60 and 70 °C). In the drying anchovy fillets the lower change was in condition at 60 °C with air flow for two sides of the samples. In this condition, the solubility, *in vitro* digestibility and specific antioxidant activity decrease 25%, 6% and 10%, respectively; the contents of available lysine and methionine were 7.21 and 2.64  $g/100_{protein}$ , respectively; the TBA value was 1.16  $mg_{MDA}/kg$ . With respect the drying of enzymatic modified fillet (paste), the best drying condition was obtained at 60 °C and thickness sample 2.5 mm, in which the TBA value was 0.93  $mg_{MDA}/kg_{sample}$ , reduction in available lysine about 16% and specific antioxidant activity loss of 20.2%. Drying in spouted bed of paste, the lower reduction in available lysine (9%) and loss of specific antioxidant activity (8%) occurred at 90 °C, 6.5% and 200 mL/h. In these operation conditions, the dehydrated product was characterized as a high biological protein source value, taking into account the essential amino acids profile, it was able meet to recommended by FAO/WHO.

**Keywords:** fish proteins, enzymatic hydrolysis, sorption isotherms, thermodynamic properties, convective drying, spouted bed.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A anchoita (*Engraulis anchoita*) é um pequeno peixe pelágico encontrado no sudoeste do Oceano Atlântico, no Brasil, Uruguai e Argentina os quais compartilham um estoque chamado anchoita "Bonaerense". Estimativas de abundância anuais variam entre 0,6 a 4,5 milhões de toneladas, com variações regionais e anuais nas estimativas de biomassa ao longo das plataformas continentais dos três países. A pesca ocorre predominantemente entre julho e novembro. As capturas em 2006 foram relatados em cerca de 30000 toneladas na Argentina e 17000 toneladas, no Uruguai. Estima-se que até 135000 toneladas de anchoita poderia ser explorado de forma sustentável ao longo da costa sul-sudeste do Brasil. Os três países apresentam diferentes abordagens para a utilização da anchoita. A Argentina, país pioneiro na exploração e produção de anchoita, e é a principal fabricante de diferentes tipos de produtos para consumo humano, que atendem tanto o mercado interno quanto o externo. Mais de 80% desta produção é de pescado salgado e o restante é preparado como agregador de valor de alimentos. Em 2005, a Argentina exportou 26 milhões de dólares em produtos a base anchoita. Atualmente, o Uruguai captura e processa a anchoita exclusivamente como farinha de pescado para consumo animal, embora a preparação de produtos para consumo humano esteja planejado para um futuro próximo (PASTOUS-MADUREIRA et al., 2009). No Brasil, usos alternativos potenciais para novos produtos a base de anchoita foram avaliados com base em protótipos desenvolvidos, e concluiu-se que os novos produtos, tais como, risoto e sopa desidratados, e salsicha têm considerável valor estratégico de mercado (MORAES et al., 2010).

A crescente tendência na produção de alimentos tem sido aumentar a utilização de ingredientes nutritivos. Pescado e produtos marinhos são fontes muito importantes de nutrientes como proteínas, apresentando todos os aminoácidos essenciais, com elevado teor de metionina, cisteína e principalmente de lisina, aminoácido "starter" do processo digestivo e necessário na dieta à base de arroz do brasileiro. Os pescados também são uma boa fonte de lipídios com muitos ácidos graxos poliinsaturados, como EPA e DHA (MORRISON & SABRY, 1963; WANG et al., 1996; CZERNER et al., 2011; USYDUS & SZILINDER-RICHERT, 2011).

Além da importância nutricional, proteínas apresentam propriedades funcionais tecnológicas (solubilidade, capacidade de retenção de água e óleo, propriedades emulsificantes e de espuma), e na última década vêm sendo dada a importância para propriedades bioativas (antioxidantes) (KLOMPONG et al., 2007; ELIAS et al., 2008; FOH et al., 2010; VEGA-GÁLVEZ et al., 2011). Avanços recentes nas áreas de tecnologia e engenharia de alimentos têm demonstrado os benefícios da utilização de enzimas no processamento, principalmente de alimentos protéicos. Assim, aumentam-se as possibilidades de aproveitamento de matéria prima, como pescados de baixo valor comercial, como é o caso da anchoita. A adição de enzimas para hidrolisar proteínas de alimentos é um processo de considerável importância, pois pode melhorar a biodisponibilidade de nutrientes, propriedades funcionais e sensoriais das proteínas nativas sem prejudicar o seu valor nutricional (KRISTINSSON & RASCO, 2000<sup>a</sup>; ABDUL-HAMID et al., 2002; GUAN et al., 2007).

Em busca de alternativas viáveis tecnologicamente, para aproveitar o potencial de pesca da anchoita, gerando produtos de maior valor agregado, a hidrólise enzimática de proteínas de pescado aliada a técnica de secagem, podem ser utilizadas.

A secagem é caracterizada um processo de remoção de umidade devido às transferências simultâneas de calor e massa. O principal objetivo dessa operação é assegurar qualidade e estabilidade a um produto por reduzir sua atividade de água. Além de diminuir a atividade biológica e mudanças químicas e físicas que ocorrem durante o armazenamento. A secagem também proporciona uma vantagem econômica devido à redução de peso e volume do produto. Por outro lado, várias alterações físicas, químicas e biológicas características dos alimentos podem ocorrer durante a operação de secagem. Estas mudanças alteram os aspectos físicos, como cor e estrutura e também pode desenvolver reações bioquímicas indesejáveis, tais como a degradação de compostos aromáticos e substâncias nutritivas. A escolha das condições da operação de secagem de filés de pescado pode afetar características internas e externas do produto final, bem como tempo de produção e homogeneidade em qualidade. As taxas de secagem são limitadas não somente por razões biológicas e microbiológicas, mas também pela possibilidade de escurecimento devido à temperatura do ar, deformação, e fissuras causadas por estresse resultante do encolhimento do músculo (PINTO & TOBINAGA, 2006). Para amenizar este problema, a operação deve ser otimizada a fim de diminuir estas perdas.

O estudo da secagem de materiais sólidos em camada delgada é utilizado para a determinação experimental dos parâmetros que caracterizam a operação, obtendo-se assim um melhor domínio do processo, como também um maior conhecimento dos fundamentos e mecanismos envolvidos (FORTES & OKOS, 1980). As propriedades termodinâmicas de sorção de água são fundamentais para a análise de projetos de equipamentos, e em vários processos de preservação, secagem, armazenamento, acondicionamento e misturas de alimentos (CHIRIFE & IGLESIAS, 1978). Estas propriedades podem ser usadas para estimar a mínima quantidade de energia requerida na desidratação, e fornece informações a respeito do estado da água no produto alimentício. Também, as determinações destas propriedades são necessárias, caso a taxa de sorção de água (adsorção ou dessorção) seja dada em função de um processo simultâneo de transferências de calor e massa, para predizer parâmetros da cinética do fenômeno de sorção e fazer deduções aproximadas da microestrutura e das mudanças físicas que ocorrem na superfície do produto alimentício. As propriedades termodinâmicas podem ser calculadas através de isotermas de sorção, e as principais funções são aquelas que quantificam as entalpias e entropias diferenciais e integrais, fundamentais na análise da exigência energética e predição dos parâmetros cinéticos nos processos de sorção (SINGH et al., 2001; DAS & DAS, 2002; LEWICKI, 2004; ARIAHU et al., 2006; SINGH et al., 2006; HADRISH et al., 2008; MORAES et al.; 2008; OLIVEIRA et al., 2008; ROSA et al., 2010).

Hidrolisados protéicos de pescado são tradicionalmente manipulados na forma líquida e frequentemente são secos por: atomização (*spray drying*), congelamento e liofilização, com intuito de converter esta forma líquida em forma de pó, a qual apresenta maior estabilidade e melhor aparência. Uma alternativa para estes secadores seria a utilização do leito de jorro, que apresenta menores custos de instalação e mantém a qualidade do produto final (BACELOS et al., 2005; MUJUMDAR & HUANG, 2007). O leito de jorro vem sendo bastante usado no Brasil, para a obtenção de produtos químicos, farmacêuticos e alimentícios (RODRIGUES & TOBINAGA, 2001; JACOB-LOPES et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008; DOTTO et al., 2011). Comparativamente a outras técnicas de secagem, os secadores de leito de jorro apresentam algumas vantagens, como por exemplo, altas taxas de transferência de massa e calor e um adequado controle de temperatura do leito (OLIVEIRA & PASSOS, 1997; MEDEIROS et al., 2002; SPITZNER NETO et al., 2002; BACELOS et al., 2005; MUJUMDAR & HUANG, 2007; CUI & GRACE, 2008; PEREIRA et al., 2010).

## 1.1 Objetivos

### 1.1.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem por objetivo estudar a operação de secagem dos filés de anchoita *in natura* e modificado enzimaticamente, avaliando as propriedades termodinâmicas e as características do produto final através de análises físico-químicas, funcionais e nutricionais.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar as isotermas de sorção dos filés de anchoita e da pasta obtida a partir dos filés de anchoita modificado enzimaticamente;
- Analisar as propriedades termodinâmicas dos filés de anchoita e da pasta modificada em dois diferentes graus de hidrólise;
- Analisar a cinética de secagem em camada delgada através dos dados experimentais dos filés e da pasta modificada de anchoita;
- Otimizar a operação de secagem em camada delgada da pasta de anchoita modificada através da metodologia de análise de superfície de resposta;
- Avaliar as características do material *in natura* e dos produtos desidratados em camada delgada através de análises físico-químicas.
- Avaliar a secagem em leito de jorro cônico de uma suspensão protéica de anchoita modificada enzimaticamente em diferentes condições de operação;
- Avaliar a qualidade protéica do produto desidratado através da quantificação dos aminoácidos.

## 1.2 Antecedentes

O Laboratório de Operações Unitárias, da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), possui as linhas de pesquisa de secagem de alimentos e aproveitamento de recursos hidrobiológicos, onde são realizadas pesquisas com produtos de interesse da região. Já foram realizadas secagem de farinha de pescado, quitina, quitosana, arroz, cebola, alho, microalga *Spirulina platensis*, maçã e rejeitos de hortifrutigranjeiros, entre outros. As pesquisas são realizadas em nível de iniciação científica, projeto de graduação no curso de Engenharia de Alimentos e de pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos (Mestrado e Doutorado), onde foram realizadas ao longo desse tempo, várias dissertações de mestrado e duas teses de doutorado, já defendidas, do

Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos/FURG. O grupo publica tanto em eventos técnico-científicos regionais, nacionais e internacionais (IDS, CBCTA, COBEQ, SLACA, ENEMP, COBEQ-IC, CRICTE, MPU/FURG, CIC/UFPEL, dentre outros) como também em periódicos de circulação nacional e internacional (Drying Technology, JFE, JFPE, Adolf Lutz, IJFST, LWT, CEP, BJFTM BJChe, Vetor).

Em 2006 teve início a aplicação técnica de secagem em leite de jorro na desidratação de modificados enzimáticos com diferentes graus de hidrólise de anchoita, como parte de uma dissertação de mestrado. Em 2007 iniciou-se a presente pesquisa, a qual visou o estudo da secagem em camada delgada, com escoamento paralelo do ar, de filés de anchoita *in natura* e modificados enzimaticamente, e a secagem de suspensão protéica modificada enzimaticamente em leite de jorro.

## CAPÍTULO II

---

(REVISÃO BIBLIOGRÁFICA)

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Aspecto nutricional do pescado**

Sob o aspecto nutricional, o pescado é uma das principais fontes de proteínas de alta qualidade, com bom balanço de aminoácidos essenciais, fonte energética devido seu teor de lipídios, contendo elevadas quantidades de ácidos graxos poliinsaturados. O pescado pode ser considerado uma boa fonte de minerais fisiologicamente importantes, tais como o magnésio, manganês, zinco e cobre, com conteúdos relativamente elevados, principalmente em alguns moluscos e crustáceos. Considerado teor de vitaminas hidrossolúveis do complexo B, porém as vitaminas lipossolúveis A e D estão presentes em maior concentração. O teor de proteínas no músculo do pescado pode variar entre 15-26%, carboidratos entre 0,3-1%, água 70-80%, lipídios de 1-10% e minerais 1-1,5% (OGAWA & MAIA, 1999).

#### **2.1.1 Estrutura e composição do músculo de pescado**

O músculo do pescado é dividido em dois grupos principais; músculo ordinário ou branco e músculo escuro ou sangüíneo. A diferença em coloração ocorre em razão do alto conteúdo de mioglobina, hemoglobina e citocromo do músculo escuro. Os músculos brancos compreendem a maioria da musculatura do corpo. Já os músculos escuros, subcutâneos, estão localizados periféricamente ao longo do eixo central do corpo do animal e sua concentração aumenta no sentido da cauda do pescado. O músculo branco é muito uniforme em composição, indiferentemente da sua localização. O músculo escuro, no entanto, varia sua composição em função da sua localização, contendo mais lipídios na parte anterior do peixe e, mais água e proteína na parte posterior. Uma fração maior de tecido de músculo escuro está presente em peixes que vivem em ambientes de baixa temperatura. Quando os peixes nadam, normalmente não movimentam nenhuma fração do músculo branco (OGAWA & MAIA, 1999; CONTRERAS, 1994).

Os músculos de pescado são um tecido heterogêneo, composto por uma mistura de tipos de fibras, uma matriz extracelular, macrófagos e sangue. É constituído por vários grupos de proteínas: - as que formam a fração sarcoplasmática, que desempenham funções bioquímicas nas células; - as proteínas miofibrilares do sistema contrátil; - as proteínas dos tecidos conjuntivos, responsáveis principalmente

pela integridade dos músculos. As proteínas sarcoplasmáticas encontram-se no líquido extracelular em pequenas porções do sarcoplasma, e têm a propriedade de ser solúveis em água e em soluções salinas diluídas. Estas proteínas compreendem 30% do total das proteínas do músculo do pescado. O grupo das albuminas é composto por mais de 100 proteínas diversas, com ampla variedade de massas molares e pontos isoelétricos, sendo que a maioria tem atividade enzimática. Aqui estão incluídas as proteínas ligadas a ácidos nucleicos, os componentes das lipoproteínas e as cromoproteínas do músculo e do sangue. Peixes de águas geladas têm glicoproteínas anticongeladoras. As proteínas miofibrilares compreendem 40 a 60% do total protéico. São basicamente a miosina e a actina. Estas proteínas é que se complexam, formando a actomiosina, no momento do *rigor mortis*, são também responsáveis pela capacidade do pescado em reter água, pelas propriedades sensoriais e pela capacidade de formação de gel. A miosina constitui de 50 a 60% da fração miofibrilar e a actina, 15 a 20% (OETTERER, 2007).

### 2.1.2 Anchoita

A *Engraulis anchoita* (Figura 1) é uma espécie da família Engraulidae, do gênero *Engraulis*, também comumente chamada de *anchovy*, *Atlantic-anchovy*, *Argentinian-anchovy* (CASTELLO, 1997, DINARA, 2005).



Figura 1: Anchoita (*Engraulis anchoita*).

Fonte: Pastous-Madureira et al. (2009).

A anchoita tem uma posição relevante no ecossistema pelágico da região sul-sudeste (S-SE) do Brasil por sua abundância e posição como consumidor secundário na cadeia trófica. A função ecológica da anchoita como predadora e presa e, sua dinâmica populacional, são aspectos importantes para o estudo do ecossistema da plataforma continental da região S-SE do Brasil. A anchoita apresenta-se amplamente distribuída no Atlântico sudoeste (SW), desde o Cabo de São Tomé no Rio de Janeiro (22°S) até o centro da Patagônia – Golfo de São Jorge (47°S) na Argentina (BAKUN & PARRISH, 1991; CASTELLO, 2003; CASTELLO, 2007).

O gênero *Engraulis*, provavelmente o clupeiforme mais largamente distribuído, é encontrado em águas costeiras de várias plataformas continentais com uma amplitude de temperatura superficial compreendida entre 6 e 22°C. Os sub-adultos toleram baixas salinidades podendo ser encontrados em águas estuárias. *E. anchoita* sustenta apenas pescarias de cunho artesanal com volumes muito abaixo do potencial de sua biomassa comprovada, que pode variar de 231 mil a 4,5 milhões de toneladas entre os países Brasil Uruguai e Argentina (LIMA & CASTELLO, 1995; MADUREIRA et al., 2004). Dados mais recentes estimaram na costa brasileira de aproximadamente 675,5 mil toneladas (PASTOUS-MADUREIRA et al., 2009).

Das oito espécies do gênero, seis sustentam importantes pescarias industriais, principalmente como fonte de matéria prima para a fabricação de farinhas destinadas à produção de rações animais. Em alguns casos, particularmente na pescaria de *Engraulis encrasicolus* no Mar Mediterrâneo e Mar Negro, o principal destino é o consumo fresco, principalmente na primavera e verão, e a produção de diversas conservas e produtos, como marinados em vinagre e maturados em salmouras (CASTELLO, 2007; PONS-SÁNCHEZ-CASCADO, et al., 2006)

A elevada exploração dos estoques demersais tradicionais no sul e sudeste do Brasil e, uma falta de política pesqueira nacional e estadual têm levado a uma queda sensível na oferta de matéria prima local para a indústria de processamento de pescado. Em princípio, a anchoita é um estoque alternativo virgem, que poderia ser explorado sazonalmente desenvolvendo uma nova pescaria na região. Entretanto, verificam-se dificuldades para que a anchoita torne-se uma alternativa viável economicamente, em parte pelo desconhecimento do produto e pela sua fragilidade ao manuseio (CASTELLO, 2007)

A composição química dos peixes varia de uma espécie e de um indivíduo a outro dependendo de fatores como idade, sexo, ambiente e estações do ano. A *Engraulis anchoita* apresenta grande quantidade de lipídios, entretanto ocorre acentuada variação dependendo da época do ano, alcançando um máximo no outono e um mínimo na primavera (Figura 2), sendo este teor inversamente proporcional ao conteúdo de água. O conhecimento da composição proximal do pescado é de grande importância na aplicação de diferentes processos tecnológicos. Além de influenciar na qualidade da matéria-prima e estabilidade do produto (YANNES & ALMANDOS, 2003; PASTOUS-MADUREIRA et al., 2009).

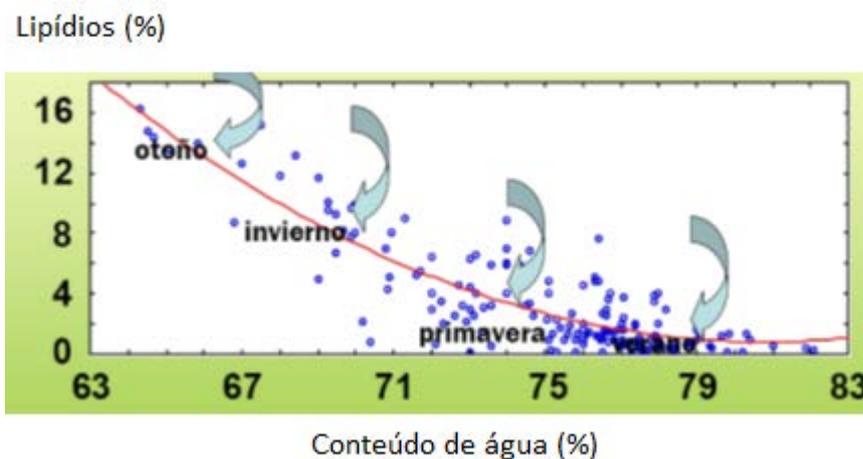


Figura 2: Estimativa da composição proximal de pescados gordos, incluindo a anchoita, em função do conteúdo de água nas migrações.

Fonte: Yeannes (2004).

O elevado conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente da série ômega-3 ( $\omega$ -3) e ômega-6 ( $\omega$ -6), que é característica desta espécie, possui excelente fator nutricional, o que a torna interessante para uso em uma gama diversificada de produtos. Da série de ácidos graxos poliinsaturados, principalmente da série ômega-3 ( $\omega$ -3) e ômega-6 ( $\omega$ -6), destacam-se os ácidos alfa-linolênico (C18:3  $\omega$ -3) e linoléico (C18:2  $\omega$ -6). Estes ácidos são considerados estritamente essenciais, ou seja, não são sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária a ingestão na dieta. O ácido linoléico é precursor do ácido araquidônico (C20:4  $\omega$ -6), componente utilizado na síntese de prostaglandinas e importante para o crescimento fetal, e o ácido alfa-linolênico é precursor dos ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) da série n-3, tais como o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5  $\omega$ -3) e docosahexaenóico (DHA, 22:6  $\omega$ -3). Estes ácidos destacam-se por apresentarem diversos efeitos benéficos à saúde humana, como diminuição dos riscos de doenças cardiovasculares, diminuição nas taxas de colesterol no sangue, prevenção de câncer e benefícios à gravidez e saúde materno-infantil (OLIVEIRA et al., 2010). Czerner et al. (2011) observaram na composição da anchoita argentina valores próximos de 36,8% de monoinsaturados e 42,7% de ácidos graxos poliinsaturados, contendo 20,4% de DHA e 4,5% de EPA. Colembegue (2011), observou na anchoita brasileira um teor de ácidos graxos monoinsaturados de 22,9% e poliinsaturados de 46,5%, contendo 23,1% de DHA e 7,2% de EPA. O elevado conteúdo de ácidos graxos insaturados da anchoita é um aspecto positivo, que classifica essa matéria prima como muito saudável. Entretanto,

este aspecto a caracteriza como altamente suscetível à oxidação lipídica, o que leva à uma atenção redobrada quanto ao seu processamento e armazenamento.

## 2.2 Hidrólise enzimática de proteínas

A modificação de proteínas de alimentos para o melhoramento das propriedades sensoriais e estabilidade durante a estocagem é uma tecnologia antiga. Hidrolisados protéicos podem ser definidos como proteínas que foram química ou enzimaticamente quebradas em peptídeos menores e de diferentes tamanhos. Proteínas hidrolisadas são produzidas para uma ampla variedade de usos na indústria de alimentos, incluindo substitutivos do leite, suplementos protéicos, estabilizantes em bebidas e realçadores de *flavor* em produtos de confeitaria (KRISTINSSON & RASCO, 2000<sup>a</sup>).

A hidrólise de proteínas pode ser realizada por método químico (ácido ou alcalino) ou biológico (enzimático). O método enzimático é mais indicado, ao invés de métodos químicos rigorosos, para a produção de hidrolisados em aplicações nutricionais. A hidrólise enzimática pode produzir hidrolisados com o perfil de peptídios bem definido, enquanto que as hidrólises ácida e alcalina podem destruir L-aminoácidos, produzindo D-aminoácidos e ainda formar substâncias tóxicas como lisino-alanina. Isso é especialmente crítico em hidrolisados protéicos, onde as proporções de aminoácidos, dipeptídios e tripeptídios são importantes para absorção efetiva (LAHL & BRAUN, 1994; KRISTINSSON & RASCO, 2000<sup>a</sup>).

Proteínas de pescado podem ser hidrolisadas com enzimas vegetais e/ou microbianas que atuam como catalisadores, e aceleram a hidrólise das proteínas. Esse processo é diferenciado da elaboração da silagem de pescado, que ocorre pela ação de enzimas presentes naturalmente no próprio pescado, e é mais lento. A ação proteolítica no processo hidrolítico é acelerada pela adição de enzimas à matéria prima, controle do pH, da temperatura e de outras variáveis (SHAHIDI & KAMIL, 2001; OETTERER & FURLAN, 2002).

A hidrólise enzimática das proteínas de pescado é um método alternativo, que objetiva a recuperação de proteínas de espécies subutilizadas ou de resíduos de processamento, que seriam desperdiçados, através do emprego de enzimas proteolíticas para solubilização da proteína do pescado. No processo de hidrólise, as enzimas proteolíticas são utilizadas para solubilizar a proteína muscular do pescado,

em uma hidrólise extensiva. O resultado será a separação em duas fases distintas, a solúvel e a insolúvel. Geralmente, a fração insolúvel é utilizada como ração animal, enquanto que a solúvel pode ser convertida em ingredientes alimentares e incorporada em sistemas alimentícios. O hidrolisado solúvel é submetido à desidratação, resultando numa forma mais estável, em pó, com alta concentração protéica. Tal produto é conhecido como hidrolisado protéico de pescado (DINIZ & MARTIN, 1996). No entanto, se a hidrólise não é tão extensiva e não são separadas as frações solúvel e insolúvel, obtém-se o modificado enzimático, sendo os aminoácidos presentes semelhantes aos da proteína original (SHAHIDI et al., 1994; PANYAM & KILARA, 1996).

Não existem dados que possibilitem determinar com clareza qual a espécie de pescado mais adequada ao processo hidrolítico. A eleição da matéria prima depende da disponibilidade do fabricante e das especificações exigidas pelo cliente. A matéria-prima atualmente utilizada são os descartes comestíveis de processamento de pescado magro, visto que espécies com alto teor de gordura promovem o desenvolvimento de aromas intensos no produto elaborado (OETTERER & FURLAN, 2002). Espécies magras são o substrato de escolha para a hidrólise enzimática, já que problemas com oxidação lipídica podem ser reduzidos. Do ponto de vista econômico, o pescado do tipo pelágico, que é mais abundante, seria o preferido. Os peixes pelágicos compreendem 23% da pesca mundial, dos quais somente 42% é utilizado para alimentação humana.

As enzimas utilizadas pela indústria e na pesquisa em alimentos são predominantemente as hidrolases. As mais utilizadas são as carboxilases seguido das proteases e lipases. As proteases são as mais caracterizadas dentre as enzimas. Preparados de enzimas proteolíticas são, sob o ponto de vista econômico, o grupo mais importante de enzimas e seu uso já é bastante conhecido na indústria de alimentos (LAHL & BRAUM, 1994; KRISTINSSON & RASCO, 2000<sup>a</sup>)

As proteases são classificadas de acordo com a especificidade de ataque à ligação peptídica e pelo mecanismo de hidrólise. Em termos de especificidade se classificam em: serino-, thiol-, carboxi- e metallo-protease. Pelo mecanismo de hidrólise em endoproteinasas ou exopeptidasas. As endoproteinasas clivam as ligações peptídicas no interior da molécula da proteína produzindo, normalmente, peptídeos relativamente grandes. As exopeptidasas sistematicamente removem os aminoácidos dos grupos N-terminal (aminopeptidasas) ou C-terminal

(carboxipeptidases). Geralmente na hidrólise de proteínas alimentícias são usadas endoproteinases, entretanto, ocasionalmente essas enzimas são combinadas com exopeptidases para o alcance de uma degradação mais complexa (ADLER-NISSEN, 1976).

A hidrólise enzimática, para a produção de hidrolisados de pescado ou de outras proteínas alimentares, pode ser realizado com enzimas das vísceras e músculo do próprio pescado (enzimas endógenas), ou adicionando enzima de outras fontes. O uso direto de células microbianas na hidrólise de proteínas é um procedimento alternativo que tem sido investigado (FONKWE & SINGH, 1996; KRISTINSSON & RASCO, 2000<sup>a</sup>).

Segundo Guérard et al. (2001), a proteólise pode operar de modo sequencial, liberando um peptídeo de cada vez, ou pela formação de intermediários que são hidrolisados em pequenos peptídeos com o progresso da hidrólise. Dependendo da especificidade da enzima, das condições ambientais e da extensão da hidrólise, uma larga variedade de peptídeos serão gerados. O hidrolisado protéico resultante possuirá propriedades peculiares de acordo com os novos peptídeos gerados.

A hidrólise das ligações peptídicas conduz a um aumento no número de grupos ionizáveis ( $\text{NH}_3^+$  e  $\text{COO}^-$ ) e concomitante aumento na hidrofobicidade e rede de carga, uma diminuição na massa molar da cadeia polipeptídica com uma alteração na estrutura molecular conduzindo a uma maior exposição do interior hidrofóbico para o meio aquoso (MAHMOUD, 1994).

O parâmetro que permite medir a extensão da hidrólise é o grau de hidrólise (GH). Este determina as propriedades de um hidrolisado protéico para um dado sistema proteína-enzima e variáveis do processo: substrato, proporção enzima-substrato, temperatura e tempo, devem ser controladas para a efetiva medida do GH (KRISTINSSON & RASCO, 2000<sup>a</sup>).

Uma das maiores vantagens e objetivos de hidrolisar enzimaticamente a proteína de pescado é modificar ou melhorar suas propriedades funcionais e nutricionais. As propriedades funcionais dos hidrolisados protéicos de pescado são importantes, particularmente quando são utilizados como ingredientes em produtos alimentícios (GILDBERG, 1993).

A hidrólise enzimática da proteína de pescado gera uma mistura de aminoácidos livres, di-, tri-, e oligopeptídeos, aumenta o número de grupos polares e a

solubilidade do hidrolisado e, portanto, modifica as características funcionais das proteínas, melhorando-as e melhorando também a biodisponibilidade. A natureza do substrato, das proteases e o grau de hidrólise afetam diretamente as propriedades físico-químicas do hidrolisado (MULLALY et al., 1995). As propriedades físico-químicas que governam a funcionalidade da proteína incluem tamanho, formato, composição e sequência de aminoácidos, sistema de cargas e distribuição de cargas, hidrofobicidade, estruturas dos peptídeos, flexibilidade molecular e a habilidade de interagir e reagir com outros componentes (KRISTINSSON & RASCO, 2000<sup>a,b</sup>).

Ao estudar um processo de obtenção de um modificado protéico a partir da fração muscular da anchoita, Moraes (2007) observou que em baixo grau de hidrólise ocorreu uma melhora significativa nas propriedades funcionais de solubilidade, capacidade de retenção de água e óleo, e nas propriedades de emulsão e espuma, em comparação com o músculo não modificado. Sendo as características apresentadas pelo modificado protéico de anchoita semelhantes às reportadas para hidrolisados protéicos de pescado. Além da melhora das propriedades funcionais tecnológicas, produto final obtido pôde ser aplicado a uma sopa desidratada, a qual apresentou elevada aceitabilidade pelo consumidor.

### **2.2.1 Propriedades bioativas**

As proteínas de pescado, além de apresentarem propriedades funcionais e nutricionais, podem apresentar atividade biológica, como por exemplo, atividade antioxidante, que pode estar associada á peptídeos bioativos presentes em determinadas sequências da proteína, liberados após hidrólise enzimática (COSTA, et al., 2007). Tais peptídeos podem ser benéficos à saúde humana como também para a conservação de alimentos. Peptídios bioativos mostram maior potencial antioxidante que a proteína intacta podendo inibir a oxidação lipídica, através de mecanismos biologicamente projetados e por mecanismos não específicos. Esses dois tipos de proteínas antioxidantes contribuem para a capacidade antioxidante endógena de alimentos e também, podem ser usados como aditivos de potencial antioxidante (ELIAS et al., 2008).

A habilidade das proteínas de interagir com radicais livres tem sido documentada em muitos sistemas. Estes estudos têm sido geralmente empregando o uso de radicais livres geradores, e a determinação é realizada medindo a capacidade da proteína de reprimir a espécie radical produzida ou através da capacidade de sequestrar o radical livre, como por exemplo, através do emprego do radical DPPH

(KLOMPONG et al., 2007; BOUGATEF et al., 2009, VÉGA-GALVEZ et al., 2011; TENG et al., 2011). A metodologia com o radical DPPH baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH, que ocorre devido à redução desse radical, pela ação do antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995), desta forma avaliando apenas o poder redutor do antioxidante. Só a habilidade das proteínas de simplesmente sequestrar radicais livres, não é evidência conclusiva de que elas sejam antioxidantes. O fato é que proteínas podem interagir com radicais livres e espécies de oxigênio reativo, sugerindo que eles podem proteger os lipídios da oxidação se eles forem oxidados preferencialmente aos ácidos graxos insaturados. A oxidação preferencial das proteínas pode ocorrer se os aminoácidos disponíveis são mais oxidativamente lábeis que os ácidos graxos insaturados, ou a localização física dos sítios reativos da proteína estejam próximos aos sítios do radical livre, ou da espécie de oxigênio reativo gerada onde a proteína seria capaz de rapidamente sequestrar o radical livre antes da migração desse radical para o lipídio. Infelizmente, muitos estudos não abordam a cinética relativa de oxidação lipídica e proteínas e, portanto, não está bem claro se a proteína protege os lipídios ou se o lipídio causa a oxidação da proteína (ELIAS et al., 2008).

Propriedades antioxidativas podem ser determinadas por outros diferentes métodos (SAMARANAYAKA & LI-CHAN, 2008; BOUGATEF et al., 2009; FOH et al., 2010; TENG et al., 2011), além da capacidade de sequestrar o radical DPPH, tais como: inibição da peroxidação lipídica (sistemas modelos); capacidade de sequestrar radical ABST; capacidade de absorver radical oxigênio; atividade quelante de íons metálicos, entre outros.

### **2.3 Oxidação de lipídios e proteínas**

Segundo Ordóñez-Pereda (2005), a rancidez que ocasiona a deterioração de óleos e gorduras, pode ocorrer através de duas formas diferentes: rancidez hidrolítica e rancidez oxidativa. A rancidez hidrolítica corresponde a hidrólise da ligação éster dos triacilgliceróis pela ação da lipase e umidade, com formação de ácidos graxos livres que causam sabor-odor desagradáveis, principalmente na presença de ácidos graxos de baixa massa molar, e é determinada pelo índice de acidez. A rancidez oxidativa é a autooxidação dos acilgliceróis com ácidos graxos insaturados por oxigênio atmosférico. Este tipo de deterioração é o mais importante, porque todo o tipo de gordura possui triacilgliceróis insaturados. Evidências experimentais demonstram que os

hidroperóxidos são os produtos primários predominantes, mas não exclusivos, da autoxidação de gorduras insaturadas (GIRÓN-CALLE, et al., 2002). Os estágios de rancidez podem ser detectados antes que se perceba a deterioração sensorial, pelos índices de peróxido (IP), p-anisidina (IpA) e ácido tiobarbitúrico (TBA).

O método mais usual na avaliação da oxidação de lipídios é o teste de TBA, devido à sua simplicidade e rapidez, apesar de suas limitações. O teste de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo – o MDA é um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3 (ANGELO et al., 1996, GIRÓN-CALLE, et al., 2002). A reação envolve o ácido tiobarbitúrico (TBA) com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente na faixa de 500 – 550 nm.

Os fenômenos de oxidação dos lipídios dependem de mecanismos reacionais diversos e extremamente complexos, os quais estão relacionados com o tipo de estrutura lipídica e o meio onde esta se encontra. O número e a natureza das insaturações presentes, o tipo de interface entre os lipídios e o oxigênio (fase lipídica contínua, dispersa ou em emulsão), a exposição à luz e ao calor, a presença de próoxidantes ou de antioxidantes, são fatores determinantes para a estabilidade oxidativa dos lipídios (ELIAS et al., 2008). O efeito nocivo das reações de oxidação dos lipídios pode ser minimizado basicamente com refrigeração, acondicionamento e armazenamento adequados, embora a reação não seja detida por completo já que a auto-oxidação requer energia de ativação reduzida (HAMILTON, 1994).

A oxidação de lipídios também é uma função da atividade de água do alimento, ocorrendo preferencialmente em valores reduzidos de atividade de água devido à ação de radicais livres. Acima do valor de monocamada, os agentes antioxidantes e quelantes (que seqüestram metais catalíticos) são solúveis e, portanto, acabam reduzindo a taxa de oxidação. Em valores elevados de atividade de água, a atividade catalítica dos metais é reduzida devido à hidratação e formação de hidróxidos insolúveis, mas os metais catalíticos tornam-se solúveis e a estrutura do alimento incha, expondo mais sítios ativos disponíveis para oxidação (DAMODARAM et al., 2010).

A peroxidação de lipídios poliinsaturados nos alimentos, durante processamento e/ou armazenamento, leva também a perdas de lisina disponível, conforme determinado por métodos químicos (*in vitro*) e *in vivo* por Nielsen et al.

(1985<sup>a,b,c</sup>). Em experimentos, nos quais a presença de formas livres e ligadas de MDA foi investigada em hidrolisados enzimáticos de alimentos de origem animal, o aldeído foi encontrado principalmente na forma de N- $\epsilon$ -(2-propenal) lisina (PICHE et al., 1988, GIRÓN-CALLE, et al., 2002).

A oxidação das proteínas resulta geralmente na modificação grupo radical do aminoácido, através de polimerização e/ou reações de fragmentação de proteínas também são possíveis numa certa concentração de oxigênio. O fato é que todos os vinte aminoácidos são oxidáveis, entretanto os mais reativos tendem a serem os que contêm cadeias sulfuradas (cisteína e metionina), ou cadeias aromáticas (triptofano, tirosina e fenilalanina). Em sistemas contendo espécies de radicais de menor energia, como os hidroperóxidos observados na oxidação de lipídios, as cadeias laterais de aminoácidos mais instáveis (cisteína, metionina, triptofano, histidina, tirosina e fenilalanina) são oxidados mais frequentemente do que resíduos alifáticos não-reativos (DAVIES, 2005).

## 2.4 Água nos alimentos

A presença de água nos alimentos em quantidades adequadas, e com localização definida, é imprescindível para que tenham qualidade aceitável para o consumidor. Entretanto, o conteúdo de água nos alimentos faz com que eles sejam altamente perecíveis; por isso, são requeridos métodos efetivos de conservação quando se pretende armazená-los por longos períodos. Sabe-se, que a retirada da água por secagem e a transformação ao estado sólido são métodos eficazes para a conservação de alimentos, mas alteram suas propriedades (ORDÓÑEZ-PEREDA et al., 2005).

O conteúdo de água de um alimento não é indicativo real de sua estabilidade, pois a água livre contida no produto pode estar associada aos constituintes não aquosos, com diferentes graus de intensidade. As moléculas fortemente ligadas aos solutos dos alimentos são menos suscetíveis, ou propensas, para participar de reações de degradação do que as moléculas de água fracamente ligadas. Por esse motivo, a terminologia de atividade de água passou a ser empregada para melhor entendimento da estabilidade dos alimentos (RIBEIRO & SERAVALLI, 2007). A água presente nos alimentos é comumente expressada em termos de atividade de água ( $a_w$ ), que corresponde à relação existente entre a pressão parcial de vapor da água na

superfície do alimento ( $p$ ) e a pressão de vapor da água pura ( $p_0$ ), a uma dada temperatura. Assim, através da lei de Raoult para soluções ideais, tem-se que:

$$a_w = \frac{p}{p_0} = \frac{UR}{100} \quad (1)$$

#### 2.4.1 Isotermas de sorção

Os gráficos que relacionam o teor de água do alimento, expresso como massa de água por unidade de massa de matéria seca da amostra, com a sua atividade de água, em uma temperatura constante, são denominados de isotermas de sorção. Esses gráficos fornecem informações úteis para processos de concentração, secagem e hidratação de alimentos, uma vez que a facilidade de retirar ou adicionar água está relacionada com a atividade de água do alimento e, ainda, para verificar e acompanhar a estabilidade de produtos alimentícios, principalmente durante o armazenamento. As isotermas podem ser de adsorção (adição de água à amostra seca) ou dessorção (retirada de água). Geralmente, as isotermas de adsorção são utilizadas para a medida de produtos higroscópicos, e as isotermas de dessorção para acompanhamento de processos de secagem.

A forma de uma isoterma de sorção depende da estrutura e composição do material, bem como pressão e temperatura, e que exige determinação experimental, já que alguns métodos não são capazes de simular sistemas tão complexos como os de alimentos. Para a maioria dos alimentos as isotermas de sorção tem forma sigmoidal, do tipo I e II (Figura 3) segundo classificação de BET (BRUNAUER et al., 1940; HADRICH et al. 2008), a qual pode ser dividida em três regiões (Figura 4): Região A, de baixa atividade de água, controlada pela sorção físico-química. Nesta região, a água está mais fortemente ligada com uma entalpia maior que a da água pura. O teor de água, teoricamente, representa a adsorção da primeira camada das moléculas de água (região de sorção da monocamda). Geralmente, nesta região a água não é capaz de congelar e não está disponível para reações químicas ou plastificantes; Região B, de atividade de água intermediária, onde ocorre a sorção pelas multicamadas. Nesta região, as moléculas de água que são menos firmemente ligadas, estando disponível como solvente para solutos de baixa massa molar e para algumas reações bioquímicas; Região C, de alta atividade de água. Nesta região há excesso de água nos macro-capilares ou como parte da fase fluida

em materiais com elevado conteúdo de umidade (ORDÓÑEZ-PEREDA et al., 2005; SINGH et al., 2006; YANNIOTIS & BLAHOVEC, 2009).

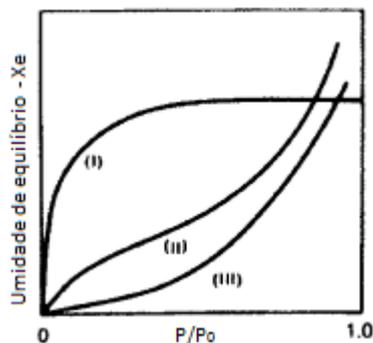


Figura 3: Isotermas de sorção típicas de alimentos.

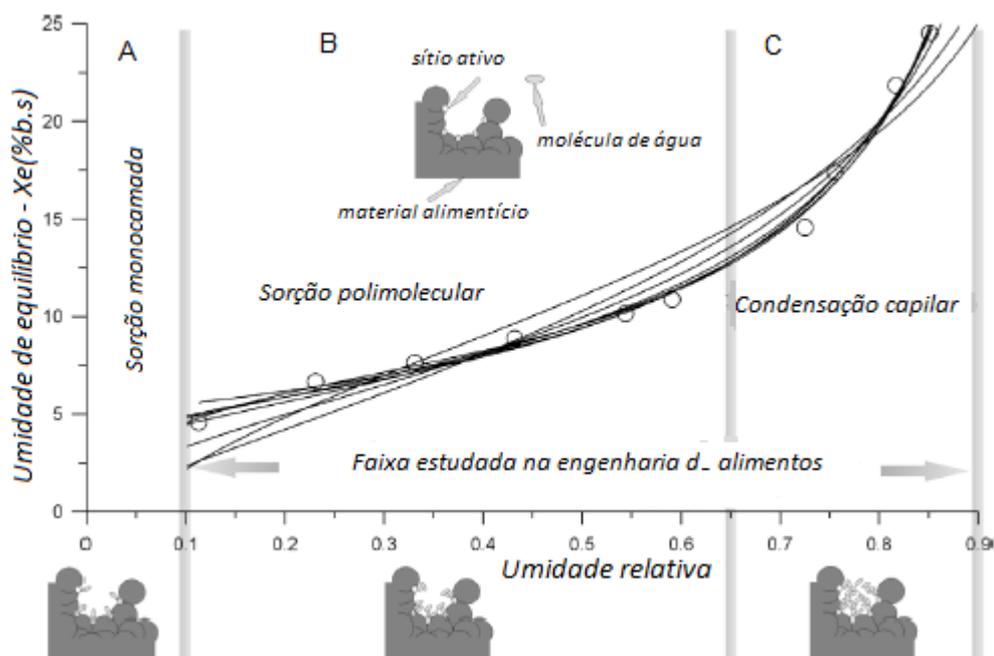


Figura 4: Representação esquemática dos três estágios de mecanismo de sorção em alimentos.

Fonte: Furmaniak et al. (2009) (adaptado).

Um grande número de equações teóricas, semi-empíricas e empíricas tem sido proposto para estimativa da umidade de sorção de materiais biológicos. As equações teóricas são baseadas nas teorias cinéticas de adsorção de Kelvin, Langmuir e BET (Brunauer, Emmet e Teller). Os dados das isotermas também podem ser usados para definir o ponto final da secagem (YANNIOTIS & BLAHOVEC, 2009).

Para otimizar as condições de secagem e/ou reidratação, e a qualidade final e estabilidade do produto durante a armazenagem, é importante conhecer as isotermas de sorção no produto, obtidas em condições experimentais adequadas. Numerosos modelos matemáticos são avaliados pela literatura para serem utilizados a fim de descrever o comportamento da umidade de sorção em alimentos. Muitos destes modelos são baseados em teorias de mecanismo de sorção, outros são empíricos ou semi-empíricos (TOGRUL & ARSLAN 2007; OLIVEIRA et al., 2009). Os modelos mais citados na literatura são BET e GAB (Guggenheim, Anderson e de Bôer) (BRUNAUER et al., 1940; ANDERSON, 1946; KAYA & KAHYAOGU, 2007) apresentados nas Equações 2 e 3, respectivamente.

$$X_e = \frac{X_m \cdot C_G \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 - k \cdot a_w + C_G \cdot k \cdot a_w)} \quad (2)$$

$$X_e = \frac{X_m \cdot C_B \cdot a_w}{(1 - a_w) \cdot (1 - a_w + C_B \cdot a_w)} \quad (3)$$

sendo  $X_e$  a umidade de equilíbrio do material ( $\text{kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$ ),  $X_m$  a umidade da monocamada do material ( $\text{kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$ ),  $a_w$  a atividade de água  $C_G$ ,  $C_B$  e  $k$  parâmetros de ajuste.

O valor da umidade de monocamada representa o conteúdo de umidade em que o alimento é mais estável. Em conteúdos mais baixos pode haver oxidação lipídica, enquanto em conteúdos maiores podem ocorrer atividades enzimáticas, não-enzimáticas e microbianas (ORDÓÑEZ-PEREDA et al., 2005).

#### 2.4.2 Propriedades termodinâmicas

Os fenômenos de sorção podem ser analisados em termos de funções termodinâmicas, as quais podem fornecer informações importantes tanto sobre as exigências energéticas nos processos de desidratação, como também da microestrutura dos alimentos, como área superficial de sorção e tamanho de poros, e fenômenos físicos na superfície desses alimentos, propriedades da água e parâmetros de cinética de sorção (RIZVI & BENADO, 1984).

As propriedades termodinâmicas são calculadas através de isotermas de sorção, e as principais funções são aquelas que quantificam as entalpias e entropias

diferenciais e integrais, fundamentais na análise da exigência energética e predição dos parâmetros cinéticos nos processos de sorção (KAYA & KAHYAOGU, 2007).

Os parâmetros termodinâmicos calor isostérico e a entropia diferencial de sorção determinam o ponto final no qual o alimento deve ser desidratado, para alcançar a estabilidade com conteúdo ótimo de umidade, e o rendimento da quantidade teórica de energia requerida para remover uma determinada quantidade de água do alimento (TOGRUL & ARSLAN, 2007).

Algumas funções termodinâmicas utilizadas na análise do comportamento de sorção de sistemas biológicos incluem: calor total de sorção ( $Q_{st}$ ), o calor isostérico líquido de sorção ( $q_{st}$ ) ou entalpia diferencial ( $\Delta h_d$ ), entropia diferencial ( $\Delta S_d$ ), teoria isocinética, potencial de superfície (*Spreading pressure* ( $\phi$ )), entalpia ( $\Delta h_{in}$ ) e entropia ( $\Delta S_{in}$ ) integrais (FASINA, 2006; POLATGLU et al., 2010)

A entalpia diferencial de sorção remete à uma estimativa da força de ligação água-sólido. Já a entropia diferencial de um material é proporcional ao número de sítios de sorção a um nível específico de energia. O calor de sorção de água é importante para a modelagem de vários processos em alimentos e estocagem dos mesmos, bem como para o projeto de equipamento de muitos processos (DELGADO & SUN, 2002). A entropia diferencial pode ser usada para obter informações quanto à racionalidade da energia durante o processamento, dissolução e cristalização do produto (AVIARA et al., 2004).

O calor isostérico de sorção líquido ( $q_{st}$ ) ou entalpia diferencial de sorção ( $\Delta h_d$ ), definida como a diferença entre o calor total de sorção ( $Q_{st}$ ) e o calor latente de vaporização da água ( $\lambda$ ), pode ser determinado através da Equação (4) que é derivada da equação de Clausius-Clapeyron (RIZVI, 1995):

$$\left. \frac{\partial \ln(a_w)}{\partial (1/T)} \right|_{X_e} = \frac{Q_{st} - \lambda}{R} = \frac{q_{st}}{R} = \frac{\Delta h_d}{R} \quad (4)$$

sendo  $a_w$  a atividade de água,  $T$  a temperatura absoluta (K),  $R$  a constante universal dos gases ( $8,31 \times 10^{-3}$  kJ/mol.K), e  $\lambda$  é o calor latente molar de vaporização da água (kJ/mol).

O calor isostérico de sorção é uma quantidade molar diferencial derivadas da dependência da temperatura da isoterma, e sua aplicação requer a medida de isotermas de sorção em duas ou mais temperaturas. A

mudança na entropia diferencial molar de dessorção pode ser calculada através da equação de Gibbs-Helmholtz (Equação 5) como utilizado por Rizvi (1995).

$$\Delta S_d = \frac{\Delta h_d - \Delta G}{T} \quad (5)$$

sendo  $\Delta G$  a energia livre de Gibbs (kJ/mol), a qual é calculada segundo a Equação (6) (MADAMBA et al, 1996)

A energia livre de Gibbs é uma função termodinâmica de estado que representa a quantidade máxima de energia liberada em um processo, ocorrendo à temperatura e pressão constantes, que está livre para realizar trabalho útil. A definição da variação da energia livre de Gibbs é apresentada na Equação 6.

$$\Delta G = -RT \ln(a_w) \quad (6)$$

A energia livre de Gibbs é influenciada por duas propriedades termodinâmicas relacionadas com a espontaneidade da reação. Assim, se o processo é espontâneo, tem-se entropia positiva e entalpia negativa e, conseqüentemente, energia livre de Gibbs negativa. Por outro lado, se a entropia é negativa e a entalpia é positiva, a energia livre de Gibbs necessariamente é positiva e não espontânea. Para os demais casos, a temperatura apresenta importante papel, mas uma avaliação dos reais valores desses parâmetros irá indicar o tipo de reação envolvida. Assim, pode-se dizer que a propriedade termodinâmica energia livre de Gibbs indica a espontaneidade do processo analisado.

Entalpia e entropia integrais são utilizadas para explicar os modos de comportamento de sorção de materiais biológicos. As quantidades integrais permitem a interpretação qualitativa do fenômeno. Ambas propriedades também são utilizadas para indicar os níveis em que as interações água-substratos são maiores que as interações das moléculas de água. A entropia integral descreve o grau de desordem das moléculas de água no material, portanto, é uma medida da mobilidade das moléculas de água adsorvidas (FASINA, 2006; MCMINN et al., 2007).

De maneira análoga à usada para obter a entalpia diferencial de sorção ( $\Delta h_d$ ) e a entropia diferencial ( $\Delta S_d$ ), é também utilizada para a entalpia líquida integral ( $\Delta h_{in}$ ) e entropia integral ( $\Delta S_{in}$ ), mas mantendo constante o potencial de superfície, comumente chamado de *Spreading Pressure*. O potencial de superfície (Equação 7) é uma medida termodinâmica que refere-se à energia livre da superfície de

sorção. Pode ser considerada como a diferença de tensão superficial entre os sítios de sorção descobertos no sólido e sítios com moléculas adsorvidas, sendo uma ferramenta útil para a interpretação dos dados cinéticos de sorção (FASINA et al., 1997; AL-MUHTASEB et al., 2004<sup>b</sup>)

$$\phi = \frac{K_B T}{A_{H_2O}} \int_0^{a_w} \frac{\theta}{a_w} d(a_w) \quad (7)$$

Os fenômenos físicos, tais como reações de sorção, muitas vezes são avaliados com base na teoria isocinética ou teoria da compensação entalpia-entropia. A teoria compensatória propõe uma relação linear entre a entalpia diferencial e a entropia diferencial (Equação 8) em um determinado processo e geralmente é empregada na avaliação de fenômenos físicos como a adsorção e dessorção de água. A relação linear proposta e melhor é visualizada depois do re-arranjo na Equação 5: (MADAMBA et al., 1996; MCMINN & MAGEE, 2003; TUNÇ & DUMAN, 2007; CLADERA-OLIVEIRA et al, 2008).

$$\Delta h_d = T_\beta \Delta S_d + \Delta G_\beta \quad (8)$$

onde  $T_\beta$  é temperatura isocinética (K).

A temperatura isocinética é apresentada como sendo a temperatura na qual todas as reações em série ocorrem com a mesma taxa. Embora esse conceito seja vago e nada específico, a importância do cálculo da temperatura isocinética está relacionada à sua utilização na validação da teoria compensatória entalpia-entropia. Para validar a teoria da compensação, a temperatura isocinética deve ser comparada com a média harmônica da temperatura ( $T_{hm}$ ) (Equação (9)). Assim um padrão de compensação linear somente existe se  $T_\beta \neq T_{hm}$  (TUNÇ & DUMAN, 2007, OLIVEIRA et al., 2009)

$$T_{hm} = \frac{n_i}{\sum_{i=1}^{n_i} 1/T} \quad (9)$$

onde  $n_i$  é o número total de isotermas e  $T$  é a temperatura (K). Se  $T_\beta > T_{hm}$  o processo é controlado pela entalpia, enquanto se a condição oposta é observada,  $T_\beta < T_{hm}$ , o processo é controlado pela entropia.

## 2.5 Secagem

Segundo McCormick et al. (1983), a secagem é normalmente considerada um processo de remoção de umidade de um sólido por evaporação. Quando o calor necessário para evaporar a água é fornecido ao material, ocorrem transferências simultâneas de calor e massa, conforme está esquematizado na Figura 5 (PINTO,1996).

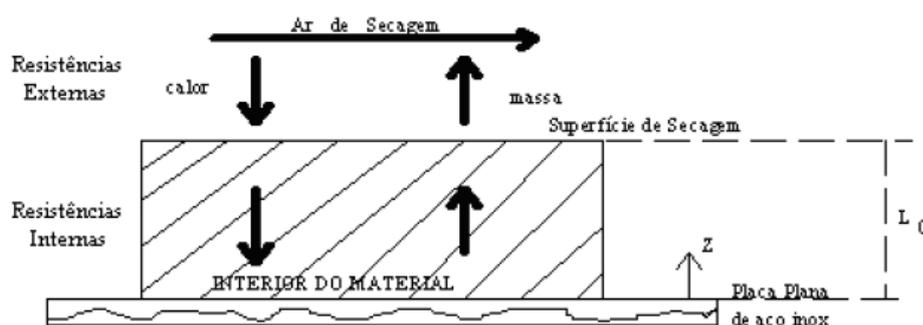


Figura 5: Esquema do processo de secagem de um material sólido.

Fonte: Pinto, 1996.

Nas operações de secagem, o material úmido está em contato com o ar insaturado, e se obtém como resultado a diminuição do conteúdo de umidade deste material e a umidificação do ar. Tendo-se assim dois estágios que definem o processo total de secagem: o aquecimento do material e a evaporação de umidade deste. Então a secagem tem por finalidade a redução da umidade de um produto a um nível desejado (STRUMILLO & KUDRA, 1986).

Na secagem de alimentos, os mecanismos mais importantes são: a difusão de vapor devido ao gradiente de concentração, a difusão de água líquida em termos do gradiente de umidade e o escoamento capilar (PINTO, 1996). A secagem pode ser dividida em período de taxa constante e período de taxa decrescente de secagem, de acordo com a Figura 6 (McCORMICK et al., 1983).

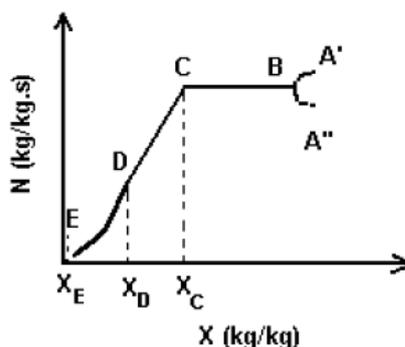


Figura 6: Curva da taxa de secagem em função da umidade.

Fonte: Foust et al. (1983)

Os segmentos A''-B e A'-B, apresentados na Figura 6, representam os intervalos de aquecimento ou resfriamento do material, respectivamente, (estabilização entre a temperatura do sólido e a de bulbo úmido do ar de secagem). No ponto A'' da Figura 5, o sólido encontra-se a uma temperatura inferior ao do ar de secagem. Tal situação apresenta comportamento inverso para o ponto A', no qual o sólido apresenta temperatura superior.

Observando a Figura 6, verificam-se os dois períodos de secagem: o período de taxa constante e o período de taxa decrescente. O período de taxa constante de secagem é representado pelo segmento B-C. No período de taxa constante, a superfície do material é mantida em um nível de umidade tal que a secagem ocorre como se fosse água pura evaporando. Se o sólido for poroso, a maioria da água evaporada no período de taxa constante é proveniente do interior do sólido. Este período só continua desde que a água seja provida à superfície tão rápido quanto é evaporada (GEANKOPLIS, 1983). Na secagem de alimentos, o período de taxa constante só tem relativa importância se o teor de umidade inicial do sólido é muito alto ou se o potencial de secagem do ar é muito baixo. Neste período o material está à temperatura de bulbo úmido do ar (CHIRIFE, 1983). As resistências às transferências de calor e massa são ocasionadas somente na corrente de ar, assim a taxa de evaporação de água não muda com o tempo. O fim da taxa constante ocorre quando a migração interna de água para superfície não consegue mais suprir a taxa de evaporação da água livre de superfície. O valor da umidade deste ponto é denominado umidade crítica ( $X_c$ ). Os valores de umidade crítica não são somente característicos de cada material alimentício, mas também depende de outros fatores que controlam a

migração (interno/externa) tais como espessura do material e condições do ar ( $V_{ar}$ ,  $T_{BS}$ , %UR) (CHIRIFE, 1983).

O período de taxa decrescente de secagem compreende o intervalo C-E, sendo geralmente dividido em duas fases. O período de taxa decrescente de secagem se caracteriza por apresentar ou não duas fases bem diferenciadas em um determinado tempo. Formando uma ou mais quebras, ou mudanças na inclinação, chamadas de transição. Esta transição normalmente não ocorre em muitos processos industriais, os quais se limitam ao período de taxa constante e a primeira fase do período de taxa decrescente (PERRY & CHILTON, 1980). Este período ocorre quando a migração interna de água começa a controlar o processo de secagem, e pode ser constituído de duas etapas. Na primeira fase (intervalo C-D) do período de taxa decrescente da secagem de alimentos sólidos, os principais mecanismos de transporte sugeridos são: escoamento capilar, difusão de líquido e difusão de vapor, podendo acontecer transporte por diversos mecanismos simultaneamente. Na segunda fase deste período (intervalo D-E), a difusão de vapor é, provavelmente, o mecanismo predominante de transporte de umidade (PINTO & TOBINAGA, 1992). No ponto E, é alcançada a condição de equilíbrio entre a umidade do material e a umidade relativa do ar de secagem.

A secagem envolve o transporte simultâneo de calor e massa entre o material úmido e o agente de secagem, e pode ser controlada por condições internas (difusão) e/ou externas (mecanismos convectivos). Se as condições externas predominam, o que significa que a resistência de transferência de massa da camada limite do ar é maior que a resistência da migração de umidade interna, a intensidade da secagem dependerá principalmente das condições do agente de secagem, e é aproximadamente independente dos parâmetros do material (região de controle da camada limite). O processo de secagem neste caso pode ser representado por um balanço de calor e massa na superfície do sólido. Quando a resistência à transferência de massa no interior do material é maior que a resistência da camada limite do ar, os parâmetros do material úmido influenciam e predominam sobre a taxa de secagem (controle interno). As condições internas e externas serão ambas importantes no controle da secagem quando as resistências de transferências de massa no agente de secagem e material úmido são de mesma ordem, devendo ser considerados simultaneamente parâmetros do material úmido e do agente de secagem (região de controle de camada limite e difusão interna) (PARK, 1998).

### 2.5.1 Cinética de secagem

A cinética de secagem deve ser completamente descrita usando propriedades do meio de secagem e do material, tal como as propriedades de transporte (condutividade térmica, difusividade térmica, difusividade mássica, coeficientes de transferência de calor e de massa). No entanto, a simulação de modelos para descrever a cinética de secagem pode, também, ser usada para projetar ou para controlar e implementar os sistemas já existentes (KARATHANOS & BELESSIOTIS, 1999).

Diferentes teorias procuram explicar a cinética de secagem de materiais porosos. O principal objetivo é descrever como a umidade é transferida do interior do sólido para evaporar na sua superfície, e qual mecanismo de transferência controla o processo de secagem. Os modelos matemáticos tradicionalmente utilizados para representar a cinética de secagem são dois: os modelos puramente convectivos e os modelos difusivos. A formulação desses modelos, desenvolvida a partir da análise de comportamento de secagem de uma única partícula, geralmente considera todos os parâmetros de transporte constantes, possibilitando uma descrição similar da taxa de secagem (MAYTA et al., 1996).

#### 2.5.1.1 Modelo difusivo

Os modelos e equações teóricas utilizadas para representar a variação da umidade do material em função do tempo e posição, são obtidos a partir da equação do balanço geral para a transferência de massa (Equação 10).

$$\left( \frac{\partial X}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla X \right) = -\nabla \cdot (-D_{ef} \nabla X) + (1/\rho_S)r_A \quad (10)$$

O coeficiente  $D_{ef}$  denominado de difusividade efetiva de massa envolve todos os possíveis efeitos internos, sendo, em geral, dependente da umidade do material e da temperatura do ar de secagem (CHIRIFE, 1983). Para obter o modelo difusivo (segunda lei de Fick), apresentado na Equação 11, considera-se ainda a difusividade efetiva de massa constante, sem encolhimento do sólido, os efeitos de resistência externa desprezíveis (admitindo  $v_{ar} \geq 1,0 \text{ m/s}$ ), a distribuição interna de temperatura uniforme no material ( $Biot \leq 0,1$ ), o material na forma de uma lâmina infinita e secagem por uma face.

$$\frac{\partial X}{\partial t} = D_{\text{ef}} \left( \frac{\partial^2 X}{\partial z^2} \right) \quad (11)$$

sendo:  $0 < z < L_0$ ,  $t > 0$ ; com as seguintes condições:

$$\text{Condição Inicial: } t = 0 \Rightarrow 0 \leq z \leq L_0 \Rightarrow X = X_0$$

$$\text{Condição de Contorno 1: } z = 0 \Rightarrow t \geq 0 \Rightarrow \left( \frac{\partial X}{\partial z} \right) = 0$$

$$\text{Condição de Contorno 2: } z = L_0 \Rightarrow t \geq 0 \Rightarrow X = X_e$$

A solução analítica da Equação 11, para o perfil interno de umidade, que satisfaz as equações condições inicial e de contorno é apresentado na Equação 12 (CRANK, 1975).

$$\frac{\bar{X} - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{4}{\pi} \sum_0^{\infty} \frac{(-1)^n}{2n+1} \exp \left[ - \left( n + \frac{1}{2} \right)^2 \pi^2 \frac{D_{\text{ef}} t}{L_0^2} \right] \cos \left[ \left( n + \frac{1}{2} \right) \pi \frac{z}{L_0} \right] \quad (12)$$

E o cálculo com a média no volume, fornece o perfil médio de umidade do material dado pela Equação 13.

$$\frac{\bar{X} - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_0^{\infty} \frac{(1)}{(2n+1)^2} \exp \left[ - \left( n + \frac{1}{2} \right)^2 \pi^2 \frac{D_{\text{ef}} t}{L_0^2} \right] \quad (13)$$

Para longos tempos de secagem ( $Fo > 0,2$ ), a equação 13 se reduz a Equação 14.

$$\frac{\bar{X} - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{8}{\pi^2} \exp \left[ - \pi^2 \frac{D_{\text{ef}} t}{4L_0^2} \right] \quad (14)$$

### 2.5.1.2 Correlações empíricas e semi-empíricas

Muitos pesquisadores têm utilizado os modelos empíricos e/ou semi-empíricos para a simulação da cinética de secagem de diversos produtos alimentícios (KROKIDA et al., 2004; BARROZO et al., 2004; HACIHAFIZOGLU et al., 2008; DJENDOUBI et al., 2009; KAYA et al., 2010; ERBAY & ICER, 2010; VÉGA-GALVEZ et al., 2011). A vantagem destes modelos na simulação de secagem é a sua facilidade de aplicação. Muitos destes modelos são derivados da simplificação geral do modelo difusivo (segunda lei de Fick) ou da modificação dos modelos simplificados. Uma importante correlação na secagem de alimentos é a correlação exponencial (BALA & WOODS,

1992). Esta Lei estabelece que a taxa de secagem é proporcional ao teor de água livre do gênero alimentício na forma:

$$\frac{dX}{dt} = -K(X - X_e) \quad (15)$$

sendo o fator de proporcionalidade denominado constante de secagem (K). Esta equação é uma expressão análoga à lei de resfriamento de Newton, se for levado em conta que toda a resistência ao transporte de umidade concentra-se no interior do material, desconsiderando os efeitos na camada limite; é por isto chamada de modelo semi-empírico. A Equação 15 é normalmente utilizada na forma integrada:

$$\frac{(X - X_e)}{(X_0 - X_e)} = \exp(-K.t) \quad (16)$$

As correlações empíricas e semi-empíricas mais utilizadas para descrever a cinética de secagem de produtos alimentícios estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela1: Modelos empíricos e semi-empíricos para secagem de alimentos.

Nome	Equação
Lewis	$Y = \exp(-(K.t))$
Henderson e Pabis	$Y = A_1 \exp(-(K.t))$
Page	$Y = \exp(-(K.(t^n)))$
Page modificado	$Y = \exp(-(K.t)^n)$
Henderson	$Y = A_1 \cdot \exp(-(K_1.t)) + A_2 \cdot \exp(-(K_2.t))$

Y é o adimensional de água livre no material  $[(X-X_e)/(X_0-X_e)]$ ,  $K_i$  é a constante de secagem; t é o tempo;  $A_i$ , e n são parâmetros de ajuste.

### 2.5.2 Secagem em leito de jorro

A técnica do leito de jorro foi estabelecida inicialmente por Gishler e Mathur em 1955, visando a secagem de trigo. Atualmente ocupa um lugar relevante nas operações envolvendo contato entre as partículas sólidas e o fluido. Aplica-se eficientemente à secagem de cereais, granulados, recobrimento de partículas, cristalização, produtos de reações químicas e ultimamente, à secagem de pastas e suspensões (FREIRE, 1992).

O princípio de funcionamento do leito de jorro consiste em injetar o fluido no leito de partículas através de um orifício, geralmente centralizado na base da coluna. O jato fluido quebra o leito na região central e arrasta as partículas em direção

ao topo da coluna, formando-se, aí, o jorro ou região de baixa concentração de sólidos ( $\varepsilon > 0,7$ ). As partículas arrastadas são desaceleradas em sua trajetória ascendente até alcançar a fonte, região acima do leito caracterizada pela mudança de direção no movimento das partículas sólidas. Estas partículas caem então na região anular, ou região de alta concentração de sólidos ( $\varepsilon < 0,7$ ), iniciando seu movimento lento e descendente de retomo ao jorro, favorecendo o contato sólido/fluido e qualquer processo de transferência de massa e ou energia entre esta duas fases (FREIRE, 1992).

Segundo Freire (1992) e Massarani (1997) o sistema de secagem de leito de jorro é mais eficientemente aplicável a grãos. O regime do jorro é estabelecido em um leito de partículas através da injeção de um fluido por um orifício cujo diâmetro é reduzido em relação ao diâmetro do leito, ocorrendo à formação de canal preferencial como consequência das regiões distintas que estão ilustradas na Figura 7.



Figura 7: Diagrama esquemático de um leito de jorro cone-cilíndrico (CSB).

Fonte: Freire (1992).

1) Região central (canal preferencial): ocorre o transporte pneumático das partículas devido à elevada velocidade do fluido.

2) Região anular (deslizante): nesta região as partículas caem da região de jorro e deslizam para baixo, operando como um leito deslizante. Muitos autores, no entanto, definem como região de jorro ao conjunto região central – região de jorro.

3) Região de jorro (fonte): região acima do leito onde as partículas advindas da região central movimentam-se em regime desacelerado, como em uma fonte, caindo na região anular.

Existem basicamente três geometrias de secadores de jorro: a cônica, a cone-cilíndrica e a retangular. Nem toda a geometria do leito de jorro apresenta as três regiões (Figura 7) bem definidas (MATHUR & EPSTEIN, 1974).

A estabilidade de um leito de jorro depende das dimensões do leito e das propriedades das partículas. Para cada tipo de partícula e cada leito de jorro é possível determinar experimentalmente o seu diagrama de fase. Existem inúmeras correlações para a previsão da perda de carga no jorro estável. Do ponto de vista fluidodinâmico, os principais parâmetros ligados ao projeto de secador de leito de jorro são: a perda de carga no leito, em função da vazão de fluido, a perda de carga máxima, a perda de carga no jorro estável, a velocidade de jorro mínimo e a altura máxima de jorro estável. Além destes parâmetros, é conveniente ter uma idéia do perfil de velocidade do gás no leito, do movimento das partículas e de sua circulação (FREIRE,1992).

Velocidade de jorro mínimo: define-se como a menor velocidade superficial do qual o jorro ainda existe. Este parâmetro depende da geometria do sistema, bem como das características físicas do fluido e das partículas.

Altura máxima de jorro estável: define-se como a altura de leito que qualquer valor superior a ela prejudicaria a estabilidade do jorro. A importância desta informação, está no fato de poder estimar a quantidade total de material que será processada em cada corrida de um determinado equipamento.

Perda de carga no jorro estável: é a redução de pressão que ocorre durante o funcionamento estável do leito. A estabilidade de um leito de jorro depende das dimensões do leito e das propriedades das partículas.

Redução de pressão máxima: É a redução que ocorre um pouco antes do jorro ser estabelecido. Esta perda de carga, juntamente com o valor da velocidade de jorro mínimo, fornece dados necessários para a especificação do soprador.

O processo cíclico de deposição e secagem da suspensão e saída do produto seco ocorre sempre que a temperatura do leito, para um dado fluxo de alimentação, seja mantida suficientemente elevada para que a proporção de partículas “molhadas” no leito, em condições estacionárias, seja pequena. Além disso, o movimento de partículas não deve oferecer risco ao leito, pela aglomeração destas partículas úmidas, podendo ocasionar o colapso do leito (REYES & MASSARANI, 1991).

O mecanismo de troca de calor responsável pela evaporação da água na suspensão depende, em princípio, da localização da entrada de suspensão no leito. Quando a suspensão é alimentada na base do leito, a evaporação da água ocorre, predominantemente, na região do jorro ou região central, devido ao mecanismo de

transferência de calor por contato do ar quente com a película de suspensão. Já para a suspensão alimentada no topo do leito, a evaporação da água ocorre, principalmente, na região anular com transferência de calor indireto por contato inerte-partícula. Neste último caso, os inertes livres da solução são aquecidos pelo ar na região do jorro. No entanto, na condição extrema quando o secador opera em sua capacidade máxima, a evaporação da água tende a ocorrer tanto no jorro quanto na região anular e a localização da alimentação da suspensão parece ter pouca influência no processo (OLIVEIRA & PASSOS, 1997).

A secagem de pastas e suspensões é uma operação extremamente complexa devido à grande diversidade de tipo de pastas, com características bastante distintas. A escolha da técnica a ser utilizada, para a secagem, está diretamente relacionada às características do material a ser seco, cada pasta requer um estudo mais específico para a determinação do método mais adequado para a secagem (FREIRE, 1992).

No que diz respeito ao ponto de vista econômico, leitos de jorro vêm se tornando uma técnica promissora para a secagem de qualquer pasta em uma produção de pequena escala, comparativamente a equipamentos convencionais (por exemplo, *spray-dryer*), uma vez que partículas de inertes apropriadas sejam empregadas. Nestes secadores, algumas características contribuem para o desempenho da secagem, tais como uma adequada mistura de sólidos aliada a um satisfatório contato fluido-partícula, o que promove altas taxas de transferência de calor e massa para o sistema. A produto final pode variar desde um pó finamente disperso (partículas de tamanho menores do que 10  $\mu\text{m}$ ), pós granulados grosseiros (partículas com tamanho entre 10-200  $\mu\text{m}$ ), grânulos (partículas entre 0,2-5 mm) até pós aglomerados (FREIRE, 1992; OLIVEIRA & PASSOS, 1997; MEDEIROS et al., 2002; SPITZNER NETO et al., 2002; BACELOS et al., 2005; MUJUMDAR & HUANG, 2007; PEREIRA e al., 2010).

O grande número de variáveis envolvidas na caracterização da pasta e a grande variação de granulométrica do produto final implicam na possibilidade de um grande número de tipos de secadores a serem utilizados. Segundo a literatura, o leito de jorro cônico pode ser modelado como se possuísse vários segmentos, onde cada seguimento se comporta como um leito fluidizado, exceto o segmento que se localiza próximo do orifício de entrada de ar do leito, orifício inferior (PHAM, 1983).

No secador de leito de jorro, a atomização da pasta ou suspensão sobre o leito reveste as partículas com uma fina camada de material. À medida que seca, a película

se torna frágil, fragmentando-se devido aos efeitos de colisões interpartículas. O material na forma de pó é então arrastado para fora pela corrente de ar. Um ciclone conectado ao secador promove a separação e recolhimento do pó; entretanto, muitas vezes as taxas de remoção da película são muito baixas, promovendo acumulação do material no leito, sendo este um dos graves problemas deste secador, chegando até mesmo a inviabilizar sua utilização na secagem de diversos materiais (FREIRE, 1992; MEDEIROS et al., 2001).

Estudos têm sido reportados na literatura quanto à qualidade do produto obtido da secagem de pastas e suspensões em leito de jorro: Ao avaliar a qualidade do produto final obtido da secagem de suspensão protéica de peixe em leito de jorro cônico, Rodrigues & Tobinaga (2001) observaram que a temperatura do ar de saída, altura do leito e vazão afetaram significativamente a qualidade da proteína com respeito à solubilidade e propriedades emulsificantes. Na secagem em leito de jorro cônico de microalga (*Aphanotece microscópica Nägeli*), Jacob-Lopes et al. (2006), observaram efeitos significativos da temperatura do ar de entrada, vazão de alimentação e taxa de circulação sobre a umidade, cor e clorofila *a*. Estudando a secagem em leito de jorro de resíduo do processamento de leite de soja (okara), Wachiraphansakul & Devahastin (2007) constataram uma perda da funcionalidade da proteína (solubilidade) quando avaliada o aumento da temperatura do ar de entrada de 90°C para 110°C. Avaliando a secagem de modificados enzimáticos de pescado, obtidos de anchoita, Moraes (2007) observou diminuição da produção com o aumento do grau de hidrólise, e redução acentuada das propriedades funcionais tecnológicas com o aumento da temperatura do ar de entrada. Na avaliação do conteúdo de ficocianina da microalga *Spirulina platensis* seca em leito de jorro, Oliveira et al. (2008) observaram perdas de 10% em relação ao produto *in natura*. Estudando a secagem de pasta de quitosana em leito de jorro, Dotto et al., (2011) verificaram um efeito significativo da temperatura do ar de entrada sobre a massa molecular, diâmetro de partícula e cor do produto final obtido.

## CAPÍTULO III

---

(DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO)

### 3 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

O trabalho foi dividido em quatro artigos com a seguinte ordenação e propósito:

#### **ARTIGO 1: Isotermas de dessorção e propriedades termodinâmicas de filés de anchoita (*Engraulis anchoita*) *in natura* e modificado enzimaticamente**

Este trabalho teve como objetivos obter as isotermas de dessorção da anchoita na forma de filés *in natura* e de uma pasta modificada enzimaticamente, em dois diferentes graus de hidrólise (baixo – MBGH e alto – MAGH), bem como determinar as propriedades termodinâmicas de entalpia e entropia diferenciais e integrais, e a distribuição e tamanho dos poros das amostras através da aplicação das equações de Kelvin e Halsey.

#### **ARTIGO 2: Secagem convectiva de filé de anchoita: cinética de secagem e caracterização do produto final**

Este trabalho teve como objetivo caracterizar a secagem em camada delgada de filés de anchoita e avaliar as características do produto desidratado, em relação ao filé *in natura*, quanto sua: solubilidade, digestibilidade *in vitro*, lisina e metionina disponíveis, oxidação lipídica, atividade antioxidante, e cor.

#### **ARTIGO 3: Otimização e cinética de secagem convectiva em camada delgada de uma pasta modificada enzimaticamente obtida de anchoita**

Este trabalho teve como objetivo caracterizar e otimizar a secagem em camada delgada de pasta modificada, através da metodologia de superfície de resposta, considerando como fatores de estudo a temperatura do ar de secagem e espessura da amostra. As respostas avaliadas foram a oxidação lipídica, redução da lisina disponível, perda da atividade antioxidante específica.

#### **ARTIGO 4: Secagem em leito de jorro de pasta de anchoita modificada enzimaticamente: avaliação da qualidade protéica**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes condições de operação, na secagem em leito de jorro, sobre o conteúdo de lisina disponível e atividade antioxidante específica. Na condição indicada foi determinada a qualidade da proteína através do seu perfil de aminoácidos.

## **ARTIGO 1: Isotermas de dessorção e propriedades termodinâmicas de filés de anchoita (*Engraulis anchoita*) *in natura* e modificado enzimaticamente**

### **Resumo**

Os objetivos deste trabalho foram analisar os dados de umidade de equilíbrio e determinar as propriedades termodinâmicas de filés de anchoita e de pastas modificadas enzimaticamente em dois graus de hidrólise (GH), 3% (MBGH) e 14% (MAGH), à 50, 60 e 70 °C, utilizando o método gravimétrico estático. Os dados de umidade de equilíbrio foram avaliados através de cinco modelos de isotermas, e o modelo GAB foi o que apresentou melhor ajuste aos dados experimentais ( $R^2 \cong 0,99$  e  $DRM < 7\%$ ), sendo utilizado para determinar as propriedades termodinâmicas das amostras. A modificação enzimática mais extensiva (GH  $\cong 14\%$ ) ocasionou aumento da umidade de monocamada, e das constantes energéticas em relação as amostras *in natura* e MBGH. Os valores da umidade de monocamada para as amostras *in natura*, MBGH e MAGH foram de 0,058-0,074 kg/kg<sub>sólido seco</sub>, 0,06-0,075 kg/kg<sub>sólido seco</sub> e 0,079-0,093 kg/kg<sub>sólido seco</sub>, respectivamente, nas temperaturas estudadas. A modificação enzimática proporcionou aumentos da área superficial, entalpias diferencial e integral em relação as amostras *in natura*, indicando aumento na intensidade de ligação da água em baixos conteúdos de umidade. Por outro lado, as entropias diferencial e integral diminuíram com a modificação enzimática, proporcionando uma diminuição no número de sítios ativos livres em baixos conteúdos de umidade. A compensação entalpia-entropia indicou que o processo foi controlado pela entalpia, sendo espontâneo apenas para as amostras *in natura*. Os raios dos poros variaram de 0,8-12,6 nm para as amostras *in natura*, de 0,7-9,0 nm para o MBGH e 0,6-8,2 nm para o MAGH.

**Palavras chave:** pescado, isotermas de sorção, calor de sorção, compensação entalpia-entropia, tamanho de poro.

## Desorption isotherms and thermodynamics properties of anchovy fresh fillets and enzymatic modified

### Abstract

The aims of this work were to analyze the data of equilibrium moisture content and to determine the thermodynamic properties of anchovy fillets and of enzymatic modified pastes in two hydrolysis degrees, 3% (MBGH) and 14% (MAGH), at 50, 60 and 70 °C, by the method static gravimetric. The data of equilibrium moisture content were evaluated through five isotherms models. The GAB model showed the best fitting to the experimental data ( $R^2 = 0.99$  and DRM < 7%), and it was used to determine the thermodynamic properties of the samples. The more extensive enzymatic modification (GH 14%) caused an increase of the monolayer moisture content and in the energy constants in relation to the samples *in natura* and MBGH. The values of the monolayer moisture content for the samples *in natura*, MBGH and MAGH were of 0.058-0.074 kg/kg, 0.06-0.075 kg/kg and 0.079-0.093 kg/kg (dry basis), respectively, at studied temperatures. The enzymatic modification caused increases of the superficial area, differential and integral enthalpies in relation the samples *in natura*, indicating an increase in the intensity of connection of the water in low moisture contents. On the other hand, the differential and integral entropies had decreased with the enzymatic modification, providing a decrease in the number of free active sites at low moisture contents. The compensation enthalpy-entropy showed that the process was controlled by the enthalpy, it being spontaneous only for the samples *in natura*. The pores sizes varied of 0.8-12.6 nm for the samples *in natura*, of 0.7-9.0 nm for MBGH and 0.6-8.2 nm for MAGH.

**Keywords:** fish, sorptions isotherms, heat of sorption, enthalpy-entropy compenstaion, pore size.

## 1 Introdução

A anchoita (*Engraulis anchoita*) é uma espécie pelágica amplamente distribuída no Brasil desde o norte do litoral do Rio de Janeiro até o Chuí. Em princípio, a anchoita é um estoque alternativo virgem no Brasil, que poderia ser explorado sazonalmente desenvolvendo uma nova pescaria na região sul do Brasil (PASTOUS MADUREIRA et al., 2009; MORAES et al., 2010).

Avanços recentes nas áreas de tecnologia e engenharia de alimentos têm demonstrado os benefícios potenciais da utilização de enzimas no processamento principalmente de alimentos protéicos, para aumentar assim as possibilidades de aproveitamento de matéria-prima, como pescados de baixo valor comercial, e agregar valor aos mesmos. A hidrólise enzimática, realizada em condições brandas e controladas, garante a manutenção da qualidade nutricional dos hidrolisados e perfil peptídico definido. O grau de hidrólise (GH) é o parâmetro utilizado para comparar os hidrolisados entre si. O conhecimento da relação entre o grau de hidrólise com alguma característica funcional específica do hidrolisado permite elaborar produtos com propriedades funcionais previamente definidas (PANYAM & KILARA, 1996; KRISTINSSON & RASCO, 2000).

No estudo da operação de secagem e das condições de armazenamento, é necessário conhecer a relação entre o teor de umidade de equilíbrio ( $X_e$ ) do material e a atividade de água ( $a_w$ ) e/ou umidade relativa de equilíbrio do ar; essa relação é normalmente descrita pelas isotermas de sorção de umidade. A isoterma de sorção de umidade dos alimentos relaciona graficamente seu conteúdo de umidade de equilíbrio, tanto na dessorção quanto na adsorção, com a atividade de água em uma dada temperatura (TOGRUL & ARSLAN 2007; OLIVEIRA et al., 2009). Além disso, também são ferramentas termodinâmicas muito eficientes para determinar interações entre a água e materiais alimentícios, como proteínas, a fim de fornecer informações para avaliar as operações de processamento, tais como requerimento de energia para transferência de calor e massa, como também da microestrutura dos alimentos (IGLESIAS et al., 1976<sup>b</sup>; RIZVI & BENADO, 1984; FASINA et al., 1997 e 1999; AVIARA et al., 2004; KAYA & KAHYAOGU, 2007).

Numerosas correlações têm sido propostas na literatura para representar a relação entre o conteúdo de umidade de equilíbrio e a atividade de água. Estes modelos têm sido divididos em diversas categorias: modelos cinéticos baseados na monocamada (modelo de Brunauer, Emmet and Teller -

BET) modelos cinéticos baseados em multicamadas e filme condensado (modelo de Guggenheim-Anderson-de-Boer - GAB), semi-empíricos (modelos Ferro-Fontan, Henderson e de Halsey) e modelos empíricos (modelos de Smith e de Oswin). Sendo o modelo GAB considerado um dos modelos mais utilizados na literatura para descrever a sorção de alimentos. (VAN DEN BERG & BRUIN, 1981; AL-MUHTASEB et al., 2002 e 2004<sup>a</sup>).

A entalpia diferencial de sorção remete à uma estimativa da energia de ligação água-sólido. Já a entropia diferencial de um material é proporcional ao número de sítios de sorção a um nível específico de energia. Os fenômenos físicos, tais como reações de sorção, muitas vezes são avaliados com base na teoria isocinética ou teoria da compensação entalpia-entropia. Isto indica que a compensação surge devido a mudanças na interação solvente-soluto, e que existe uma relação linear entre a entalpia e entropia da reação (MADAMBA et al., 1996; MCMINN & MAGEE, 2003; TUNÇ & DUMAN, 2007; CLADERA-OLIVEIRA et al., 2008).

O potencial de superfície (*Spreading pressure*), e sua dependência com a atividade de água e a temperatura, é uma ferramenta útil para a interpretação dos dados cinéticos de sorção. Esta medida termodinâmica refere-se à energia livre da superfície de sorção. Pode ser considerada como a diferença de tensão superficial entre os sítios de sorção descobertos no sólido e sítios com moléculas adsorvidas (AL-MUHTASEB et al., 2004<sup>b</sup>).

Entalpia e entropia integrais são utilizadas para explicar os modos de comportamento de sorção de materiais biológicos. Ambas as propriedades também são utilizadas para indicar os níveis em que as interações água-substratos são maiores que as interações das moléculas de água. A entropia integral descreve o grau de desordem das moléculas de água no material, portanto, é uma medida da mobilidade das moléculas de água adsorvidas (FASINA, 2006; MCMINN et al., 2007).

O conhecimento do número e tamanho de poros em uma matriz protéica é de grande importância, pois determina a área total de sorção. A velocidade e o grau de hidratação dos materiais alimentícios são, em maior parte, decididas pelas propriedades de superfície dos poros (SINGH et al, 2006), por isso a avaliação da distribuição do tamanho dos poros é também importante na prática de secagem (ROSA et al., 2010). Historicamente, a equação de Kelvin é o modelo mais comumente empregado para calcular a distribuição do tamanho dos poros na região

de mesoporos (2-50 nm, IUPAC). Esta equação relaciona o raio do poro com a pressão de condensação. A equação, no entanto, se aplicada a tamanhos de poros reduzidos, em particular, não leva em conta a espessura das camadas formadas sobre a superfície porosa antes da condensação capilar ou evaporação (MIYATA et al., 2003). Uma variedade de métodos tenta explicar o aumento do filme através da associação da equação de Kelvin e uma isoterma padrão, ou curva “t”, para descrever a espessura do filme na pré-condensação na parede dos poros (LASTOSKIE et al., 1993).

Dados termodinâmicos sobre pescado, principalmente anchoita, são escassos na literatura, neste contexto, os objetivos deste trabalho foram: (a) obter as isotermas de dessecção da anchoita na forma de filés *in natura* e de uma pasta modificada enzimaticamente, em dois diferentes graus de hidrólise (baixo – MBGH e alto – MAGH), em diferentes temperaturas, utilizando modelos descritos na literatura; (b) determinar as funções termodinâmicas de entalpia e entropia diferenciais, potencial de superfície e entalpia e entropia integrais; (c) avaliar a aplicação da teoria da compensação entalpia-entropia; (d) determinar a distribuição e tamanho dos poros das amostras através da aplicação das equações de Kelvin e Halsey.

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Material**

Para a realização do trabalho foi utilizada a anchoita (*Engraulis anchoita*) na forma de filés *in natura* e modificado enzimaticamente. A enzima utilizada no processo de modificação enzimática foi a Neutrase® 0.8 L (Novozymes), que é uma endoprotease produzida pelo *Bacillus amyloliquefaciens*.

### **2.2 Métodos**

#### **2.2.1 Obtenção de filé**

A anchoita (*Engraulis anchoita*) foi capturada em cruzeiro pelo “Navio Oceanográfico Atlântico Sul”, utilizando rede de arrasto de meia água, na plataforma continental da região sul do Brasil (32° 34'S e 51° 53'W). A mesma foi armazenada a bordo em uma parte de gelo, uma de água do mar e duas de anchoita (1:1:2 – relação em massa) por 24 h. A anchoita foi então lavada em água clorada (5 ppm cloro residual livre), eviscerada e filetada, e os filés lavados novamente com uma solução de NaCl 0,3% e armazenados sob refrigeração a -18°C até o momento de sua utilização (MORAES et al., 2010).

### 2.2.2 Modificação enzimática

A partir dos filés de anchoita obteve-se uma pasta modificada enzimaticamente de baixo grau de hidrólise (MBGH) e uma pasta de alto grau de hidrólise (MAGH). Para isso os filés foram hidrolisados por Neutrase® em um reator de aço inoxidável, com agitação (agitado eixo hélice IKA RW 28 basic, EUA, ligado a um banho termostático (Quimis Q-304-264, Brasil). As condições de reação foram: para MBGH:  $\text{pH}_{\text{músculo}}$  6,8; temperatura de 55°C; razão enzima:substrato (E/S) 0,01%; tempo de hidrólise 30 min; e para MAGH:  $\text{pH}_{\text{músculo}}$  6,8; temperatura de 55°C; razão enzima:substrato (E/S) 0,25%; tempo de hidrólise 120 min. Inativação térmica foi realizada a 90°C por 10 min (MORAES, 2007; MORAES et al., 2010).

O grau de hidrólise (GH) foi medido segundo metodologia proposta por Adler-Niessen (1979) através da reação do TNBS (ácido trinitrobenzeno sulfônico) com a leucina liberada durante a hidrólise, com a finalidade de determinar o número de ligações peptídicas clivadas. O grau de hidrólise foi então calculado medindo-se a relação do número de miliequivalentes de leucina por grama de proteína, liberados na hidrólise, pelo número total de miliequivalentes de leucina por grama de proteína. O número total de leucina adotado, foi de 8,6 meq leucina /g<sub>proteína</sub>, sugerido por Nielsen et al. (2001) para pescado.

### 2.2.3 Obtenção das isotermas de sorção

As isotermas de dessorção foram determinadas a 50, 60, e 70 °C de acordo com Moraes et al., (2008). O método gravimétrico estático foi utilizado para a determinação da umidade de equilíbrio dos filés *in natura* de anchoita e da pasta modificada enzimaticamente por Neutrase com baixo (MBGH) e alto grau (MAGH) de hidrólise.

Os experimentos das isotermas foram realizados em onze frascos de vidro de 7 cm de altura e 6 cm de diâmetro, hermeticamente fechados, garantindo uma atmosfera constante. No interior de cada frasco havia soluções de ácido sulfúrico em onze concentrações variando de 0,20- 0,70 kg/kg (Tabela 1 em Apêndice), garantindo a variação de atividade de água de 0,055 a 0,89 de acordo com Perry (1984). Para os experimentos das isotermas de dessorção foram utilizadas amostras úmidas sendo: 3 g dos filés de anchoita *in natura* (contendo umidade de aproximadamente 0,78 kg/kg) cortadas na forma de paralelepípedo de aproximadamente (1,2 x 1,0 x 0,4) cm de dimensões; e 3 g de filés modificados enzimaticamente (contendo umidade de aproximadamente 0,80 kg/kg). As amostras foram colocadas em um apoio dentro de

cada frasco de vidro, garantindo que não houvesse contato da amostra com a solução ácida. Os frascos foram mantidos em uma incubadora com temperatura controlada por um tempo necessário para atingirem massa constante, o qual foi medido a cada dois dias em balança eletrônica com precisão de 0,001g (Kern model 430-21, Alemanha). A condição de equilíbrio foi alcançada quando a diferença entre três medidas sucessivas era de 0,001 g. Na condição de equilíbrio foi realizada análise de umidade (estufa 105°C por 24 h) para determinar a umidade de equilíbrio ( $X_e$ ).

## 2.3 Análise do dados

### 2.3.1 Modelos de isotermas

Os dados de umidade de equilíbrio ( $X_e$ ) em função da atividade de água ( $a_w$ ) obtidos foram ajustados por cinco modelos de isotermas de sorção de umidade. Os modelos GAB (Equação (1)) e BET (Equação (2)), os quais têm uma sólida base teórica, portanto seus parâmetros possuem significado físico, e outros três modelos semi-empíricos e empíricos: Halsey (Equação (3)), Henderson (Equação (4)) e Oswin (Equação (5)). Os modelos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Diferentes modelos para determinação das isotermas de sorção.

Modelo	Expressão matemática	Equação	Referência
GAB	$X_e = \frac{X_m \cdot C_G \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 - k \cdot a_w + C_G \cdot k \cdot a_w)}$	(1)	Timmermann, et al. (2001)
BET*	$X_e = \frac{X_m \cdot C_B \cdot a_w}{(1 - a_w) \cdot (1 - a_w + C_B \cdot a_w)}$	(2)	Timmermann, et al. (2001)
Halsey	$X_e = \left( \frac{-a_1}{\ln a_w} \right)^{1/b_1}$	(3)	Rosa et al. (2010)
Henderson	$X_e = a_2 [-\ln(1 - a_w)]^{b_2}$	(4)	Furmaniak et al., (2009)
Oswin	$X_e = a_3 \left( \frac{a_w}{(1 - a_w)} \right)^{b_3}$	(5)	Al-Muhtaseb et al., (2002)

onde  $X_e$  é a umidade de equilíbrio (kg<sub>água</sub>/kg<sub>sólido seco</sub>),  $X_m$  é o conteúdo de umidade da monocamada (kg<sub>água</sub>/kg<sub>sólido seco</sub>),  $a_w$  é a atividade de água,  $a_1$ ,  $a_2$ ,  $a_3$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$ ,  $C_G$ ,  $C_B$  e  $k$ , são parâmetros das equações; \*modelo BET obtido em uma faixa de  $a_w$  de 0,05-0,45.

Para a obtenção dos parâmetros das isotermas foi feita uma regressão não-linear com os dados experimentais das isotermas de equilíbrio dos filés (*in natura*, MBGH e MAGH) usando o Software Statistica 6.0 (Statsoft, Inc., Tulsa, OK, USA),

sendo estimados os parâmetros das Equações (1)-(5). Os parâmetros do modelo BET (Equação (2)) foram estimados com os dados experimentais em uma faixa de  $a_w$  0,05-0,5. Para avaliar a qualidade do ajuste de cada modelo, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e o desvio relativo médio (DRM) foram utilizados. O DRM é muito adotado na literatura para avaliar o ajuste dos modelos de isoterma e é definido conforme Equação (6). Um valor de DRM < 10% é considerado um bom ajuste (MORAES et al., 2008).

$$\text{DRM}(\%) = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|X_{ei} - X_{pi}|}{X_{ei}} \quad (6)$$

sendo:  $X_{ei}$  e  $X_{pi}$  os conteúdos de umidade de equilíbrio experimental e predita pelo modelo (kg/kg<sub>sólido seco</sub>), respectivamente, e N é número de pontos experimentais.

### 2.3.2 Cálculo das propriedades termodinâmicas

A área superficial de sorção desempenha um papel importante na determinação da ligação da água de um material particulado e é determinada a partir dos valores de umidade de monocamada  $X_m$ , como apresentado na Equação (7) (CASSINI et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2009; ROSA et al., 2010)

$$S_0 = X_m \cdot \frac{1}{PM_{H_2O}} \cdot N_0 \cdot A_{H_2O} = 3,5 \times 10^3 X_m \quad (7)$$

sendo:  $S_0$  a área superficial de sorção (m<sup>2</sup>/g),  $X_m$  o conteúdo de umidade na monocamada (kg/kg, base seca),  $PM_{H_2O}$  é o peso molecular da água (18 g/mol),  $N_0$  é o número de Avogadro ( $6,0 \times 10^{23}$  moléculas/mol), e  $A_{H_2O}$  é a área de uma molécula de água ( $1,06 \times 10^{-19}$  m<sup>2</sup>). A umidade de monocamada utilizada no cálculo da área foi obtida a partir do modelo GAB.

O calor isostérico de sorção líquido ( $q_{st}$ ) ou entalpia diferencial de sorção ( $\Delta h_d$ ) é definida como a diferença entre o calor total de sorção ( $Q_{st}$ ) e o calor latente molar de vaporização da água ( $\lambda$ ), foi determinado através da Equação (8) que é derivada da equação de Clausius-Clapeyron (RIZVI, 1995):

$$\left. \frac{\partial \ln(a_w)}{\partial (1/T)} \right|_{x_e} = -\frac{Q_{st} - \lambda}{R} = -\frac{q_{st}}{R} = -\frac{\Delta h_d}{R} = \left[ \ln \left( \frac{a_{w1}}{a_{w2}} \right) = -\frac{q_{st}}{R} \cdot \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) \right]_{x_e} \quad (8)$$

sendo:  $a_w$  a atividade de água,  $T$  a temperatura absoluta (K),  $R$  a constante universal dos gases ( $8,31 \times 10^{-3}$  kJ/mol.K), e  $\lambda$  o calor latente molar de vaporização da água ( $\lambda_{50^\circ\text{C}} \cong 43,2$  kJ/mol). Para o cálculo da entalpia diferencial de sorção ( $\Delta h_d$ ) e entropia diferencial ( $\Delta S_d$ ), foram utilizados dez valores de umidade de equilíbrio, variando de 0,05 a 0,5 kg/kg<sub>sólido seco</sub>.

O calor isostérico de sorção é uma quantidade molar diferencial derivadas da dependência da temperatura da isoterma, e sua aplicação requer a medida de isotermas de sorção em duas ou mais temperaturas. A mudança na entropia diferencial molar de dessorção pode ser calculada através da equação de Gibbs-Helmholtz (Equação 9) como utilizado por Rizvi (1995).

$$\Delta S_d = \frac{\Delta h_d - \Delta G}{T} \quad (9)$$

sendo:  $\Delta G$  a energia livre de Gibbs (kJ/mol), a qual é calculada segundo a Equação (10) (MADAMBA et al., 1996)

$$\Delta G = -RT \ln(a_w) \quad (10)$$

As mudanças de energia livre resultante da sorção de água são geralmente acompanhadas de mudanças tanto na entalpia e como na entropia. Substituindo a Equação (10) na Equação (9) e reorganizando, tem-se a Equação (11).

$$-\ln(a_w) \Big|_{x_e} = \frac{\Delta h_d}{RT} - \frac{\Delta S_d}{R} \quad (11)$$

sendo:  $\Delta h_d$  é a entalpia diferencial de sorção (kJ/mol K),  $\Delta S_d$  é a entropia diferencial de sorção (J/mol K),  $R$  é a constante universal dos gases ( $8,31 \times 10^{-3}$  kJ/mol.K),  $T$  é a temperatura absoluta (K) e,  $a_w$  é a atividade de água.

A entalpia diferencial ou calor de sorção líquido e a entropia diferencial de sorção podem ser calculadas através do gráfico de  $[-\ln(a_w)]$  vs  $1/T$ , para um conteúdo

específico de umidade do material, e determinando a declividade ( $\Delta h_d/R$ ) e intersecção da reta ( $-\Delta S_d/R$ ). Este procedimento pode ser repetido a vários conteúdos de umidade, a fim de estabelecer a dependência da  $\Delta h_d$  sobre o conteúdo de umidade.

A teoria da compensação entalpia-entropia propõe uma relação linear entre  $\Delta h_d$  e  $\Delta S_d$  (Equação (12)) (MCMINN et al., 2007):

$$\Delta h_d = T_\beta \Delta S_d + \Delta G_\beta \quad (12)$$

A partir de uma representação gráfica de  $\Delta h_d$  vs  $\Delta S_d$ , a temperatura isocinética ( $T_\beta$ ) e a energia livre à  $T_\beta$  podem ser calculadas através de regressão linear (Equação (16)). Para validar a teoria da compensação, a temperatura isocinética deve ser comparada com a média harmônica da temperatura ( $T_{hm}$ ) (Equação (13)). Assim um padrão de compensação linear somente existe se  $T_\beta \neq T_{hm}$  (TUNÇ & DUMAN, 2007, OLIVEIRA et al., 2009)

$$T_{hm} = \frac{n_i}{\sum_{i=1}^{n_i} 1/T} \quad (13)$$

sendo:  $n_i$  o número total de isotermas e  $T$  a temperatura (K). Se  $T_\beta > T_{hm}$  o processo é controlado pela entalpia, enquanto se a condição oposta é observada,  $T_\beta < T_{hm}$ , o processo é controlado pela entropia.

Uma abordagem semelhante à usada para obter o calor diferencial de sorção ( $\Delta h_d$ ) e a entropia diferencial ( $\Delta S_d$ ) é também utilizada para a entalpia líquida integral ( $\Delta h_{in}$ ) e entropia integral ( $\Delta S_{in}$ ), mas mantendo constante o potencial de superfície, comumente chamado de *Spreading Pressure*, que é o excesso de energia livre na superfície, sendo considerado como o aumento da tensão superficial dos sítios sorção expostos, devido as moléculas sorvidas sobre eles. Alguns pesquisadores têm utilizado o potencial de superfície como a força motriz no desenvolvimento de modelos de transporte durante a difusão em sólidos porosos. O *Spreading Pressure* pode ser estimado a partir de um procedimento analítico como descrito por Fasina et al. (1997) (Equação (14)):

$$\phi = \frac{K_B T}{A_{H_2O}} \int_0^{a_w} \frac{\theta}{a_w} d(a_w) \quad (14)$$

sendo:  $\phi$  o *Spreading Pressure* (J/m<sup>2</sup>),  $\theta = X_e/X_m$ ,  $K_B$  a constante de Boltzman (1,38×10<sup>-23</sup> J/K),  $A_{H_2O}$  a área de uma molécula de água (1,06×10<sup>-19</sup> m<sup>2</sup>). Quando  $a_w$  tende a zero a Equação (14) é indeterminada, portanto o limite mínimo de  $a_w = 0,05$ . No intervalo de  $0 \leq a_w < 0,05$  assume-se uma relação linear (lei Henry) entre  $a_w$  e  $\theta$  (FASINA et al., 1997). O *Spreading Pressure* para as diferentes temperaturas estudadas foi calculado por um procedimento analítico, o qual utiliza uma relação empírica entre o conteúdo de umidade e a atividade de água ( $a_w \geq 0,05$ ). A Equação de GAB (Equação (1)) foi utilizada para descrever esta relação. Substituindo a Equação (1) na Equação (14) e rearranjando tem-se a Equação (15):

$$\phi = \frac{K_B T}{A_{H_2O}} \ln \left[ \frac{1 + C_G k a_w - k a_w}{1 - k a_w} \right]_{0,05}^{a_w} \quad (15)$$

Analogamente ao cálculo da entalpia e entropia diferenciais, pode-se calcular a entalpia e entropia integrais, conforme as Equações (16) e (17) (FASINA, 2006).

$$\left. \frac{\partial \ln(a_w)}{\partial (1/T)} \right|_{\phi} \approx -\frac{q_{in}}{R} = -\frac{\Delta h_{in}}{R} = \left[ \ln \left( \frac{a_{w1}}{a_{w2}} \right) = -\frac{q_{in}}{R} \cdot \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) \right]_{\phi} \quad (16)$$

$$-\ln(a_w) \Big|_{\phi} = \frac{\Delta h_{in}}{RT} - \frac{\Delta S_{in}}{R} \quad (17)$$

A avaliação da distribuição do tamanho dos poros em diferentes conteúdos de umidade foi realizada mediante a aplicação das equações de Kelvin (Equação (18)) e Halsey (Equação (19)) (SINGH et al., 2001 e 2006; MIYATA et al., 2003; MITROPOULOS, 2008; ROSA et al., 2010).

$$r_c = -\frac{2 \cdot \sigma \cdot V_m}{RT \ln a_w} \quad (18)$$

sendo:  $r_c$  o raio crítico (m),  $\sigma$  a tensão superficial (N/m),  $V_m$  o volume molar do adsorbato em estado líquido ( $m^3/mol$ ),  $R$  a contante universal dos gases (kJ/mol K),  $T$  a temperatura (K) e  $a_w$  a atividade de água. Esta equação é aplicada primeiramente na região de condensação capilar da isoterma. A espessura da multicamada de água adsorvida  $t$  foi calculada aplicando a equação de Halsey:

$$t = 0,354 \left( \frac{-5}{\ln a_w} \right)^{1/3} \quad (19)$$

sendo  $t$  a espessura da camada (nm).

O tamanho efetivo de poro  $r_p$  pode ser calculado através da soma do raio crítico, onde a condensação por capilaridade ou evaporação ocorrem, e da espessura da multicamada  $t$ , mostrada na Equação(20):

$$r_p = r_c + t \quad (20)$$

### 3 Resultados e Discussão

#### 3.1 Isotermas de sorção

Os dados de isoterma de dessorção para filés de anchoita *in natura*, modificados enzimaticamente com baixo (MBGH) e alto grau de hidrólise (MAGH), à três diferentes temperaturas (50, 60 e 70°C) estão ilustrados na Figura 1. O conteúdo inicial de umidade das amostras de filés *in natura* e modificados foi de aproximadamente  $78,6 \pm 1,3\%$  (base úmida). Os graus de hidrólise alcançados para MBGH e MAGH foram respectivamente de  $3 \pm 0,12\%$  e  $14 \pm 0,21\%$ .

As isotermas de dessorção (Figura 1) apresentam forma sigmoidal tipo II, segundo a classificação de Brunauer et al. (1940), típico de isotermas de alimentos. Pode-se observar a diminuição da umidade de equilíbrio, à mesma umidade relativa, com o aumento da temperatura, o qual é esperado devido ao aumento da pressão de vapor da água. Isso ocorre porque com o aumento da temperatura, as moléculas de água são ativadas devido ao seu nível de energia, fazendo com que fiquem menos estáveis e rompam com o sítio de ligação de água dos produtos alimentícios (ARIAHU et al., 2006; FASINA, 2006). Também pode ser observado na Figura 1(a, b, c), um aumento da umidade de equilíbrio com a modificação enzimática e com o aumento do

GH. A extensão de aumento depende da natureza e/ou composição do alimento. A hidrólise enzimática de proteínas, principalmente de pescados, é acompanhada de três distintos efeitos: diminuição na massa molar, aumento no número de grupos ionizáveis, e promoção da exposição dos grupos hidrofóbicos até então ocultos (PANYAM & KILARA, 1996), sendo que essas alterações modificam as propriedades funcionais e biológicas da proteína nativa. A presença de grupos polares como  $-\text{COOH}$  e  $-\text{NH}_2$ , que aumentam com a hidrólise enzimática, tem substancial efeito na quantidade de água adsorvida, e conseqüentemente nas isothermas de sorção de umidade. Cândido & Sgarbiere (2003) também observaram um discreto aumento na umidade de equilíbrio com o aumento do GH, à mesma umidade relativa, estudando hidrolisados obtidos a partir de tilápia do Nilo.

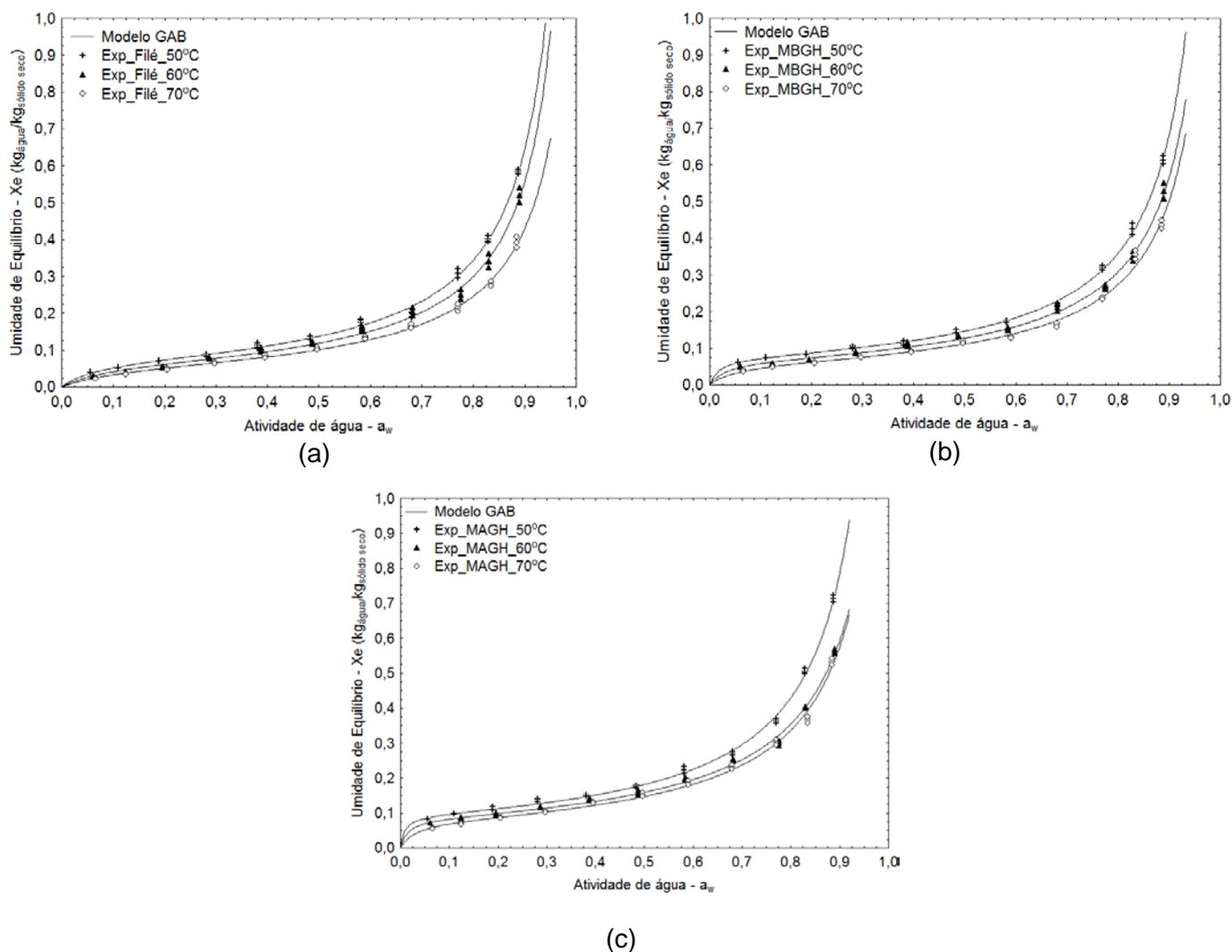


Figura 1: Dados das isothermas de dessorção a 50, 60 e 70°C, para: a) filé; b) MBGH; c) MAGH.

Na Tabela 2 estão apresentados os parâmetros estimados, obtidos por regressão não linear, das cinco relações entre  $X_e$  e  $a_w$ , avaliadas neste estudo (Equações (1)-(5)). Os modelos GAB, BET e Halsey (Equações (1), (2) e (3), respectivamente) se ajustaram aos resultados experimentais nas diferentes amostras estudadas, pois apresentaram desvios relativos médios  $< 10\%$  e coeficientes de determinação ( $R^2$ )  $> 0,97$ . A equação de GAB tem sido recomendada como equação fundamental para a caracterização da sorção de água em materiais alimentícios, pois trabalha em uma ampla  $a_w \cong 0,1-0,9$ , possui uma base teórica (modelo cinético baseado na multicamada e filme condensado) (ADEBOWALE et al., 2007), e além disso, segundo Timmerman et al. (2001), os seus parâmetros são mais representativos, que os correspondentes do modelo BET, ao considerar a hipótese de que a monocamada de sorção de água das proteínas pode ser pensada em termos de fixação de uma molécula de água para cada grupo polar das cadeias laterais de aminoácidos nas proteínas.

A umidade de monocamada correspondente à situação na qual os pontos primários de adsorção estão saturados por moléculas de água, ou seja, é o conteúdo mínimo abrangendo os sítios hidrofílicos na superfície do material. Observando a Tabela 2, verifica-se que a umidade de monocamada ( $X_m$ ) diminuiu com o aumento da temperatura, assim como as constantes de sorção  $C_G$  e  $k$ , as quais estão relacionadas com as interações energéticas entre as moléculas da monocamada e as subsequentes, em dado sítio de sorção característica do produto. A diminuição do conteúdo de umidade da monocamada com o aumento da temperatura pode ser devido a uma redução no número total de sítios ativos de ligação de água como resultado de alterações físicas e/ou químicas induzidas pela temperatura (Iglesias & Chirife, 1976<sup>a</sup>). A modificação enzimática causou um aumento da  $X_m$  com o aumento do GH de 3, % para 14%. A  $X_m$  do filé foi muito próxima da  $X_m$  do MBGH, considerando o erro. Entretanto, estas foram inferiores ao MAGH, provavelmente devido ao maior número de grupos polares liberados com a hidrólise, os quais se ligam com a água. De acordo com Kristinsson & Rasco (2000<sup>a</sup>), o conteúdo de umidade recomendado para o armazenamento de hidrolisados protéicos de pescado é próximo de 0,075 kg/kg para umidade relativa inferior a 15%.

Tabela 2: Parâmetros estimados para os modelos selecionados de equações de isoterma de sorção para filés *in natura* e modificados enzimaticamente em diferentes temperaturas.

Modelo	Constantes	Filé <i>in natura</i>			MBGH			MAGH		
		50°C	60°C	70°C	50°C	60°C	70°C	50°C	60°C	70°C
GAB	$X_m$	0,074±0,001	0,065±0,002	0,058±0,002	0,075±0,001	0,067±0,001	0,060±0,001	0,093±0,001	0,084±0,001	0,079±0,002
	$C_g$	15,06±3,30	12,00±3,84	10,10±2,31	53,08±16,99	31,56±11,61	19,20±7,24	118,8±57,75	70,24±28,53	33,21±10,8
	$k$	0,984±0,003	0,981±0,006	0,962±0,006	0,988±0,002	0,980±0,004	0,979±0,006	0,978±0,002	0,952±0,004	0,958±0,005
	DRM (%)	4,82	6,77	4,98	3,15	5,18	4,53	3,14	3,72	4,02
	$R^2$	0,996	0,989	0,993	0,997	0,993	0,990	0,997	0,995	0,993
BET	$X_m$	0,074±0,001	0,069±0,002	0,059±0,001	0,075±0,001	0,070±0,001	0,060±0,001	0,094±0,001	0,084±0,001	0,080±0,001
	$C_b$	14,68±2,13	8,45±1,08	8,00±0,86	54,46±10,33	22,23±3,67	19,54±2,15	92,34±23,72	56,49±11,64	25,15±3,13
	DRM (%)	5,28	5,83	4,69	3,13	5,38	3,70	2,54	2,97	3,56
	$R^2$	0,976	0,981	0,988	0,977	0,974	0,988	0,972	0,975	0,985
Halsey	$a_1$	0,088±0,001	0,074±0,002	0,052±0,001	0,091±0,001	0,071±0,002	0,064±0,002	0,106±0,002	0,069±0,001	0,069±0,002
	$b_1$	1,215±0,018	1,215±0,018	1,282±0,025	1,256±0,021	1,291±0,025	1,252±0,029	1,343±0,025	1,481±0,022	1,410±0,024
	DRM (%)	4,88	9,48	9,80	8,54	5,31	5,45	8,62	4,51	3,35
	$R^2$	0,995	0,992	0,995	0,994	0,992	0,989	0,992	0,994	0,994
Henderson	$a_2$	0,133±0,009	0,138±0,008	0,104±0,005	0,145±0,012	0,131±0,009	0,110±0,007	0,133±0,009	0,175±0,010	0,159±0,008
	$b_2$	1,221±0,074	1,197±0,077	1,094±0,077	1,183±0,089	1,117±0,089	1,167±0,075	1,221±0,074	0,909±0,066	0,957±0,062
	DRM (%)	29,48	26,70	21,21	30,85	27,63	28,59	29,00	23,04	22,04
	$R^2$	0,962	0,957	0,970	0,943	0,946	0,955	0,929	0,937	0,949
Oswin	$a_3$	0,139±0,004	0,121±0,004	0,104±0,002	0,151±0,006	0,133±0,004	0,113±0,009	0,193±0,007	0,171±0,005	0,156±0,004
	$b_3$	0,679±0,018	0,674±0,022	0,634±0,014	0,657±0,024	0,635±0,022	0,657±0,022	0,607±0,025	0,541±0,018	0,569±0,017
	DRM (%)	15,35	12,13	7,59	18,44	15,03	16,02	18,11	12,70	11,30
	$R^2$	0,989	0,983	0,991	0,979	0,981	0,981	0,972	0,979	0,983

Média ± erro padrão (n=3); MBGH: modificado com baixo grau de hidrólise; MAGH: modificado com alto grau de hidrólise.

Estudos na ciência de alimentos dão uma atenção preferencial ou quase exclusiva ao valor de monocamada. Entretanto, os valores das constantes de energia não devem ser ignorados, porque são resultados simultâneos do processo de regressão, e que influencia na forma sigmoideal das isotermas, uma vez que  $C_G$  e  $C_B$  determinam a forma mais ou menos pronunciada do “joelho”, em menores valores de atividade de água. Por outro lado, a terceira contante do modelo GAB, a constante  $k$ , determina o perfil da isoterma em maiores valores de  $a_w$ , que regula o auge após “platô” em uma gama média da atividade de água. A constante  $C_B$  está relacionada logaritmicamente com a diferença entre o potencial químico das moléculas de sorbato no estado líquido puro e a primeira camada de sorção. Por outro lado, a constante  $C_G$  está relacionada com a diferença dessa magnitude nas camadas superiores e na monocamada, enquanto que a constante  $k$  está relacionado com essa diferença do potencial químico das moléculas de sorbato no estado líquido puro nas camadas superiores (TIMMERMMAN et al., 2001). Os maiores valores de  $k$  determinam uma ascensão mais pronunciada, o que pode ser observado na Tabela 2, pois o aumento da temperatura diminuiu discretamente o valor de  $k$ , e conseqüentemente a ascensão da curva (Figura 1), ficando próximo da unidade. Com o aumento do GH (MAGH) também houve uma discreta diminuição no valor de  $k$ , o que pode indicar um estado muito menos estruturado do sorbato nas multicamadas, entretanto a diferença é reduzida, estando dentro do erro experimental. Já a constante  $C_G$ , diminuiu com o aumento da temperatura, e aumentou com a modificação enzimática, devido às mudanças na estrutura da proteína.

Os valores monocamada encontrados, no presente estudo estão próximos a valores mencionados na literatura para pescado:  $0,061 \text{ kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$  para salmão a  $37^\circ\text{C}$  (IGLESIAS & CHIRIFE, 1976<sup>a</sup>);  $0,058 \text{ kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$ , em média, para farinha de pescado a  $25^\circ\text{C}$  (TIMMERMANN et al., 2001);  $0,073 \text{ kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$  para fração protéica de miosina isolada da fração dorsal de pescado (*Labio rohita*) a  $45^\circ\text{C}$  (DAS & DAS, 2002);  $0,052 \text{ kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$  para sardinha a  $50^\circ\text{C}$  (HADRICH et al., 2008).

### 3.2 Propriedades termodinâmicas

Os valores da área superficial específica de dessorção do filé, MBGH e MAGH foram calculados de acordo com a Equação (7), considerando os valores de umidade de monocamada obtidos pelo modelo de GAB nas temperaturas de equilíbrio de 50,

60 e 70°C, e estão apresentados na Tabela 3. Pode-se observar que a total área superficial específica para ligações hidrofílicas na dessorção, diminuiu com o aumento da temperatura e aumentou com a modificação enzimática.

Tabela 3: Valores de área superficial específica de dessorção calculados pelos modelos de GAB para as amostras de filé *in natura*, MBGH e MAGH em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Área superficial (m <sup>2</sup> /g)		
	Filé	MBGH	MAGH
50	263,2	267,0	330,1
60	232,5	237,4	299,0
70	205,6	212,7	279,7

O MAGH apresentou um aumento na área superficial de 36% em relação ao filé *in natura* à 70°C. Esse comportamento tem sido descrito como uma alteração no número de sítios ativos devido às mudanças físicas e químicas induzidas tanto pela temperatura, como pela modificação enzimática. O aumento da temperatura diminui o número de sítios ativos (RIZVI, 1995), e de forma inversa o aumento do grau de hidrólise aumenta o número de sítios ativos (KRISTINSSON & RASCO, 2000). A grande área superficial de muitos biopolímeros é devido à existência de uma estrutura intrínseca que organiza os microporos nesses materiais (OLIVEIRA et al., 2009), os quais podem ser desestruturados com a modificação enzimática, causando o aumento da área superficial. Os valores encontrados neste estudo são semelhantes aos já relatados na literatura para alimentos em diferentes temperaturas, tais como: proteína texturizada de soja 162-206 m<sup>2</sup>/g (CASSINI et al., 2006); alho 196-315 m<sup>2</sup>/g e maçã 374-588 m<sup>2</sup>/g (MORAES et al., 2008); microalga *Spirulina platensis* 238-451 m<sup>2</sup>/g (OLIVEIRA et al., 2009); lingüiça turca fermentada 244- 397 m<sup>2</sup>/g (POLATOGLU et al., 2010).

Os valores da entalpia e da entropia diferencias de dessorção da água, para cada conteúdo de umidade, foram estimados aplicando a Equação (11), para os dados calculados a partir do modelo GAB. O calor isostérico de sorção líquido ou entalpia diferencial, é a quantidade de energia acima do calor de vaporização da água associado com o processo de sorção; sendo este parâmetro utilizado como um indicador do estado de água adsorvida pelas partículas sólidas

(FASINA et al., 1997). Já a entropia diferencial é proporcional ao número de sítios de sorção disponíveis a um nível específico de energia (MCMINN et al., 2007).

A Figura 2 apresenta os resultados do  $-\ln(a_w)$  vs.  $(1/T)$  nas três temperaturas analisadas variando a umidade de equilíbrio ( $X_e$ ) de 5% a 50%, em base seca, para os filés *in natura*, MBGH e MAGH.

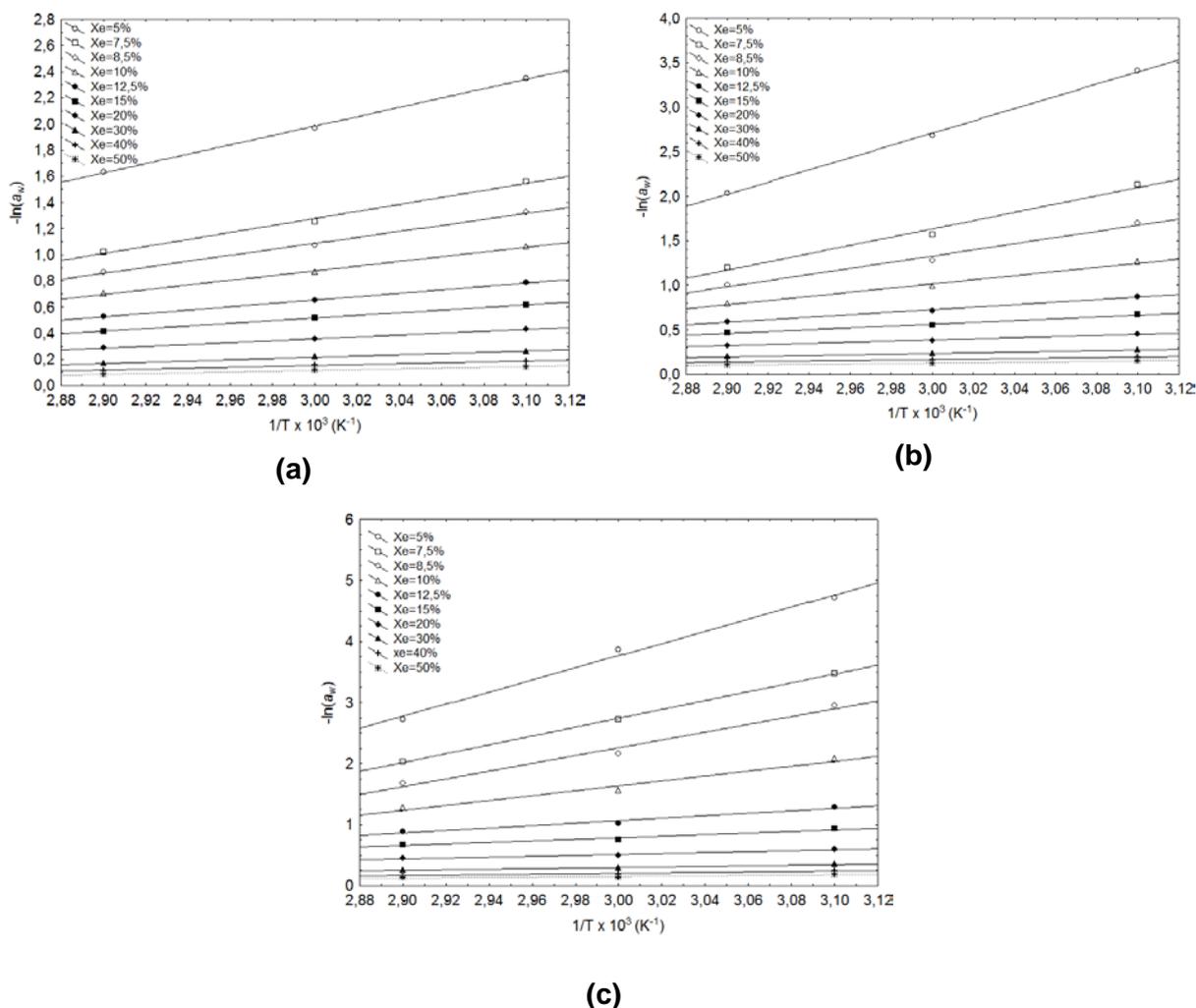


Figura 2: Curvas de  $[-\ln(a_w)]$  versus  $(1/T)$ , em diferentes conteúdos de umidade: (a) Filé *in natura*; (b) MBGH- modificado baixo grau de hidrólise; (c) MAGH- modificado alto grau de hidrólise.

Uma relação exponencial, muito utilizada por pesquisadores (FASINA, 2006), foi obtida para descrever adequadamente a dependência do calor total de sorção e o conteúdo de umidade para as diferentes amostras. As Equações (21), (22) e (23) representam esta relação, que também está ilustrada na Figura 3.

$$Q_{st_{\text{Filé}}} = 45,23 + (59,42 \times e^{(-X_e/0,064)}) \quad R^2=0,99 \quad (21)$$

$$Q_{st_{\text{MBGH}}} = 44,62 + (164,92 \times e^{(-X_e/0,046)}) \quad R^2=0,99 \quad (22)$$

$$Q_{st_{\text{MAGH}}} = 43,6 + (214,87 \times e^{(-X_e/0,054)}) \quad R^2=0,98 \quad (23)$$

A Figura 3 apresenta a variação do calor total de dessorção ( $Q_{st}$ ), que é a soma da entalpia diferencial ( $\Delta h_d$ ) e o calor latente de vaporização da água ( $\lambda$ ), em função do conteúdo de umidade juntamente com os modelos construídos a partir das Equações (21), (22) e (23) que descrevem o calor total de sorção com o conteúdo de umidade. Pode-se observar que a energia requerida para a dessorção aumenta com a diminuição do conteúdo de umidade de equilíbrio, devido a intensidade de ligação da água com o material adsorvente. Há a ocupação inicial de sítios polares altamente ativos para formar a monocamada, seguido do preenchimento progressivo dos locais menos acessíveis (com menores energias de ativação de ligação) e formação de multicamadas, por isso a diminuição da entalpia diferencial com o aumento do conteúdo de umidade, a qual tende a ficar assintótica a partir 20% (bs.). A modificação enzimática causou um aumento na entalpia diferencial, e conseqüentemente no calor total de dessorção, com a diminuição do conteúdo de umidade a partir de 12,5% (bs.). Esse aumento pode ser explicado pela mudança na conformação do biopolímero, o que ocasionou um aumento nos grupos polares, tornando-os mais ativos. A entalpia diferencial, em um conteúdo de umidade de 7,5% (b.s.), para o MBGH em relação ao filé *in natura* aumentou 72%, e para o MAGH houve um aumento de 170%, o que poderia refletir em um aumento nos custos energéticos da secagem, pois poderia diminuir a difusividade efetiva de umidade no material.

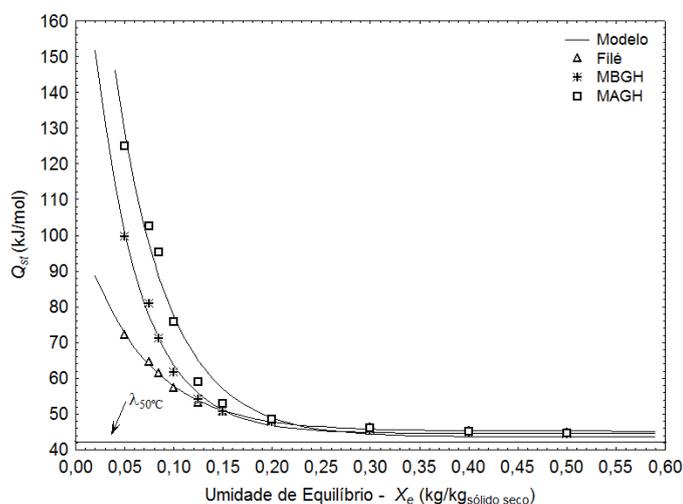


Figura 3: Calor total de dessorção para filé de anchoita in natura e modificado enzimaticamente.

O resultado encontrado no presente estudo, para os filés *in natura*, foi semelhante ao reportado por Hadrich et al. (2008), estudando a dessorção de filés de sardinha, onde o calor total de sorção, a 5% (b.s.) de umidade, foi de aproximadamente 70 kJ/mol. Ariaahu et al. (2006) observaram uma variação de entalpia de dessorção, a 5% (b.s.) de umidade, de aproximadamente 25 kJ/mol ( $Q_{st} \cong 68$  kJ/mol), para farinha de lagostim tropical de água doce. Das & Das (2002) relataram uma variação de entalpia diferencial de no máximo 5 kJ/mol ( $Q_{st} \cong 49$  kJ/mol), a 7,5% (b.s.) de umidade, para a fração de miosina extraída de pescado. Vivanco & Toboada (1998) observaram uma variação de entalpia diferencial de no máximo 17 kJ/mol ( $Q_{st} \cong 60$  kJ/mol), durante o processo de adsorção em farinha de pescado. Cassini et al. (2006) estudando a adsorção de proteína texturizada de soja relataram  $Q_{st} \cong 50$  kJ/mol, a 40°C e umidade 10% (b.s.). Oliveira et al. (2009) observaram na microalga *Spirulina platensis*, uma variação máxima na entalpia diferencial de aproximadamente 100 kJ/mol ( $Q_{st} \cong 143$  kJ/mol.), superior ao máximo encontrado no presente estudo que foi de 82 kJ/mol ( $Q_{st} \cong 125$  kJ/mol) para o MAGH. Já, Singh et al. (2006) observaram, em carne de cabra crua, uma entalpia diferencial, a 10% (bs) de umidade, de 10000 kJ/kg ( $\cong 180$  kJ/mol). Os resultados de entalpia diferencial do presente estudo estão dentro de uma faixa esperada para produtos alimentícios protéicos, se comparados com dados relatados por Al-Muhtaseb (2002), que na carne de frango pode variar de 249 – 2661,7 kJ/kg ( $\cong 4,48$  – 47,9 kJ/mol) e a carne bovina 356-1374 kJ/kg ( $\cong 6,40$  – 24,7 kJ/mol). Dados sobre hidrolisados protéicos são escassos na literatura.

As relações entre variação da entropia diferencial de dessorção ( $\Delta S_d$ ) e o conteúdo de umidade do filés *in natura*, MBGH e MAGH estão apresentados na Figura 4. A entropia diferencial é proporcional ao número de sítios de sorção disponíveis a um nível específico de energia (MADAMBA et al., 1996). Aumentar a desordem, ou seja, a entropia de um sistema termodinâmico significa, de forma similar, dar-lhe condições para que haja um maior número de microestados acessíveis às partículas que o compõem. Pode-se observar, Figura 4, que a entropia diferencial diminuiu com o aumento do GH, em conteúdos de umidade de equilíbrio inferiores a 20%, ou seja, a modificação enzimática proporcionou uma diminuição nos sítios ativos disponíveis (livres) em baixos conteúdos de umidade. Em toda a extensão de umidade estudada

estes valores foram negativos. Iglesias et al (1976<sup>b</sup>) atribuíram valores negativos de entropia para a existência de adsorção química. Rizvi (1984) atribui isso aos grupos mais polares que ligam a água mais fortemente. Isto é um indicativo da compensação termodinâmica entre o calor diferencial e a entropia diferencial da anchoita, tanto na forma de filé *in natura* quanto modificada enzimaticamente. Perfis semelhantes também foram observados em alimentos como: lagostim de água doce (ARIAHU et al., 2006); maçã e alho (MORAES et al., 2008); microalga (OLIVEIRA et al., 2009);

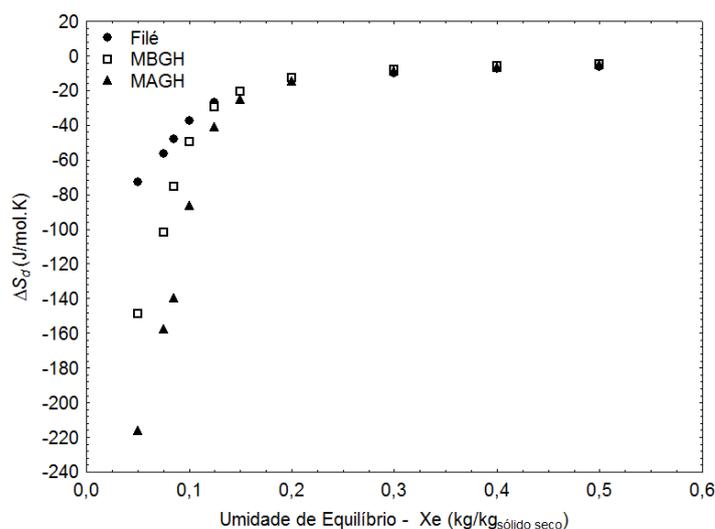


Figura 4: Variação da entropia diferencial para filés *in natura*, MBGH e MAGH em função da umidade de equilíbrio.

A teoria da compensação entalpia-entropia, ou teoria isocinética, vem sendo aplicada para investigar fenômenos físicos e químicos. Aplicada para uma série de reações de sorção e química. Esta teoria afirma que a compensação decorre de mudanças na natureza da interação entre soluto e solvente que causa a reação, e que a relação entre entalpia e entropia para uma reação específica é linear (Madamba et al., 1996). A Figura 5 mostra a relação linear entre  $\Delta h_d$  e  $\Delta S_d$ . Os valores dos parâmetros  $T_\beta$  (temperatura isocinética) e  $\Delta G$  (energia livre), obtidos a partir da regressão linear (Equação (12)) foram de: 404,8 K e -0,146 kJ/mol (Filé *in natura*); 379,3 K e +0,365 kJ/mol (MBGH); 377,3 K e 0,678 kJ/mol (MAGH) e o coeficiente de determinação de  $R^2 \geq 0,999$  para todas as amostras, é um indicativo da existência da teoria da compensação (McMinn et al., 2003). Para confirmar a teoria,  $T_\beta$  deve ser comparada com  $T_{hm}$  (Equação (13)), sendo  $T_\beta \neq T_{hm}$ . O valor de  $T_{hm}$  do presente estudo foi de 338,8 K, sendo inferior ao valor de  $T_\beta$  de todas as amostras avaliadas, assim o processo é controlado somente pela entalpia. Segundo Gabas et

al. (2000) e McMinn et al. (2007), estudando ameixa e produtos ricos em amido, respectivamente, apenas um mecanismo (entalpia) foi evidente em toda a temperatura e faixa de umidade estudada. Os autores sugeriram então, que a microestrutura produto manteve-se estável não sofrendo qualquer alteração durante a sorção de umidade. A variação de energia livre indica a afinidade do adsorvente com a água, e seu sinal fornece um critério sobre a sorção de água, sendo um processo espontâneo ( $-\Delta G$ ) ou não espontâneo ( $+\Delta G$ ) (MCMINN et al., 2007; CLADERA-OLIVEIRA et al., 2008; OLIVERIA et al., 2009). O valor negativo para os filés *in natura* sugere um processo espontâneo de dessorção e para os filés modificados um processo não espontâneo, indicando que o aumento do GH ocasionou um aumento na afinidade da água com o adsorvente.

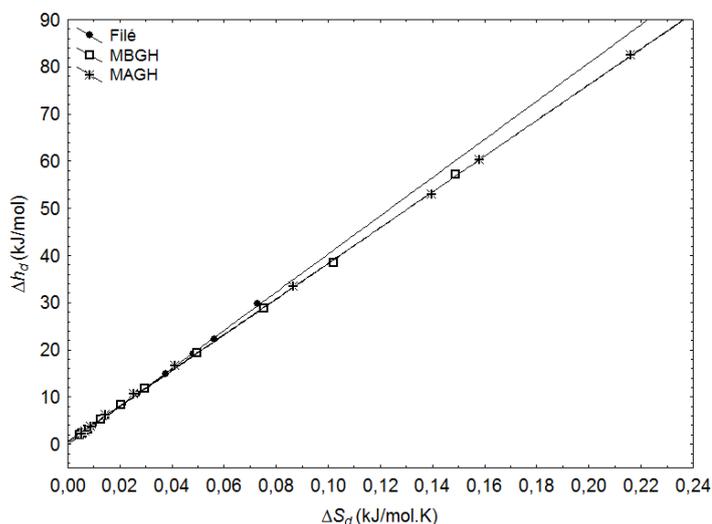


Figura 5: Entalpia diferencial em função da entropia diferencial para filés *in natura*, MBGH e MAGH.

Os valores da entalpia e da entropias integrais foram calculados a partir da Equação (17), que leva em conta o *Spreading pressure* ou potencial de superfície ( $\phi$ ) como constante, o qual foi calculado a partir da Equação (15), considerando os valores médios dos parâmetros  $C_G$  e  $k$  obtidos do modelo GAB (Tabela 2).

O potencial de superfície é a energia livre da superfície de sorção. Pode ser considerado como o diferença de tensão superficial entre os sítios de sorção desprotegidos no sólido e os sítios com moléculas adsorvidas (FASINA et al., 1997; MCMINN & MAGEE, 2003). Segundo Harkins & Livingston (1942), o potencial de superfície é definido com a diferença entre a tensão superficial da interface sólido-

vapor saturado e a tensão superficial da interface sólido-líquido. Apesar do potencial de superfície e da pressão de vapor terem propriedades semelhantes, não são termodinamicamente equivalentes. (AL-MUHTASEB et al., 2004<sup>b</sup>). A Figura 6 apresenta o potencial de superfície em função da atividade de água para os filés *in natura*, MBGH e MAGH, nas três temperaturas estudadas. Os resultados mostram que houve um aumento no potencial de superfície com o incremento da atividade da água (independentemente da temperatura) e, em uma dada atividade de água, diminuiu com o aumento da temperatura. A modificação enzimática, e consequente aumento do GH, elevou o potencial de superfície em relação ao filé *in natura*, em uma mesma temperatura. A magnitude do potencial de superfície e a tendência com respeito a atividade de água e temperatura foram semelhantes aos relatados para alimentos como: pellets de alfafa (FASINA et al., 1997), batata doce (FASINA, 2006), batata (MCMINN & MAGEE, 2003), alimentos ricos em amido (AL-MUHTASEB et al., 2004<sup>b</sup>), biscoito de aveia e aveia em flocos (MCMINN et al., 2007), na dessorção de nozes (TOGRUL & ARSLAN; 2007)

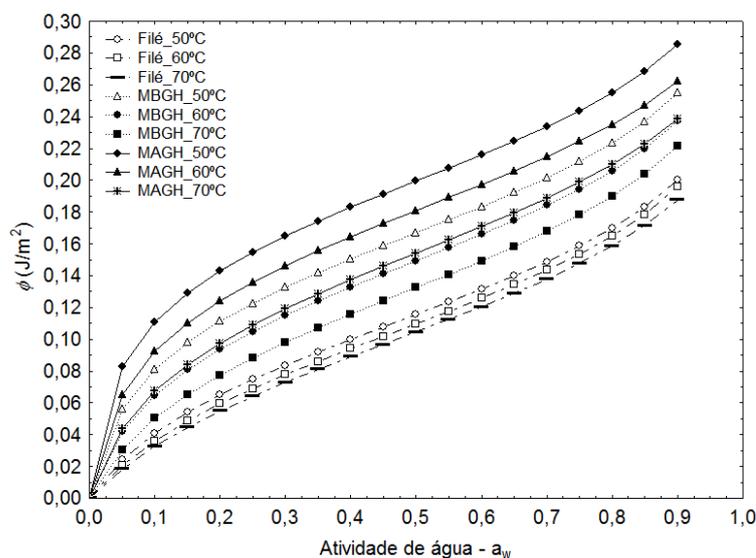


Figura 6: *Spreading pressure* em função da atividade de água, das amostras de filés *in natura*, MBGH e MAGH em diferentes temperaturas.

A entalpia ( $\Delta h_{in}$ ) e entropia ( $\Delta S_{in}$ ) integrais são utilizadas para explicar os modos de comportamento de sorção de materiais biológicos, ou seja, as quantidades integrais permitem a interpretação qualitativa do fenômeno de sorção. Ambas as propriedades também são usadas para indicar os níveis em que a interação água/substrato é maior do que a interação das moléculas de água. A

entropia integral descreve o grau de desordem das moléculas de água em um material e, portanto, é uma medida da mobilidade das moléculas de água adsorvidas (FASINA, 2006; MCMINN & MAGEE, 2003; PALATOĞLU et al., 2010). A Figura 7 apresenta os resultados do  $-\ln(a_w)$  vs.  $(1/T)$  nas três temperaturas analisadas variando o *Spreading pressure* de 0,024 a 0,18  $\text{J/m}^2$  para os filés *in natura*, MBGH e MAGH. A partir dos coeficientes angulares das retas e intersecções foram obtidos os valores da entalpia e da entropia integrais, respectivamente. As Figuras 8 e 9, mostram as variações da entalpia e da entropia integrais com a umidade de equilíbrio, em cada valor de  $\phi$ , para os filés *in natura*, MBGH e MAGH.

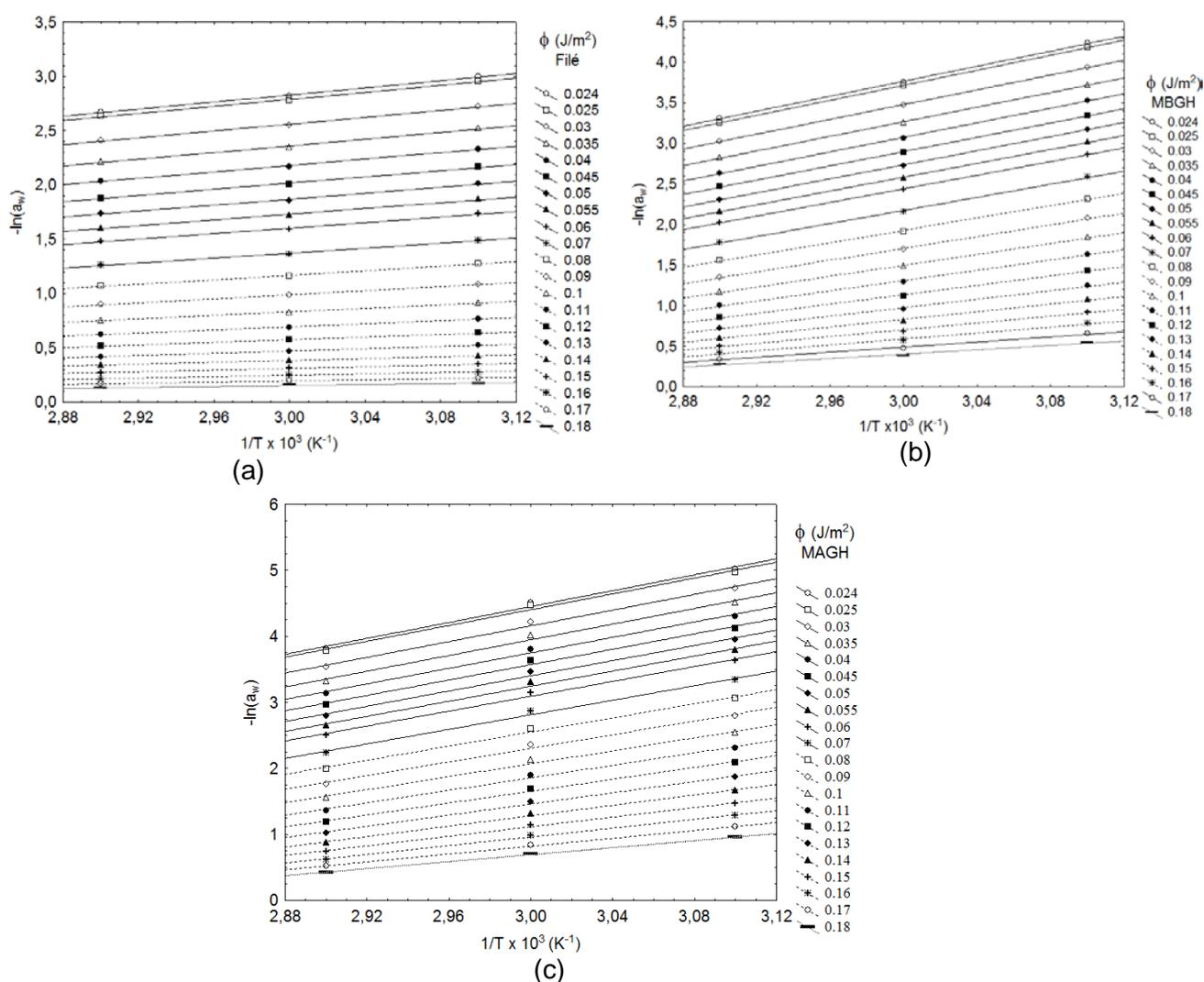


Figura 7: Curvas de  $[-\ln(a_w)]$  versus  $(1/T)$ , em diferentes *spreading pressure*: (a) Filé; (b) MBGH; (c) MAGH.

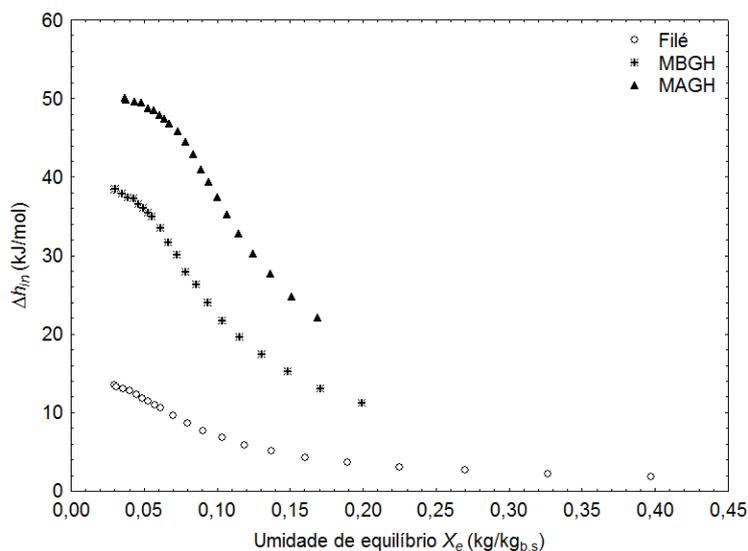


Figura 8: Entalpia integral de dessorção do filé, MBGH e MAGH em diferentes conteúdos de umidade.

Observando a Figura 8, para todos os materiais, a entalpia integral ( $\Delta h_{in}$ ) diminuiu com o aumento do conteúdo de umidade. Esse comportamento termodinâmico pode ser atribuído à cobertura da monocamada dos materiais. Em baixos teores de umidade, a água está adsorvida em locais mais acessíveis na superfície exterior do do sólido, e neste caso, onde os sítios de ligação foram mais fortes, sendo maior a interação água-sólido e conseqüentemente maiores os valores de entalpia integral. A entalpia integral, em seguida, começa a diminuir se locais menos favoráveis são cobertos e várias camadas de água adsorvida se formam (multicamadas) (FASINA et al., 1999). A magnitude da entalpia em altos conteúdos de umidade reflete a presença de água livre (MCMINN et al., 2007). O aumento do grau de hidrólise de 3% para aproximadamente 14% provocou uma elevação de 30% no valor da entalpia integral, o que poderia ser interpretado como um acréscimo de 30% na energia de ligação água-sólido. Em relação ao filé *in natura*, a modificação enzimática ocasionou um aumento de 182% e 268%, para o MBGH e MAGH, respectivamente. Esse aumento na interação água-sólido, em sistemas alimentícios, é de interesse pois reflete na melhora de muitas propriedades funcionais tecnológicas (ex.: capacidade de retenção de água, solubilidade, capacidade de emulsificação), o que poderia vir a proporcionar a utilização deste material como ingrediente funcional. Tendências semelhantes entre entalpia integral e o conteúdo de umidade foram observadas para sementes de

feijão (FASSINA et al., 1999), batata (MCMINN & MAGEE, 2003), sementes de soja (AVIARA et al., 2004), farinha de pescado (VIVANCO & TOBOADA, 1998), produtos amiláceos (AL-MUHTASEB et al., 2004<sup>b</sup>), batata doce (FASINA, 2006) e, para biscoitos de aveia e aveia em flocos (MCMINN et al., 2007). Estes dados de entalpia integral, também são particularmente importantes para estimativa da exigência de energia para reduzir o teor de água do produto alimentício a partir de um determinado teor de água inicial para um conteúdo final específico (MCMINN & MAGEE, 2003).

A entropia integral ( $\Delta S_{in}$ ) de dessorção de umidade, mostrada na Figura 9, independentemente do produto (filé *in natura*, MBGH ou MAGH), diminuiu discretamente até um mínimo e posteriormente aumentou com a elevação do conteúdo de umidade (mas manteve-se negativa). Segundo Aviara et al (2004), a diminuição da entropia em baixos conteúdos de umidade tem sido atribuída a interação lateral do filme adsorvido causada pelo efeito restritivo (perda de liberdade rotacional) das moléculas de água. Por isso, em valores mais baixos de umidade, as moléculas de água estão fortemente vinculadas nas superfícies adsorventes e, portanto, têm baixo grau de liberdade, resultando em baixa entropia de sorção. Os mais baixos valores de entropia integrais são em conteúdos de umidade próximos aos de monocamada. Nos maiores teores de umidade, as moléculas de água são adsorvidas em multicamadas no topo primeira camada fortemente ligada. As moléculas de água das multicamadas têm maior grau de liberdade e, portanto, maior a entropia de sorção. As tendências observadas nas entropias integrais pode ser atribuída a uma combinação de adsorção química (Rizvi, 1984), modificações estruturais nos alimentos, a presença de gordura e e grupos polares fortemente vinculados (MCMINN et al., 2007). Quando o conteúdo de umidade do material chega ao estado de saturação, a entropia integral tende para a entropia de água livre. O filé *in natura* atingiu essa tendência de saturação mais facilmente que o modificado. A magnitude da diminuição dos valores da entropia integral do MBGH e do MAGH em relação ao filé *in natura* foi de aproximadamente 355% e 520%, respectivamente, em um conteúdo de umidade de 5% (bs).

O aumento do GH de 3% para 14% (aumento de 4,5 vezes) diminuiu em 35% a entropia integral. A hidrólise enzimática além de promover o aumento do número de grupos ionizáveis, também promove a exposição de grupos hidrofóbicos, o que força as moléculas de água se rearranjarem em torno desses resíduos hidrofóbicos,

restringindo a sua mobilidade (o que pode ser observado pela diminuição da entropia) e conseqüentemente aumentando a estabilidade da proteína. Segundo Lewicki (2004) compostos apolares e polares contidos nos grupos apolares interagem com a água reduzindo o seu grau de liberdade, resultando em uma certa estabilização das moléculas de água no espaço a o líquido adquire estrutura similar à estrutura do sólido. Este fenômeno é chamado de hidratação hidrofóbica. A tendência da relação entre a entropia integral e teor de umidade foi comparável ao observado para semente de farinha de pescado (VIVANCO & TOBOADA, 1998), feijão (FASINA et al., 1999), pétalas de açafão e estragão (KAYA & KAHYAOGU, 2007), batata (MCMINN & MAGEE, 2003), biscoitos e flocos de aveia (MCMINN et al, 2007).

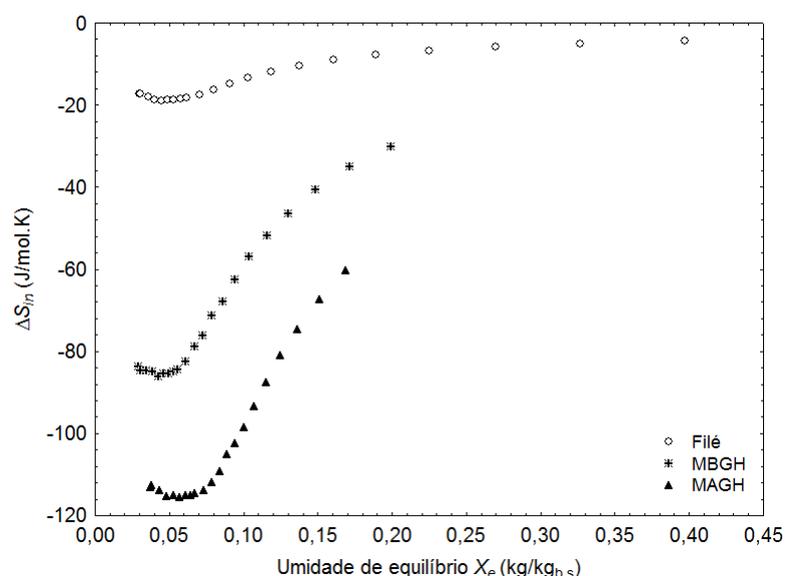


Figura 9: Entropia integral de dessorção do filé, MBGH e MAGH em diferentes conteúdos de umidade.

A Tabela 4 mostra o tamanho médio dos poros para filé *in natura*, MBGH e MAGH, em diferentes conteúdos de umidade de equilíbrio e temperatura. Independentemente da amostra, o tamanho dos poros aumentou com o aumento do conteúdo de umidade e da temperatura. Entretanto, o tamanho dos poros diminuiu com a modificação enzimática e aumento do grau de hidrólise. Nas temperaturas e umidades avaliadas os tamanhos de poros para os filés *in natura*, MBGH e MAGH variaram de 0,84 a 12,6 nm, 0,66 a 8,96 nm, e 0,55 a 8,21 nm, respectivamente.

Segundo a classificação definida pela IUPAC (International Union of Pure & Applied Chemistry) (MIYATA et al., 2003), os filés *in natura*, MBGH e MAGH, estariam no limite da região entre microporos e mesoporos (< 2 nm), para umidade de equilíbrio de até aproximadamente 15% (b.s.), e mesoporos (2 a 50 nm) para umidade de equilíbrio acima de 15% (b.s.). Os poros geralmente aumentam com o aumento do conteúdo de umidade, à uma dada temperatura de sorção, e também com o aumento da temperatura. Tendência semelhante foi relatada por Singh et al. (2001 e 2006) para salsicha defumada de frango e carne de cabra crua, respectivamente. Entretanto, o tamanho dos poros para estes produtos, a 50 °C, foram inferiores aos do presente estudo, sendo eles classificados como microporos. Rosa et al. (2010), estudando a dessorção de alho e maçã a 60 °C, encontraram um tamanho de poros variável de 0,5 a 30 nm. Estudando a dessorção da quitosana a 60 °C, Moraes et al. (2008) observaram uma variação no tamanho dos poros de 0,5 a 6,84 nm, em conteúdos de umidade variando de 0,018 a 0,486 kg/kg<sub>sólido seco</sub>.

Tabela 4: Tamanho médio dos poros (nm) para os filés *in natura*, MBGH e MAGH, à diferentes temperaturas e conteúdo de umidade.

		Tamanho médio dos poros - $r_p$ (nm)								
		Amostra								
		Filé <i>in natura</i>			MBGH*			MAGH*		
		50°C	60°C	70°C	50°C	60°C	70°C	50°C	60°C	70°C
$X_e$ (kg/kg <sub>sólido seco</sub> )	<b>0.05</b>	0,84	0,94	1,06	0,66	0,77	0,91	0,55	0,61	0,71
	<b>0.1</b>	1,44	1,67	1,96	1,27	1,09	1,76	0,91	1,10	1,27
	<b>0.15</b>	2,17	2,50	2,97	2,03	1,26	2,70	1,59	1,85	2,03
	<b>0.2</b>	2,91	3,33	4,02	2,77	1,52	3,64	2,23	2,59	2,80
	<b>0.25</b>	3,65	4,22	5,15	3,49	4,05	4,59	2,83	3,34	3,59
	<b>0.3</b>	4,38	5,05	6,34	4,21	4,90	5,58	3,44	4,14	4,43
	<b>0.35</b>	5,13	5,94	7,62	4,92	5,78	6,59	4,06	4,97	5,29
	<b>0.4</b>	5,91	6,85	9,08	5,64	6,67	7,61	4,68	5,84	6,21
	<b>0.45</b>	6,67	7,77	10,92	6,36	7,60	8,69	5,31	6,78	7,17
	<b>0.5</b>	7,46	8,74	12,69	7,11	8,55	8,96	5,94	7,77	8,21

\*MBGH: modificado com baixo grau de hidrólise; MAGH: modificado com alto grau de hidrólise.

Os mecanismos de difusão dependem das propriedades dentro da estrutura local da matriz porosa, ou seja, da força de interação das moléculas, no caso a água, com as paredes dos poros, bem como da proporção relativa entre o tamanho das moléculas e dos poros (ARMATAS, 2006). A hidrólise enzimática pela Neutrased®, que é uma endoprotease, cliva as ligações peptídicas no interior da molécula protéica,

fazendo com que ela perca a sua conformação, produzindo peptídeos relativamente grandes, o que pode explicar a redução no tamanho dos poros da matriz protéica com o aumento do grau de hidrólise e conseqüente aumento da área superficial em relação ao filé *in natura* (Tabela 3).

#### 4 Conclusão

O modelo GAB foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais apresentando um  $R^2 \cong 0,99$  e  $DRM < 7\%$ . A modificação enzimática branda (MBGH) não ocasionou mudanças na umidade de monocamada, entretanto as constantes energéticas associadas às multicamadas sofreram alterações. Já uma modificação enzimática mais extensiva (MAGH) ocasionou um aumento da umidade de monocamada e das constantes energéticas em relação aos filés *in natura* e MBGH, nas três diferentes temperaturas; Os valores da umidade de monocamada, nas temperaturas estudadas variaram de 0,058-0,074 kg/kg<sub>sólido seco</sub> para o filé, de 0,06-0,075 kg/kg<sub>sólido seco</sub> para o MBGH e de 0,079-0,093 kg/kg<sub>sólido seco</sub> para o MAGH. Conseqüentemente, a área superficial diminuiu com o aumento de temperatura e aumentou com a modificação enzimática, variando de 263 – 330 m<sup>2</sup>/g.;

A entalpia diferencial, e conseqüente calor total de sorção, mostraram uma forte relação com o conteúdo de umidade e com a modificação enzimática. Com o aumento do GH o calor total de sorção aumentou 170% em relação ao filé *in natura*, mostrando que a modificação enzimática promoveu um aumento na intensidade de ligação da água. Já a entropia diferencial diminuiu com a modificação enzimática em um conteúdo de umidade abaixo de 20%, proporcionando uma diminuição no número de sítios ativos livres.

A teoria da compensação pode ser aplicada com sucesso para o comportamento da umidade de dessorção do filé, MBGH e MAGH, indicando que em ambas as amostras o processo foi controlado pela entalpia, sendo o processo espontâneo para os filés e não espontâneos para o MBGH e MAGH.

A modificação enzimática e conseqüente aumento do GH ocasionaram um aumento no potencial de superfície, o que levou a uma elevação da entalpia integral indicando uma maior interação água-sólido e uma diminuição da entropia integral, indicando menor mobilidade das moléculas em baixos conteúdos de umidade.

O tamanho dos poros diminuiu com a modificação enzimática e aumento do GH, variando de 0,84-12,6 nm para o filé, de 0,66-8,96 nm para o MBGH e 0,55-8,2 nm para o MAGH.

## 5 Referências

- Adebowale, A.R., Sanni, I., Awonorin, S., Daniel, I., Kuye, A. Effect of cassava varieties on the sorption isotherm of tapioca grits. **International Journal of food Science and Technology**, v. 42, p. 448-452, 2007.
- Adler-Nissen, J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein by trinitrobenzenesulfonic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.27, n.6, p. 1256-1262, 1979.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M.; Magee, T.R.A. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review. **Trans IChem E**, v.80, p. 118-128, 2002.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M.; Magee T.R.A Water sorption isotherms of starch powders Part 1: mathematical description of experimental data. **Journal of Food Engineering**, v.60 p. 297-307, 2004<sup>a</sup>.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M.; Magee, T.R.A. Water sorption isotherms of starch powders. Part 2: Thermodynamic characteristics. **Journal of Food Engineering** v. 64, p. 135-142, 2004<sup>b</sup>.
- Ariahu, C.C.; Kaze, S.A.; Achem, C.D. Moisture sorption characteristics of tropical fresh water crayfish (*Procambarus clarkia*). **Journal of Food Engineering**, v.75, n.3, p. 355-363, 2006.
- Armatas, G.S. Determination of the effects of the pore size distribution and pore connectivity distribution on the pore tortuosity and diffusive transport in model porous networks. **Chemical Engineering Science** v. 61, p.4662 – 4675, 2006.
- Aviara, N.A.; Ajibola, O.O.; Oni, S.A., Sorption equilibrium and thermodynamic characteristics of soya bean. **Biosystems Engineering**, v.87, p. 179-190, 2004.
- Brunauer, S., Deming, L.S., Deming, W.E., Troller, E. On the theory of Van der Waals adsorption of gases. **Journal American Chemical Society**, v. 62, p. 1723-1732, 1940.

- Cândido, L.M.B., Sgarbiere, V.C. Enzymatic hydrolysis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) myofibrillar proteins: effects on nutritional and hydrophilic properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 937-944, 2003.
- Cassini, A.S., Marczak, L.D.F e Noreña, C.P.Z. Water adsorption isotherms of texturized soy protein. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 194-199, 2006.
- Cladera-Oliveira, F.; Petterman, A.C., Noreña, C.P., Wada, K., Marczak, L.D.F., Thermodynamic properties of moisture desorption of raw pinhão (*Auracaria angustifolia* seeds). **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.900-907, 2008.
- Das, M.; Das, S.K.. Analysis of moisture sorption characteristics of fish protein myosin, **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 223-227, 2002.
- Fasina, O.; Sokhansanj, S.; Tyler, R. Thermodynamics of moisture sorption in alfafa pellets. **Drying Technology**, v. 15, p. 1553-1570, 1997.
- Fasina, O.O.; Ajibola, O.O.; Tyler, R.T. Thermodynamics of moisture sorption in winged been seed and gari. **Journal of Food Process Engineering**, v. 22, p. 405-418, 1999.
- Fasina O.O. Thermodynamics properties of sweetpotato. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 149-155, 2006.
- Furmaniak, S.; Terzyk, A.P.; Gołembiewski, R.; Gauden, P.A.; Czepirski, L. Searching the most optimal model of water sorption on foodstuffs in the whole range relative humidity. **Food Research International**, v.42, p. 1203-1214, 2009.
- Gabas A.L.; Menegalli, F.C.; Telis-Romero, J. Water sorption enthalpy-entropy compensation based on isotherms of plum skin and pulp. **Journal of Food Science: Food Engineering and Physical Properties**, v. 65, p. 680-684, 2000.
- Hadrich, B.; Boudhrioua, N.; Kechaou, N. Experimental and mathematical study of desorption isotherms of Tunisian Sardine (*Sardinella aurita*). **Food and Bioproducts Processing**, v.86, p. 242-247, 2008.
- Harkins, W.D.; Levingston, H. K. Energy Relations of the surface solids. II Spreading pressure as related to the work of adhesion between a solid and a liquid. **Journal of Chemical Physics**, v.10, p. 342-356, 1942.
- Iglesias, H.A. Chirife, J. Isosteric heat of water vapor sorption on dehydrated foods. Part I. Analysis of the differential heat curves. . **LWT – Food Science and Technology**, v.9, p.116-122, 1976<sup>a</sup>.

- Iglesias, H.A., Chirife, J., Viollaz, P. Thermodynamics of water vapour sorption by sugar beet root. **Journal Food Technology**, v. 11, p. 91-101, 1976<sup>b</sup>.
- Kaya, S.; Kahyaoglu, T. Moisture sorption and thermodynamic properties of safflower petals and tarragon. **Journal of Food Engineering**, v.78, p, 413-421, 2007.
- Kristinsson, H. G.; Rasco, B.; A. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical and Functional Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.40, p.43-81, 2000.
- Lastosckie, C.; Gubbins, K.E.; Quirke, N. Pore size distribution analysis of microporous carbons: a density functional theory approach. **Journal of Physical Chemistry**, v. 97, p. 4786-4796, 1993.
- Lewicki, P.P. Water as the determinant of food engineering properties. A review. **Journal of Food Engineering**. V.61, p. 483-495, 2004.
- Madamba, P.S.; Driscoll, R.H., Buckle, K.A. Enthalpy-Entropy compensation models for sorption and browning of garlic. **Journal of Food Engineering**, v. 28, p. 109-119, 1996.
- McMinn, W.A.M.; Magee, T.R.A. Thermodynamic properties of moisture sorption of potato. **Journal of Food Engineering**, v. 60, p. 157-165, 2003.
- McMinn, W.A.M.; McKee, D.J.; Magee, T.R.A. Moisture adsorption behavior of oatmeal biscuit and oat flakes. **Journal of Food Engineering**, v.79; p. 481–493, 2007.
- Mitropoulos. A.Ch. The Kelvin Equation. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.317, p. 643-648, 2008.
- Miyata, T., Endo, A., Ohmori, T., Akiya, T., Nakaiwa, M. Evaluation of pore size distribution in boundary region of micropore and mesopore using gas adsorption method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.262, p. 116-125, 2003.
- Moraes, K. Desenvolvimento de um processo de obtenção de proteína de anchóita (*Engraulis anchoita*) modificada enzimaticamente. 120p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande-RS, 2007.
- Moraes, K.; Miyasaki, E.K.; Feisther, V.A.; Ruiz, W.A.; Pinto, L.A.A. Sensory evaluation of dehydrated soup enriched with enzymatically modified anchovy muscle. 4<sup>th</sup> International Congress on Bioprocess in Food Industries – Curitiba – PR – Brazil. (05 to 08 october, 2010)
- Moraes, M.A.; Rosa, G. S.; Pinto, L.A.A.; Moisture sorption isotherms and thermodynamics properties of apple Fuji and Garlic. **International Journal of Food Science and Technology**. V. 43, p.1824-1831, 2008.

- Nielsen, P. M., Petersen, D., Dambmann, C. Improved method for determining food protein degree hydrolysis. **Journal of Food Science**, v.66, n.5, p. 642-646, 2001.
- Oliveira, E.G.; Rosa, G.S.; Moraes, M.A.; Pinto, L.A.A. Moisture sorption characteristics of microalgae *Spirulina platensis* **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. V, 26, p. 189-197, 2009.
- Panyam, D., Kilara, A. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, p. 120-125, 1996.
- Pastous-Madureira, L.S., Castello, J.P., Prentice-Hernández, C., Queiroz, M.I., Espírito Santo, M.L., Ruiz, W.A., Raggi Abdallah, P., Hansen, J., Bertolotti, M.I., Manca, E., Yeannes, M.I., Avdalov, N. and Fernández Amorín, S. Current and potential alternative food uses of the Argentine anchoita (*Engraulis anchoita*) in Argentina, Uruguay and Brazil. In M.R. Hasan and M. Halwart (eds). Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**. No. 518. Rome, FAO. pp. 269–287, 2009.
- Perry, R.H. Chemical engineers' handbook (6<sup>th</sup> ed). New York: McGraw-Hill, cap. 3 p. 43-80, 1984.
- Polatoğlu, B., Beşe, A.V.; Kaya, M., Aktaş, N. Moisture adsorption isotherms and thermodynamics properties of sucuk (Turkish dry-fermented sausage), **Food and Bioproducts Process**, doi:10.1016/j.fbp.2010.06.003, 2010.
- Rizvi, S.S.H., Benado, A.L. Thermodynamics properties of dehydrated foods. **Food Technology**, v. 38, p. 83-92, 1984.
- Rizvi, S.S.H. Thermodynamics properties of foods in dehydration. In: Rao M.A., Rizvi S.S.H. (eds), Engineering properties of foods. New York : Academic Press. P. 223-309, 1995.
- Rosa, G.S.; Moraes, M.A.; Pinto, L.A.A. Moisture Sorption properties of chitosan. **LWT – Food Science and Technology**, v.43, p. 415-420, 2010.
- Singh, R.B.B.; Rao, K.H.; Anjaneyulu, A.S.R.; Patil, G.R. Moisture sorption properties of somoked chicken sausages from spent hen meat. **Food Research International**, v. 34, p. 143 – 148, 2001.
- Singh, R.R.B.; Rao, K.H.; Anjaneyulu, A.S.R., Patil, G.R. Water desorption characteristics of raw goat meat: Effect of temperature. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 228-236, 2006.

- Timmermman, E.O.; Chirife, J.; Iglesias, H.A. Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? **Journal of Food Engineering**, v.48, p. 19-31, 2001.
- Togrul, H., Arslan, N. Moisture sorption isotherm and thermodynamic properties of walnut kernels. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 252-264, 2007.
- Tunç, S. e Duman, O. Thermodynamic properties and moisture adsorption isotherms of cottonseed protein isolate and different forms of cottonseed samples. **Journal of Food Engineering**, v.81, p. 133-143, 2007.
- Van den Berg C.; Bruin, S. Water activity and its estimation in food systems. In: Rockland, L.B., Stewart, F. (Eds), **Water activity: Influence on food quality**. Academic Press, New York, p. 147-177, 1981.
- Vivanco, M.M.; Taboada, O.M. Thermodynamic behavior of fish meal during adsorption. **Drying Technology**, v. 16, p. 1827-1842, 1998.

## **ARTIGO 2: Secagem convectiva de filé de anchoita: cinética de secagem e caracterização do produto final**

### **Resumo**

O objetivo deste trabalho foi analisar a secagem em camada delgada dos filés de anchoita, sendo avaliadas as características do produto final através de suas propriedades funcionais e bioquímicas. Os ensaios de secagem foram nas temperaturas de 50, 60 e 70°C, com velocidade do ar de 2,5 m/s. Os filés foram desidratados com escoamento paralelo do ar por um lado, com a pele voltada para cima e também para baixo, e pelos dois lados com a pele para baixo. Os dados experimentais foram analisados através de cinco modelos empíricos de secagem, sendo que todos apresentaram bom ajuste ( $R^2 > 0,99$  e  $REQM < 0,05$ ), entretanto o modelo de Henderson e Pabis foi escolhido para a estimativa da difusividade efetiva de umidade ( $D_{ef}$ ), por apresentar maior significado físico. Os valores encontrados de  $D_{ef}$  variaram de  $3,3 \times 10^{-10}$  a  $8,6 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s com a pele voltada para baixo, de  $2,2 \times 10^{-10}$  a  $5,5 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s com a pele voltada para cima, e os valores da energia de ativação foram de 32,2 e 38,4 kJ/mol, respectivamente, indicando que a pele criou uma resistência à difusão de umidade. As características dos produtos foram influenciadas significativamente pelas as condições de operação, e a menor alteração ocorreu na secagem a 60°C para as amostras secas pelos dois lados. Nesta condição, a produção foi de  $3,0 \times 10^{-4}$  kg/m<sup>2</sup>s; a solubilidade em média de 22,3%; a digestibilidade *in vitro* de 87,4%; os conteúdos de lisina e metionina disponíveis de 7,21 e 2,64 g/100<sub>proteína</sub>, respectivamente; o índice de TBA de 1,16 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra, bs</sub>; a atividade antioxidante específica de 1,91 μM<sub>DPPHseq</sub>/g<sub>ptna sol</sub> min; e a variação na sensação da cor ( $\Delta E$ ) de 10,72.

**Palavras chave:** peixes pelágicos, secagem de pescado, difusividade, lisina, oxidação lipídica, atividade antioxidante.

## Convective drying of anchovy fillets: drying kinetics and final product characterization

### Abstract

The aim of this study was to analyze the thin layer drying of anchovy fillets, and to evaluate the final product characteristics through its biochemical and functional properties. The drying experiments were carried out at 50, 60 and 70 °C, 2.5 m/s air velocity. The fillets were dried with the skin down (with air flow one side and the two sides) and skin up (with air flow one side). The experimental data were analyzed by five drying empirical models, and all models had a good adjustment of experimental data ( $R^2 > 0.99$  and  $REQM < 0.05$ ), however the Henderson-Pabis model was chosen due to estimate the effective moisture diffusivity (Def), due to its higher physical meaning. The values Def ranged from  $3.3 \times 10^{-10}$  to  $8.6 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s with the skin down and  $2.2 \times 10^{-10}$  to  $5. \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s with the skin up, and the values of activation energy were 32.2 and 38.4 kJ/mol, respectively, indicating that the skin created a resistance to moisture diffusion. The product characteristics were significantly affected ( $P < 0.05$ ) by drying operation conditions. The lower change was in drying at 60 °C with air flow for two sides of the samples. In this condition, the production was  $3.0 \times 10^{-4}$  kg/m<sup>2</sup>s; solubility 22.3%; *in vitro* digestibility was 87.4%, the contents of available lysine and methionine were 7.21 and 2.64 g/100<sub>protein</sub>, respectively; the TBA value was 1.16 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>sample, db</sub>; specific antioxidant activity was 1.91 μM<sub>DPPHscavenging</sub>/g<sub>soluble protein</sub>min, and variation total color ( $\Delta E$ ) was 10.72.

**Keywords:** pelagic fish, drying filsh, diffusivity, avaiable lysine, lipid oxidation, antioxidant activity.

## 1 Introdução

Pescado e produtos marinhos são importantes fontes alimentícias, especialmente em países em desenvolvimento. Estes produtos são grandes fontes de nutrientes como proteínas (15-27%), apresentando todos os aminoácidos essenciais, com elevado teor de lisina, aminoácido “starter” do processo digestivo e necessário na dieta à base de arroz do brasileiro. Além da qualidade protéica, pescados são uma boa fonte de lipídios e de muitos ácidos graxos poliinsaturados (MORRISON & SABRY, 1963; WANG et al., 1996; CZERNER et al., 2011), entretanto eles possuem aproximadamente 80% de água sendo, portanto altamente perecíveis (DJENDOUBI et al., 2009).

A anchoita (*Engraulis anchoita*) é uma espécie pelágica de elevada biomassa na costa brasileira, entretanto seus estoques ainda permanecem inexplorados, mas com possibilidades de uma exploração sustentável. Portanto, no Brasil a tendência é para o desenvolvimento de produtos alternativos à base de anchoita, os quais atribuiriam novos mercados e poderiam ser incluídos em programas sociais governamentais de combate à fome. Pesquisas para utilizar uma fórmula para responder às demandas específicas são necessárias, especialmente em relação ao processamento de produtos desidratados (PASTOUS-MADUREIRA et al., 2009).

A secagem ou desidratação tem sido utilizada por diversos países ao redor do mundo para a preservação de alimentos e materiais biológicos, como de espécies de pescado subutilizadas e descartes do processamento, sendo então um importante método de processamento e preservação de produtos aquáticos (WANG et al., 2011). A remoção de umidade durante o processo de secagem é muito afetada pelas condições do ar de secagem como também pelas características dimensionais do material e composição (KIRANOUDIS et al., 1997). O efeito dos parâmetros de secagem na remoção de umidade, expressos por modelos cinéticos têm sido estudadas para diferentes espécies de pescado (PARK, 1998; KONISHI et al., 2001; PINTO & TOBINAGA, 2006; DJENDOUBI et al., 2009; VEJA-GÁLVEZ et al., 2009 e 2011). Entretanto, as condições de secagem, como a temperatura, umidade, espessura, composição e disposição do material, têm grande influência nas

propriedades dos alimentos, como *flavor*, cor e composição nutricional. Portanto, esta operação deve ser realizada com cuidado para que não haja redução de qualidade melhorando a vida útil destes produtos (WANG et al., 2011).

A deterioração de valor nutritivo, durante o processamento, pode resultar das interações dos produtos de oxidação lipídica, muito reativos, com as proteínas, que são componentes vitais da nossa dieta e precisam ser especialmente protegidas em todos os processos relacionados com o processamento tecnológico. O valor nutritivo das proteínas de produtos cárneos é determinada pela composição quantitativa e qualitativa de aminoácidos, e através da susceptibilidade da proteínas à hidrólise por enzimas digestivas. A digestibilidade e disponibilidade de aminoácidos diminui como resultado da formação de ligações cruzadas em complexos proteínas-lipídios, e reações de grupos funcionais de aminoácidos com produtos de oxidação lipídica. Isso vale especialmente para os amino-grupos sulfidril e hidroxila (PICHE et al., 1988; GUILLÉN-SANS et al., 1998; GIRÓN-CALLE et al., 2002; ELIAS et al., 2008; HEŞ et al., 2009). Perdas nutricionais de lisina e de amino ácidos contendo cadeias sulfuradas (metionina) são cruciais, visto que são aminoácidos exógenos e, ao mesmo tempo, podem limitar o valor nutritivo das proteínas em muitos produtos (HEŞ et al., 2009).

As proteínas são suscetíveis à oxidação, e estas então, podem ser usadas para inibir reações oxidativas, protegendo assim os oxidativamente lábeis ácidos graxos. A habilidade das proteínas para reagir com radicais livres nos alimentos pode também levar ao desenvolvimento de novas tecnologias antioxidantes. A estabilidade oxidativa de alimentos está relacionada com o balanço entre fatores antioxidantes e pró-oxidantes (ELIAS et al., 2008).

Neste contexto os objetivos deste trabalho foram: a) analisar os modelos empíricos de secagem em camada delgada no ajuste dos dados experimentais de secagem do filé de anchoita, estimando a difusividade efetiva de umidade e a energia de ativação; b) avaliar o produto desidratado, em relação ao filé *in natura*, quantos as suas características de: solubilidade, digestibilidade *in vitro*, lisina e metionina disponíveis, oxidação lipídica, atividade antioxidante (medida através da habilidade da proteína de sequestrar o radical DPPH), e a cor.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Material

Para a realização do trabalho foi utilizada a anchoita (*Engraulis anchoita*) na forma de filés. Todos os reagentes utilizados nas análises foram de grau analítico.

A anchoita (*Engraulis anchoita*) foi capturada em cruzeiro pelo “Navio Oceanográfico Atlântico Sul”, utilizando rede de arrasto de meia água, na plataforma continental da região sul do Brasil (32° 34'S e 51° 53'W). A mesma foi armazenada a bordo em uma parte de gelo, uma de água do mar e duas de anchoita (1:1:2 – relação em massa) por 24 h. A anchoita foi então lavada em água clorada (5 ppm cloro residual livre), eviscerada e filetada, sendo que para os ensaios de secagem foram selecionados filés com espessura inicial de aproximadamente  $4\pm 0,3$  mm. Os filés selecionados foram lavados novamente com uma solução de NaCl 0,3% e posteriormente água deionizada. As amostras foram então drenadas por 2 h sob refrigeração entre 4-7 °C e posteriormente congeladas a -18 °C até o momento de sua utilização (MORAES, 2007).

### 2.2 Secagem

Os experimentos foram realizados em secador descontínuo de bandeja (Figura 1), com escoamento paralelo do ar de secagem. As condições do ar de secagem foram: temperaturas de 50, 60 e 70 °C, umidade absoluta de  $0,013\pm 0,02$  kg/kg<sub>ar seco</sub> e velocidade do ar de 2,5 m/s. As amostras de filés foram desidratados utilizando experimentos com escoamento do ar por um lado das amostras com as peles voltadas para cima e experimentos com as peles para baixo, e com escoamento do ar pelos dois lados das amostras com as peles voltadas para baixo. A espessura dos filés foi de  $4,0\pm 0,2$  mm e as áreas das bandejas foram de  $0,0168$  m<sup>2</sup> e  $0,0256$  m<sup>2</sup>, para o escoamento do ar por um lado e dois lados, respectivamente, mantendo-se a carga em aproximadamente  $3,25\pm 0,15$  kg/m<sup>2</sup>. As amostras foram pesadas em intervalos de tempo pré-estabelecidos em balança eletrônica (Marte, modelo AS 2000C, Brasil), com precisão de  $\pm 0,01$ g, até atingirem a umidade comercial ( $\cong 0,10$  kg/kg, b.u). A umidade relativa do ar ambiente foi medida através de um termohigrômetro (Cole Parmer modelo 331-00, EUA) com precisão de 0,1%. As condições de umidade do ar de secagem foram determinadas através das temperaturas de bulbo úmido e seco dentro do secador. Após a secagem, todos os produtos foram submetidos às

operações de moagem em moinho facas (modelo Willey, Filadélfia, EUA) e peneiramento (Tyler 80-100) As amostras foram armazenadas em sacos plásticos sob abrigo de luz, à temperatura ambiente, e analisadas no dia subsequente à secagem. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

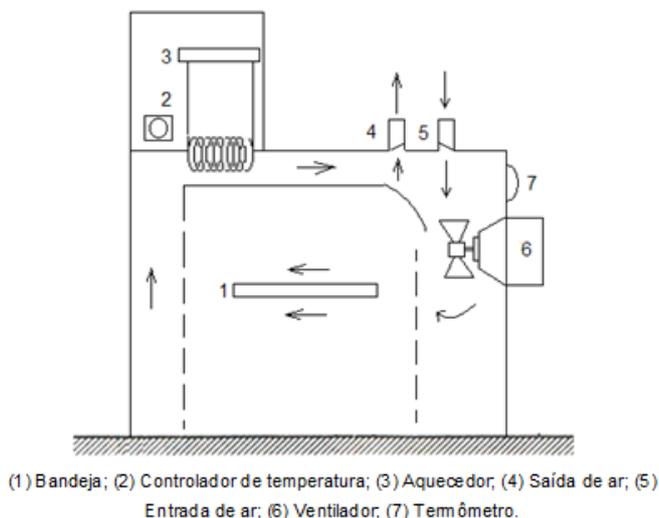


Figura 1: Esquema da unidade experimental do secador de bandejas com escoamento paralelo do ar

### 2.2.1 Cinética de secagem

As Equações 1 a 5 apresentam os modelos semi-teóricos de secagem em camada delgada. Estas equações têm sido utilizadas para modelar a secagem de diversos gêneros alimentícios de origens vegetal e animal (KROKIDA et al., 2004; BARROZO et al., 2004; HACIHAFIZOGLU et al., 2008; DJENDOUBI et al., 2009; KAYA et al., 2010; ERBAY & ICER, 2010; VÉGA-GALVEZ et al., 2011). Os modelos estudados foram: Lewis (Equação 1), Henderson e Pabis (Equação 2), Page (Equação 3), Page modificado (Equação 4) e Henderson (Equação 5).

$$Y = \exp(-(K_1.t)) \quad (1)$$

$$Y = A_1 \exp(-(K_2.t)) \quad (2)$$

$$Y = \exp(-(K_3.(t^{n_1}))) \quad (3)$$

$$Y = \exp(-(K_4.t)^{n_2}) \quad (4)$$

$$Y = A_2 \cdot \exp(-(K_5.t)) + A_3 \cdot \exp(-(K_6.t)) \quad (5)$$

sendo:  $Y$  o adimensional de água livre  $[(X-X_e)/(X_0-X_e)]$ ,  $K_n$  as constantes de secagem de seus respectivos modelos ( $\text{min}^{-1}$ ),  $t$  o tempo (min),  $n_i$  parâmetros de ajuste.

A segunda lei de Fick pode descrever o transporte de umidade durante a secagem de alimentos, considerando valores constantes de difusividade efetiva de umidade durante todo o processo de secagem, geometria plana infinita, sem encolhimento do material e distribuição uniforme de umidade inicial. A solução geral do modelo difusivo para o perfil médio de umidade, considerando a secagem por um lado do material, é apresentada na Equação 6 (CRANK, 1975).

$$Y = \frac{\bar{X} - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-(2n+1)^2 \pi^2 \frac{D_{ef} \cdot t}{4L^2}\right] \quad (6)$$

sendo:  $X$ ,  $X_0$  e  $X_e$  as umidades média, inicial e de equilíbrio, respectivamente (base seca, bs),  $Y$  o adimensional de água livre definido como a relação entre a água livre a ser removida a qualquer tempo e a água livre inicialmente disponível,  $n$  o integrador positivo;  $D_{ef}$  a difusividade efetiva de umidade ( $\text{m}^2/\text{s}$ ) e  $L$  a espessura da amostra (m).

Devido ao encolhimento ocorrido no material durante a secagem, o valor da espessura média ( $L_m$ ) deve ser considerado na Equação 6. Este pode ser calculado a partir dos valores das espessuras inicial e final da amostra, pois segundo PINTO & TOBINAGA (2006), estudando secagem de merluza e sardinha, determinaram que nos filés de pescado o encolhimento ocorria praticamente na espessura das amostra e apresentava comportamento linear.

O modelo de Henderson e Pabis (Equação 2) é similar ao primeiro termo da série da Equação 6, sendo então a constante de secagem  $K$  relacionada com a difusividade efetiva de acordo com a Equação 7 para escoamento do ar por um lado e, Equação 8 para escoamento do ar pelos dois lados.

$$K = \frac{\pi^2 D_{ef}}{4L_m^2} \quad (7)$$

$$K = \frac{\pi^2 D_{ef}}{L_m^2} \quad (8)$$

A dependência do coeficiente de difusão e dos parâmetros cinéticos em relação a temperatura do ar de secagem pode ser descrito com base na relação de Arrhenius (Equação 9) (CHIRIFE, 1983).

$$D_{ef} = D_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (9)$$

sendo:  $D_0$  um fator pré exponencial de difusividade a uma temperatura infinita ( $m^2/s$ ),  $E_a$  é a energia de ativação para difusão de umidade (kJ/mol),  $R$  a constante universal dos gases ( $8,314 \times 10^{-3}$  kJ/mol.K) e  $T$  a temperatura de secagem (K).

Deste modo rearranjando a Equação 9, tem-se a Equação 10, a partir da qual foi calculada a energia de ativação, relacionando  $\ln(D_{ef})$  em função de  $1/T$ .

$$\ln(D_{ef}) = \ln(D_0) + \left(-\frac{E_a}{R}\right) \cdot \frac{1}{T} \quad (10)$$

## 2.3 Metodologia Analítica

### 2.3.1 Composição proximal

Os filés de anchoita *in natura* foram caracterizados quanto a umidade, cinzas e proteína segundo metodologias da AOAC (2000) números 950.46, 920.153 e 928.08, respectivamente. Os lipídios foram quantificados segundo Bligh & Dyer (1959).

### 2.3.2 Solubilidade

A solubilidade da proteína foi determinada de acordo com o método de Morr et al. (1985), em água deionizada. Foram pesados aproximadamente o equivalente a 250 mg de proteína de cada amostra. Em Becker de 50 mL foram adicionados a amostra e 2 mL de solução de NaCl 0,1M, obtendo-se uma pasta homogênea. Em seguida foi adicionada à pasta 40 mL de água deionizada. A dispersão protéica foi mantida sob agitação, em agitador magnético (Marte® modelo MAG-01H, Brasil) por 45 min. A dispersão foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água deionizada. A dispersão protéica foi centrifugada a 3560xg (Fanem model Baby I 206BL, Brasil) por 30 min. Alíquotas de 1 mL foram diluídas a 10 mL em balão volumétrico. Desta amostra diluída, foram transferidas 1 mL tubos de ensaio contendo 5 mL de solução alcalina (Carbonato de Sódio + Sulfato de Cobre + Tartarato de Sódio e Potássio). Os tubos de ensaio foram colocados em banho termostatizado a 37 °C durante 10 min. Ao final desse tempo foram adicionados em cada tubo 1 mL de solução do reagente Folin-Ciocalteu em água (1:2), e os tubos foram mantidos em repouso à temperatura ambiente por 20 min. A determinação da proteína solúvel foi realizada pelo método de Lowry et al. (1951). A leitura foi efetuada em espectrofotômetro (Quimis modelo Q-108DRM, Brasil) em comprimento de onda de 660 nm. Os cálculos foram realizados com base em curva padrão de albumina de

soro bovino (BSA), cuja concentração variou entre 0,1 – 1,0 mg<sub>BSA</sub>/mL. A solubilidade foi determinada através da relação entre o conteúdo de proteína solúvel e o conteúdo total de proteína na amostra (determinado por micro-kjeldhal).

### 2.3.3 Digestibilidade *in vitro*

A digestibilidade *in vitro* foi determinada conforme Feddern et al. (2007). Foram pesados o equivalente a 50 mg de proteína (b.s) a qual foi submetida à hidrólise com 10 mL de suspensão de pepsina (1,5 mg/mL em HCl 0,1N) por 3 h em banho termostatizado a 37 °C. Após elevou-se o pH a 7,0 (anotando-se o volume gasto). Foram adicionados ao sistema 10 mL de uma suspensão de pancreatina (1,5 mg/mL em tampão fosfato pH 8,0), para continuidade da hidrólise por 24 h a 37 °C com agitação. Ao sistema foram adicionados 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) 40% e deixados em repouso sob refrigeração a 4° C por aproximadamente 2 h. A amostra foi então centrifugada a 3560xg (Fanem model Baby I 206BL, Brasil) por 5 min, e após filtrada. O filtrado foi ajustado ao pH 7,0 (anotando-se o volume gasto) e a amostra foi armazenada a 4 °C até o momento do uso para quantificação da digestibilidade *in vitro*, lisina e metionina disponíveis. A digestibilidade *in vitro* foi calculada conforme Equação (11)

$$\text{Digestibilidade in vitro (\%)} = \frac{N_{\text{sol}} - N_{\text{enz}}}{N_{\text{total}}} \times 100 \quad (11)$$

sendo: N<sub>sol</sub> o nitrogênio solúvel após digestibilidade enzimática, determinado conforme metodologia descrita item 2.3.2; N<sub>enz</sub> o nitrogênio total do branco da digestibilidade sem a amostra medido através metodologia descrita item 2.3.2; N<sub>total</sub> o ntirogênio total da amostra medido por micro-Kjeldhal segundo AOAC (2000) n. 928.08.

### 2.3.4 Lisina e metionina disponíveis

A quantificação da lisina e metionina disponíveis foram determinadas no filtrado de pH ajustado após a digestibilidade *in vitro*.

A lisina disponível foi determinada através da reação colorimétrica da lisina com OPA (*o*-phtaldialdehyde), segundo Dinnella et al. (2002) com pequenas modificações. Uma quantidade conhecida do filtrado (pH ajustado) foi diluída em tampão fosfato pH 7,0 à temperatura ambiente. Uma alíquota de 50 µL do filtrado diluído foi misturada a 1 mL do reagente OPA (*o*-phtaldialdehyde - solução completa de 1 mg<sub>OPA</sub>/mL<sub>2-mercaptoethanol</sub>). A amostra foi agitada em banho ultrasônico por 2 min à temperatura ambiente e a leitura foi realizada a 340 nm em espectrofotômetro

(Varian's Cary 100 UV-VIS – EUA). A quantificação foi realizada com base em uma curva padrão de L-lisina em tampão fosfato pH 7,0 (0,01-0,2 mg/mL).

A metionina disponível foi determinada segundo Feddern et al. (2007). Uma alíquota de 1 mL foi retirada da amostra do filtrado (pH ajustado e diluí-se a 10 mL. Desta amostra diluída, retirou-se uma alíquota de 1,0 mL a qual foi misturada a 0,5 mL de solução de NaOH 5 N e 1,0 mL de solução de nitroprussiato de sódio 2,5% e 1,0 mL de água destilada. Após 5 min, foi acrescentado 1,0 mL de solução de ácido clorídrico 8 N. Após 5 min, foi realizada leitura a 510 nm em espectrofotômetro (Quimis modelo Q-108DRM, Brasil). Os cálculos de concentração foram com base na curva padrão de metionina (0,02 – 0,2 mg/mL). Para acompanhamento, foi determinado o conteúdo total de lisina e metionina do filé *in natura*, através de hidrólise ácida com ácido clorídrico concentrado e autoclavagem a 121°C por 30 min, segundo Silveira & Furlong (2007). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em g (lisina e/ou metionina) por 100 g de proteína (bs).

### 2.3.5 Atividade antioxidante específica

A atividade antioxidante específica (AAE) foi determinada através da capacidade de sequestrar radicais livres, representados pelo DPPH (1,1diphenyl-2picrylhydrazyl), segundo metodologias descritas por Foh et al. (2010) e Véga-Galvez et al.(2011), com modificações. Foram misturadas 2 mL da amostra de proteína solúvel, previamente diluída e de concentração conhecida ( $\cong 0,65 \text{mg}_{\text{proteína}}/\text{mL}$ ), com 2 mL de 0,15 mM DPPH (em etanol 95%). A mistura foi agitada vigorosamente e deixada em repouso, no escuro, por 30 min. A absorbância<sub>30 min</sub> da solução resultante foi lida em 517nm (Quimis modelo Q-108DRM, Brasil). As análises foram realizadas em triplicata.

A atividade antioxidante específica foi expressa como a quantidade do radical livre DPPH (1,1diphenyl-2picrylhydrazyl) seqüestrado pela proteína em 30 min, segundo a Equação 12.

$$AAE = \frac{1 - \left( \frac{(\text{Abs\_DPPH}_{\text{reação}} - \text{Abs\_amostra}_{\text{branco}})}{(\text{Abs\_DPPH}_{\text{branco}})} \right)}{(m_{\text{ptna}} \times t)} \quad (12)$$

sendo: Abs\_DPPH<sub>branco</sub> o valor de absorbância de 2 mL etanol 95% misturados com 2 mL solução DPPH 0,15mM; Abs\_DPPH<sub>reação</sub> o valor de absorbância de 2 mL solução

proteína misturadas com 2 mL solução DPPH 0,15 mM;  $Abs\_amostra_{branco}$  o valor de absorvância de 2 mL solução de proteína misturados com 2 mL etanol 95%;  $m_{ptna(bs)}$  a quantidade conhecida de proteína em solução (g); t o tempo (min) em que a amostra foi deixada em repouso, no caso 30 min. A AAE foi expressa em  $\mu M_{DPPHseq}/g_{ptna\ sol} \cdot min$ .

### 2.3.6 Cor

A cor da superfície do filé *in natura* e desidratado foi determinada utilizando um colorímetro (Minolta CR-400, Osaka, Japão). A cor foi expressa de um diagrama tridimensional de cores - CIE ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), sendo as coordenadas:  $L^*$  a luminosidade tendendo do (0) preto ao (100) branco;  $a^*$  a tonalidade variando de (-) verde até (+) vermelho; e  $b^*$  a saturação tendendo de (-) azul até o (+) amarelo. Foi utilizado como padrão de calibração D65 e observador  $10^\circ$ . As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em  $\Delta E$  (Equação 13), o qual é um número absoluto que indica a diferença de sensação na totalidade da cor, incluindo brilho, tom e saturação.

$$\Delta E = \left[ (a_i^* - a_0^*) + (b_i^* - b_0^*) + (L_i^* - L_0^*) \right]^{1/2} \quad (13)$$

sendo:  $a_i^*$   $b_i^*$   $L_i^*$  são os valores das coordenadas do produto desidratado em cada experimento e,  $a_0^*$   $b_0^*$   $L_0^*$  são os valores da amostra controle (filé *in natura*).

### 2.3.7 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica do filé *in natura* e desidratado foi avaliada através dos índices de TBA (ácido tiobarbitúrico). Os lipídios das amostras foram extraídos à frio segundo Bligh & Dyer (1959), partindo de 50 g de filé e 10 g da filé seco moído. O índice de TBA foi determinado segundo Vyncke (1970). Aos lipídios extraídos foram adicionados 15 mL de ácido tricloroacético (TCA) 7,5 % (p/v), seguido de agitação (30 s) e filtração (papel filtro Whatman nº1). Do filtrado foram retiradas alíquotas de 5 mL, às quais adicionou-se 5 mL de solução TBA (0,02 M). As amostras foram então agitadas e levadas a um banho termostatizado (Quimis modelo Q-304-264, Brasil), a 100 °C por 40 min, para o desenvolvimento da cor. Após as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente, e posteriormente fez-se a leitura em espectrofotômetro (Quimis modelo Q-108DRM, Brasil) a 530 nm. A quantificação dos valores de TBA foi feita com base em uma curva padrão obtida da reação do tetrametoxipropil (TMP)

variando de  $1 \times 10^{-9}$ – $7 \times 10^{-9}$  moles/mL com TBA (0,02 M). Os resultados foram expressos em mg de malonaldeído (aldeído malônico) por kg de amostra em base seca.

## 2.4 Análise Estatística

Para a análise estatística dos resultados de cinética de secagem e características das amostras dos filés *in natura* e desidratado foi utilizado o software Statistica 6.0 for Windows (StatSoft Inc, EUA).

Os dados de cinética de secagem foram ajustados através de regressões não-lineares. A avaliação da qualidade dos ajustes dos modelos de cinética foi verificada através do coeficiente de determinação ou variância explicável ( $R^2$ ) e pela raiz quadrada do erro médio (REQM) (Equação 14).

$$REQM = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_{ei} - X_{pi})^2} \quad (14)$$

sendo:  $X_{ei}$  e  $X_{pi}$  são, respectivamente, o conteúdo de umidade experimental e predita pelo modelo ( $\text{kg}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$ ) e N é número de pontos experimentais.

Os resultados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre médias pelo teste de Tukey (HSD) em um intervalo de confiança de 95%.

## 3 Resultados e Discussão

### 3.1 Cinética de secagem

Através do modelo GAB, nas temperaturas de 50, 60 e 70°C para as amostras dos filés *in natura*, apresentados no ARTIGO 1, juntamente com a umidade relativa no interior do secador, em uma dada condição de secagem, foram calculadas as umidades de equilíbrio ( $X_e$ ). Os valores de  $X_e$  das amostras para dos experimentos foram de 0,070, 0,039 e 0,024  $\text{kg}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$ , para as temperaturas de 50, 60 e 70 °C, respectivamente. Estes valores representam o valor limite para a redução de umidade de equilíbrio a uma dada condição atmosférica (DJENDOUBI et al., 2009). A umidade alcançada nos experimentos encontrou-se em uma faixa que variou de 6,9-10,3%

(base úmida), umidade esta dentro do recomendado para produção de “snacks” à base de produtos aquáticos, que é de 8-9% (WANG et al., 2011).

A Figura 2 ilustra a curva da taxa de secagem dos filés de anchoita, secos em camada delgada, nas três temperaturas (50, 60 e 70°C) para as disposições das amostras dos filés e escoamento do ar. Pode ser observado que a taxa de secagem diminuiu com a diminuição da temperatura nas diferentes disposições dos filés e escoamento do ar. Na secagem com escoamento do ar por um lado, a taxa foi menor com a pele voltada para cima, devido à barreira criada por esta pele à difusão de umidade. Os maiores valores da taxa de secagem foram observados com escoamento do ar pelos dois lados, devido a área de secagem ser aproximadamente o dobro em relação ao escoamento do ar por um lado.

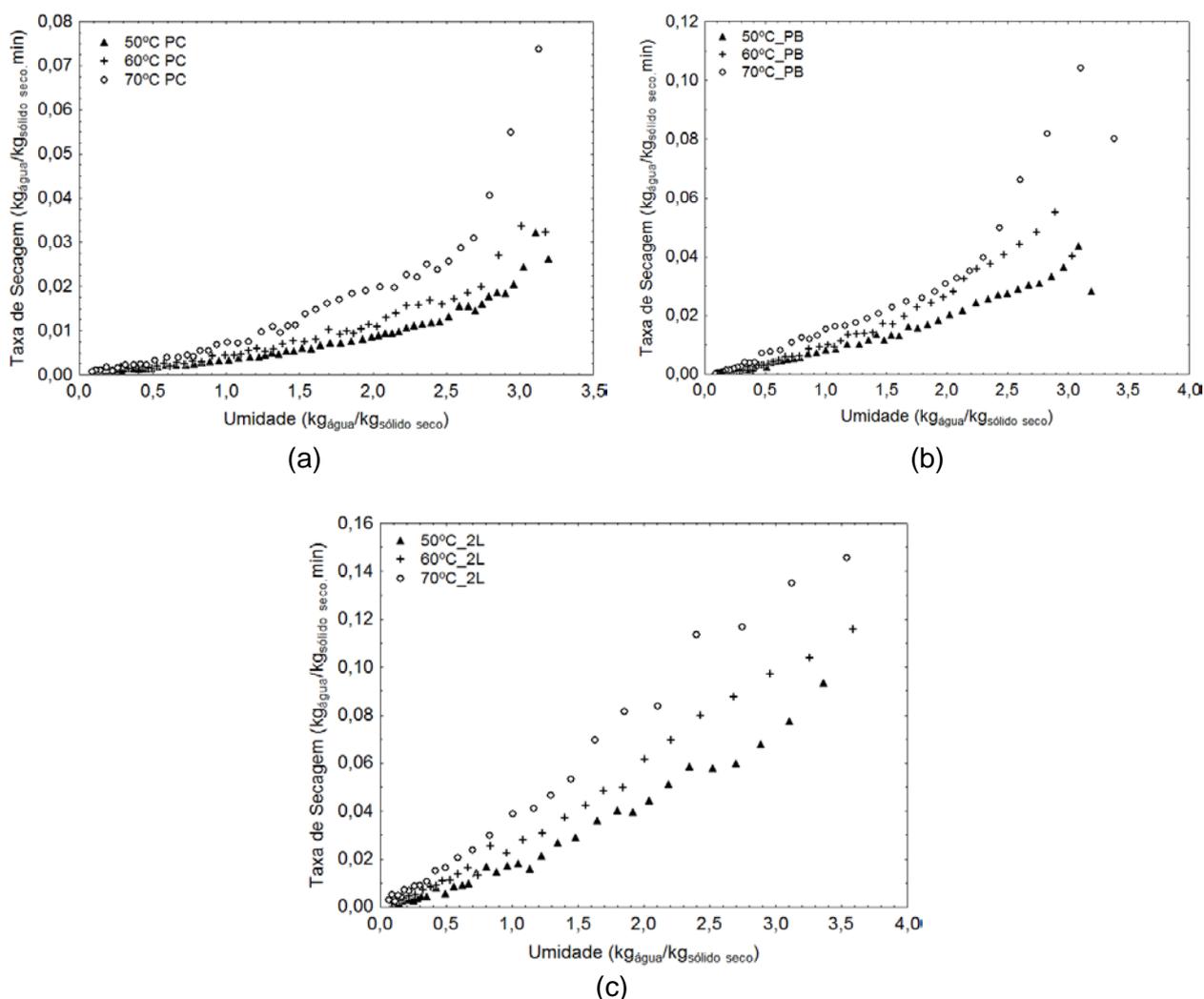


Figura 2: Taxa de secagem em função da umidade para os filés de anchoita desidratados a 50, 60 e 70 °C para as disposições do filé e escoamento do ar: (a) escoamento do ar por um lado com a pele voltada para cima (PC); (b) escoamento do

ar por um lado com a pele voltada para baixo (PB); (c) escoamento do ar pelos dois lados com a pele voltada para baixo (PB2L).

Na Figura 2 pode ser observado ausência do período de taxa constante de secagem em todos os experimentos, sendo uma característica de alimentos com elevados conteúdos de proteína (CHIRIFE 1983). Todo o processo de secagem das amostras dos filés ocorreu no período de taxa decrescente, durante o qual a difusão molecular interna é o mecanismo predominante de transferência de massa. Este comportamento é típico de muitos materiais biológicos, que secam praticamente no período de taxa decrescente, como os reportados na literatura por: Hadrich et al. (2008) e Djendoubi et al., (2009) na secagem de filés de sardinha; Vega-Gálvez et al. (2009) para resíduos de pesca de lagosta amarela; Oliveira et al. (2008 e 2009) secagem de microalga; Kaya et al. (2010) na secagem de kiwi.

A partir dos dados de umidade dos experimentos de secagem ( $X$ ) e de umidade de equilíbrio ( $X_e$ ) foram obtidas as curvas características do adimensional de água livre ( $Y$ ) em função do tempo de secagem (Figura 3), onde pode-se observar a influência da temperatura e para as disposições das amostras dos filés e do escoamento do ar. O adimensional de água livre foi então ajustado aos modelos semi-teóricos de secagem em camada delgada (Equações 1 a 5) para descrever o comportamento da secagem dos filés de anchoita.

Os resultados dos parâmetros dos modelos nas diferentes condições de secagem, juntamente com os critérios de comparação, estão apresentados na Tabela 1. Pode ser observado (Tabela 1) que a constante de secagem aumentou com a elevação da temperatura e variou com a disposição dos filés e do escoamento do ar, atingindo os maiores valores nas amostras desidratadas pelos dois lados. Para todos os experimentos a  $REQM < 0,05$  e a variância explicável foi acima de 99%, o que segundo Madamba et al. (1996) e Denjadoubi et al. (2009) significa um adequado ajuste dos modelos para representação do fenômeno de secagem. O modelo Henderson e Pabis (Equação 2), foi escolhido para a estimativa da difusividade efetiva por apresentar significado físico, pois é análogo a simplificação da solução analítica do modelo difusivo para longos tempos de secagem, onde somente o primeiro termo da série (Equação 6) é considerado. Estudando a secagem de salsichas à base de pasta de peixe, Konishi et al. (2001) observaram a 50°C, uma constante de secagem de  $0,22 \text{ h}^{-1}$  ( $\cong 0,0036 \text{ min}^{-1}$ ) valor próximo ao apresentado neste trabalho, na mesma temperatura, pelos filés desidratados com a pele voltada para cima.

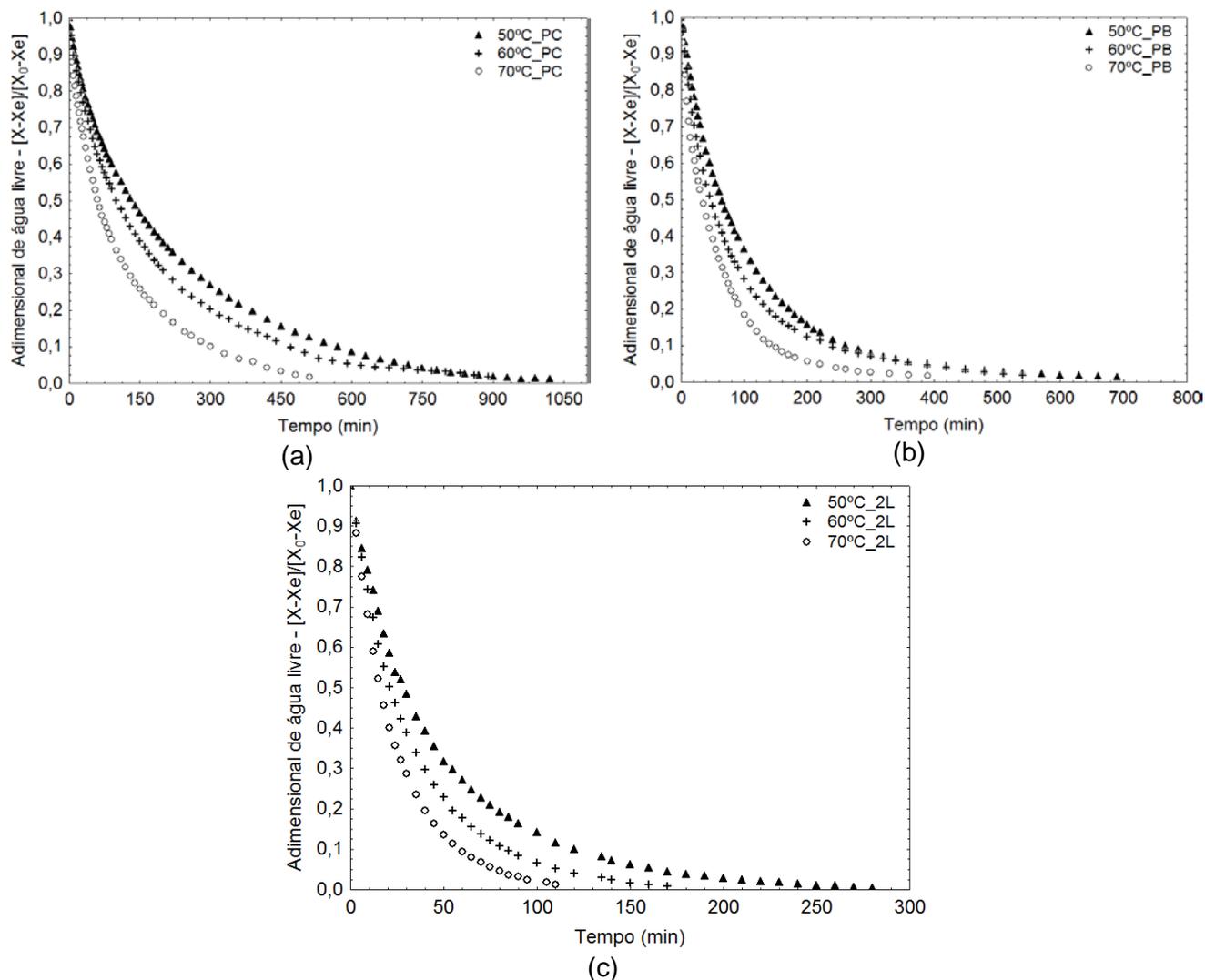


Figura 3: Adimensional de água livre em função do tempo para amostras dos filés de anchoita desidratados a 50, 60 e 70 °C para as disposições dos filés e do escoamento do ar: (a) escoamento do ar por um lado com a pele voltada para cima (PC); (b) escoamento do ar por um lado com a pele voltada para baixo (PB); (c) escoamento do ar pelos dois lados com a pele voltada para baixo (PB2L).

Tabela 1: Valores dos coeficientes e parâmetros dos modelos de ajuste de curvas de secagem em camada delgada para os filés de anchoita.

Modelo	Disposição do filé	T (°C)	( $\text{min}^{-1}$ )	Coeficientes			R <sup>2</sup>	REQM
			( $\text{min}^{-1}$ )	-	-	-		
Lewis	1 Lado Pele Cima (PC)	50	K <sub>1</sub> =0,0049	-	-	-	0,986	0,036
		60	K <sub>1</sub> =0,0063	-	-	-	0,976	0,041
		70	K <sub>1</sub> =0,0103	-	-	-	0,972	0,046
Henderson e Pabis		50	K <sub>2</sub> =0,0043	-	A <sub>1</sub> =0,928	-	0,995	0,021
		60	K <sub>2</sub> =0,0054	-	A <sub>1</sub> =0,909	-	0,992	0,026
		70	K <sub>2</sub> =0,0087	-	A <sub>1</sub> =0,902	-	0,990	0,027
Page		50	K <sub>3</sub> =0,0128	-	n <sub>1</sub> =0,816	-	0,999	0,008
		60	K <sub>3</sub> =0,0183	-	n <sub>1</sub> =0,785	-	0,999	0,004
		70	K <sub>3</sub> =0,0299	-	n <sub>1</sub> =0,762	-	0,999	0,005
Page modificado	50	K <sub>4</sub> =0,0048	-	n <sub>2</sub> =0,816	-	0,999	0,008	
	60	K <sub>4</sub> =0,0062	-	n <sub>2</sub> =0,785	-	0,999	0,004	
	70	K <sub>4</sub> =0,0100	-	n <sub>2</sub> =0,762	-	0,999	0,005	
Henderson	50	K <sub>5</sub> =0,0038	K <sub>6</sub> =0,0293	A <sub>2</sub> =0,826	A <sub>3</sub> =0,167	0,999	0,004	
	60	K <sub>5</sub> =0,0042	K <sub>6</sub> =0,0230	A <sub>2</sub> =0,723	A <sub>3</sub> =0,266	0,997	0,004	
	70	K <sub>5</sub> =0,0065	K <sub>6</sub> =0,0338	A <sub>2</sub> =0,690	A <sub>3</sub> =0,281	0,999	0,007	
Lewis	1Lado Pele baixo (PB)	50	K <sub>1</sub> =0,0101	-	-	-	0,994	0,023
		60	K <sub>1</sub> =0,0133	-	-	-	0,982	0,038
		70	K <sub>1</sub> =0,0190	-	-	-	0,980	0,038
Henderson e Pabis		50	K <sub>2</sub> =0,0095	-	A <sub>1</sub> =0,961	-	0,996	0,018
		60	K <sub>2</sub> =0,0120	-	A <sub>1</sub> =0,933	-	0,988	0,031
		70	K <sub>2</sub> =0,0167	-	A <sub>1</sub> =0,911	-	0,991	0,026
Page		50	K <sub>3</sub> =0,0180	-	n <sub>1</sub> =0,872	-	0,999	0,008
		60	K <sub>3</sub> =0,0320	-	n <sub>1</sub> =0,792	-	0,997	0,013
		70	K <sub>3</sub> =0,0445	-	n <sub>1</sub> =0,785	-	0,998	0,009
Page modificado	50	K <sub>4</sub> =0,0100	-	n <sub>2</sub> =0,872	-	0,999	0,008	
	60	K <sub>4</sub> =0,0131	-	n <sub>2</sub> =0,792	-	0,997	0,013	
	70	K <sub>4</sub> =0,0191	-	n <sub>2</sub> =0,785	-	0,998	0,009	
Henderson	50	K <sub>5</sub> =0,0070	K <sub>6</sub> =0,0230	A <sub>2</sub> =0,719	A <sub>3</sub> =0,256	0,998	0,011	
	60	K <sub>5</sub> =0,0060	K <sub>6</sub> =0,0251	A <sub>2</sub> =0,428	A <sub>3</sub> =0,568	0,999	0,005	
	70	K <sub>5</sub> =0,0121	K <sub>6</sub> =0,0494	A <sub>2</sub> =0,648	A <sub>3</sub> =0,336	0,997	0,012	
Lewis	2 lados Pele baixo (PB2L)	50	K <sub>1</sub> =0,0226	-	-	-	0,996	0,018
		60	K <sub>1</sub> =0,0305	-	-	-	0,997	0,015
		70	K <sub>1</sub> =0,0419	-	-	-	0,998	0,009
Henderson e Pabis		50	K <sub>2</sub> =0,0214	-	A <sub>1</sub> =0,960	-	0,997	0,014
		60	K <sub>2</sub> =0,0295	-	A <sub>1</sub> =0,973	-	0,998	0,013
		70	K <sub>2</sub> =0,0412	-	A <sub>1</sub> =0,988	-	0,999	0,009
Page		50	K <sub>3</sub> =0,0344	-	n <sub>1</sub> =0,890	-	0,999	0,005
		60	K <sub>3</sub> =0,0415	-	n <sub>1</sub> =0,913	-	0,999	0,005
		70	K <sub>3</sub> =0,0493	-	n <sub>1</sub> =0,949	-	0,999	0,005
Page modificado	50	K <sub>4</sub> =0,0227	-	n <sub>2</sub> =0,890	-	0,999	0,005	
	60	K <sub>4</sub> =0,0307	-	n <sub>2</sub> =0,913	-	0,999	0,005	

	70	$K_4=0,0420$	-	$n_2=0,949$	-	0,999	0,005
Henderson	50	$K_5=0,0175$	$K_6=0,0532$	$A_2=0,729$	$A_3=0,269$	0,999	0,003
	60	$K_5=0,0619$	$K_6=0,0237$	$A_2=0,306$	$A_3=0,698$	0,999	0,002
	70	$K_5=0,0322$	$K_6=0,0623$	$A_2=0,572$	$A_3=0,434$	0,999	0,003

O modelo Henderson e Pabis (Equação 2), foi escolhido para a estimativa da difusividade efetiva por apresentar significado físico e a simplificação da solução analítica para o modelo difusivo para longos tempos de secagem, onde somente o primeiro termo da série (Equação 6) é considerado. Konishi et al. (2001) estudando a secagem de salsicas à base de pasta de peixe, observou, a 50°C, uma constante de secagem de  $0,22 \text{ h}^{-1}$  ( $\cong 0,0036 \text{ min}^{-1}$ ) valor próximo ao apresentado, na mesma temperatura, pelos filé desidratados com a pele voltada para cima.

A difusividade efetiva (Tabela 2) foi calculada através das Equações (7) e (8), para escoamento do ar por um lado e pelos dois lados, respectivamente, que considera os valores da constante de secagem (K), obtidos do modelo de Henderson e Pabis (Tabela 2), e as espessuras médias (entre início e o fim da secagem).

Tabela 2: Valores experimentais de difusividade efetiva de umidade para pasta modificada de anchoita nas diferentes condições de secagem.

Condição de Secagem		Razão <sup>média</sup> $Esp_{final} / Esp_{inicial}$	Def <sup>médio</sup> $(\text{m}^2/\text{s}) \times 10^{-10}$
50	PC	0,38	2,24
	PB	0,41	4,16
	PB2L	0,51	3,31
60	PC	0,47	3,14
	PB	0,50	5,95
	PB2L	0,53	4,67
70	PC	0,52	3,47
	PB	0,57	8,67
	PB2L	0,59	7,05

Esp.: Espessura; Def: difusividade efetiva.

Verifica-se na Tabela 2 que os valores de difusividade efetiva de umidade ( $D_{ef}$ ) variaram aproximadamente entre  $2,24 \times 10^{-10}$  a  $8,67 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ , aumentando com o aumento da temperatura e variando com a disposição da pele na bandeja. A secagem por um lado das amostras com a pele voltada para cima ocasionou uma diminuição nos valores de Def, se comparada com as amostras com a pele voltada para baixo seca por um e dois lados a uma mesma temperatura, indicando que a pele apresentou uma resistência à difusão de umidade. Os valores de Def para os filés desidratados com a pele voltada para baixo pelos dois lados (PB2L) foram um pouco inferiores, aos valores das amostras dos filés secos para baixo por um lado (PB), provavelmente pela

barreira imposta pela pele à difusão de umidade, embora não tenha sido tão pronunciada quanto a pele voltada para cima.

Os valores de  $D_{ef}$  para os filés de anchoita encontraram-se dentro da faixa citada na literatura para pescado,  $1,30 \times 10^{-11}$ - $1,89 \times 10^{-9}$  m<sup>2</sup>/s (PANAGIOTOU et al., 2004). Estes autores relataram um valor de  $D_{ef}$  para bacalhau seco a 60°C de  $5,13 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s, semelhante ao encontrado no presente estudo na mesma temperatura com a pele voltada para baixo. Em um estudo de secagem de sardinha, Djendoubi et al. (2009) observaram uma variação nos valores de  $D_{ef}$   $1,38 \times 10^{-11}$  a  $2,21 \times 10^{-11}$  m<sup>2</sup>/s, variando a temperatura de 40-80°C, esses valores foram inferiores aos encontrados neste trabalho, ocasionado pelo teor de gordura da sardinha, que devido ao seu caráter hidrofóbico, causa diminuição na taxa de secagem .

A partir dos valores da difusividade efetiva de umidade média, para cada temperatura (Tabela 2), calculou-se a energia de ativação ( $E_a$ ) pela relação linear da equação de Arrhenius (Equação 10). A Figura 4 apresenta a relação linear entre a difusividade efetiva e a temperatura. A partir da declividade da reta pôde ser encontrada a  $E_a$ , sendo esta de 38,4 kJ/mol para as amostras de filés desidratados com a pele voltada para cima e 31,7 e 32,7 kJ/ mol para as amostras de filés com a pele voltada para baixo seco por um e pelos dois lados, respectivamente. Estes valores foram semelhantes a de filés, de diferentes espécies de pescado, reportados na literatura, que é de aproximadamente 20-30 kJ/mol (PARK, 1998; KONISHI et al., 2001; PINTO & TOBINAGA, 2006; VEGA-GÁLVEZ et al., 2009 e 2011).

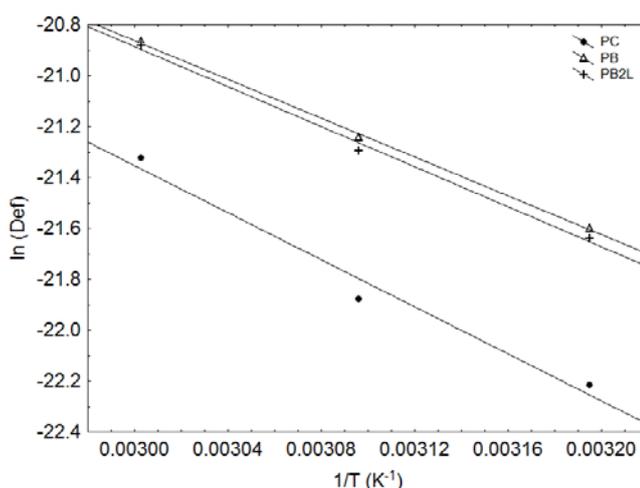


Figura 4: Representação linear de Arrhenius da difusividade efetiva de umidade das amostras de filés de anchoita desidratada.

### 3.2 Caracterização da matéria prima e dos produtos desidratados

A composição proximal das amostras do filé *in natura* (em base úmida - b.u) foi de: 78,7±1,2% de umidade, 17,1±0,8% de proteína, 1,3±0,2% de cinzas, 2,2±0,2% de lipídios. A composição proximal do filé apresentou maior conteúdo de umidade se comparativamente a filé de anchoita fresco, provenientes da Argentina, segundo dados relatados por Czerner et al., 2011, o que conseqüentemente diminui os conteúdos (b.u) dos outros componentes. Os conteúdos de proteína e lipídios (em base seca) foram inferiores aos da anchoita proveniente da Argentina em aproximadamente 12% e 30%, respectivamente. Segundo dados apresentados por Pastous-Madureira et al. (2009), para a composição proximal de anchoitas dos três diferentes países (Argentina, Uruguai e Brasil), há diferença para estes dados devido ao local e época do ano da captura. Segundo a época do ano, a umidade pode variar de 69,5 – 79,5%, proteína 15,8-19,2%, lipídios 1,68-9,43%, e cinzas 1,1-3,1%.

A Tabela 3 apresenta os resultados da caracterização do produtos desidratados, nas diferentes condições de secagem, e a sua comparação em relação ao filé *in natura*. Pode ser observado nesta tabela, que houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre os produtos desidratados e o filé *in natura* em todas as características mencionadas, com exceção da variação da sensação da cor, que já é uma medida direta de comparação com o padrão (no caso filé *in natura*).

A solubilidade, medida da característica funcional tecnológica da proteína (KRISTINSSON & RASCO, 2000, CÂNDIDO & SGARBIERE, 2003), diminuiu com a operação de secagem chegando a um mínimo de 16% de solubilidade na amostra 50°C\_PC, podendo ter sido ocasionada pelo tempo de exposição da proteína ao calor. Proteínas miofibrilares em temperaturas superiores a 65°C, na presença de água, podem sofrer desnaturação, contraindo-se, perdendo a capacidade de retenção de água e podendo formar agregados, diminuindo assim a solubilidade (OLIVEIRA et al., 2008). A amostra que sofreu menor alteração foi a 60°C\_PB, com uma redução de 10,3% na solubilidade em relação ao músculo *in natura*. As amostras desidratadas, que ficaram menor tempo expostos à temperatura (60°C\_PB2L e 70°C\_PB2L), apresentaram em média 22,5% de solubilidade. Estudando diferentes métodos de secagem de diferentes espécies de pescado, Murueta et al. (2007) observaram uma redução a solubilidade a 65°C (12 h secagem), em relação às amostras *in natura*, e na maioria dos casos apresentou maior solubilidade, nesta condição de secagem, que a amostras secas por congelamento. Cândido & Sgarbiere (2003) observaram uma

solubilidade de proteínas miofibrilares para concentrados protéicos de tilápia de no máximo 18%.

Tabela 3. Caracterização do filé in natura e desidratado nas diferentes condições.

Amostra	Solubilidade (%)	Digestibilidade <i>in vitro</i> (%)	Lisina disponível (g/100g <sub>proteína</sub> )	Metionina disponível (g/100g <sub>proteína</sub> )	Índice de TBA (mg <sub>MDA</sub> /kg <sub>amo</sub> .bs)	AAE (μM <sub>DPPH<sub>50%</sub></sub> /g <sub>proteína</sub> .sol/min)	ΔE
<i>in natura</i>	29.50±0.32 <sup>a</sup>	91.53±0.45 <sup>a</sup>	8.571±0.019 <sup>a</sup>	2.671±0.030 <sup>a</sup>	0.622±0.054 <sup>i</sup>	2.127±0.010 <sup>a</sup>	-
50°C_PC	16.07±0.19 <sup>f</sup>	81.25±0.23 <sup>d</sup>	6.772±0.051 <sup>d</sup>	1.455±0.006 <sup>h</sup>	3.894±0.035 <sup>a</sup>	1.202±0.006 <sup>h</sup>	11,89±0,16 <sup>c</sup>
60°C_PC	19.35±0.31 <sup>de</sup>	80.32±0.13 <sup>d</sup>	5.769±0.021 <sup>e</sup>	2.365±0.006 <sup>d</sup>	1.593±0.019 <sup>f</sup>	1.304±0.005 <sup>g</sup>	13,00±0,04 <sup>b</sup>
70°C_PC	21.98±0.23 <sup>c</sup>	79.04±0.18 <sup>e</sup>	5.500±0.025 <sup>f</sup>	1.954±0.017 <sup>f</sup>	2.408±0.019 <sup>d</sup>	1.281±0.004 <sup>g</sup>	14,31±0,06 <sup>a</sup>
50°C_PB	22.08±0.14 <sup>c</sup>	83.97±0.15 <sup>c</sup>	6.924±0.014 <sup>c</sup>	1.857±0.011 <sup>g</sup>	3.099±0.048 <sup>b</sup>	1.342±0.005 <sup>f</sup>	10,02±0,04 <sup>g</sup>
60°C_PB	26.47±0.26 <sup>b</sup>	84.29±0.22 <sup>c</sup>	6.723±0.027 <sup>d</sup>	2.536±0.021 <sup>c</sup>	1.437±0.020 <sup>g</sup>	1.651±0.004 <sup>c</sup>	11,12±0,01 <sup>e</sup>
70°C_PB	19.01±0.12 <sup>e</sup>	81.29±0.16 <sup>d</sup>	5.893±0.019 <sup>e</sup>	2.207±0.013 <sup>e</sup>	2.774±0.020 <sup>c</sup>	1.557±0.009 <sup>d</sup>	12,47±0,17 <sup>d</sup>
50°C_PB2L	20.21±0.13 <sup>d</sup>	86.23±0.30 <sup>b</sup>	7.271±0.028 <sup>b</sup>	1.968±0.016 <sup>f</sup>	2.017±0.042 <sup>e</sup>	1.387±0.004 <sup>e</sup>	10,92±0,19 <sup>ef</sup>
60°C_PB2L	22.28±0.15 <sup>c</sup>	86.37±0.18 <sup>b</sup>	7.215±0.015 <sup>b</sup>	2.594±0.024 <sup>b</sup>	1.161±0.022 <sup>h</sup>	1.913±0.010 <sup>b</sup>	10,72±0,09 <sup>ef</sup>
70°C_PB2L	22.89±0.26 <sup>c</sup>	84.45±0.18 <sup>c</sup>	6.824±0.017 <sup>cd</sup>	2.344±0.020 <sup>d</sup>	1.348±0.028 <sup>g</sup>	1.925±0.006 <sup>b</sup>	10,45±0,08 <sup>fg</sup>

Letras minúsculas diferentes, em uma mesma coluna, apresentam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) segundo teste Tukey. Lisina e metionina totais foram de 8,94 e 2,85 g/100g<sub>proteína</sub>

No caso do presente estudo, foi obtida uma “farinha” da parte nobre da anchoita (filé), o que poderia servir como base para a produção de concentrados protéicos do tipo A (um pó praticamente inodoro e insípido com um teor de gordura total máximo de 0,75%) e B (um pó que não tem limites específicos a respeito de odor ou sabor, mas definitivamente tem um sabor de peixe e um teor máximo de gordura de 3%). Geralmente a designação para farinha de pescado para consumo humano (*fish flour*) é um termo que causa uma certa confusão, em algumas línguas segundo a FAO (2011), com o termo concentrado protéico de pescado, entretanto ambos são classificados segundo sua elevada digestibilidade ( $\cong 92\%$ ), conteúdo de lisina disponível de mínimo 6,5g/100g proteína, e baixo conteúdo de lipídios e geralmente são obtidos de resíduos do processamento do pescado.

A digestibilidade *in vitro* do filé *in natura* (Tabela 3) foi de aproximadamente 91,5%, o que é esperado para pescado, entretanto a secagem diminuiu a digestibilidade dos filés significativamente ( $p < 0,05$ ). A menor alteração ocorreu com a secagem a 50 e 60°C com escoamento do ar pelos dois lados (50°C\_2LPB e 60°C\_2LPB). A diminuição foi em média de 5,6%, sendo os valores de aproximadamente 86,3%. As mais acentuadas diminuições ocorreram na secagem com a pele voltada para cima, chegando a uma perda de até 12,7%. Segundo Fellows et al. (2000), a digestibilidade das proteínas não muda substancialmente com a secagem, entretanto o valor biológico pode ser reduzido, como por exemplo a diminuição da lisina que é termossensível. Estudando a secagem de hidrolisados enzimáticos de tilápia, Abdul-Hamid et al. (2002) também observaram diminuição na digestibilidade *in vitro*, de aproximadamente 10%, da amostra controle (sem adição de enzima), com o aumento na temperatura da secagem por *spray* (*Spray Dryer*), sendo esta de aproximadamente 77%.

A perda na digestibilidade *in vitro*, medida através do nitrogênio solúvel após digestão, não sofreu grandes alterações. Entretanto, os aminoácidos essenciais avaliados, lisina e metionina disponíveis após a digestão, apresentaram maiores reduções. Operações de processamento aumentam o estresse oxidativo pela introdução de oxigênio, remoção de antioxidantes naturais, destruição de antioxidantes endógenos e aumento dos fatores prooxidativos, sendo estes dois últimos os mais associados com o tratamento térmico. Proteínas são suscetíveis às reações de

modificação oxidativa. Há uma ampla gama de espécies de oxigênios reativos (ROS) e radicais livres capazes de promover a oxidação protéica *in vivo* e em alimentos. Estas espécies reativas podem ser geradas de várias formas, sendo uma delas através da oxidação lipídica (FINOT, 1983; DAVIES, 2005; ELIAS et al., 2008).

A peroxidação de lipídios poliinsaturados nos alimentos, durante processamento e/ou armazenamento, leva também a perdas de lisina disponível, conforme determinado por métodos químicos (*in vitro*) e *in vivo* por Nielsen et al. (1985<sup>a,b,c</sup>). Em experimentos nos quais a presença de formas livres e ligadas de MDA foi investigada em hidrolisados enzimáticos de alimentos de origem animal, o aldeído foi encontrado principalmente na forma de N-ε-(2-propenal) lisina (PICHE et al., 1988).

A lisina e metionina disponíveis após digestibilidade *in vitro* do filé *in natura* (Tabela 3) apresentaram valores semelhante às quantidades totais mencionadas para anchoita (*Engraulis anchoita*) por Pastous-Madureira et al. (2009), que foram de 8,96 e 2,88 g/100g<sub>proteína</sub> para lisina e metionina, respectivamente. Wang et al. (1996), relataram quantidades de 7,53 g/100g<sub>proteína</sub> de lisina e 3,65 g/100g<sub>proteína</sub> de metionina para anchoita asiática (*Engraulis japonicus*).

Após a secagem houve uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) de 36% da lisina disponível na condição de 70°C\_PC. As menores perdas ocorreram na secagem pelos dois lados a 50 e 60°C, apresentando valores acima de 7,2g/100g<sub>proteína</sub>, sendo de elevada qualidade protéica, segundo a FAO, e foi observado uma correlação negativa do aumento da temperatura com a quantidade de lisina disponível. Morrison & Sabry (1963) relataram que amostras de farinha de pescado sob tratamento térmico severo reduziram significativamente o conteúdo de lisina disponível e outros aminoácidos, em alguns casos ficando indisponível, como a metionina. Friedman (1996) relatou perdas de lisina disponível em diferentes tratamentos térmicos da caseína: 37 °C por 10 dias a diminuição chegou a 23%; 121 °C por 1 h ocasionou uma perda de 21,5%; e a 200° C por 2h o decréscimo chegou a 72%, mostrando que tratamento térmico tem uma forte influência sobre a redução da lisina disponível em materiais protéicos. Estudando a secagem de hidrolisados de tilápia em *spray dryer*, Abdul-Hamid et al. (2002) observaram uma redução de aproximadamente 40% no conteúdo total de lisina com o aumento na temperatura de saída do *spray dryer* de 76 °C para 90 °C. Girón-Calle et al. (2002) demonstraram a perda de lisina disponível em alimentos na forma de N-2-propenal de lisina, devido à sua ligação com os produtos de decomposição peroxidativa de lipídios poliinsaturados (MDA).

Em relação a metionina disponível (Tabela 3), as condições de secagem influenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) na diminuição deste aminoácido. A maior perda, em relação ao *in natura*, ocorreu na condição de 50°C\_PC, acarretando em uma redução de 50% na quantidade deste aminoácido. A menor perda ocorreu na condição de 60°C\_PB2L, chegando a 4%. As condições de secagem que atenderam à recomendação da FAO/WHO/UNU (1991), de 2,5 g/100g<sub>proteína</sub> (Met+cys para crianças de 2-5 anos), foram as de 60°C\_PB e 60°C\_PB2L. Aparentemente há uma relação entre as perdas de metionina e o tempo e temperatura de secagem. Tempos muito longos e temperaturas mais elevadas acarretam em maiores perdas da metionina. Estudando processamento de queijo, Fedele & Bergamo (2001) observaram uma correlação positiva entre a intensidade do aquecimento e o dano oxidativo (medido através da quantidade de MDA na amostra), e entre o aquecimento e produtos de oxidação de proteínas (medido por compostos carbonilas formados). Como a metionina é um importante sequestrador de radicais livres em sistemas biológicos, podendo ser oxidada antes de outros aminoácidos e ácidos graxos, assumindo assim seu poder antioxidante (LEVINE et al., 1996), é de suma importância que ela seja preservada.

Índices de TBA são comumente usados para medir rancidez oxidativa, pois representam os valores de produtos secundários de oxidação, no entanto, estes não necessariamente mostram o nível da qualidade de frescor do produto. A decomposição peroxidativa de lipídios, em alimentos que contenham ácidos graxos poliinsaturados, tem efeitos prejudiciais sobre propriedades nutricionais, toxicológicas e funcionais dos alimentos. Entre os produtos de peroxidação lipídica que foram mais extensivamente estudados está o malonaldeído (MDA). Este aldeído pode servir como um índice da decomposição peroxidativa destes lipídios que prontamente reage com grupos funcionais presentes nas proteínas, ácidos nucléicos e fosfolipídios, especialmente amino grupos.

Não há uma quantidade de TBA estabelecida, definindo a ocorrência de oxidação lipídica e/ou indicando que a partir desta o pescado não possa ser consumido. Entretanto, Connell (1995) observou que índices de TBA  $\cong 2$  mg<sub>MDA</sub>/kg (bs) é normalmente recomendado como um limite além do qual o pescado normalmente desenvolve sabor e odor desagradável (ranço). Já Al-Kahtani et al. (1996) relatam que produtos cárneos podem ser considerados com bom estado de conservação, em relação a alterações oxidativas, se apresentam menos de 3 mg<sub>MDA</sub>/kg (bs). O valor de TBA do filé *in natura* (Tabela 3) foi de aproximadamente

0,62 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra, bs</sub> ( $\cong$  0,2 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra, bu</sub>) sendo inferior a 2 mg<sub>MDA</sub>/kg, indicando bom estado de conservação.

A operação de secagem teve um importante efeito nos índices de TBA dos filés de anchoita, sendo estes valores aumentados significativamente ( $p < 0,05$ ). Os filés desidratados na condição 50°C\_PC apresentou a maiores quantidades ( $p < 0,05$ ) de produtos secundários de oxidação, chegando a aproximadamente 3,9 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra, bs</sub>. As condições que apresentaram valores muito próximos ou abaixo de 2 mg<sub>MDA</sub>/kg (bs) foram as de 60°C (PC, PB e PB2L) e a 50 e 70°PB2L, sendo a condição de 60°C\_PB2L a que apresentou menor valor de TBA ( $p < 0,05$ ).

Czerner et al. (2011) estudando a maturação em salga de anchoitas da mesma espécie do presente estudo (*Engraulis anchoita*), provenientes da costa Argentina, observaram valores de TBA, nos filés frescos (tempo zero de maturação) de aproximadamente 0,5 mg<sub>MDA</sub>/kg. Turban et al. (2011), avaliando a influência do cozimento na qualidade de anchoitas do mediterrâneo (*Engraulis encrasicolus*), observaram um índice de TBA, para a amostra *in natura*, de aproximadamente 0,25 mg<sub>MDA</sub>/kg, entretanto com o processamento, os valores chegaram a 2,46, 2,96, e 3,36 mg<sub>MDA</sub>/kg para os filés frito, assado e grelhado, respectivamente.

Yerlikaya et. al (2005) estudando a qualidade de patê produzido à base de outra espécie de anchoita (*Engraulis encrasicolus*), proveniente do Mediterrâneo, e armazenada sob refrigeração, apontaram valores iniciais de TBA de 10 mg<sub>MDA</sub>/kg. Já Duyar & Eke (2009) avaliando a qualidade na produção de marinados de anchoita desta mesma espécie, relataram valores para filé fresco de aproximadamente 2,1 mg<sub>MDA</sub>/kg. Cabe salientar que esta espécie, proveniente do Mediterrâneo, apresentou valores muito superiores de lipídios quando comparada à espécie proveniente da América do Sul (*Engraulis anchoita*).

A habilidade das proteínas de interagir com radicais livres tem sido documentada em muitos sistemas. Estes estudos têm sido geralmente empregando o uso de radicais livres geradores, e a determinação é realizada medindo a capacidade da proteína de reprimir a espécie radical produzida ou através da capacidade de sequestrar o radical livre, como por exemplo, através do emprego do radical DPPH (KLOMPONG et al., 2007; BOUGATEF et al., 2009, VÉGA-GALVEZ et al., 2011; TENG et al., 2011). A metodologia com o radical DPPH baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH, que ocorre

devido à redução desse radical, pela ação do antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995), desta forma avaliando apenas o poder redutor do antioxidante.

A atividade antioxidante específica (AAE) do filé *in natura*, medida através da redução do radical DPPH, foi de  $2,12 \mu\text{M}_{\text{DPPHseq}}/\text{g}_{\text{ptna sol.}}\cdot\text{min}$ , conforme apresentado na Tabela 3. Com a secagem, pôde ser observado uma correlação positiva entre o tempo de secagem e a diminuição da AAE. A AAE foi reduzida significativamente ( $p < 0,05$ ), acarretando em perdas de até 43,5% (50°C\_PC), em relação ao *in natura*. A maior preservação da atividade antioxidante ocorreu na condição de secagem 60°C\_PB2L e 70°C\_PB2L, não apresentando diferença significativa entre si ( $p > 0,05$ ), havendo uma redução de aproximadamente 10%. Estudando a secagem de lula gigante em camada delgada em diferentes temperaturas e avaliando a qualidade do produto desidratado, Vega-Gálvez, et al. (2011) observaram uma menor diminuição da atividade antioxidante, medida através da redução do radical DPPH em relação ao valor inicial, na temperatura de 60 °C. Nesta condição foram necessárias 1,77 mg<sub>proteína</sub> para reduzir 50% do radical DPPH (IC<sub>50</sub>), entretanto na condição de secagem a 70 °C foram necessárias 15,79 mg<sub>proteína</sub>. No presente estudo, na condição 60°C\_PB2L, seriam necessárias 4,8 mg<sub>ptna sol.</sub>, resultado este inferior ao encontrado pelos referidos autores. Entretanto, neste estudo foi avaliada somente a fração de proteína solúvel e não um extrato proteico, podendo limitar a ação de alguns aminoácidos apolares e/ou a localização deles na estrutura protéica, como relatado por Elias et al. (2005). Além disso, este valor é uma estimativa, já que não foi empregada a curva da variação da concentração para verificar IC<sub>50</sub>, que pode não ter uma relação linear.

Só a habilidade das proteínas de simplesmente sequestrar radicais livres, não é evidência conclusiva de que elas sejam antioxidantes. O fato é que proteínas podem interagir com radicais livres e espécies de oxigênio reativo, sugerindo que eles podem proteger os lipídios da oxidação se eles forem oxidados preferencialmente aos ácidos graxos insaturados. A oxidação preferencial das proteínas pode ocorrer se os aminoácidos disponíveis são mais oxidativamente lábeis que os ácidos graxos insaturados, ou a localização física dos sítios reativos da proteína estejam próximos aos sítios do radical livre ou da espécie de oxigênio reativo gerada onde a proteína seria capaz de rapidamente sequestrar o radical livre antes da migração desse radical para o lipídio. Todavia, muitos estudos não abordam a cinética relativa de oxidação lipídica e proteínas e, portanto, não está bem claro se a proteína protege os lipídios ou se o lipídio causa a oxidação da proteína (ELIAS et al., 2008).

A cor do filé *in natura*, representadas pelas coordenadas L\*, a\* e b\* foi de 49,49±0,32, 3,59±0,36 e 9,40±0,35, respectivamente. Czerner et al., (2011) observaram parâmetros de cor L\*, a\* e b\*, para anchoitira proveniente da Argentina (*Engraulis anchoita*) de 34,66, 16,68 e 8,98, respectivamente, sendo a amostra do presente estudo de maior luminosidade, ou seja mais clara, e menos avermelhada. Segundo este mesmo autor, o parâmetro a\* está relacionado ao conteúdo de mioglobina, dependente de seus derivados e concentração. Wang et al. (1996) observaram valores para L\*, a\* e b\*, na espécie *Engraulis Japonicus*, de 38,2, 8,9 e 3,2, respectivamente, sendo de menor luminosidade, mais avermelhada e menos amarelada do que a do presente estudo. Avaliando patês produzidos à base de anchoita do mediterrâneo (*Engraulis encrasicolus*) Kilinc (2009), observou valores iniciais para L\*, a\* e b\* de 36,8, 4,67 e 13,0, respectivamente, sendo, portanto a amostra do presente estudo de maior luminosidade e com os parâmetros a\* e b\* mais próximos aos da espécie do mediterrâneo do que a espécie proveniente do Japão.

Com a secagem foi observada uma variação dos valores das coordenadas, o que pode ser representado pela variação total da cor ou variação da sensação da cor ( $\Delta E$ ) em relação ao filé *in natura*. Pode ser observado na Tabela 3 que a maior variação na sensação da cor ( $p < 0,05$ ) foi na condição 70°C\_PC, e as menores variações ocorrem na secagem pelos dois lados, não havendo diferença significativa entre as três temperaturas ( $p > 0,05$ ), sendo o  $\Delta E$  em média de 10,7. Na condição de 60°C\_PB2L, onde o  $\Delta E$  foi de 10,72, as coordenadas L\*, a\* e b\* apresentaram valores em média de 44,73, 2,89 e 18,97, respectivamente, sendo de menor luminosidade, menos avermelhada e mais amarelada que o filé *in natura*.

#### 4 Conclusão

Através da cinética de secagem dos filés de anchoita, foi observado que todos os modelos avaliados apresentaram ajuste aos dados experimentais com coeficiente de determinação acima de 0,99 e REQM inferior a 0,05. O modelo de Henderson e Pabis foi escolhido para a estimativa da difusividade efetiva de umidade (Def). Os valores de Def, para a faixa de temperatura estudada 50 a 70°C, das amostras secas pelos dois lados e por um lado com a pele voltada para baixo variaram de  $3,31 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s a  $8,67 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s, respectivamente. Entretanto, a difusividade efetiva de umidade para secagem das amostras com a pele voltada para cima apresentou valores inferiores de Def, variando de  $2,24 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s a  $5,47 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s, indicando que a

pele apresentou uma resistência à difusão de umidade. A energia de ativação da secagem das amostras apresentou valor médio de 32,2 kJ/mol para os filés com a pele voltada para baixo e escoamento do ar por um e dois lados, já para os filés com a pele voltada para cima a energia de ativação foi de 38,4 kJ/mol.

Em relação ao músculo *in natura*, a qualidade do produto diminuiu significativamente com a secagem. A menor alteração foi ocasionada na condição de secagem a 60°C nas amostras de filés secos pelos dois lados (60°C\_PB2L). Nesta condição: a produção foi de  $3,01 \times 10^{-4}$  kg/m<sup>2</sup>s; a solubilidade foi em média de 22,3%; a digestibilidade *in vitro* de 87,4%; os conteúdos de lisina e metionina disponíveis foram de 7,21 e 2,64 g/100<sub>proteína</sub>, respectivamente; o índice de TBA foi de 1,16 mg<sub>MDA</sub>/kg amostra (bs); a atividade antioxidante específica foi de 1,91 μM<sub>DPPH</sub>/g<sub>ptna sol</sub>·min; e a variação na sensação da cor (ΔE) foi de 10,72, apresentadno valores de L\*, a\* e b\* de 44,73, 2,89 e 18,97, respectivamente.

As amostras obtidas dos filés de anchoita desidratados em camada delgada, com escoamento do ar pelos dois lados a 60°C, garantiu um produto final com boas características, principalmente quanto seu teor de lisina disponível. Estando dentro do recomendado para “farinha de pescado destinada ao consumo humano”, segundo recomendações da FAO, podendo ser uma ótima fonte protéica para ser futuramente adicionada na elaboração de produtos alimentícios.

## 5 Referências

- Abdul-Hamid, A.; Bakar, J.; Bee, G.H. Nutritional quality of spray dried protein hydrolysate from Black Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Food Chemistry**, v. 78, p. 69-74, 2002.
- Al-Kahtani, H.A.; Abu-Tarboush, H.M.; Bajader, A.S.; Atia, M.; Abou-Arab, A.A.; El-Majoddidi, M.A. Chemical changes after irradiation and post irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 91, p. 729-733.
- A.O.A.C **Official Methods of Analysis of A.O.A.C** International, 17th Edition, Maryland EUA, 2000.
- Barrozo, M.A.S.; Sartori, D.J.M.; Freire, J.T. A study of the statistical discrimination of drying kinetics equations. **Food and BioProducts Processing**, v. 82, p. 219-225, 2004.
- Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p. 911-917, 1959.

- Bougatef, A.; Hajji, M.; Balti, R.; Lassoued, I.; Triki-Ellouz, Y.; Narsi, M. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. **Food Chemistry**, v.114, p. 1198-1205, 2009.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- Cândido, L.M.B., Sgarbiere, V.C. Enzymatic hydrolysis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) myofibrillar proteins: effects on nutritional and hydrophilic properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 937-944, 2003.
- Chirife, J. **Fundamentals of the drying mechanism during air dehydration of foods**. In: MUJUMDAR, A. Advances in drying. Washington/ New York/ London. Ed. Hemisphere Publishing Corporation, v.3, 73-102. 1983.
- Connell, J.J. **Control of fish quality**. 4<sup>th</sup> Ed. 256pp. p. 159-160, Fishing News Books Ltd, Farnham, Surrey UK, 1995.
- Crank, J. **The mathematics of diffusion**. P. 44-68. Oxford , England: Clarendon Press, 1975.
- Czerner, M., Tomás, M. C., Yeannes, M.I. Ripening of salted anchovy (*Engraulis anchoita*); development of lipid oxidation, colour and other sensorial characteristics. **Journal of Food Science and Food Agricultural**, v. 91, p. 609-615, 2011.
- Davies, M.J. The oxidative environment and protein damage. **Biochimica et BioPhysica Acta**, v. 1703 p. 93– 109, 2005.
- Dinnella, C.; Gargaro, M.T.; Rossano, R. Monteleone, E. Spectrophotometric assay using o-phtaldialdehyde for the determination of transglutaminase activity on casein. **Food Chemistry**, v. 78, p. 363-368, 2002.
- Djendoubi, N., Boudrhioa, N., Binazzi, C., Kechaou, N. Drying of sardine muscles: Experimental and mathematical investigations. **Food and Bioproducts Processing**, v.87, p. 115-123, 2009.
- Duyar, H. A.; Eke, E. Production and Quality determination of marinade from different fish species. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8, p. 270-275, 2009.
- Elias, R. J.; McClements, D.J.; Decker, E.A. Antioxidant activity of cysteine, tryptophan, and methionine residues in continuous phase beta-lactoglobulin in oil-water

- emulsions. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 10248-10253, 2005.
- Elias, R.J.; Kellerby, S.S.; Decker, E.A. Antioxidant activity of proteins and peptides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. V.48, p. 430-441, 2008.
- Erbay, Z.; Icier, F. A reviews of thin layer drying foods: theory, modeling, and experimental results. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, p. 441-464, 2010.
- FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirements. 1991. Disponível em: <http://www.fao.org/DOCREP/003/AA040E/AA040E08.htm#ch7.3> último acesso em: julho de 2011.
- FAO. Fish protein concentrate (FPC). Torry advisory note N.39. Disponível em: <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5917E/x5917e01.htm> último acesso em julho de 2011.
- Feddern ,V.; Furlong, E.B.; Soares, L.A.S. Efeito da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais do farelo de arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.800-804, 2007.
- Fedele, E.; Bergamo, P. Protein and lipid oxidative stresses during cheese manufacture. **Journal of Food Science**, v.66, p. 932-935, 2001.
- Fellows, P. **Food processing technology: principles and practice**. Second edition. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, p. 338, 2000.
- Finot, P.A. Influencing of processing on the nutritional value of proteins. **Plant foods for human nutrition**, v. 32, p. 439-453, 1983.
- Foh, M.B.K.; Amadou, I.; Foh, B. M.; Kamara, M.T.; Xia, W.; Functionality and Antioxidant Properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as Influenced the Degree of Hydrolysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p. 1851-1869, 2010.
- Friedman, M. Nutritional value of proteins from different food sources: a review. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 44, p. 6-29, 1996.
- Girón-Calle, J.; Alaiz, M.; Millán, F.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Vioque, E. Bound malonaldehyde in foods: Bioavailability of the N-2-propenals of lisina. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6194-6198, 2002.
- Goulas, A.E.; Kontominas, M.G. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. **Food Chemistry**, v. 93, p. 511-520, 2005.

- Guillén-Sans, R.; Guzmán-Chozas, M. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, p. 315-350, 1998.
- Hacihafizoglu, O.; Cihan, A.; Kahveci, K. Mathematical modeling of drying of thin layer rice. **Food and BioProducts Processing**, v. 86, p. 268-275, 2008.
- Hadrich, B.; Boudhrioua, N.; Kechaou, N. Drying of Tunisian sardine (*Sardinella aurita*) experimental study and three-dimensional transfer modeling of drying kinetics. **Journal of Food Engineering**, v.84, p. 92-100, 2008.
- Hęś, M.; Korczak, J.; Pyrcz, J.; kowalski, R. Influence of lipid stabilization on the tetention of available lysine and methionine in stored raw polish sausage. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. V. 65, p. 19-25, 2009.
- Kaya, A.; Aydin, O.; Kolayli,S. Effect of different drying conditions on the vitamin C (ascorbic acid) content of Hayward kiwifruits (*Actinidia deliciosa Planch*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 165-173, 2010.
- Kiranoudis, C.T.; Maroulis, Z.B.; Tsami,E.C.; Marinos-Kouris, D. **Drying Technology**, v. 15, p. 1399-1418, 1997.
- Kilinc, B. Microbiological, sensory and color changes of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) patties during refrigerated storage. **Journal of Muscle Foods**, v.20, p. 129-137, 2009.
- Konishi, Y.; Horiuchi, J.; Kobayashi, M. Dynamic evaluation of the dehydration response curves of food characterized by a poultice-up process using a fish paste sausage. II A new tank model for a computer simulation. **Drying Technology**, v. 19, p. 1271-1285, 2001.
- Kristinsson, H.G.; Rasco, B.A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.40, p. 43-81, 2000.
- Krokida, M.K.; Founddoukidis, E.; Maroulis, Z. Drying constant: literature data compilation for foodstuffs. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p. 321-330, 2004.
- Levine, R. L., Mosoni, L., Berlett, B. S., and Stadtman, E. R. Methionine residues as endogenous antioxidants in proteins. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v. 93, p. 15036–15040, 1996.
- Lowry, O.H.; Resenbrought, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. Protein measurement with the folin-phenol reagent, **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

- Madamba, P.S.; Dricoll, R.H.; Buckle, K.A.; Thin layer drying characteristics of garlic slices. **Journal of Food Engineering**, v.29, p. 75-97, 1996.
- Moraes, K. Desenvolvimento de um processo de obtenção de proteína de anchoita (*Engraulis anchoita*) modificada enzimaticamente. 2007. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2007.
- Morr, C.V.; German, B.; Kinsella, J.E.; Regenstein, J.M.; Van-Buren, J.P.; Kilara, A.; Lewis, B.A.; Magino, M.E.; Collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, v.50, p. 1715-1718, 1985.
- Morrison, A.B.; Sabry, Z.I. Factors influencing the nutritional value of fish flour: II. Availability of lysine and sulphur amino acids. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. v. 41, p. 649-655, 1963.
- Murueta, J.H.C.; Navarrete del Toro, M.A.; Carreño, F.G. Concentrates of fish protein from bycatch species produces by various drying process. **Food Chemistry**, v. 100, p. 705-711, 2007.
- Nielsen, H.K.; De Weck, D.; Finot, P.A.; Liardon, R.; Hurrell, R.F. Stability of tryptophan during food processing and storage. 1. Comparative losses of tryptophan, lysine and methionine in different model systems. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 281-292, 1985a
- Nielsen, H.K.; Löliger, J.; Hurrell, R.F. Reactions of proteins with oxidizing lipids. 1. Analytical measurements of lipid oxidation and of amino acid losses in a whey protein-methyl linolenate model system. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 61-73, 1985b
- Nielsen, H.K.; Finot, P.A.; Hurrell, R.F. Reactions of proteins with oxidizing lipids. 2. Influence on protein quality and on the bioavailability of lysine, methionine, cyst(e)ine and tryptophan as measured in rat assays. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 75-86, 1985c
- Oliveira, E.G.; Rosa, G.S.; Moraes, M.A.; Pinto, L.A.A. Phycocyanin content of *Spirulina Platensis* dried in spouted bed and thin layer. **Journal of Food Processing Engineering**, v. 31, p. 34-50, 2008.
- Oliveira, E.G.; Rosa, G.S.; Moraes, M.A.; Pinto, L.A.A. Characterization of thin layer drying of *Spirulina platensis* utilizing perpendicular air flow. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 1297-1303, 2009.

- Panagiotou, N.M.; Krokida, M.K.; Maroulis, Z.B.; Saravacos, G.D. Moisture diffusivity: literature data compilation for foodstuffs. **International Journal of Food Properties**, v. 7, p. 273-299, 2004.
- Park, K.J. Diffusional model with and without shrinkage during salted fish muscle drying. **Drying Technology**, v. 16, p. 889-905, 1998.
- Pastous-Madureira, L.S., Castello, J.P., Prentice-Hernández, C., Queiroz, M.I., Espírito Santo, M.L., Ruiz, W.A., Raggi Abdallah, P., Hansen, J., Bertolotti, M.I., Manca, E., Yeannes, M.I., Avdalov, N. and Fernández Amorín, S. Current and potential alternative food uses of the Argentine anchoita (*Engraulis anchoita*) in Argentina, Uruguay and Brazil. In M.R. Hasan and M. Halwart (eds). Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**. Rome, FAO, n. 518, pp. 269–287, 2009.
- Piche, L.A.; Cole, P.D.; Hadley, M.; Van den Berg, R.; Draper, H.H. Identification of 2-propenal lysine as the main of malondialdehyde in food digesta. **Carcinogenesis**, v.9, p. 473-477, 1988.
- Pinto, L.A.A.; Tobinaga, S. Diffusive model with shrinkage in the thin layer drying of fish muscles. **Drying Technology**. v. 24, p. 509-516, 2006.
- Silveira C. M.; Furlong E.B. Caracterização de compostos nitrogenados presentes em farelos fermentados em estado sólido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, p. 805-811, 2007.
- Teng, D.; Fang, Y.; Song, X.; Gao, Y. Optimization of enzymatic hydrolysis parameters for antioxidant capacity of peptide from goat placenta. **Food and Bioprocess Processing**. v. 89, p. 202-208, 2011.
- Turban, S.; Ustun, N.S.; Temiz, H. Lipid quality of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) fillets affected by different cooking methods. **International Journal of Food Properties**, *In Press*. DOI: 10.1080/10942911003672159, 2011.
- Vega-Gálvez, A.; Andrés, A.; Gonzales, E.; Notte-Cuello, E.; Chacana, M.; Lemus-Mondaca, R. Mathematical modelling on the drying process of yellow squat lobster (*Cervimunida johni*) fishery waste for animal feed. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, p. 268-279, 2009.
- Vega-Gálvez, A.; Miranda, M.; Clavería, R.; Quispe, I.; Vergara, J.; Uribe, E.; Paez, H.; Di Scala, K. Effect of air temperature on drying kinetics and quality characteristics of osmo-treated jumbo squid (*Dosidicus gigas*). **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, p. 16-23, 2011.

- Vyncke, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v.72, p.1084-1087, 1970.
- Wang, C.; Xue, C.; Liu, Y.; Lou, W.; Chen, X. Utilization of fish protein and oil from anchovy (*Engraulis japonicus*). **Asian Fisheries Science**, v. 9, p. 201-208, 1996.
- Wang, Y.; Zhang, M.; Mujumdar, A.S. Trends in processing technologies for dried aquatic products. **Drying Technology**, v. 29, p. 382-394, 2011.

### **ARTIGO 3: Otimização e cinética de secagem convectiva em camada delgada de uma pasta modificada enzimaticamente obtida de anchoita**

#### **Resumo**

O objetivo deste estudo foi otimizar a secagem convectiva de pasta obtida de filés de anchoita modificados enzimaticamente. Os ensaios de secagem em camada delgada foram realizados em bandejas de aço inox, com escoamento paralelo do ar (2,5 m/s), variando-se a temperatura de secagem (60, 70 e 80°C) e espessura da pasta na bandeja (1,5; 2,5 e 3,5 mm). Foi utilizada a metodologia de superfícies de resposta para analisar a perda da atividade antioxidante e redução da lisina disponível, oxidação lipídica (índice de TBA) e cor. Os dados experimentais de secagem foram ajustados através das equações de Lewis, Henderson e Pabis, Henderson, Page e Overhults. Foi observado que todos os modelos apresentaram um bom ajuste aos dados experimentais ( $R^2 > 0,99$  e  $REQM < 0,02$ ). O modelo de Henderson e Pabis foi escolhido para a estimativa da difusividade efetiva de umidade (Def). Os valores de Def variaram  $0,74 \times 10^{-10}$  a  $1,84 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s, e o valor de energia de ativação de 44,5 kJ/mol. A análise estatística da secagem mostrou efeitos significativos da temperatura do ar e espessura da amostra ( $p < 0,05$ ) nas respostas índice de TBA, redução da lisina disponível e perda da atividade antioxidante. A melhor condição de secagem foi obtida na temperatura do ar de 60 °C e espessura da amostra de 2,5 mm, na qual o índice de TBA foi de 0,93 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra, bs</sub>, redução da lisina disponível de 16% e perda da atividade antioxidante específica de 20,2%. Na melhor condição, houve um aumento da luminosidade (L\*) e das tonalidades amarela (b\*) e vermelha (a\*), e a variação da sensação da cor ( $\Delta E$ ) foi de 18,5.

**Palavras chave:** hidrólise enzimática, pescado, secagem convectiva, oxidação lipídica, lisina disponível, atividade antioxidante.

## **Optimization and convective drying kinetics in a thin layer of enzymatic modified paste obtained anchovy**

### **Abstract**

The aim of this study was the optimization of paste convective drying which was obtained from anchovy fillets enzymatically modified. The drying experiments in thin layer were carried out in stainless steel trays with parallel air flow (2.5 m/s), with drying temperature (60, 70 and 80 °C) and thickness paste in the tray (1.5; 2.5 and 3.5 mm). It was used response surface methodology for to analyze the specific antioxidant activity loss, reduction of available lysine, lipid oxidation index (TBA), and color. The experimental data were analyzed by the Lewis, Henderson-Pabis, Henderson, Page and Overhults models. It was observed that all models showed had a good adjustment of experimental data ( $R^2 > 0.99$  and  $REQM < 0.02$ ), however the Henderson-Pabis model was chosen to estimate the effective moisture diffusivity (Def). The values of Def ranged from  $0.74 \times 10^{-10}$  to  $1.84 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s, and the activation energy value was 44.5kJ/mol. Statistical analysis showed significant effects of drying air temperature and thickness of the sample ( $P < 0.05$ ) in response TBA index, reduction of available lysine and specific antioxidant activity loss. The best drying condition was obtained at 60 °C and thickness sample 2.5 mm, in which the TBA value was 0.93 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>sample</sub>, reduction in available lysine about 16% and specific antioxidant activity loss of 20.2%. In the best condition, there was an increase in lightness (L\*) and shades yellow (b\*) and red (a\*), and the range of color sensation ( $\Delta E$ ) was 18.5.

**Keywords:** enzymatic hydrolysis, fish, convective drying, lipid oxidation, available lysine, antioxidant activity.

## 1 Introdução

Pescado e produtos marinhos são alimentos muito importantes, especialmente em países em desenvolvimento. Estes produtos são fontes valiosas de nutrientes como proteínas e ácidos graxos poliinsaturados. A anchoita (*Engraulis anchoita*) é uma espécie pelágica de elevada biomassa na costa brasileira, entretanto seus estoques ainda permanecem inexplorados, mas com possibilidades de uma exploração sustentável. Portanto, no Brasil a tendência é para o desenvolvimento de produtos alternativos à base de anchoita, os quais atribuiriam novos mercados e poderiam ser incluídos em programas sociais governamentais de combate à fome. Pesquisas para utilizar uma fórmula para responder às demandas específicas são necessárias, especialmente em relação ao processamento de produtos desidratados (PASTOUS-MADUREIRA et al., 2009).

A modificação de uma proteína é geralmente realizada através de tratamentos químicos, físicos e enzimáticos, os quais alteram a sua estrutura e conseqüentemente suas propriedades físico-químicas e funcionais. O processo de hidrólise tem sido desenvolvido para converter espécies de pescado sub-utilizadas e sub-produtos da pesca em formas aceitáveis e comercializáveis. Na última década, além das atribuições de melhoramento de propriedades funcionais tecnológicas (p.ex.: solubilidade, capacidade de retenção de água e óleo, propriedades emulsificantes e de espuma), e na biodisponibilidade de alguns nutrientes, as proteínas modificadas enzimaticamente (hidrolisadas) vêm sendo estudadas por apresentarem propriedades biológicas antioxidantes. As moléculas bioativas, responsáveis por estas propriedades, são grupos funcionais de proteínas e peptídeos os quais são expostos ou liberados durante a hidrólise (KLOMPONG et al., 2007; FOH et al., 2010).

Alterações oxidativas em alimentos, que podem ocorrer durante o processamento e/ou armazenamento, levam à deterioração de atributos de qualidade sensorial (aroma, textura e cor) e nutricionais (formação de radicais livres). Os principais alvos das reações oxidativas que afetam a qualidade dos alimentos são as de lipídios e proteínas. Nos lipídios estas reações geralmente envolvem caminhos que resultam em peróxidos e finalmente hidroperóxidos de lipídios, que acabam sendo decompostos em carbonilas de baixa massa molar na presença de pró-oxidantes. Essas carbonilas, que são associadas ao aroma rançoso, podem interagir com outros compostos, tais como as proteínas, alterando sua funcionalidade. No entanto, os mecanismos de radicais livres também estão envolvidos na oxidação de proteínas

(ELIAS et al., 2008). Um dos produtos mais estudados na decomposição oxidativa de ácidos graxos poliinsaturados é o malonaldeído (MDA), o qual pode reagir com a lisina, reduzindo sua biodisponibilidade (NIELSEN et al., 1985<sup>abc</sup>; PICHE et al., 1988; GIRÓN-CALLE et al., 2002). Recentemente, alguns estudos têm ligado a oxidação de proteínas com uma variedade de doenças humanas, incluindo a diabetes, arteriosclerose e desordens degenerativas. Entretanto, a habilidade das proteínas para reagir com radicais livres nos alimentos pode também levar ao desenvolvimento de novas tecnologias antioxidantes. Se as proteínas podem ser usadas para inibir reações oxidativas protegendo assim os oxidativamente lábeis ácidos graxos. A estabilidade oxidativa de alimentos está relacionada com o balanço entre fatores antioxidantes e pró-oxidantes (ELIAS et al., 2008). Operações de processamento aumentam o estresse oxidativo através da introdução de oxigênio, remoção de antioxidantes naturais, redução de antioxidantes endógenos e aumento de fatores pró-oxidantes (FINOT, 1983).

A secagem ou desidratação tem sido utilizada por diversos países para preservar materiais biológicos e alimentícios. Uma tendência recente é desenvolver alimentos secos de qualidade recomendada, como sabor, textura, funcionalidade, conteúdo nutricional e conveniência (SABLANI & RAHMAN, 2005).

Em busca de alternativas viáveis tecnologicamente, para aproveitar o potencial de pesca da anchoita, a modificação enzimática da proteína da anchoita, a fim de produzir uma pasta com melhores propriedades funcionais e nutricionais, aliada à secagem, podem ser utilizadas. A remoção de umidade durante a operação de secagem é muito afetada pelas condições do ar de secagem e também pelas características dimensionais do material, o que também pode ocasionar alterações de qualidade no produto (KERANOUDIS et al., 1997), como por exemplo o aumento nos produtos de oxidação lipídica (MDA) dependendo da temperatura e espessura do material (OLIVEIRA et al., 2010). Devido a anchoita ser uma excelente fonte protéica e rica em ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) (CZERNER et al., 2011), se torna importante a otimização das condições de secagem.

Neste contexto, os objetivos do presente estudo foram: a) analisar os modelos empíricos de secagem em camada delgada no ajuste dos dados experimentais de secagem da pasta modificada, estimando a difusividade efetiva de umidade e a energia de ativação; b) otimizar as condições de secagem de uma pasta modificada enzimaticamente, obtida da hidrólise da fração muscular (filés) da anchoita, através da

metodologia de superfície de resposta, considerando como fatores de estudo a temperatura do ar de secagem e espessura da amostra. As respostas avaliadas foram: a oxidação lipídica, medida através do índice de TBA; redução da lisina disponível após digestibilidade *in vitro*; perda da atividade antioxidante específica, medida através da redução do radical livre DPPH; variação da sensação da cor ( $\Delta E$ );

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Material

Para a realização do trabalho foi utilizada a anchoita (*Engraulis anchoita*) na forma de uma pasta modificada enzimaticamente. A enzima utilizada no processo de modificação enzimática foi a Neutrased<sup>®</sup> 0.8 L (Novozymes), que é uma endoprotease produzida pelo *Bacillus amyloliquefaciens*. Todos os reagentes utilizados nas análises foram de grau analítico.

A anchoita (*Engraulis anchoita*) foi capturada em cruzeiro pelo “Navio Oceanográfico Atlântico Sul”, utilizando rede de arrasto de meia água, na plataforma continental da região sul do Brasil (32° 34'S e 51° 53'W). A mesma foi armazenada a bordo em uma parte de gelo, uma de água do mar e duas de anchoita (1:1:2 – relação em massa) por 24 h. A anchoita foi então lavada em água clorada (5 ppm cloro residual livre), eviscerada e filetada, sendo o filé lavado novamente com uma solução de NaCl 0,3% e posteriormente água deionizada. O mesmo foi drenado por 2 h sob refrigeração entre 4-7 °C e posteriormente congelado a -18 °C até o momento de sua utilização.

### 2.2 Obtenção da pasta modificada enzimaticamente

A partir do filé de anchoita obteve-se uma pasta modificada enzimaticamente de baixo grau de hidrólise (MBGH). Para isso, os filés foram descongelados sob refrigeração (4-7 °C) e hidrolisados por Neutrased em um biorretor de aço inoxidável, com agitação (agitador eixo-hélice IKA RWDAM 28 basic, EUA), ligado a um banho termostático (Quimis Q-304-264, Brasil). O processo foi realizado em duas bateladas, com 250 g de filé cada uma, nas seguintes condições: pH<sub>músculo</sub> 6,8; temperatura de 55 °C; razão enzima:substrato - E/S 0,01%; tempo de hidrólise 30 min. A inativação da enzima foi realizada através do aquecimento da pasta obtida a 90 °C por 10 min (MORAES, 2007). Ao final de cada batelada foi medido o grau de hidrólise

e as duas pastas obtidas foram misturadas e armazenadas a 4 °C até o momento da secagem, que antecederam 24 h. O grau de hidrólise (GH) foi medido segundo metodologia proposta por Adler-Niessen (1979) através de reação do TNBS (ácido trinitrobenzeno sulfônico) com a leucina liberada durante a hidrólise, sendo dado como a relação entre o número de ligações peptídicas clivadas, ou número de grupos amino livres formados durante o processo de hidrólise, e o número total de ligações peptídicas. O número total de ligações peptídicas adotado para este trabalho foi de 8,6 meq leucina/g proteína, valor este proposto por Nielsen et al. (2001) para pescado.

### **2.3 Secagem da pasta de anchoita modificada**

Os experimentos foram realizados em secador descontínuo de bandeja com escoamento paralelo do ar de secagem. As condições do ar de secagem foram: temperaturas de 60, 70 e 80 °C, umidade absoluta de  $0,013 \pm 0,02$  kg/kg<sub>ar seco</sub> e velocidade do ar de 2,5 m/s. As amostras foram secas nas espessuras de 1,5; 2,5 e 3 mm. As amostras foram pesadas em intervalos de tempo pré-estabelecidos em balança eletrônica (Marte, modelo AS 2000C, Brasil), com precisão de  $\pm 0,01$  g, até atingirem a umidade comercial ( $\cong 0,10$  kg/kg, bu). A umidade relativa do ar foi determinada pelo uso das temperaturas de bulbo seco e bulbo úmido. As dimensões das bandejas de forma retangular eram de 0,12 m de largura e 0,14 m de comprimento. As espessuras das amostras foram ajustadas na bandeja conforme a densidade da pasta, sendo de 26,6; 44,3 e 62 g para 1,5; 2,5 e 3,5 mm, respectivamente. Após a secagem, todos os produtos foram submetidos às operações de moagem em moinho facas (modelo Willey, Filadélfia, EUA) e peneiramento (Tyler 80-100). As amostras foram armazenadas em sacos plásticos sob abrigo de luz, à temperatura ambiente, e analisadas no dia subsequente à secagem. Todos os experimentos foram realizados em duplicata.

Para cada experimento foram obtidos os dados de cinética de secagem. Para obtenção destes dados, fez-se necessário a determinação da umidade de equilíbrio para cada temperatura de secagem e umidade relativa no secador. As umidades de equilíbrio foram obtidas através de isotermas de dessorção de acordo com Oliveira et al. (2009).

Através dos dados de umidade de equilíbrio do material e a atividade de água ( $a_w$ ), foram obtidas as curvas de isoterma de dessorção, nas três temperaturas de

estudo. Os dados foram ajustados através do modelo GAB (Equação 1) (Timmermann, et al., 2001).

$$X_e = \frac{X_m \cdot C_G \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 - k \cdot a_w + C_G \cdot k \cdot a_w)} \quad (1)$$

sendo:  $X_e$  a umidade de equilíbrio ( $\text{kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$ ),  $X_m$  o conteúdo de umidade da monocamada ( $\text{kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$ ),  $a_w$  a atividade de água,  $C_G$  e  $k$  parâmetros de ajuste, e  $T$  a temperatura (K).

### 2.3.1 Cinética de secagem

As Equações de 2 a 6 apresentam os modelos semi-teóricos de secagem em camada delgada. Estas equações têm sido utilizadas para modelar a secagem de diversos gêneros alimentícios de origens vegetal e animal (KROKIDA et al., 2004; BARROZO et al., 2004; HACIHAFIZOGLU et al., 2008; DJENDOUBI et al., 2009; KAYA et al., 2010; VÉGA-GALVEZ et al., 2011). Os modelos estudados foram: Lewis (Equação 2), Henderson e Pabis (Equação 3), Page (Equação 4), Page modificado (Equação 5) e Henderson (Equação 6).

$$Y = \exp(-(K_1 \cdot t)) \quad (2)$$

$$Y = A_1 \exp(-(K_2 \cdot t)) \quad (3)$$

$$Y = \exp(-(K_3 \cdot (t^{n_1}))) \quad (4)$$

$$Y = \exp(-(K_4 \cdot t)^{n_2}) \quad (5)$$

$$Y = A_2 \cdot \exp(-(K_5 \cdot t)) + A_3 \cdot \exp(-(K_6 \cdot t)) \quad (6)$$

sendo:  $Y$  o adimensional de água livre  $[(X - X_e)/(X_0 - X_e)]$ ,  $K_n$  as constantes de secagem de seus respectivos modelos ( $\text{min}^{-1}$ ), e  $t$  o tempo (min),  $n_i$  parâmetros de ajuste.

A segunda lei de Fick pode descrever o transporte de água durante a secagem de alimentos, considerando valores constantes de difusividade efetiva durante todo o processo de secagem, geometria plana infinita e distribuição uniforme de secagem. A solução geral para o modelo difusivo é apresentada na Equação 7 (CRANK, 1975).

$$Y = \frac{\bar{X} - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-(2n+1)^2 \pi^2 \frac{D_{ef} \cdot t}{4L^2}\right] \quad (7)$$

sendo:  $X$ ,  $X_0$  e  $X_e$  as umidades média, inicial e de equilíbrio, respectivamente (base seca, bs).  $Y$  o adimensional de água livre definido como a relação entre a água livre a ser removida a qualquer tempo e a água livre inicialmente disponível;  $n$  o integrador positivo;  $D_{ef}$  a difusividade efetiva de umidade ( $m^2/s$ ) e  $L$  a espessura da amostra (m).

Devido ao encolhimento ocorrido no material durante a secagem, o valor da espessura média ( $L_m$ ) deve ser considerado na Equação 8. Este é calculado a partir dos valores das espessuras inicial e final da amostra, pois segundo Pinto & Tobinaga (2006), estudando a secagem de merluza e sardinha, determinaram que nos filés de pescado o encolhimento ocorria praticamente na espessura das amostra e apresentava comportamento linear.

O modelo de Henderson e Pabis (Equação 3) é similar ao primeiro termo da série da Equação 7, sendo então a constante de secagem  $K$  relacionada com a difusividade efetiva de acordo com a Equação 8.

$$K = \frac{\pi^2 D_{ef}}{4L_m^2} \quad (8)$$

A dependência do coeficiente de difusão e dos parâmetros cinéticos em relação a temperatura do ar de secagem pode ser descrito muitas vezes com base na relação de Arrhenius (Equação 9).

$$D_{ef} = D_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (9)$$

sendo:  $D_0$  é um fator pré exponencial de difusividade a uma temperatura infinita ( $m^2/s$ ),  $E_a$  é a energia de ativação para difusão de umidade (kJ/mol),  $R$  é constante universal

dos gases ( $8,314 \times 10^{-3}$  kJ/mol.K) e T é a temperatura de secagem (K). Deste modo rearranjando a Equação 9, tem-se a Equação 10, a partir da qual foi calculada a energia de ativação, plotando-se  $\ln D_{ef}$  em função de  $1/T$ .

$$\ln(D_{ef}) = \ln(D_0) + \left(-\frac{E_a}{R}\right) \cdot \frac{1}{T} \quad (10)$$

### 2.3.2 Delineamento Experimental

A otimização das condições de secagem foi realizada através do emprego da metodologia de superfície de resposta, aplicando-se um planejamento experimental fatorial completo ( $3^2$ ), totalizando nove tratamentos (MYERS & MONTGOMERY, 2002). Foram estudadas a influência da temperatura do ar de secagem ( $X_1$ ) e da espessura das amostras ( $X_2$ ) em três diferentes níveis equidistantes (-1, 0, +1). As respostas ( $Y_n$ ) para o planejamento foram avaliadas quanto às características do produto desidratado, sendo estas: percentual de redução na atividade antioxidante e lisina disponível em relação à pasta úmida, oxidação lipídica (medida através do índice de TBA).

As variáveis independentes (fatores de estudo) foram escolhidos por serem importantes na secagem em camada delgada de alimentos ricos em proteínas (OLIVEIRA et al., 2010). Os valores reais dos fatores foram: 60, 70 e 80°C para temperatura de secagem e 1,5, 2,5 e 3,5 mm para espessura da amostra.

## 2.4 Metodologia Analítica

### 2.4.1 Composição proximal

A pasta de anchoita modificada enzimaticamente foi caracterizada quanto a umidade, cinzas e proteína segundo metodologias da AOAC (2000) números 950.46, 920.153 e 928.08, respectivamente. Os lipídios foram quantificados segundo Bligh & Dyer (1959).

### 2.4.2 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica da pasta modificada úmida e desidratada foi avaliada através dos índices de TBA (ácido tiobarbitúrico). Os lipídios das amostras foram extraídos à frio segundo Bligh & Dyer (1959), partindo de 50 g de pasta modificada úmida e 10 g da pasta seca. O índice de TBA foi determinado segundo Vyncke (1970).

Aos lipídios extraídos foram adicionados 15 mL de ácido tricloroacético (TCA) 7,5 % (p/v), seguido de agitação (30 s) e filtração (papel filtro Whatman nº1). Do filtrado foram retiradas alíquotas de 5 mL, às quais adicionou-se 5 mL de solução TBA (0,02 M). As amostras foram então agitadas e levadas a um banho termostatizado (Quimis modelo Q-304-264, Brasil), a 100 °C por 40 min, para o desenvolvimento da cor. Após as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente, e posteriormente fez-se a leitura em espectrofotômetro (Quimis modelo Q-108DRM, Brasil) a 530 nm. A quantificação dos valores de TBA foi feita com base em uma curva padrão obtida da reação do tetrametoxipropil (TMP) variando de  $1 \times 10^{-9}$ – $7 \times 10^{-9}$  moles/mL com TBA (0,02 M). Os resultados foram expressos em mg de malonaldeído (aldeído malônico) por kg de amostra em base seca ( $\text{mg}_{\text{MDA}}/\text{kg}_{\text{amostra, bs}}$ ).

### 2.4.3 Lisina disponível

O conteúdo de lisina disponível foi determinado após a hidrólise da proteína com pepsina e pancreatina. A hidrólise foi determinada conforme Feddern et al. (2007). Foram pesados o equivalente a 50 mg de proteína (bs) a qual foi submetida à hidrólise com 10 mL de suspensão de pepsina ( $1,5 \text{ mg mL}^{-1}$  em HCl 0,1N) por 3 h em banho a 37 °C. Após elevou-se o pH a 7,0 (anotando-se o volume gasto). Foram adicionados ao sistema 10 mL de uma suspensão de pancreatina (1,5 mg/mL em tampão fosfato pH 8,0), para continuidade da hidrólise por 24 h a 37 °C com agitação. Ao sistema foram adicionados 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) 40% e deixados em repouso sob refrigeração a 4° C por aproximadamente 2 h. A amostra foi então centrifugada a 3560xg por 5 min e após filtrada. O filtrado foi ajustado no pH 7,0 (anotando-se o volume gasto) e a amostra foi armazenada 4 °C até o momento do uso. A quantificação da lisina disponível, após a digestibilidade *in vitro*, foi determinada através da reação colorimétrica da lisina com OPA (*o*-phtaldialdehyde) segundo Dinnella et al. (2002) com modificações. Uma quantidade conhecida do filtrado foi diluída em tampão fosfato pH 7,0 à temperatura ambiente. Uma alíquota de 50 µL do filtrado diluído foi misturada a 1 mL do reagente OPA (*o*-phtaldialdehyde - solução completa de  $1 \text{ mg}_{\text{OPA}}/\text{mL}_{\text{2-mercaptoethanol}}$ ). A amostra foi agitada em banho ultrassônico (Ultra cleaner 700, Unique, Brasil) por 2 min à temperatura ambiente e a leitura foi realizada a 340 nm em espectrofotômetro (Varian's Cary 100 UV-VIS – EUA). A quantificação foi realizada com base em uma curva padrão de L-lisina em tampão fosfato pH 7,0 (0,01-0,2 mg/mL). As análises foram realizadas em triplicata. Para a otimização os resultados foram expressos em porcentagem de redução da lisina disponível em relação à pasta modificada úmida (não desidratada).

#### 2.4.4 Atividade antioxidante específica

A atividade antioxidante específica (AAE), medida através da capacidade de sequestrar radicais livres, foi determinada segundo metodologias descritas por Foh et al. (2010) e Véga-Galvez et al.(2011), com modificações. Foram misturadas 2 mL da amostra de proteína solúvel, previamente diluída e de concentração conhecida ( $\cong 0,6\text{mg/mL}$ ), com 2 mL de 0,15 mM DPPH (em etanol 95%). A mistura foi agitada vigorosamente e deixada em repouso, no escuro, por 30 min. A absorvância<sub>30 min</sub> da solução resultante foi determinada em 517nm (Quimis modelo Q-108DRM, Brasil). As análises foram realizadas em triplicata. Para a otimização os resultados foram expressos como porcentagem de perda da atividade antioxidante específica em relação à pasta modificada úmida (não desidratada).

A atividade antioxidante específica foi expressa como a quantidade do radical livre DPPH (1,1diphenyl-2picrylhydrazyl) seqüestrado pela proteína em 30 min, segundo a Equação 11.

$$AAE = \frac{1 - \left( \frac{(Abs\_DPPH_{reação} - Abs\_amostra_{branco})}{(Abs\_DPPH_{branco})} \right)}{(m_{ptna} \times t)} \quad (11)$$

sendo:  $Abs\_DPPH_{branco}$  o valor de absorvância de 2 mL etanol 95% misturados com 2 mL solução DPPH 0,15mM;  $Abs\_DPPH_{reação}$  o valor de absorvância de 2 mL solução proteína misturadas com 2 mL solução DPPH 0,15 mM;  $Abs\_amostra_{branco}$  o valor de absorvância de 2 mL solução de proteína misturados com 2 mL etanol 95%;  $m_{ptna(bs)}$  a quantidade conhecida de proteína em solução (g); t o tempo (min) em que a amostra foi deixada em repouso, no caso 30 min. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{M}_{DPPHseq}/\text{g}_{ptna\ sol}\text{min}$ .

#### 2.4.5 Cor

A cor da superfície da pasta modificada úmida e desidratada na melhor condição foi medida utilizando um colorímetro (Minolta CR-400, Osaka, Japão). A cor foi expressa de um diagrama tridimensional de cores - CIE ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), sendo as coordenadas:  $L^*$  a luminosidade tendendo do (0) preto ao (100) branco;  $a^*$  a tonalidade variando de (-) verde até (+) vermelho; e  $b^*$  a saturação tendendo de (-) azul até o (+) amarelo. Foi utilizado como padrão de calibração  $D_{65}$  e observador  $10^\circ$ . As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em  $\Delta E$

(Equação 12), o qual é um número absoluto que indica a diferença de sensação na totalidade da cor, incluindo brilho, tom e saturação.

$$\Delta E = [(a_i^* - a_0^*) + (b_i^* - b_0^*) + (L_i^* - L_0^*)]^{\frac{1}{2}} \quad (12)$$

sendo:  $a_i^*$   $b_i^*$   $L_i^*$  são os valores das coordenadas do produto desidratado em cada experimento e,  $a_0^*$   $b_0^*$   $L_0^*$  são os valores da amostra controle (pasta modificada úmida).

## 2.5 Análise Estatística

Para a análise estatística dos resultados das isotermas, cinética de secagem e do planejamento experimental foi utilizado o software *Statistica 6.0 for Windows* (StatSoft Inc, EUA).

Os resultados da matriz do planejamento experimental foram analisados mediante análise de regressão multivariada através de um modelo de segunda ordem (Equação 13). A significância estatística dos coeficientes de regressão foi determinada pelo teste de "t" de Student, a equação do modelo foi avaliada pelo teste de Fisher, e a proporção da variância explicada pelo modelo obtido foi dada pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

$$Y_n = b_0 + b_1 X_1 + b_{11} X_1^2 + b_2 X_2 + b_{22} X_2^2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{12} X_1^2 X_2 + b_{12} X_1 X_2^2 + b_{12} X_1^2 X_2^2 \quad (13)$$

sendo:  $Y_n$  a resposta predita (em valor real),  $X_1$  a temperatura na forma codificada,  $X_2$  a espessura da amostra na forma codificada e  $b_n$  os coeficientes de regressão.

A avaliação da qualidade dos ajustes dos modelos de isoterma e de cinética de secagem foi verificada através do coeficiente de determinação ou variância explicável ( $R^2$ ) e pela quadrada do erro médio (REQM) (Equação 14).

$$REQM = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_{ei} - X_{pi})^2} \quad (14)$$

sendo:  $X_{ei}$  e  $X_{pi}$  são, respectivamente, o conteúdo de umidade experimental e predita pelo modelo ( $\text{kg}_{\text{água}}/\text{kg}_{\text{sólido seco}}$ ) e N o número de pontos experimentais.

### 3 Resultados e Discussão

#### 3.1 Caracterização da pasta modificada úmida

A caracterização da pasta de anchoita modificada enzimaticamente úmida quanto sua composição proximal (em base úmida - b.u) foi de:  $78,7 \pm 1,2\%$  de umidade,  $17,1 \pm 0,8\%$  de proteína,  $1,3 \pm 0,2\%$  de cinzas,  $2,2 \pm 0,2\%$  de lipídios. A composição proximal da pasta modificada apresentou maior conteúdo de umidade se comparativamente à filés de anchoita frescos, provenientes da Argentina, segundo dados relatados por Czerner et al., 2011, o que conseqüentemente diminui os conteúdos (b.u) dos outros componentes. Os conteúdos de proteína e lipídios (em base seca) foram inferiores em aproximadamente 12% e 30%, respectivamente. Estas diferenças foram provavelmente devido ao local e época do ano da captura (PASTOUS-MADUREIRA et al., 2009), e das sucessivas lavagens do filé.

A Tabela 1 apresenta os resultados da pasta de anchoita modificada úmida.

Tabela 1: Resultados das análises para a pasta de anchoita modificada enzimaticamente úmida.

Parâmetro	Valor
GH (%)	$3,04 \pm 0,12$
Índice de TBA ( $\text{mg}_{\text{MDA}}/\text{kg}_{\text{amostra, bs}}$ )	$0,72 \pm 0,02$
Lisina total ( $\text{mg}_{\text{lisina}}/\text{mg}_{\text{ptna}}$ )	$0,091 \pm 0,001$
Lisina disponível ( $\text{mg}_{\text{lisina}}/\text{mg}_{\text{ptna}}$ )	$0,085 \pm 0,001$
Aitividade antioxidante específica (AAE) ( $\mu\text{M}_{\text{DPPHseq}}/\text{g}_{\text{ptna sol}} \text{min}$ )	$2,95 \pm 0,05$
L*	$50,32 \pm 2,31$
a*	$2,16 \pm 0,30$
b*	$10,86 \pm 0,50$

Média  $\pm$  erro padrão (n=3)

### 3.2 Cinética de Secagem da pasta modificada

Para o ajuste dos dados experimentais de umidade de equilíbrio de dessorção, apresentados na Figura 1, foi utilizado uma regressão não linear através do modelo GAB (Equação 1). A Tabela 2 apresenta os parâmetros de ajuste do modelo nas três diferentes temperaturas estudadas.

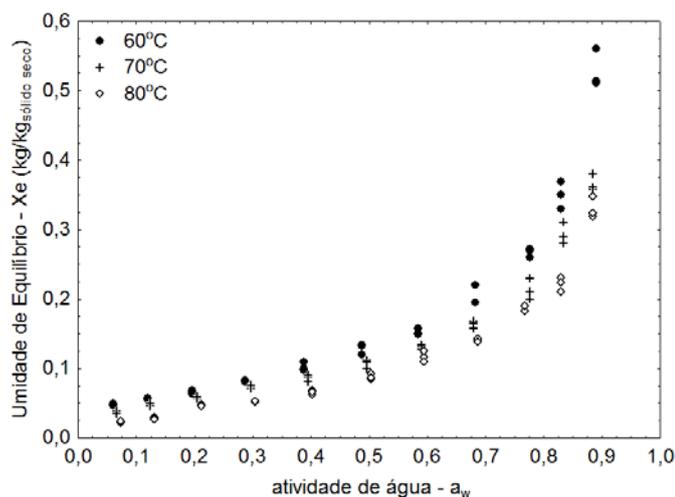


Figura 1: Isotermas de dessorção da pasta de anchóia modificada enzimaticamente nas temperaturas de 60, 70 e 80 °C. (valores em triplicata)

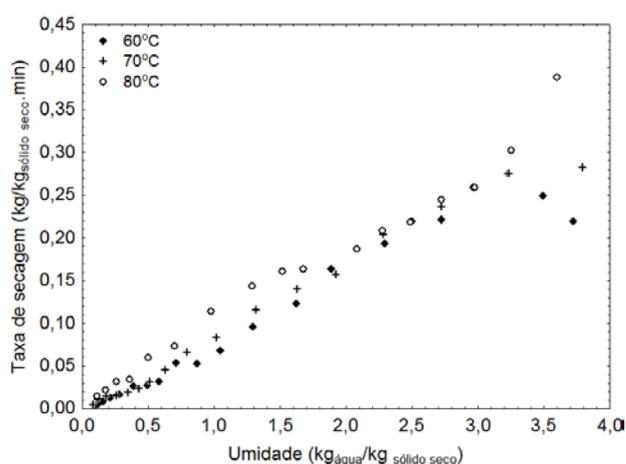
Verifica-se que na Figura 1 que as isotermas de dessorção apresentam forma sigmoideal tipo II, segundo a classificação de Brunauer et al. (1940), típico de isotermas de alimentos. Pode-se observar a diminuição da umidade de equilíbrio, à mesma umidade relativa, com o aumento da temperatura, o qual é esperado devido ao aumento da pressão de vapor da água. Isso ocorre porque com o aumento da temperatura, as moléculas de água são ativadas devido à seu nível de energia, tornando-as menos estáveis e rompem com o sítio de ligação de água dos produtos alimentícios (FASINA, 2006).

Tabela 2: Parâmetros de ajuste para isoterma de dessorção da pasta modificada.

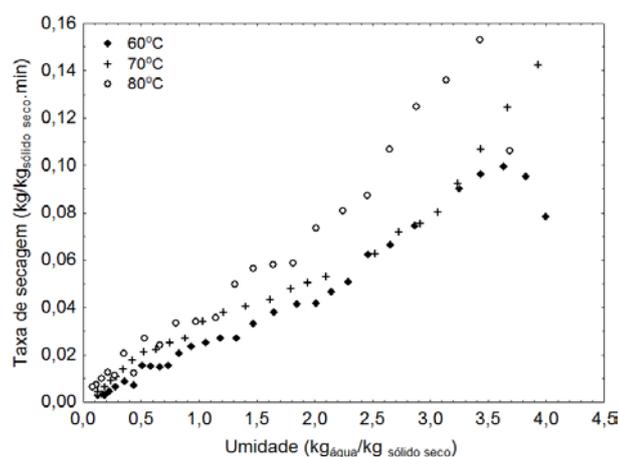
Temperatura (°C)	Parâmetros			R <sup>2</sup>	REQM
	X <sub>m</sub>	C <sub>G</sub>	k		
60	0,067±0,002	31,56±11,61	0,98±0,004	0,99	0,011
70	0,060±0,002	19,20±7,24	0,97±0,006	0,99	0,012
80	0,049±0,002	9,28±2,44	0,96±0,007	0,99	0,008

Através dos parâmetros de ajuste obtidos (Tabela 2) juntamente com a umidade relativa dentro do secador, em uma dada condição de secagem, foram substituídos na Equação 1 para calcular a umidade de equilíbrio ( $X_e$ ). Os valores encontrados foram de 0,049, 0,038 e 0,011 kg/kg<sub>sólido seco</sub>, para as temperaturas de 60, 70 e 80 °C, respectivamente. Estes valores representam o valor limite para a redução de umidade de equilíbrio a uma dada condição atmosférica (DJENDOUBI et al., 2009).

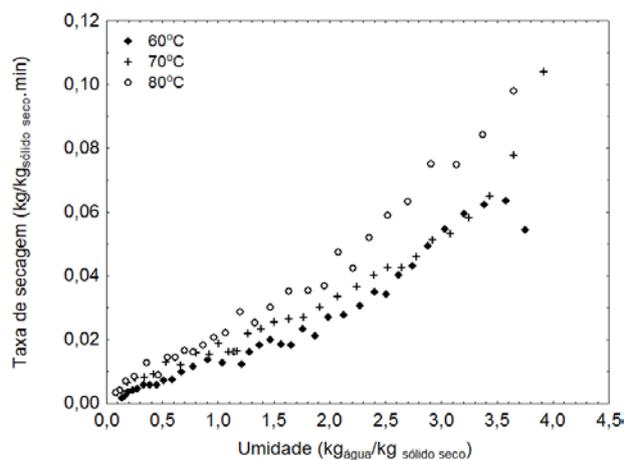
A umidade atingida, em todos os experimentos, ficou em uma faixa que variou de 5,8 a 9,9% (base úmida), umidade esta dentro do recomendado para produção de “snacks” à base de produtos aquáticos, que é de 8-9% (WANG et al., 2011). A Figura 2 mostra a curva da taxa de secagem para pasta modificada enzimaticamente, seca em camada delgada, nas três temperaturas para as diferentes espessuras (Figura 2(a): 1,5 mm; Figura 2(b): 2,5 mm; Figura 2(c): 3,5 mm). Pode ser observado que a taxa de secagem diminuiu com a redução da temperatura e aumento da espessura. Em todos os experimentos, pode-se também verificar a ausência do período de taxa constante. Todo o processo de secagem da pasta modificada ocorreu no período de taxa decrescente, durante o qual a difusão molecular interna é o mecanismo predominante de transferência de massa. Muitos materiais biológicos secam no primeiro período de taxa decrescente, como os reportados na literatura por: Djendoubi et al., (2009) na secagem de filés de sardinha; Vega-Gálvez et al. (2009) para resíduos de pesca de lagosta amarela; Oliveira et al. (2009) secagem de microalga; Kaya et al. (2010) na secagem de kiwi.



(a) 1,5 mm



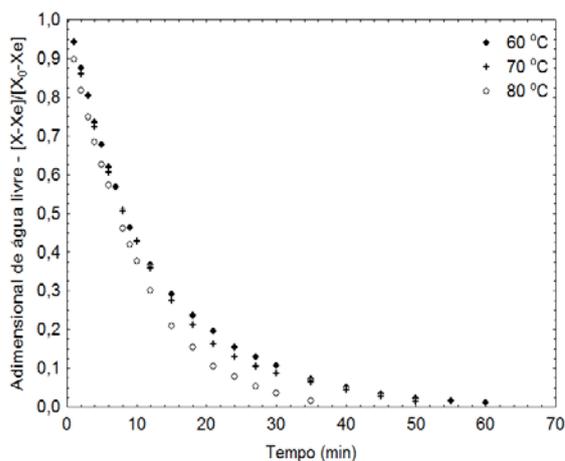
(b) 2,5 mm



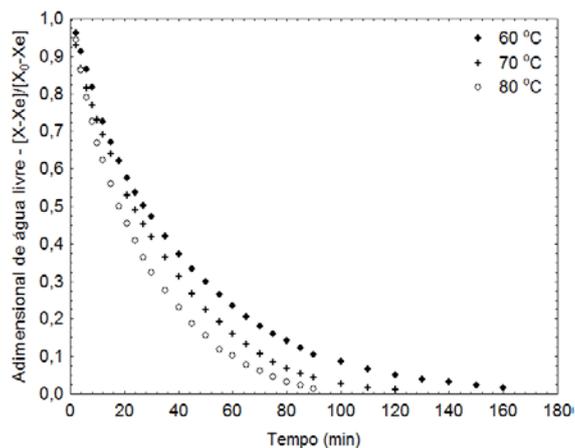
(c) 3,5 mm

Figura 2: Taxa de secagem em função da umidade para a pasta de anchoita modificada (60, 70 e 80 °C) para as diferentes espessuras: (a) 1,5 mm; (b) 2,5 mm; (c) 3,5 mm.

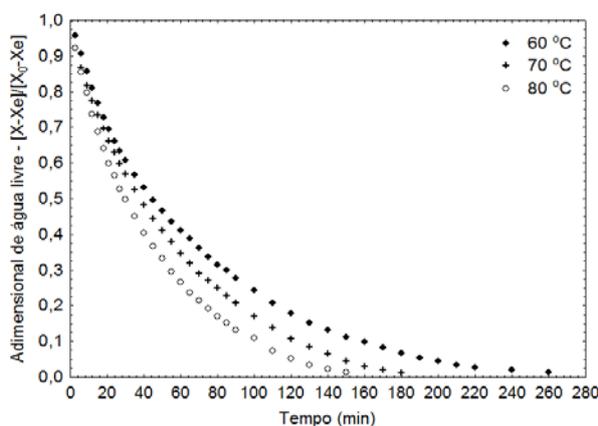
A partir dos dados de umidade dos experimentos de secagem ( $X$ ) e de umidade de equilíbrio ( $X_e$ ) foi obtida a curva característica do adimensional de umidade de água livre ( $Y$ ) em função do tempo de secagem (Figura 3), onde pode ser observada a influência da temperatura e espessura. O adimensional de água livre foi então ajustado aos modelos de secagem em camada delgada (Equações 2 a 6) para descrever o comportamento da secagem da pasta modificada.



(a)



(b)



(c)

Figura 3: Adimensional de água livre em função do tempo para a pasta de anchóita modificada nas diferentes temperaturas e espessuras: (a) 1,5mm; (b) 2,5mm; (c) 3,5mm

Os resultados dos parâmetros dos modelos nas diferentes condições de secagem, juntamente com os critérios de comparação, estão apresentados na Tabela 3, podendo ser observado que a constante de secagem aumentou com o incremento da temperatura e diminuição da espessura. Para todos os experimentos a  $REQM < 0,02$  e o coeficiente de determinação foi superior a 0,99, o que segundo Madamba et al. (1996) significa um bom ajuste dos modelos para representação do fenômeno de secagem.

O modelo Henderson e Pabis (Equação 3) foi escolhido para a estimativa da difusividade efetiva por apresentar significado físico e a simplificação da solução analítica para o modelo difusivo para longos tempos de secagem, sendo somente o primeiro termo da série (Equação 7) é considerado.

A difusividade efetiva (Tabela 4) foi calculada através da Equação (8), que considera os valores da constante de secagem (K), obtidos do modelo de Henderson e Pabis (Tabela 2), e as espessuras médias (entre início e o fim da secagem).

Tabela 3: Valores dos coeficientes e parâmetros estatísticos dos modelos de ajuste de curvas de secagem da pasta modificada de anchoita.

Modelo	Espessura (mm)	T (°C)	(min <sup>-1</sup> )	Coeficientes (min <sup>-1</sup> )			R <sup>2</sup>	REQM
Lewis		60	K <sub>1</sub> =	-	-	-	0,99	0,012
		70	0,079	-	-	-	0,99	0,007
		80	0,084	-	-	-	0,99	0,012
Henderson e Pabis	1,5	60	K <sub>2</sub> =0,081	-	A <sub>1</sub> =1,010	-	0,99	0,011
		70	K <sub>2</sub> =0,085	-	A <sub>1</sub> =1,008	-	0,99	0,007
		80	K <sub>2</sub> =0,100	-	A <sub>1</sub> =1,009	-	0,99	0,012
Page		60	K <sub>3</sub> =0,080	-	n <sub>1</sub> =0,996	-	0,99	0,012
		70	K <sub>3</sub> =0,082	-	n <sub>1</sub> =1,010	-	0,99	0,007
		80	K <sub>3</sub> =0,087	-	n <sub>1</sub> =1,058	-	0,99	0,008
Page modificado		60	K <sub>4</sub> =0,079	-	n <sub>2</sub> =0,996	-	0,99	0,012
		70	K <sub>4</sub> =0,084	-	n <sub>2</sub> =1,010	-	0,99	0,007
		80	K <sub>4</sub> =0,099	-	n <sub>2</sub> =1,058	-	0,99	0,008
Henderson		60	K <sub>5</sub> =0,093	K <sub>6</sub> =0,041	A <sub>2</sub> =0,866	A <sub>3</sub> =0,154	0,99	<0,001
		70	K <sub>5</sub> =0,093	K <sub>6</sub> =0,057	A <sub>2</sub> =0,829	A <sub>3</sub> =0,183	0,99	<0,001
		80	K <sub>5</sub> =0,034	K <sub>6</sub> =0,086	A <sub>2</sub> =-0,155	A <sub>3</sub> =0,152	0,99	<0,001
Lewis		60	K <sub>1</sub> =0,025	-	-	-	0,99	0,008
		70	K <sub>1</sub> =0,030	-	-	-	0,99	0,013
		80	K <sub>1</sub> =0,038	-	-	-	0,99	0,010
Henderson e Pabis		60	K <sub>2</sub> =0,024	-	A <sub>1</sub> =0,995	-	0,99	0,008
		70	K <sub>2</sub> =0,030	-	A <sub>1</sub> =0,991	-	0,99	0,013
		80	K <sub>2</sub> =0,038	-	A <sub>1</sub> =1,000	-	0,99	0,010
Page	2,5	60	K <sub>3</sub> =0,027	-	n <sub>1</sub> =0,973	-	0,99	0,007
		70	K <sub>3</sub> =0,029	-	n <sub>1</sub> =1,009	-	0,99	0,013
		80	K <sub>3</sub> =0,038	-	n <sub>1</sub> =0,999	-	0,99	0,010
Page modificado		60	K <sub>4</sub> =0,025	-	n <sub>2</sub> =0,973	-	0,99	0,007
		70	K <sub>4</sub> =0,030	-	n <sub>2</sub> =1,009	-	0,99	0,013
		80	K <sub>4</sub> =0,038	-	n <sub>2</sub> =0,999	-	0,99	0,010
Henderson		60	K <sub>5</sub> =0,109	K <sub>6</sub> =0,023	A <sub>2</sub> =0,060	A <sub>3</sub> =0,951	0,99	<0,001
		70	K <sub>5</sub> =0,071	K <sub>6</sub> =0,031	A <sub>2</sub> =-0,087	A <sub>3</sub> =1,067	0,99	<0,001
		80	K <sub>5</sub> =0,246	K <sub>6</sub> =0,037	A <sub>2</sub> =0,019	A <sub>3</sub> =0,988	0,99	<0,001
Lewis		60	K <sub>1</sub> =0,015	-	-	-	0,99	0,017
		70	K <sub>1</sub> =0,018	-	-	-	0,99	0,018
		80	K <sub>1</sub> =0,023	-	-	-	0,99	0,013
Henderson e Pabis		60	K <sub>2</sub> =0,014	-	A <sub>1</sub> =0,970	-	0,99	0,013
		70	K <sub>2</sub> =0,017	-	A <sub>1</sub> =0,971	-	0,99	0,014
		80	K <sub>2</sub> =0,022	-	A <sub>1</sub> =0,978	-	0,99	0,010
Page	3,5	60	K <sub>3</sub> =0,020	-	n <sub>1</sub> =0,927	-	0,99	0,014
		70	K <sub>3</sub> =0,022	-	n <sub>1</sub> =0,954	-	0,99	0,015
		80	K <sub>3</sub> =0,027	-	n <sub>1</sub> =0,956	-	0,99	0,011
Page modificado		60	K <sub>4</sub> =0,015	-	n <sub>2</sub> =0,927	-	0,99	0,014
		70	K <sub>4</sub> =0,018	-	n <sub>2</sub> =0,953	-	0,99	0,015
		80	K <sub>4</sub> =0,023	-	n <sub>2</sub> =0,955	-	0,99	0,010
		60	K <sub>5</sub> =0,013	K <sub>6</sub> =0,107	A <sub>2</sub> =0,925	A <sub>3</sub> =0,085	0,99	<0,001

Henderson	70	$K_5=0,475$	$K_6=0,017$	$A_2=0,040$	$A_3=0,959$	0,99	<0,001
	80	$K_5=0,210$	$K_6=0,021$	$A_2=0,043$	$A_3=0,957$	0,99	<0,001

Tabela 4: Valores experimentais de difusividade efetiva de umidade para pasta modificada de anchoita nas diferentes condições de secagem.

Temperatura (°C)	Espessura inicial (mm)	*Espessura final (mm)	**Def ( $m^2/s \times 10^{-10}$ )
60	1,5	0,37±0,07	0,745±0,007
	2,5	0,68±0,05	0,747±0,002
	3,5	0,86±0,09	0,728±0,006
70	1,5	0,43±0,04	1,092±0,006
	2,5	0,71±0,08	1,04±0,009
	3,5	0,93±0,05	1,037±0,009
80	1,5	0,52±0,03	1,820±0,018
	2,5	0,86±0,07	1,894±0,013
	3,5	1,11±0,06	1,829±0,013

\* média±desvio padrão (n=10); \*\* Def: difusividade efetiva média±erro padrão (n=3)

Verifica-se na Tabela 4 que os valores de difusividade efetiva de umidade ( $D_{ef}$ ) variaram aproximadamente entre  $0,74 \times 10^{-10}$  e  $1,89 \times 10^{-10}$   $m^2/s$ , aumentando com o aumento da temperatura e sendo semelhantes com aumento da espessura (à uma mesma temperatura), o que era esperado fisicamente, já que a difusividade efetiva é principalmente função da temperatura, composição e estrutura física do material (RIZVI, 1986; KHRAISHEH et al., 1997; VEGA-GÁLVEZ et al., 2011). Os valores de  $D_{ef}$  para pasta modificada encontraram-se dentro da faixa esperada para farinha de pescado,  $1,95 \times 10^{-11}$ - $1,89 \times 10^{-10}$   $m^2/s$  (PANAGIOTOU et al., 2004).

A partir dos valores da difusividade efetiva de umidade média, para cada temperatura (Tabela 4), calculou-se a energia de ativação ( $E_a$ ) pela relação linear da equação de Arrhenius (Equação 10). A Figura 4 apresenta a relação linear entre a difusividade efetiva e a temperatura. A partir da declividade da reta foi encontrada a  $E_a$ , sendo esta de 44,56 kJ/mol. Valor este, superior ao do filé de anchoita e de diferentes espécies de pescado, reportados na literatura, que é de aproximadamente 20-30 kJ/mol (PARK, 1998; KONISHI et al., 2001; PINTO & TOBINAGA, 2006; VEGA-GÁLVEZ et al., 2009 e 2011), fato este que pode ser explicado pela mudança na estrutura da proteína devido a hidrólise enzimática.

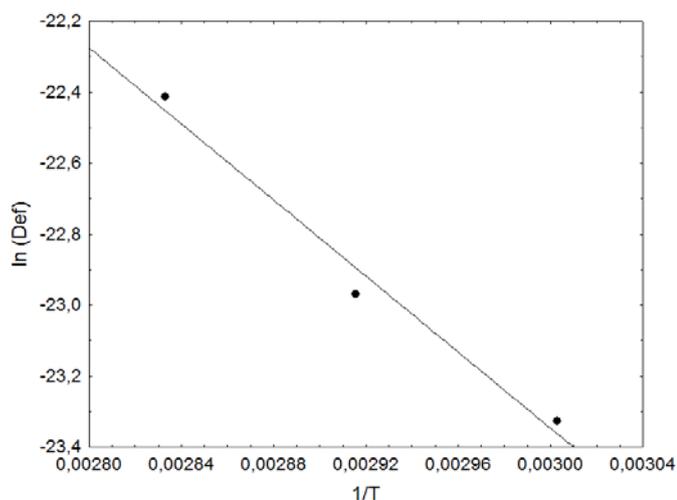


Figura 4: Representação linear de Arrhenius da difusividade efetiva da pasta de anchoita modificada enzimaticamente.

### 3.3 Análise estatística da secagem

A redução da lisina disponível (RLD), assim como a perda da atividade antioxidante específica (AAE) na pasta modificada desidratada, foram calculadas em relação aos valores iniciais apresentados pela pasta modificada úmida.

A Tabela 5 apresenta os resultados médios da matriz do planejamento experimental da pasta modificada desidratada para as respostas consideradas, índice de TBA, redução da lisina disponível (RLD), e perda da atividade antioxidante específica (AAE).

Índices de TBA são comumente usados para medir rancidez oxidativa, no entanto, eles não necessariamente mostram o nível da qualidade de frescor do produto. A decomposição peroxidativa de lipídios, em alimentos que contenham ácidos graxos poliinsaturados, tem efeitos prejudiciais sobre propriedades nutricionais, toxicológicas e funcionais dos alimentos. Entre os produtos de peroxidação lipídica que foram mais extensivamente estudado está o malonaldeído (MDA). Este aldeído pode servir como um índice da decomposição peroxidativa destes lipídios que prontamente reage com grupos funcionais presentes na proteínas, ácidos nucléicos e fosfolipídios, especialmente amino grupos.

Tabela 5: Resultados da matriz do planejamento experimental fatorial para os experimentos de secagem da pasta de anchoita modificada enzimaticamente.

n <sup>o</sup>	X <sub>1</sub> Temperatura	X <sub>2</sub> Espessura	Índice TBA mg <sub>MDA</sub> /kg <sub>amostra, bs</sub>	RLD (%)	Perda AAE (%)
1	-1	-1	1,36±0,03	12,35±0,58	37,48±0,86
2	-1	0	0,93±0,01	15,96±0,46	20,16±0,31
3	-1	1	1,17±0,01	21,94±0,29	28,67±1,72
4	0	-1	1,70±0,01	16,36±0,52	40,93±0,77
5	0	0	1,00±0,01	28,22±0,40	25,56±2,31
6	0	1	1,57±0,01	33,74±0,81	36,24±1,11
7	1	-1	2,29±0,01	30,25±0,81	57,07±1,39
8	1	0	1,62±0,01	35,25±0,69	36,95±1,01
9	1	1	1,92±0,02	47,57±0,69	45,83±1,19

Média ± erro padrão (experimentos em duplicata e análises em tréplica); RLD: redução da lisina disponível; AAE: atividade antioxidante específica; ΔE: variação da sensação da cor MDA- malonaldeído; bs – base seca.

Não há uma quantidade de TBA estabelecida, definindo a ocorrência de oxidação lipídica e/ou indicando que a partir dela o pescado não possa ser consumido. Entretanto Connell (1995) observou que índices de TBA  $\cong 2$  mg<sub>MDA</sub>/kg é normalmente recomendado como um limite além do qual o pescado normalmente desenvolve sabor e odor desagradável (ranço). O valor de TBA da pasta modificada úmida (Tabela1) foi de 0,72±0,02 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra bs</sub>, sendo inferior a 2 mg<sub>MDA</sub>/kg. Czerner et al. (2011) estudando a maturação em salga de anchoitas da mesma espécie do presente estudo (*Engraulis anchoita*), provenientes da costa Argentina, observaram valores de TBA, nos filés frescos (tempo zero de maturação) de aproximadamente 0,5 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>músculo</sub>.

Avaliando a qualidade na produção de marinados de anchoita provenientes do Mediterrâneo, Duyar & Eke (2009) relataram valores para filé fresco de aproximadamente 2,1 mg<sub>MDA</sub>/kg de amostra. Vale salientar que esta espécie, proveniente do Mediterrâneo, apresentou valores muito superiores de lipídios se comparada à espécie proveniente da América do Sul (*Engraulis anchoita*). Pereira & Tenuta-Filho (2005) avaliando as condições de consumo de sardinhas frescas, observaram valores que variavam de 0,17 a 0,66 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra</sub>. Goulas & Kontominas (2005) estudando a salga e defumação da espécie “cavala” (*Scomber japonicus*), relataram índices de TBA no filé fresco (sem salga e sem defumação) de 0,23 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra</sub>.

Além da desnaturação protéica com o tratamento térmico, também podem ocorrer outras alterações como destruição de aminoácidos, racemização, proteínas e aminoácidos podem interagir com outros componentes presentes no alimento (FINOT, 1983; GUILLÉN-SANS & GUZMÁN-CHOZAS, 1998). A peroxidação de lipídios poliinsaturados nos alimentos, durante processamento e/ou armazenamento, leva também a perdas de lisina disponível, conforme determinado por métodos químicos (*in vitro*) e *in vivo* por Nielsen et al. (1985<sup>a,b,c</sup>). Em experimentos nos quais a presença de formas livres e ligadas de MDA foi investigada em hidrolisados enzimáticos de alimentos de origem animal, o aldeído foi encontrado principalmente na forma de *N*-ε-(2-propenal) lisina (PICHE et al., 1988).

A lisina disponível após digestibilidade *in vitro* da pasta modificada úmida (Tabela 1) foi de 0,085 mg<sub>lisina</sub>/mg<sub>ptna</sub>, após a secagem da pasta (Tabela 5), havendo redução no conteúdo da lisina disponível em todos os experimentos. Tem se observado que farinhas de peixe podem variar bastante em termos de valor nutricional, mas sempre sendo de elevada qualidade protéica, apresentando alta digestibilidade (>89%) e conteúdo de lisina disponível, que é considerado um padrão de qualidade para este tipo de produto, variando de 0,05-0,075 mg<sub>lisina</sub>/mg<sub>ptna</sub> (MORRISON & MCLAUGHLAN, 1961; OLLEY & WATSON, 1961). Amostras devidamente preparadas podem fornecer esta proteína de alta qualidade para uso na dieta humana ou animal.

Em materiais que contenham carboidratos a perda de lisina é maior devido à reação de maillard, no presente estudo espera-se que este tipo de perda seja pequena, pois a o carboidrato presente no músculo está na forma de glicogênio, e em pequenas quantidades provavelmente inferiores a 1%. Mas, podem ter ocorrido reações de racemização (transformando L-aminoácidos em D-aminoácidos), ligações cruzadas de aminoácidos tal como a lisinoalanina e ligação com outros componentes como o MDA formado na oxidação lipídica, estes parâmetros já vem sendo estudados em produtos cárneos por Hęs et al. (2007; 2009). Girón-Calle et al. (2002) demonstraram a perda de lisina disponível em alimentos na forma de *N*-2-propenal de lisina, devido à sua ligação com os produtos de decomposição peroxidativa de lipídios poliinsaturados (MDA).

Proteínas além de apresentarem propriedades funcionais tecnológicas e nutricionais, podem apresentar atividade biológica, como por exemplo, atividade antioxidante, que pode estar associada á peptídeos bioativos presentes em

determinadas sequências da proteína, liberados após hidrólise enzimática (COSTA, et al., 2007). Peptídios bioativos mostram maior potencial antioxidante que a proteína intacta podendo inibir a oxidação lipídica (ELIAS et al., 2008). A metodologia com o radical DPPH baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH, que ocorre devido à redução desse radical, pela ação do antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Desta forma avaliando apenas o poder redutor do antioxidante. A atividade antioxidante específica (AAE) da pasta modificada úmida, medida através da redução do radical DPPH, foi de  $2,95 \pm 0,05 \mu\text{M}_{\text{DPPHseq}}/\text{g}_{\text{ptna}} \cdot \text{min}$ . Klompong et al. (2007) observaram uma maior atividade antioxidante ( $\cong 95\%$ ), medida através da redução DPPH, em hidrolisados protéicos com menor grau de hidrólise (5%), utilizando Alcalase. Nesta condição, com os dados mencionados pelos autores, concluiu-se que foram removidos  $0,04 \mu\text{M}_{\text{DPPHseq}}/\text{g}_{\text{ptna}} \cdot \text{min}$ , resultado inferior ao presente estudo. É difícil a comparação de resultados para a redução do radical DPPH, pois cada autor utiliza concentrações diferentes de proteína em solução, além disso, alguns aminoácidos, responsáveis pela atividade antioxidante, podem estar presentes na proteína solúvel em menor concentração do que em uma dispersão protéica, como por exemplo aminoácidos apolares.

### 3.3.1 Otimização estatística

A análise de pareto (Figura 5) foi utilizada para verificar a significância ( $p < 0,05$ ) dos efeitos principais da temperatura e da espessura, e suas interações no índice de TBA, redução da lisina disponível (RLD), e perda da atividade antioxidante específica (AAE).

Pode ser observado que para o índice de TBA (Figura 5(a)) e perda da AAE (Figura 5(c)), os efeitos lineares e quadráticos, tanto da temperatura quanto da espessura, foram significativos ( $p < 0,05$ ), sendo os efeitos linear da temperatura e o quadrático da espessura os mais pronunciados. Para a RLD (Figura 5(b)), os efeitos lineares e quadráticos da temperatura e espessura foram significativos ( $p < 0,05$ ), sendo a temperatura a que exerceu a maior influência.

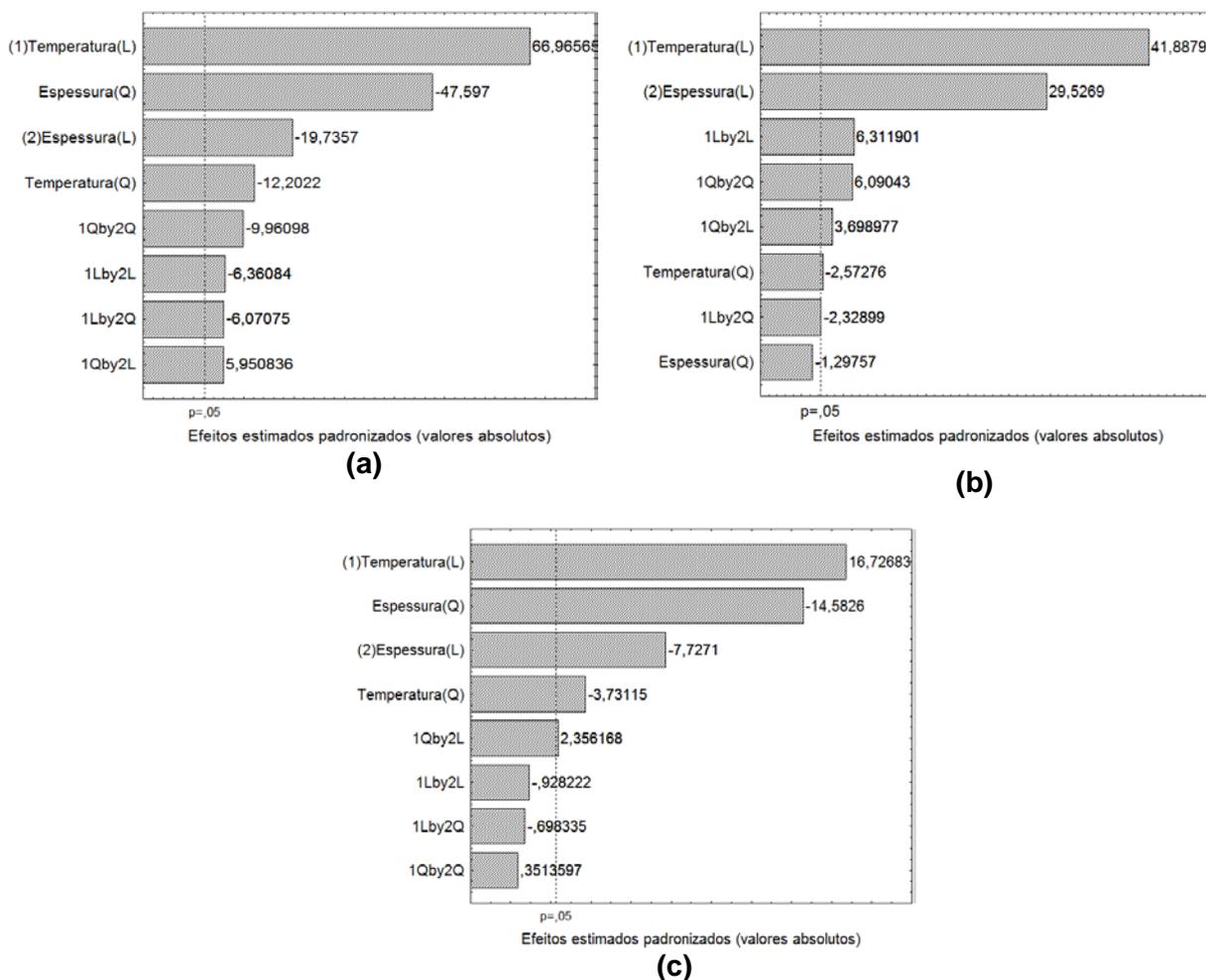


Figura 5: Gráfico de Pareto da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para os efeitos estimados padronizados das respostas: (a) TBA; (b) RLD; (c) Perda AAE.

Os resultados obtidos para as respostas avaliadas (Tabela 5), foram ajustados por uma análise de regressão múltivariada para modelos quadráticos (Equação 13), considerando apenas os efeitos significativos, conforme apresentado nas Equações 15, 16, 17 e 18, as quais representam as respostas para índice de TBA, RLD, e perda da AAE, respectivamente.

$$Y_{TBA} = 1,00 + 0,344X_1 + 0,288X_1^2 - 0,066X_2 + 0,630X_2^2 - 0,046X_1X_2 + 0,076X_1X_2^2 - 0,074X_1^2X_2 - 0,2158X_1^2X_2^2 \quad (15)$$

$$Y_{RLD} = 26,11 + 9,647X_1 + -0,503X_1^2 + 8,688X_2 + 1,932X_1X_2 + 1,235X_1X_2^2 - 1,961X_1^2X_2 + 2,426X_1^2X_2^2 \quad (16)$$

$$Y_{\text{perdaAAE}} = 25,262 + 8,924X_1 + 3,448X_1^2 - 2,344X_2 + 13,244X_2^2 - 2,666X_1^2X_2 \quad (17)$$

sendo:  $Y_i$  a resposta (em valor real),  $X_1$  e  $X_2$  as variáveis temperatura e espessura (codificadas), respectivamente.

A validade dos modelos propostos foi verificada através de análise de variância (Tabela 6). Constatou-se que somente as regressões para valores de TBA, RLD e perda AAE foram estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ), apresentando coeficientes de determinação ( $R^2$ ) de 0,99, 0,98 e 0,97, respectivamente. Através do teste “F” de Fisher, verifica-se que os modelos construídos, para as respostas TBA, RLD e Perda AAE, apresentaram, a 95% de confiança,  $F_c$  superior ao  $F_t$ . Um modelo teórico pode ser considerado preditivo quando apresenta um valor  $F_{\text{calculado}}$  superior a pelo menos 3-5 vezes o valor de  $F_{\text{tabelado}}$  (KHURY & CORNELL, 1996). Estes valores definem um ajuste satisfatório do modelo aos dados experimentais, sendo 99% dos dados para valores de TBA podem ser explicados pelo modelo, assim como 98% da RLD e 97% da perda da atividade antioxidante específica.

Tabela 6: Análise de variância (ANOVA) para os modelos estatísticos da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para as respostas TBA, RLD, perda AAE e  $\Delta E$ .

Fontes de Variação	SQ	GL	MQ	$F_c$	$F_t^*$	$F_c/F_t$	$R^2$
<b>TBA <math>\text{mg}_{\text{MDA}}/\text{kg}_{\text{bs}}</math></b>							
Regressão	3,04	4	0,76	107,20	3,18	33,71	0,99
Resíduo	0,09	13	<0,01				
<b>Total</b>	<b>3,13</b>	<b>17</b>					
<b>RLD (%)</b>							
Regressão	1952,7	5	390,54	131,00	3,10	42,26	0,98
Resíduo	35,78	12	2,98				
<b>Total</b>	<b>1988,46</b>	<b>17</b>					
<b>Perda AAE (%)</b>							
Regressão	2046,34	7	292,33	364,92	3,13	116,59	0,97
Resíduo	8,01	10	0,80				
<b>Total</b>	<b>2054,35</b>	<b>17</b>					

SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática;  $F_c$ : F calculado;  $F_t$ : F tabelado; \* Teste de Fisher F a 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ ); bs: base seca; TBA: índice de ácido tiobarbitúrico; RLD: redução da lisina disponível; AAE: perda da atividade antioxidante específica.

As Figuras 6, 7 e 8 ilustram as superfícies de resposta, previstas pelos modelos estatísticos teóricos (Equações 15, 16 e 17), para o índice de TBA, redução da lisina disponível (RLD) e perda da atividade antioxidante (AAE), respectivamente.

Observando a Figura 6, a secagem ocasionou um aumento nos valores de TBA em todos os experimentos realizados, quando comparado com a pasta modificada úmida. Os menores índices de TBA, segundo a superfície de resposta, foram observados na temperatura próxima a 62,5 °C e espessura de 2,5mm. A maioria dos experimentos resultou em quantidades inferiores a 2 mg<sub>MDA</sub>/kg, apresentando qualidade oxidativa segundo o recomendado por Connell (1995), com exceção da secagem realizada na menor espessura (1,5 mm) e maior temperatura (80 °C), cujo valor foi de aproximadamente 2,3 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra, bs</sub>. O aumento da temperatura ocasionou elevação no índice de TBA. A menor espessura pode ter ocasionado maior exposição do lípido ao ar de secagem e maior espessura levou maior tempo para atingir a umidade comercial, por isso maiores valores de TBA.

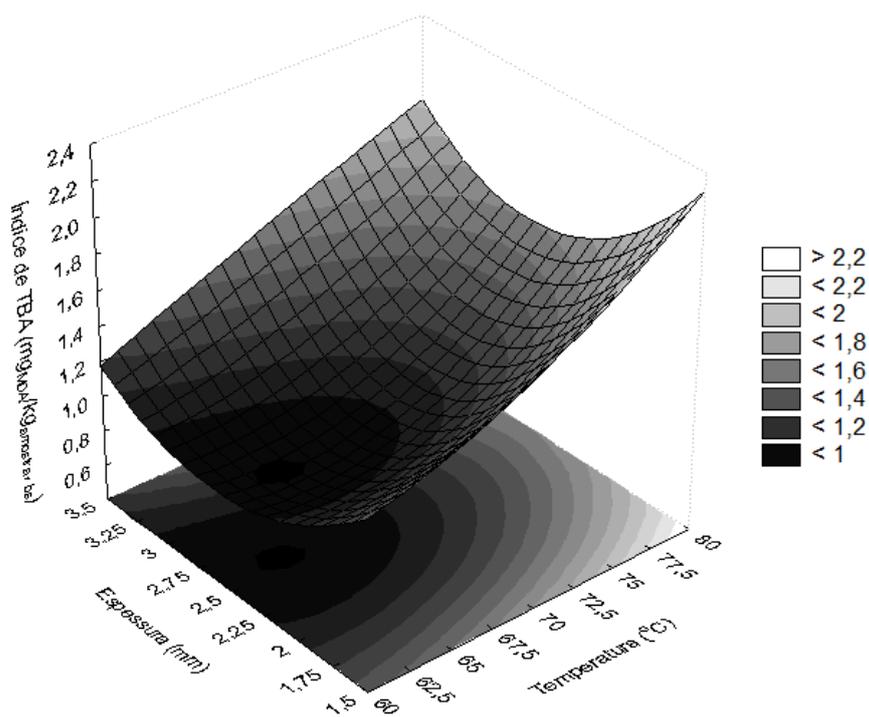


Figura 6: Superfície de resposta da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para índice de TBA.

Avaliando a influência do cozimento na qualidade de anchotas do mediterrâneo (*Engraulis encrasicolus*), Turban et al. (2011) observaram um índice de TBA, para a amostra *in natura*, de aproximadamente 0,25 mg<sub>MDA</sub>/kg, entretanto com o

processamento, os valores chegaram a 2,46, 2,96, e 3,36 mg<sub>MDA</sub>/kg para os filés frito, assado e grelhado, respectivamente.

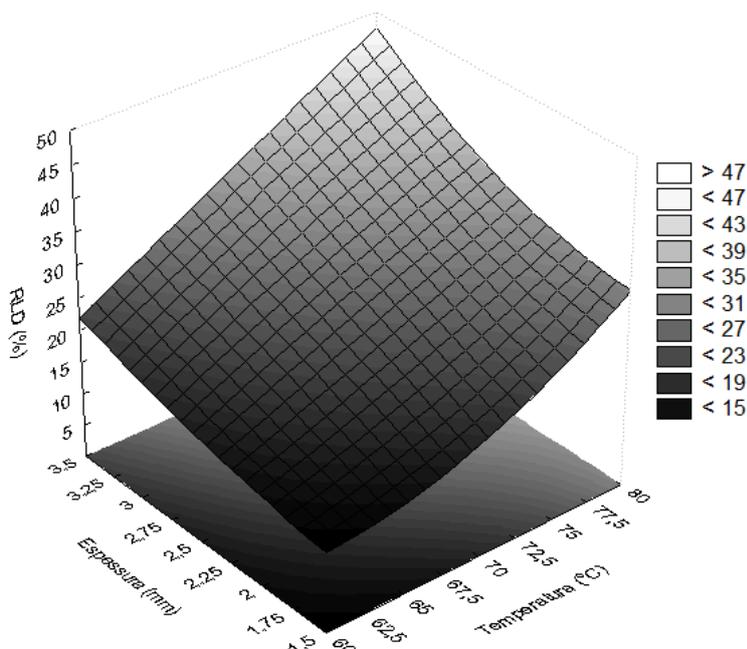


Figura 7: Superfície de resposta da secagem de pasta de anchoita modificada enzimaticamente para redução da lisina disponível.

Observando a Figura 7, os aumentos da temperatura e da espessura da amostra na secagem provocaram maiores reduções no conteúdo de lisina disponível chegando a mais de 46%. A lisina disponível da pasta modificada foi melhor preservada pela secagem em baixas temperaturas (60°C) e menor espessura (1,5mm), sendo a redução inferior a 14%, o que representa um conteúdo de 0,073mg<sub>lisina</sub>/mg<sub>ptna</sub>. O efeito da temperatura foi mais pronunciado que o efeito da espessura, que também pode ser observado na Figura 1b.

Morrison & Sabry (1963) relataram que amostras de farinha de pescado que sofreram tratamento térmico severo reduziram significativamente o conteúdo de lisina disponível e outros aminoácidos, em alguns casos estando indisponível. Friedman (1996) relatou perdas de lisina disponível em diferentes tratamentos térmicos da caseína: 37 °C por 10 dias diminuição chegou a 23%; 121 °C por 1 h ocasionou uma perda de 21,5%; e a 200° C por 2 h o decréscimo chegou a 72%, mostrando que tratamento térmico tem uma forte influência sobre a redução da lisina disponível em materiais protéicos. Abdul-Hamid et al. (2002) estudando a secagem de hidrolisados

de tilápia em spray dryer, observou uma redução de aproximadamente 40% no conteúdo total de lisina com a aumento na temperatura de saída do spray dryer de 76 °C para 90 °C.

Observando a Figura 8, verifica-se a diminuição da capacidade da proteína solúvel de reduzir o radical DPPH com o processo de secagem (perda da atividade antioxidante específica). A menor perda na atividade antioxidante específica ocorreu na menor temperatura (60 °C) e espessura intermediária (2,5mm). As maiores perdas ocorreram na maior temperatura e espessura de 1,5 e 3,5mm. Com a menor espessura provavelmente pode ocorrer maior exposição dos peptídeos bioativos e maior espessura leva um tempo maior de secagem até atingir umidade inferior a 10%.

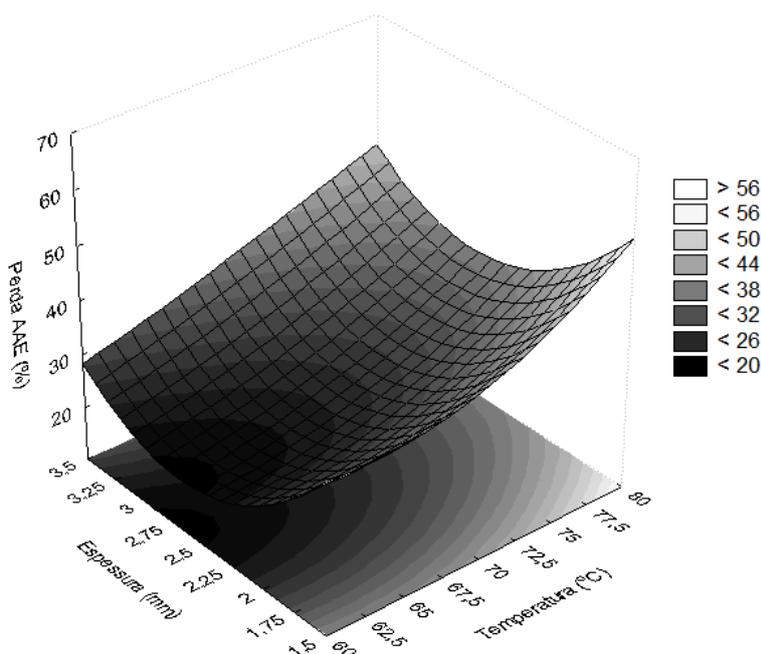


Figura 8: Superfície de resposta da secagem de pasta de anchóia modificada enzimaticamente para perda da atividade antioxidante.

Estudando a secagem de lula gigante em camada delgada em diferentes temperaturas e avaliando a qualidade do produto desidratado, Vega-Gálvez, et al. (2011) observaram menor perda da atividade antioxidante, medida através da redução do radical DPPH em relação ao valor inicial, na temperatura de 60 °C. Nesta condição foram necessárias 1,77 mg<sub>proteína</sub> para reduzir 50% do radical DPPH e no presente estudo seriam necessárias 2,16 mg<sub>proteína solúvel</sub>, resultado este inferior ao encontrado pelos referidos autores. Entretanto, neste estudo foi avaliada somente a fração de

proteína solúvel e não um extrato proteico, podendo limitar a ação de alguns aminoácidos apolares.

Também encontrou-se uma correlação entre menores perdas de atividade antioxidante (potencial redutor) (Figura 8) e menores os índices de TBA (Figura 6), o que demonstra que a proteína de anchoita modificada enzimaticamente tem um possível potencial de inibição da peroxidação lipídica. Entretanto outras análises são necessárias para elucidar melhor esta afirmação. A habilidade das proteínas de simplesmente remover radicais livres não é prova conclusiva que elas são antioxidantes. Para um redutor de radicais livres ser um antioxidante eficaz em alimentos, deve ser mais oxidativamente lábil do que ácidos graxos insaturados e o radical protéico resultante não deve poderoso o suficiente para promover a oxidação lipídica (ELIAS et al., 2008).

A melhor condição de secagem da pasta de anchoita modificada enzimaticamente, para as resposta consideradas na análise realizada, foi obtida na temperatura do ar de 60 °C e espessura da amostra de 2,5mm. A cor para a pasta modificada úmida (Tabela 1), representada pelas coordenadas  $L^*_0$ ,  $b^*_0$  e  $a^*_0$ , foi de  $50,32 \pm 2,3$ ,  $10,86 \pm 0,50$ , e  $2,16 \pm 0,30$ , respectivamente. Na melhor condição de secagem, a pasta modificada desidratada apresentou  $L^*$  de  $60,38 \pm 0,15$ ,  $b^*$  de  $25,72 \pm 0,07$  e  $a^*$  de  $2,86 \pm 0,15$ , indicando aumento da luminosidade ( $L^*$ ), aumento da tonalidade amarela e vermelha, apresentando uma variação na sensação da cor de 18,54.

#### 4 Conclusão

Nesta pesquisa foi otimizada a secagem convectiva em camada delgada, com escoamento paralelo de ar, de uma pasta modificada obtida de filés de anchoita (*Engraulis anchoita*) hidrolisados por Neutrase.

Através da cinética de secagem da pasta de anchoita modificada, foi observado que todos os modelos avaliados apresentaram um bom ajuste aos dados experimentais com um coeficiente de determinação acima de 0,99 e REQM inferior a 0,02. O modelo de Henderson e Pabis foi escolhido para a estimativa da difusividade efetiva de umidade (Def). Os valores de Def foram de  $0,74 \times 10^{-10}$ ,  $1,06 \times 10^{-10}$  e  $1,84 \times 10^{-10}$  m<sup>2</sup>/s para as temperaturas de 60, 70 e 80 °C, respectivamente. A dependência do Def

com a temperatura foi descrita pela equação de Arrhenius, sendo o valor de energia de ativação de 44,5 kJ/mol.

A análise estatística da secagem mostrou efeitos significativos da temperatura do ar e espessura da amostra nas respostas índice de TBA, redução da lisina disponível e perda da atividade antioxidante, medida através da redução do radical DPPH. A melhor condição de secagem, avaliada através da superfície de resposta, foi obtida na temperatura do ar de 60 °C e espessura da amostra de 2,5 mm. Nesta condição o índice de TBA foi de 0,93 mg<sub>MDA</sub>/kg<sub>amostra, bs</sub>, redução da lisina disponível de aproximadamente 16% e perda da atividade antioxidante específica de 20,2%. Com respeito à cor, na melhor condição, houve um aumento da luminosidade (L\*) e das tonalidades amarela (b\*) e vermelha (a\*), sendo a variação da sensação da cor ( $\Delta E$ ) de 18,5.

## 5 Referências

- Adler-Nissen, J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein by trinitrobenzenesulfonic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.27, n.6, p. 1256-1262, 1979.
- A.O.A.C Official Methods of Analysis of A.O.A.C International, 17<sup>th</sup> Edition, Maryland EUA, 2000.
- Barrozo, M.A.S.; Sartori, D.J.M.; Freire, J.T. A study of the statistical discrimination of drying kinetics equations. **Food and Bioproducts Processing**, v. 82, p. 219-225, 2004.
- Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p. 911-917, 1959.
- Brand-williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- Brunauer, S., Deming, L.S., Deming, W.E., Troller, E. On the theory of Van der Waals adsorption of gases. **Journal American Chemical Society**, v. 62, p. 1723-1732, 1940.
- Connell, J.J. **Control of fish quality**. 4<sup>th</sup> Ed. 256pp. p. 159-160, Fishing News Books Ltd, Farnham, Surrey UK, 1995.

- Costa, E.L.; Contijo, J.A.R.; Netto, F.M.; Effect of heat and enzymatic treatment on antihypertensive activity of whey protein hydrolysates. **International Dairy Journal**, v.17, p. 632-640, 2007.
- Crank, J. The mathematics of diffusion. P. 44-68. Oxford , England: Clarendon Press, 1975.
- Czerner, M., Tomás, M. C., Yeannes, M.I. Ripening of salted anchovy (*Engraulis anchoita*); development of lipid oxidation, colour and other sensorial characteristics. **Journal of Food Science and Food Agricultural**, v. 91, p. 609-615, 2011.
- Djendoubi, N., Boudrhioa, N., Binazzi, C., Kechaou, N. Drying of sardine muscles: Experimental and mathematical investigations. **Food and Bioproducts Processing**, v.87, p. 115-123, 2009.
- Dinnella, C.; Gargaro, M.T.; Rossano, R. Monteleone, E. Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for the determination of transglutaminase activity on casein. **Food Chemistry**, v. 78, p. 363-368, 2002.
- Duyar, H. A.; Eke, E. Production and Quality determination of marinade from different fish species. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8, p. 270-275, 2009.
- Elias, R.J.; Kellerby, S.S.; Decker, E.A. Antioxidant activity of proteins and peptides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.48, p. 430-441, 2008.
- Fasina O.O. Thermodynamics properties of sweetpotato. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 149-155, 2006.
- Feddern ,V.; Furlong, E.B.; Soares, L.A.S. Efeito da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais do farelo de arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.800-804, 2007.
- Finot, P.A. Influencing of processing on the nutritional value of proteins. **Plant foods for human nutrition**, v. 32, p. 439-453, 1983.
- Foh, M.B.K.; Amadou, I.; Foh, B. M.; Kamara, M.T.; Xia, W.; Functionality and Antioxidant Properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as Influenced the Degree of Hydrolysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p. 1851-1869, 2010.
- Friedman, M. Nutritional value of proteins from different food sources: a review. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 44, p. 6-29, 1996.

- Girón-Calle, J.; Alaiz, M.; Millán, F.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Vioque, E. Bound malonaldehyde in foods: Bioavailability of the N-2-propenals of lysine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**; v. 50, p. 6194-6198, 2002.
- Goulas, A.E.; Kontominas, M.G. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. **Food Chemistry**, v. 93, p. 511-520, 2005.
- Guillén-Sans, R.; Guzmán-Chozas, M. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, p. 315-350, 1998.
- Hacihafizoğlu, O.; Cihan, A.; Kahveci, K. Mathematical modeling of drying of thin layer rice. **Food and Bioproducts Processing**, v. 86, p. 268-275, 2008.
- Heś, M.; Korczak, J.; Granza, A. Changes of lipid oxidation degrees and their influence on protein nutritive value of frozen meat products. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. V. 57, p. 323-328, 2007.
- Heś, M.; Korczak, J.; Pyrcz, J.; kowalski, R. Influence of lipid stabilization on the retention of available lysine and methionine in stored raw polish sausage. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. V. 65, p. 19-25, 2009.
- Kaya, A.; Aydin, O.; Kolayli, S. Effect of different drying conditions on the vitamin C (ascorbic acid) content of Hayward kiwifruits (*Actinidia deliciosa* Planch). **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 165-173, 2010.
- Keranoudis, C.T.; Maroulis, Z.B.; Tsami, E.C.; Marinos-Kouris, D. **Drying Technology**, v. 15, p. 1399-1418, 1997.
- Klompong, V.; Benjakul, S.; Kantachote, D.; Shaidi, F. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow strip trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by degree of hydrolysis and enzyme type. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1317-1327, 2007.
- Khraisheh, M.A.M.; Cooper, T.J.R.; Magee, T.R.A. Transport mechanisms of moisture during air drying process. *Food and Bioproducts Processing* v.75, p.34-40, 1997.
- Khury, A.I.; Cornell, J.A. **Response Surfaces**. 2<sup>nd</sup> Edition. New York, 1996.
- Konishi, Y.; Horiuchi, J.; Kobayashi, M. Dynamic evaluation of the dehydration response curves of food characterized by a poultice-up process using a fish paste sausage. II A new tank model for a computer simulation. **Drying Technology**, v. 19, p. 1271-1285, 2001.

- Krokida, M.K.; Founddoukidis, E.; Maroulis, Z. Drying constant: literature data compilation for foodstuffs. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p. 321-330, 2004.
- Madamba, P.S.; Dricoll, R.H.; Buckle, K.A.; Thin layer drying characteristics of garlic slices. **Journal of Food Engineering**, v.29, p. 75-97, 1996.
- Moraes, K. Desenvolvimento de um processo de obtenção de proteína de anchoita (*Engraulis anchoita*) modificada enzimaticamente. 2007. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2007.
- Morrison, A.B.; McLaughlan, J.M. Variability in nutritional value of fish flour. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 39, p. 511-517, 1961.
- Morrison, A.B.; Sabry, Z.I. Factors influencing the nutritional value of fish flour: II. Availability of lysine and sulphur amino acids. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 41, p. 649-655, 1963.
- Myers, R. H.; Montgomery, D. C. **Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments** (2nd ed.). New York: John Wiley & Sons, 2002.
- Nielsen, H.K.; De Weck, D.; Finot, P.A.; Liardon, R.; Hurrell, R.F. Stability of tryptophan during food processing and storage. 1. Comparative losses of tryptophan, lysine and methionine in different model systems. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 281-292, 1985<sup>a</sup>
- Nielsen, H.K.; Löliger, J.; Hurrell, R.F. Reactions of proteins with oxidizing lipids. 1. Analytical measurements of lipid oxidation and of amino acid losses in a whey protein-methyl linolenate model system. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 61-73, 1985<sup>b</sup>
- Nielsen, H.K.; Finot, P.A.; Hurrell, R.F. Reactions of proteins with oxidizing lipids. 2. Influence on protein quality and on the bioavailability of lysine, methionine, cyst(e)ine and tryptophan as measured in rat assays. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 75-86, 1985<sup>c</sup>
- Nielsen, P. M., Petersen, D., Dambmann, C. Improved method for determining food protein degree hydrolysis. **Journal of Food Science**, v.66, n.5, p. 642-646, 2001.
- Oliveira, E.G.; Rosa, G.S.; Moraes, M.A.; Pinto, L.A.A. Characterization of thin layer drying of *Spirulina platensis* utilizing perpendicular air flow. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 1297-1303, 2009.

- Oliveira, E.G.; Duarte, J. H.; Moraes; K., Crexi, V.T.; Pinto, L.A.A. Optimization of *Spirulina platensis* convective drying: evaluation of phycocyanin loss and lipid oxidation. **International Journal of Food Science & Technology**, v.45, p. 1572-1578, 2010.
- Olley, J.; Watson, H. The “available lysine” content of fish meals. **Journal of the Science and Agriculture**. V. 12, p. 316-326, 1961.
- Panagiotou, N.M.; Krokida, M.K.; Maroulis, Z.B.; Saravacos, G.D. Moisture diffusivity: literature data compilation for foodstuffs. **International Journal of Food Properties**, v. 7, p. 273-299, 2004.
- Park, K.J. Diffusional model with and without shrinkage during salted fish muscle drying. **Drying Technology**, v. 16, p. 889-905, 1998.
- Pastous-Madureira, L.S., Castello, J.P., Prentice-Hernández, C., Queiroz, M.I., Espírito Santo, M.L., Ruiz, W.A., Raggi Abdallah, P., Hansen, J., Bertolotti, M.I., Manca, E., Yeannes, M.I., Avdalov, N. and Fernández Amorín, S. Current and potential alternative food uses of the Argentine anchoita (*Engraulis anchoita*) in Argentina, Uruguay and Brazil. In M.R. Hasan and M. Halwart (eds). Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**. Rome, FAO, n. 518, pp. 269–287, 2009.
- Pereira, A.A.F.; Tenuta-Filho, A. Avaliação de condições de consumo da sardinha (*Sardinella brasilienses*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 720-725, 2005.
- Perry, R.H. *Chemical engineers' handbook* (6<sup>th</sup> ed). New York: McGraw-Hill, cap. 3 p. 43-80, 1984.
- Piche. L.A.; Cole, P.D.; Hadley, M.; Van den Berg, R.; Draper, H.H. Identification N-ε-(2-propenal)lysine as the main of malondialdehyde in food digesta. **Carcinogenesis**, v.9, p. 473-477, 1988.
- Pinto, L.A.A; Tobinaga, S. Diffusive model with shrinkage in the thin layer drying of fish muscles. **Drying Technology**. v. 24, n. 509-516, 2006.
- Rizvi, S.S.H. **Thermodynamics of foods in dehydration**. In: Engineering properties of food (Rao, M.A.; Rizvi, S.S.H.; Eds), p. 133-1-214. New York, USA, Marcel Decker, 1986.
- Sablani, S.S.; Rahman, M.S. Special issue: Quality of dried foods na biomaterials. **Drying Technology**, v. 23, p. 693, 2005.

- Timmermman, E.O.; Chirife, J.; Iglesias, H.A. Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? **Journal of Food Engineering**, v.48, p. 19-31, 2001.
- Vega-Gálvez, A.; Andrés, A.; Gonzales, E.; Notte-Cuello, E.; Chacana, M.; Lemus-Mondaca, R. Mathematical modelling on the drying process of yellow squat lobster (*Cervimunida jhoni*) fishery waste for animal feed. **Animal Feed Science and Technology**. V. 151, p. 268-279, 2009.
- Vega-Gálvez, A.; Miranda, M.; Clavería, R.; Quispe, I.; Vergara, J.; Uribe, E.; Paez, H.; Di Scala, K. Effect of air temperature on drying kinetics and quality characteristics of osmo-treated jumbo squid (*Dosidicus gigas*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 16-23, 2011.
- Vyncke, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v.72, p.1084-1087, 1970.
- Wang, Y.; Zhang, M.; Mujumdar, A.S. Trends in processing technologies for dried aquatic products. **Drying technology**, v. 29, p. 382-394, 2011.

#### **ARTIGO 4: Secagem em leito de jorro de pasta de anchoita modificada enzimaticamente: avaliação da qualidade protéica**

##### **Resumo**

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das condições de operação de secagem em leito de jorro de uma suspensão protéica modificada enzimaticamente sobre qualidade da proteína desidratada. Foi aplicado um planejamento misto 2x2x3, sendo estudados o efeito da temperatura do ar de entrada (90 e 110 °C), concentração da suspensão (6,5% e 7,5%) e vazão de alimentação da suspensão (100, 200 e 300 mL/h). As respostas foram lisina disponível após digestibilidade *in vitro* e atividade antioxidante específica. A qualidade da proteína foi verificada através da quantificação de aminoácidos, sendo determinados o escore químico de aminoácidos (EQ), o coeficiente de eficiência protéica estimado (PER<sub>est</sub>) e a Relação de Fischer. Através da análise estatística verificou-se que a menor redução na lisina disponível (9%) e perda da atividade antioxidante específica (8%) ocorreram a 90°C, concentração de 6,5% e vazão de 200 mL/h. Nestas condições, o produto desidratado caracterizou-se como uma fonte protéica de elevado valor biológico, levando em conta o perfil de seus aminoácidos essenciais, pois foi capaz de atender às recomendações nutricionais recomendadas pela FAO/WHO, apresentado EQ superior a 1,0, PER<sub>est</sub> em média de 2,7, e uma Relação de *Fischer* de 3,3. A secagem em leito de jorro da suspensão protéica modificada enzimaticamente (SPME) mostrou-se adequada para a desidratação deste tipo de matéria prima, visando à obtenção de um produto estável, sem comprometimento da sua qualidade protéica.

**Palavras chave:** hidrolisados protéicos, perfil de aminoácidos, atividade antioxidante.

## Spouted bed drying of anchovy enzymatic modified paste: protein quality

### Abstract

This study aimed to evaluate the effect of operating conditions in spouted bed drying of an enzymatic modified protein suspension about dried protein quality. It was applied a mixed design (2x2x3), where studied the effect of inlet air temperature (90 and 110 °C), suspension concentration (6.5% and 7.5%) and suspension flow rate (100; 200 and 300 mL/h). The responses were available lysine and specific antioxidant activity. The protein quality was verified by amino acids profile and by quantification amino acid chemical score (EQ), estimate protein efficiency ratio (PER<sub>est</sub>) and the *Fischer* ratio. According to the statistic analysis, the lower reduction in available lysine (9%) and loss of specific antioxidant activity (8%) occurred at 90 °C, 6.5% and 200 mL/h. In these operation conditions, the dehydrated product was characterized as a high biological protein source value, taking into account the essential amino acids profile, it was able meet to recommended by FAO/WHO, presented EQ>1,0, PER<sub>est</sub> estimated of 2.7, and a Fischer ratio higher than 3.3. The drying an enzymatic modified protein suspension in spouted bed was suitable for the dehydration of this type of raw material, aiming to obtain a stable product, without damage their protein quality.

**Keywords:** protein hydrolysate, antioxidant activity, amino acids profile.

## 1 Introdução

A crescente tendência na formulação e produção de alimentos tem sido aumentar a utilização de ingredientes nutritivos. Pescado e produtos marinhos são fontes muito importantes de nutrientes como proteínas (15-27%, base úmida), apresentando todos os aminoácidos essenciais, com elevado teor metionina cisteína e de lisina, aminoácido “starter” do processo digestivo e necessário na dieta à base de arroz do brasileiro, e são uma boa fonte de lipídios com muitos ácidos graxos poliinsaturados (MORRISON & SABRY, 1963; WANG et al., 1996; CZERNER et al., 2011; USYDUS & SZILINDER-RICHERT, 2011). Além da sua importância nutricional, proteínas apresentam propriedades funcionais tecnológicas (solubilidade, capacidade de retenção de água e óleo, propriedades emulsificantes e de espuma), e na última década vêm sendo dada a importância para propriedades bioativas (propriedades antioxidantes (MORAES, 2007; KLOMPONG et al., 2007; ELIAS et al., 2008; FOH et al., 2010; VEGA-GÁLVEZ et al., 2011).

Vários produtos podem ser elaborados a partir de pescado, para suprir a necessidade de proteínas animais da crescente população mundial, o que exige a correta utilização de tecnologias de processamento e conservação. A adição de enzimas para hidrolisar proteínas de alimentos é um processo de considerável importância, pois podem melhorar a biodisponibilidade de nutrientes, propriedades funcionais, bioativas e propriedades sensoriais das proteínas nativas sem prejudicar o seu valor nutricional (SHAHIDI et al., 1995; KRISTINSSON & RASCO, 2000; SAMARANAYAKA & LI-CHAN, 2008; KLOMPONG et al., 2007; FOH et al., 2010). Tais propriedades dependem em grande parte do tamanho molecular dos peptídeos gerados (grau de hidrólise) e são influenciadas pela especificidade da enzima proteolítica utilizada, a natureza física e química da proteína intacta, e da condição de hidrólise (PANYAM & KILARA, 1996).

A anchoita (*Engraulis anchoita*) é uma espécie pelágica de elevada biomassa na costa brasileira, cujos estoques ainda permanecem inexplorados, mas com possibilidades de uma exploração sustentável. Portanto, no Brasil, a tendência é para o desenvolvimento de produtos alternativos à base de anchoita, os quais gerariam novos mercados e poderiam ser incluídos em programas sociais governamentais de combate à fome. Pesquisas para utilizar uma fórmula para responder às demandas específicas são necessárias, especialmente em relação ao processamento de produtos desidratados (PASTOUS-MADUREIRA et al., 2009).

A secagem de alimentos de origem marinha é uma prática importante, utilizada principalmente para de aumentar o tempo de conservação dos mesmos, levando um melhor aproveitamento da produção pesqueira. Hidrolisados protéicos de pescado são tradicionalmente manipulados na forma líquida e, frequentemente são secos por atomização (*spray dryer*) (ABDUL-HAMID, 2002; NILSANG et al. 2005; GUAN et al. 2007), congelamento (*freeze dryer*) (SHAHIDI et al., 1995; GONVIDARAJU & SRINIVAS, 2006; KLOMPONG et al., 2007) ou liofilização (SINHA et al. 2007), com intuito de converter esta forma líquida em forma de pó, que apresenta maior estabilidade e melhor aparência.

Avanços no desenvolvimento da secagem de pastas e suspensões devem assegurar as seguintes características: baixo custo operacional, alta capacidade de secagem, qualidade do pó, e condições estáveis de operação (BACELOS et al., 2005; MUJUMDAR & HUANG, 2007; SOUZA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2008; PEREIRA et al., 2010; DOTTO et al., 2011). Neste caso, muitos esforços têm sido concentrados no desenvolvimento de um sistema para secar qualquer tipo de material pastoso.

No que diz respeito ao ponto de vista econômico, leitos de jorro vêm se tornando uma técnica promissora para a secagem de qualquer pasta em uma produção de pequena escala, quando comparado a equipamentos convencionais (por exemplo, *spray dryer*), uma vez que partículas de inertes apropriadas sejam empregadas. Nestes secadores, algumas características contribuem para o desempenho da secagem, tais como uma boa mistura de sólidos aliada a um satisfatório contato fluído-partícula, o que promove altas taxas de transferência de calor e massa para o sistema. O produto geralmente é composto por um pó fino com diâmetro inferior a 100µm (OLIVEIRA & PASSOS, 1997; MEDEIROS et al., 2002; SPITZNER NETO et al., 2002; BACELOS et al., 2005; MUJUMDAR & HUANG, 2007; PEREIRA e al., 2010).

Em busca de alternativas viáveis tecnologicamente, para aproveitar o potencial de pesca da anchoita, podem ser utilizadas a hidrólise enzimática de proteínas de pescado e a técnica de secagem em leito de jorro. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes condições de secagem, em leito de jorro cônico, de pasta de hidrolizado de anchoita, na qualidade da proteína desidratada.

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Material**

A anchoita (*Engraulis anchoita*) foi capturada em cruzeiro pelo “Navio Oceanográfico Atlântico Sul”, utilizando rede de arrasto de meia água, na plataforma continental da região sul do Brasil (32° 34°S e 51° 53°W). A mesma foi armazenada a bordo em uma parte de gelo, uma de água do mar e duas de anchoita (1:1:2 – relação em massa) por 24 h. A anchoita foi então lavada em água clorada (5 ppm cloro residual livre), eviscerada e filetada, sendo o filé lavado novamente com uma solução de NaCl 0,3% e posteriormente água deionizada. O mesmo foi drenado por 2 h sob refrigeração entre 4-7 °C e posteriormente congelado a -18 °C até o momento de sua utilização.

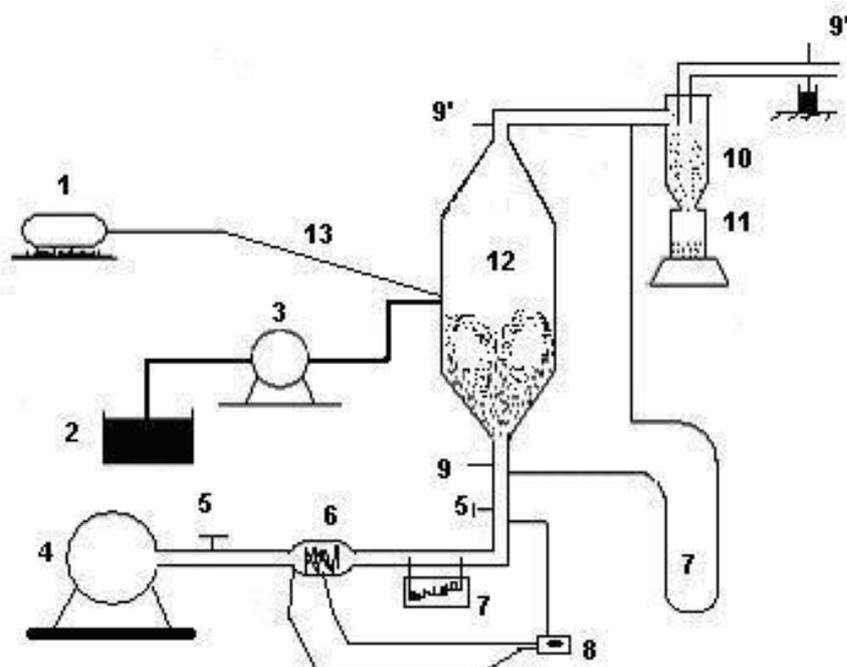
### **2.2 Obtenção da suspensão protéica modificada enzimaticamente**

Os filés foram descongelados (sob refrigeração – 4 a 7°C) e cominutados obtendo-se o (músculo não modificado) MNM. O processo de hidrólise foi realizado em bateladas de 500 g de MNM cada. As amostras foram hidrolisadas por Neutrase® em um biorretor de aço inoxidável, com agitação contínua de 200 rpm (agitador eixo-hélice IKA RWDAM, EUA), ligado a um banho termostaticado (Quimis Q-304-264, Brasil). As condições de hidrólise foram: temperatura de 55 °C; relação sólido/líquido (S:L) 1:1 (polpa:tampão fosfato (2mM pH $\approx$ 7,0); proporção enzima:substrato (E:S) (%N<sub>Total</sub> x 6,25) de 0,01%, e tempo total de reação 30 min. A inativação enzimática foi realizada a 90 °C por 10 min. Para a retirada de espinhas e algum material não solubilizado, a suspensão foi passada em peneira de 32 mesh (malha de abertura de 0,5 mm), obtendo-se uma “suspensão protéica modificada enzimaticamente” (SPME) (MORAES, 2007 e MORAES et al., 2010).

### **2.3 Secagem**

A suspensão (SPME) foi seca em um leito de jorro cônico, obtendo-se como produto final o músculo modificado enzimaticamente desidratado (MMED). A SPME foi diluída até a concentração desejada de sólidos, na forma de suspensão para alimentação no secador.

A célula de secagem do leito de jorro utilizada era cônica, com diâmetro de entrada de 0,026 m e diâmetro de célula de 0,18 m, com ângulo interno de 60°. O leito de partículas de inertes era constituído de polietileno em forma de lentilhas (diâmetro 3 mm, esfericidade 0,7 e densidade de 0,96 g/cm<sup>3</sup>). Foram utilizados 0,5 kg de inertes, que correspondem à altura de leito de 0,135 m. As condições de secagem foram: temperatura de ar de entrada (90 e 110 °C), vazão de alimentação da suspensão (100, 200 e 300 mL/h); concentração de sólidos (6,5 e 7,5 % (p/v)); velocidade do ar 100 % acima da velocidade de jorro mínimo.



**Legenda:**

**1-Compressor; 2-Reservatório para pasta; 3-Bomba peristáltica; 4-Soprador; 5-Válvula; 6-Sistema de aquecimento; 7-Manômetro; 8-Controlador de temperatura; 9-Termopares (')bulbo seco, (')bulbo úmido; 10-Ciclone lapple; 11-Produto final desidratado; 12-Célula de secagem; 13-Atomizador.**

Figura 1: Esquema do equipamento para secagem em leito de jorro cônico

### 2.3.1 Delineamento experimental

A viabilidade técnica da secagem da SPME em leito de jorro foi avaliada empregando um delineamento experimental misto (2x2x3), sendo as variáveis estudadas a temperatura do ar de entrada (°C), concentração de sólidos da SPME (%(p/v)) e vazão de alimentação da SPME (mL/h). As respostas avaliadas foram: lisina disponível e atividade antioxidante específica medida através da capacidade de

sequestrar radicais livres. As variáveis selecionadas e seus níveis para o delineamento experimental estão dispostos na Tabela 1. As variáveis, foram definidas em razão da importância na operação de secagem em leito de jorro, e seus valores (níveis) foram estabelecidas através de ensaios preliminares que garantissem a manutenção do regime de jorro.

Tabela 1: Variáveis e níveis estudados no processo de secagem em leito de jorro da suspensão protéica de anchoita modificada enzimaticamente.

Fatores	Variáveis	Níveis		
		-1	0	1
X <sub>1</sub>	Temperatura (°C)	90	-	110
X <sub>2</sub>	Concentração de suspensão (%)	6,5	-	7,5
X <sub>3</sub>	Vazão de alimentação (mL/h)	100	200	300

## 2.4 Metodologia analítica

### 2.4.1 Composição proximal

As amostras de filés de anchoita *in natura* e a suspensão foram caracterizadas quanto a umidade, cinzas e proteína segundo metodologias da AOAC (2000) números 950.46, 920.153 e 928.08, respectivamente. Os lipídios foram quantificados segundo Bligh & Dyer (1959). As medidas foram realizadas em triplicata.

### 2.4.2 Determinação do grau de hidrólise

O grau de hidrólise (GH) foi determinado através do método proposto por Adler-Nissen (1979). O GH foi calculado segundo a expressão apresentada na Equação 1.

$$GH(\%) = \frac{h}{h_{\text{total}}} \times 100 \quad (1)$$

sendo:  $h$  o número de ligações peptídicas clivadas na hidrólise (meq Leucina/g proteína),  $h_{\text{total}}$  o número total de ligações peptídicas (meq<sub>Leucina</sub>/g<sub>proteína</sub>). O  $h_{\text{total}}$  adotado para pescado foi de 8,6 meq<sub>Leucina</sub>/g<sub>proteína</sub>, segundo Nielsen, et al. (2001). A determinação foi realizada em triplicata.

### 2.4.3 Lisina disponível

O conteúdo de lisina disponível foi determinado após a hidrólise da proteína com pepsina e pancreatina, conforme Feddern et al. (2007). Foram pesados o equivalente a 50 mg de proteína (bs), a qual foi submetida à hidrólise com 10 mL de suspensão de pepsina (1,5 mg/mL em HCl 0,1N) por 3 h em banho a 37 °C. Após elevou-se o pH a 7,0 (anotando-se o volume gasto). Foram adicionados ao sistema 10 mL de uma suspensão de pancreatina (1,5 mg/mL em tampão fosfato pH 8,0), para continuidade da hidrólise por 24 h a 37 °C com agitação. Ao sistema foram adicionados 10 mL de ácido tricloroacético (TCA) 40% e deixados em repouso sob refrigeração a 4° C por aproximadamente 2 h. A amostra foi então centrifugada (CTR 5000R, Cientec, Brasil) a 3560xg por 5 min e após filtrada. O filtrado foi ajustado no pH 7,0 (anotando-se o volume gasto) e a amostra foi armazenada a 4 °C até o momento do uso. A quantificação da lisina disponível, após a digestibilidade *in vitro*, foi determinada através da reação colorimétrica da lisina com OPA (o-phtaldialdehyde) segundo Dinnella et al. (2002) com pequenas modificações. Uma quantidade conhecida do filtrado foi diluída em tampão fosfato pH 7,0 à temperatura ambiente. Uma alíquota de 50 mL do filtrado diluído foi misturada a 1 mL do reagente OPA (o-phtaldialdehyde - solução completa de 1 mg<sub>OPA</sub>/mL<sub>L-2-mercaptoethanol</sub>). A amostra foi agitada em banho ultrassônico (ultra cleaner 700, Unique, Brasil) por 2 min à temperatura ambiente, e a leitura foi realizada a 340 nm em espectrofotômetro (Varian's Cary 100 UV-VIS – país). A quantificação foi realizada com base em uma curva padrão de L-lisina em tampão fosfato pH 7,0 (0,01-0,2 mg/mL). As análises foram realizadas em triplicata. A quantificação da lisina disponível foi determinada no filtrado de pH ajustado após a digestibilidade *in vitro*. Para acompanhamento, foi determinado o conteúdo total de lisina, através de hidrólise ácida com ácido clorídrico concentrado e autoclavagem a 121°C por 30 min, segundo Silveira & Furlong (2007). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em g de lisina por 100 g de proteína (base seca).

### 2.4.4 Atividade antioxidante específica

A atividade antioxidante específica (AAE) foi determinada através da capacidade de sequestrar radicais livres, representados pelo DPPH (1,1diphenyl-2picrylhydrazyl), segundo metodologias descritas por Foh et al. (2010) e Véga-Galvez et al. (2011), com modificações. Foram misturadas 2 mL da amostra de proteína solúvel, previamente diluída e de concentração conhecida ( $\cong 0,65$ mg/mL), com 2 mL de

0,15 mM DPPH (em etanol 95%). A mistura foi agitada vigorosamente e deixada em repouso, no escuro, por 30 min. A absorbância<sub>30 min</sub> da solução resultante foi lida em 517nm (Quimis modelo Q-108DRM, Brasil). As análises foram realizadas em triplicata.

A atividade antioxidante específica foi expressa como a quantidade do radical livre DPPH (1,1diphenyl-2picrylhydrazyl) seqüestrado pela proteína (base seca) em 30 min, segundo a Equação 2.

$$AAE = \frac{1 - \left( \frac{(Abs\_DPPH_{reação} - Abs\_amostra_{branco})}{(Abs\_DPPH_{branco})} \right)}{(m_{ptna} \times t)} \quad (2)$$

sendo: Abs\_DPPH<sub>branco</sub> o valor de absorbância de 2 mL etanol 95% misturados com 2 mL solução DPPH 0,15mM; Abs\_DPPH<sub>reação</sub> o valor de absorbância de 2 mL solução proteína misturadas com 2 mL solução DPPH 0,15 mM; Abs\_amostra<sub>branco</sub> o valor de absorbância de 2 mL solução de proteína misturados com 2 mL etanol 95%; m<sub>ptna(bs)</sub> é a quantidade conhecida de proteína em solução (g); t o tempo (min) em que a amostra foi deixada em repouso, no caso 30 min. Os resultados foram expressos em  $\mu M_{DPPH_{seq}}/g_{ptna\ sol} \min$ . As análises foram realizadas em triplicata.

#### 2.4.5 Quantificação dos aminoácidos

Na condição adequada, a qualidade protéica foi avaliada quanto ao seu conteúdo de aminoácidos. A quantificação dos aminoácidos foi realizada, após hidrólise com HCl 6 N, por 22 h, a 110 °C, em ampolas de vidro seladas a fogo sob vácuo. A seguir, as ampolas foram abertas e o HCl removido por evaporação, O resíduo seco foi ressuspensão em tampão citrato pH 2,2. As amostras então foram filtradas em membranas de 0,22  $\mu m$ , convenientemente diluídas com tampão citrato (SPACKMAN et al., 1958), e analisadas por cromatografia em troca iônica em autoanalisador de aminoácidos marca Beckman, modelo 7300 (Beckman Instr., Palo Alto, CA - USA). A metionina e a cisteína foram analisadas após oxidação prévia com ácido perfórmico segundo Moore (1963). O triptofano foi determinado após hidrólise enzimática com pronase a 40 °C por 24 h, seguido de reação colorimétrica com 4-dimetil-amino-benzaldeído (DAB) em ácido sulfúrico 21,2 N e a leitura realizada a 590 nm. O conteúdo de triptofano foi calculado segundo Spies (1967).

### 2.4.5.1 Caracterização da qualidade nutricional segundo composição de aminoácidos

Para determinação da qualidade nutricional do modificado enzimático foram calculados o escore químico (EQ), Relação de Fischer, e a estimativa do coeficiente de eficiência protéica (PER). O escore químico foi calculado pelo quociente da concentração de cada um dos aminoácidos essenciais da proteína teste pela concentração do mesmo aminoácido da proteína usada como referência, padrão FAO/WHO, de acordo com a Equação 3.

$$EQ = \frac{g_{\text{aminoácido}}/100g_{\text{proteína teste}}}{g_{\text{aminoácido}}/100g_{\text{proteína padrão}}} \quad (3)$$

A Relação de Fischer foi calculada segundo Fischer et al.(1976) a qual é dada pelo somatório dos aminoácidos de cadeia ramificada (valina, leucina e isoleucina) dividido pela somatório dos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina), conforme Equação 4.

$$\text{Relação de Fischer} = \frac{[\text{Val} + \text{Leu} + \text{Ile}]}{[\text{Phe} + \text{Tyr}]} \quad (4)$$

sendo: Val (valina), Leu (leucina), Ile (isoleucina), Phe (fenilalanina), Tyr (tirosina) e a concentração dos aminoácidos dada em mmoles de aminoácidos/100g de proteína. A estimativa do coeficiente de eficiência protéica ( $PER_{\text{est}}$ ) foi estimado com base no perfil de aminoácidos de acordo com a Equação 5 segundo citado por Shahidi et al.(1995) e Abdul-Hamid et al. (2002).

$$PER_{\text{est}} = [0,0632 \times (\text{Ile} + \text{Leu} + \text{Lys} + \text{Met} + \text{Phe} + \text{Thr} + \text{Val} + \text{Arg} + \text{His} + \text{Tyr})] - 0,1539 \quad (5)$$

sendo: Ile (isoleucina), Leu (leucina), Lys (lisina), Met (metionina), Phe (fenilalanina), Thr (treonina), Val (valina), Arg (arginina), His (histidina), Tyr (tirosina) e as quantidades dos aminoácidos expressas em g/100g<sub>ptna</sub>.

## 2.5 Análise estatística

Os resultados obtidos para caracterização do MNM e SPME foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre médias pelo teste de Tukey a 95% de confiança. Para a análise estatística dos resultados do delineamento experimental foi utilizado o software Statistica 6.0 for Windows (StatSoft Inc, EUA). Foi

avaliada a significância dos efeitos das variáveis estudadas sobre as respostas através de análise de variância a 95% de confiança.

### 3 Resultados e Discussão

#### 3.1 Caracterização do MNM e da SPME

A Tabela 2 apresenta os resultados das análises de grau de hidrólise, composição centesimal, lisina disponível e atividade antioxidante específica (AAE) para o músculo não modificado (MNM) e para suspensão protéica modificada enzimaticamente (SPME). Pode ser observada (Tabela 2) uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na composição centesimal entre o MNM e SPME. A diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) do conteúdo de cinzas na SPME, em relação ao MNM, foi devido à etapa de em que a suspensão foi passada pela malha 0,5mm, sendo descartada parte do material não suspenso (pequenas espinhas) retido, em consequência o teor de lipídios (base seca) e proteínas (base seca) aumentou significativamente.

Tabela 2: Resultados das análises para o músculo não modificado e da suspensão protéica de anchoita modificada enzimaticamente.

	Grau de Hidrólise (%)	Umidade (%) <sub>b.u</sub>	Proteína Total (%) <sub>bs.</sub>	Lipídios Totais (%) <sub>bs.</sub>	Cinzas (%) <sub>bs.</sub>	Lisina disponível (g/100g <sub>ptna</sub> )	AAE ( $\mu\text{M}_{\text{DPPH}_{\text{seq}}}$ /g <sub>ptna sol</sub> min)
MNM	0,28±0,07	78,7±1,2 <sup>b</sup>	82,2±1,6 <sup>b</sup>	10,6±0,4 <sup>b</sup>	6,6±0,5 <sup>a</sup>	8,5±0,1 <sup>a</sup>	2,12±0,01 <sup>b</sup>
SPME	3,77±0,21	89,3±0,2 <sup>a</sup>	84,3±1,0 <sup>a</sup>	11,1±0,2 <sup>a</sup>	4,0±0,2 <sup>b</sup>	8,6±0,1 <sup>a</sup>	4,31±0,08 <sup>a</sup>

Média e erro padrão de 3 repetições; bs. – base seca.; ptna – proteína; MNM – músculo não modificado; SPME – suspensão protéica modificada enzimaticamente; AAE- atividade antioxidante específica. Letras minúsculas diferentes, mesma coluna, apresentam diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

O pescado é considerado uma ótima fonte de lisina, o que pode ser observado também para a anchoita (Tabela 2), não havendo perda da mesma durante o processo de hidrólise e inativação da enzima, pois o MNM e SPME não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). A lisina tem um importante papel no corpo humano, atuando de diversas formas, como na construção de músculos e ossos, na absorção do cálcio e melhora a concentração mental, alivia sintomas de gripes e resfriados, é necessária para a produção de hormônios, anticorpos e enzimas, e sua deficiência causa fadiga, irritação, anemia e perda de cabelo (USYDUS & SZLINDER-RICHERT, 2011).

Para efeito de comparação, foi determinado o conteúdo total de lisina nas amostras, através de hidrólise ácida, no qual o valor encontrado foi de 8,94 g/100g<sub>ptna</sub>.

O conteúdo de lisina disponível em relação a lisina total foi de aproximadamente 95%. Em termos de conteúdo de amostra, o conteúdo de lisina disponível é de  $1,5\text{g}_{\text{lisina}}/100\text{g}_{\text{amostra}}$  (base úmida), estando dentro dos valores esperados pescados, segundo dados apresentados por Usydus & Szlinder-Richert, 2011, que variaram de  $1,04\text{--}2,01\text{g}_{\text{lisina}}/100\text{g}_{\text{amostra}}$ , dependendo da espécie, sendo que dados para anchoita não foram relatados. Wang et al. (1996), observaram quantidades de  $7,53\text{ g}/100\text{g}_{\text{ptna}}$  de lisina para anchoita asiática (*Engraulis japonicus*), valor este inferior ao da anchoita do presente estudo.

A metodologia com o radical DPPH baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH, que ocorre devido à redução desse radical, pela ação do antioxidante (Brand-Williams et al., 1995), desta forma avaliando apenas o poder redutor do antioxidante. Observando a Tabela 3, a atividade antioxidante específica (AAE), medida através da redução do radical DPPH, do MNM e da SPME apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ), indicando que a modificação enzimática, em baixo grau de hidrólise (4%), proporcionou um aumento de 103% na AAE em relação ao MNM.

Proteínas além de apresentarem propriedades funcionais tecnológicas e nutricionais, podem apresentar atividade biológica, como por exemplo, atividade antioxidante, que pode estar associada à peptídeos bioativos presentes em determinadas sequências da proteína, liberados após hidrólise enzimática (COSTA et al., 2007). Tais peptídeos podem ser benéficos à saúde humana como também para a conservação de alimentos, Peptídios bioativos mostram maior potencial antioxidante que a proteína intacta podendo inibir a oxidação lipídica, através de mecanismos biologicamente projetados e por mecanismos não específicos. Esses dois tipos de proteínas antioxidantes contribuem para a capacidade antioxidante endógena de alimentos e também podem ser usados como aditivos de potencial antioxidante (ELIAS et al., 2008). Durante a hidrólise uma variedade de peptídeos e aminoácidos livres é gerada, dependendo da especificidade da enzima. Mudanças no peso, posição e composição dos aminoácidos e pequenos peptídeos afetam a atividade antioxidante (WU et al., 2003). Samaranyaka et al. (2008) observaram maior potencial antioxidante (medido através da radical DPPH) em hidrolisados protéicos de pescado com menor grau de hidrólise (autólise com enzimas endógenas por 1h) do que as amostras que sofreram hidrólise mais extensiva, além disso, houve um aumento de 61% na capacidade de sequestrar o radical DPPH na amostra que sofreu autólise por 1 h em relação ao seu controle (sem enzimas endógenas). Através dos dados

fornecidos pelo autor, foi possível calcular a AAE chegando a valores de 0,91  $\mu\text{M}_{\text{DPPH}_{\text{seq}}}/\text{g}_{\text{ptna}}\text{min}$ , resultado inferior ao presente estudo. Já Klompong et al. (2007) também observaram uma maior atividade antioxidante ( $\cong 95\%$ ), medida através da redução DPPH, em hidrolisados protéicos com menor grau de hidrólise (5%), utilizando Alcalase. Nesta condição, com os dados mencionados pelos autores, concluiu-se que eles removeram 0,04  $\mu\text{M}/\text{g}_{\text{ptna}}\text{min}$ , resultado acentuadamente inferior ao presente estudo.

### 3.1.1 Análise estatística da secagem

A Tabela 3 apresenta a matriz do planejamento misto para a secagem da suspensão protéica de anchoita modificada enzimaticamente para os fatores e variáveis respostas avaliadas do produto desidratado (lisina disponível e atividade antioxidante específica (AAE)). Também são apresentadas a umidade final do produto e temperatura de saída do da célula de secagem de leite de jorro.

Tabela 3: Resultados da matriz do planejamento experimental misto para os experimentos de secagem em leite de jorro da suspensão.

Exp.	$X_1$ T	$X_2$ [ ]	$X_3$ V	Temperatura saída (°C)	Umidade final, bu (%)**	Lisina disponível ( $\text{g}_{\text{lisina}}/100\text{g}_{\text{proteína}}$ )**	AAE ( $\mu\text{M}_{\text{DPPH}_{\text{seq}}}/\text{g}_{\text{ptna sol}}\text{min}$ )**
1	-1	-1	-1	78,3±2,0	6,9±0,1	6,62±0,04	3,46±0,03
2	-1	-1	1	71,2±2,1	8,0±0,1	7,65±0,05	3,87±0,02
3	-1	1	-1	76,7±2,1	8,2±0,1	7,18±0,03	3,59±0,02
4	-1	1	1	65,6±2,5	10,7±0,2	7,51±0,04	3,89±0,03
5	1	-1	-1	95,4±2,0	4,6±0,1	5,34±0,01	2,21±0,02
6	1	-1	1	89,2±2,0	4,8±0,2	5,57±0,04	2,44±0,01
7	1	1	-1	93,2±2,0	5,1±0,1	5,39±0,02	2,30±0,02
8	1	1	1	85,3±2,3	6,2±0,2	6,12±0,03	2,62±0,02
9	-1	-1	0	74,1±2,0	7,4±0,1	7,89±0,02	3,99±0,01
10	-1	1	0	73,2±2,1	7,8±0,1	7,78±0,01	3,79±0,02
11	1	-1	0	92,1±2,2	5,5±0,1	5,82±0,03	2,81±0,02
12	1	1	0	88,4±2,0	5,7±0,1	6,26±0,02	3,12±0,03
13*	-1	-1	1	72,1±2,1	8,1±0,1	7,71±0,01	3,83±0,02
14*	-1	-1	1	71,0±1,9	8,2±0,1	7,68±0,02	3,88±0,01

Exp. – Experimento; \* réplica do experimento 2; \*\*valores médios±erro padrão (n=3);  $X_1$  – T=temperatura;  $X_2$  – [ ] =concentração;  $X_3$  –V= vazão; bu (base úmida).

Observando a Tabela 3, a estabilidade do jorro pôde ser avaliada através das temperaturas de saída do ar do secador, sendo que esta não variou mais do que 2,5°C, indicando adequado funcionamento do equipamento. Vale lembrar que acentuadas oscilações de temperatura indicam problemas no funcionamento do secador. A temperatura do ar de entrada para os experimentos a 90°C (-1) e 110°C

(+1) ficou em torno dos  $91\pm 2^{\circ}\text{C}$  e  $111\pm 2^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Também pode ser observada uma diminuição da umidade, com o aumento da temperatura do ar de secagem e diminuições da vazão e da concentração da suspensão. Resultados semelhantes também foram observados por Shuhana et al. (2003), avaliando a secagem de extrato de urucum. Se a temperatura aumenta, a transferência de calor por convecção é facilitada, por isso, a taxa de evaporação de água é maior, aumentando a taxa de transferência de massa de água no interior do material (Dotto et al., 2011).

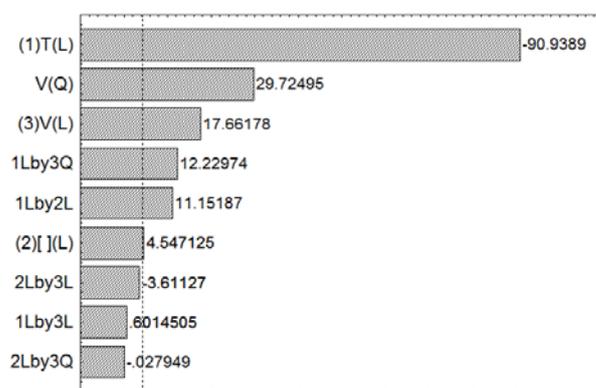
O produto final apresentou-se como um pó fino (100% passante na peneira Tyler 200, que corresponde a 0,074 mm), e com umidade final, para a maioria dos experimentos, abaixo da requerida comercialmente (10%), com exceção do experimento 4. Fatores como temperatura do ar e vazão de alimentação da suspensão afetam significativamente a taxa de secagem neste tipo de secador, visto que estão relacionadas com a taxa de evaporação da água (PASSOS & MUJUMDAR, 2000; TARUNA & JINDAL, 2002; SPINTZER-NETO et al., 2002). Segundo Menegalli et al. (2000), a vazão de alimentação é um dos mais importantes parâmetros na operação de secadores leito de jorro, visto que determina a capacidade de secagem do equipamento. Este é considerado, experimentalmente, o fator de maior restrição da capacidade deste tipo de secador. O aumento significativo deste parâmetro implica no acúmulo de material no leito, e conseqüentemente colapso do jorro. Estes autores relatam ainda que a vazão de alimentação possui direta relação com a umidade final do produto, pois a capacidade de alimentação está relacionada com a taxa de evaporação da água.

Os resultados da análise de variância dos efeitos e interações entre os fatores temperatura, concentração e vazão de alimentação para as variáveis respostas lisina disponível e atividade antioxidante específica (AAE) estão dispostos na Tabela 4, onde pode-se observar que somente a interação entre a concentração e a vazão não foi significativa ( $p > 0,05$ ), para ambas as respostas avaliadas.

A Figura 2 apresenta os gráficos de pareto da secagem em leito de jorro da suspensão proteica de anchoita modificada enzimaticamente para os efeitos estimados padronizados das respostas. Na Figura 3 são apresentados os gráficos da interação dos efeitos (temperatura, vazão e concentração) para as respostas consideradas na secagem.

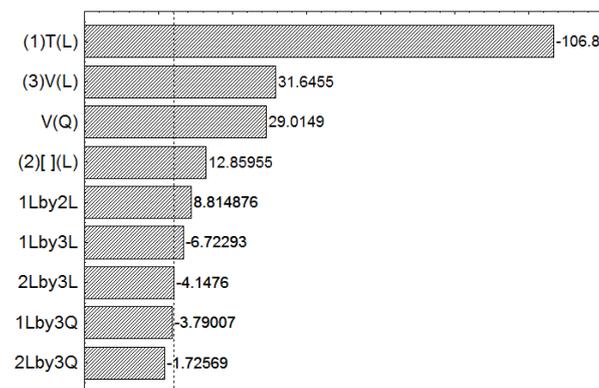
Tabela 4: Análise de variância dos fatores de estudo da secagem em leite de jorro para as respostas consideradas.

Fator	SQ	GL	MQ	F	P	R <sup>2</sup>
Lisina disponível (g <sub>lisina</sub> /100g <sub>proteína</sub> )						
1- Temperatura (L)	9,34	1	9,34	11409,79	<0,01	0,94
2- Concentração (L)	0,14	1	0,14	165,37	0,01	
3- Vazão (L+Q)	1,43	2	0,71	871,52	<0,01	
1x2	0,06	1	0,06	77,70	0,01	
1x3	0,05	2	0,02	28,40	0,03	
2x3	0,02	2	0,01	9,71	0,09	
Falta de ajuste	0,23	2	0,12	142,08	0,01	
Erro puro	<0,01	2	<0,01			
Total	12.48	13				
AAE (μM <sub>DPPHseg</sub> /g <sub>ptna sol</sub> min)						
1- Temperatura (L)	4,23	1	4,23	8269,89	<0.01	0,98
2- Concentração (L)	0,01	1	0,01	20,68	0.04	
3- Vazão (L+Q)	0,58	2	0,29	569,33	<0.01	
1x2	0,06	1	0,06	124,36	0.01	
1x3	0,08	2	0,04	74,79	0.01	
2x3	0,01	2	<0,01	6,54	0.13	
Falta de ajuste	0,04	2	0,02	40,10	0.02	
Erro puro	<0,01	2	<0,01			
Total	5,56	13				



p=0.05  
Efeitos estimados padronizados (valores absolutos)

(a)



p=0.05  
Efeitos estimados padronizados (valores absolutos)

(b)

Figura 2: Gráfico de Pareto da secagem da suspensão de anchoita modificada enzimaticamente para os efeitos estimados padronizados das respostas: (a) lisina disponível; (b) AAE.

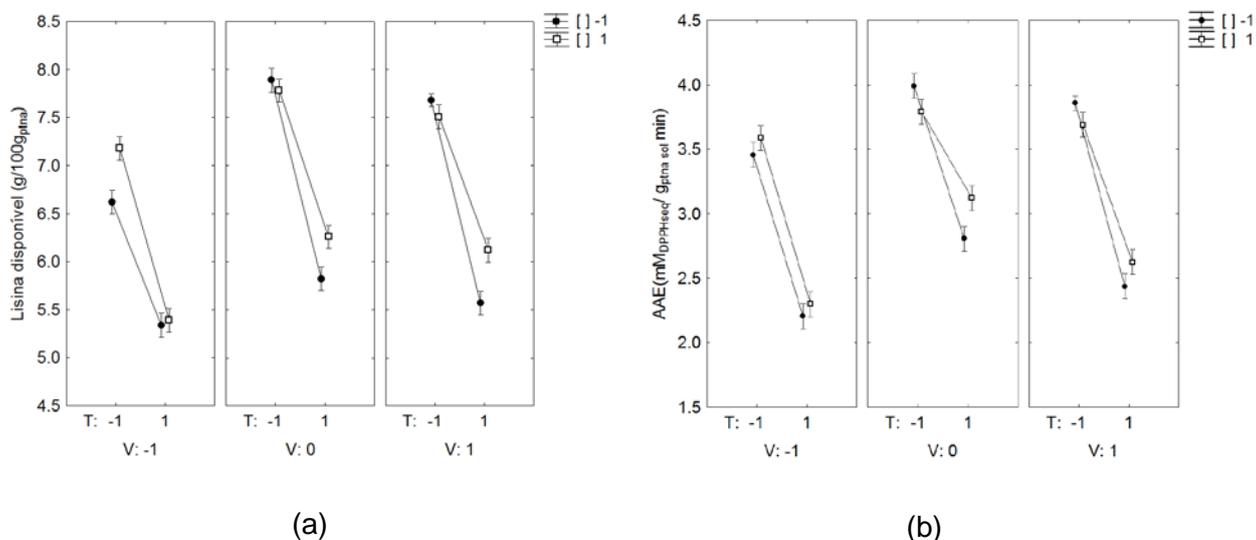


Figura 3: Interação dos efeitos da temperatura, vazão de alimentação e concentração da suspensão para as respostas: (a) lisina disponível; (b) atividade antioxidante específica (AAE).

Pode ser observado nas Figuras 2 (a e b) que os efeitos principais de temperatura e vazão foram os mais pronunciados significativamente ( $p < 0,05$ ), tanto para a lisina quanto para a AAE. O aumento da temperatura do ar de entrada de 90 para 110°C ocasionou uma diminuição significativa da lisina disponível e AAE para ambas condições de vazão e concentração (Figura 3). Os maiores conteúdos de lisina disponível foram obtidos nas condições de temperatura de 90°C (nível -1) e vazão de alimentação de 200 mL/h (nível 0), independentemente da concentração, sendo a redução do conteúdo, em relação à SPME, de aproximadamente 9%. Na condição de temperatura de 110°C (nível +1) e vazão de 100 mL/h (nível -1) foi observado uma redução de aproximadamente 37%. Estudando a secagem em *spray dryer* de hidrolisados protéicos obtidos de tilápia, Abdul-Hamid et al. (2002) observaram perdas significativas da lisina, chegando a aproximadamente 62%, com o aumento da temperatura do ar (entrada/saída) de 150 °C/76 °C para 180°C/90°C. Nas condições do presente estudo, de temperatura de saída do ar, nos experimentos 3 (90°C, 7,5% e 100 mL/h) e 11 (110 °C, 6,5% e 200 mL/h) da Tabela 3, as perdas de lisina disponível chegaram a 16 e 29%, respectivamente.

As mesmas condições para lisina disponível também foram observadas para a AAE, entretanto a concentração foi significativa ( $p < 0,05$ ) (Figura 2b), sendo os maiores valores obtidos na concentração de 6,5% (nível -1), conforme Figura 3b), onde a

diminuição da AAE em relação à SPME foi de apenas 8% (Tabela 3). As condições mais drásticas para a perda de AAE também foram a 110°C (nível +1), 100mL/h (nível -1) e 6,5% (nível -1, sendo a perda de 41% em relação a SPME. Veja-Gálvez et al. (2011) observaram perdas significativas na atividade antioxidante de lula gigante com a operação de secagem. Estudando a secagem em leite de jorro de resíduo do processamento de leite de soja (okara), Wachiraphansalkul & Devahastin (2007) observaram uma perda da funcionalidade da proteína quando avaliada o aumento da temperatura do ar de entrada de 90 °C para 110 °C. Dotto et al., (2011) também observaram uma perda na qualidade do pó de quitosana produzido em leite de jorro com o aumento da temperatura do ar de secagem de 90 °C para 110 °C.

Com o aumento da vazão de 200 mL/h (nível 0) para 300 mL/h (nível +1) pôde-se observar na Figura 3 , na menor temperatura e nas duas concentrações, que houve uma diminuição da lisina disponível e AAE. Este comportamento pode ter sido atribuído ao aumento da espessura da camada de suspensão que recobre a superfície das partículas de inertes (aumento do filme), proporcionando uma diminuição da taxa de remoção de pó. Desta forma, resulta em uma maior umidade, formação de aglomerados e no aumento do tempo de exposição do produto ao ar quente provocando um efeito negativo nas características. Estudando a secagem de microalga *Aphanotece*, Jacob-Lopes et al. (2006) verificaram que a secagem a 90°C, vazão de 200 mL/h e velocidade do ar 100% acima do jorro mínimo, foi a condição indicada onde houve a menor perda das características da microalga. Estudando a secagem de suspensão protéica de pescado em leite de jorro, Rodrigues & Tobinaga (2001) constataram as melhores características do produto em uma temperatura de saída do secador de 75 °C e vazão de alimentação de 250 mL/h.

### 3.1.2 Avaliação da qualidade protéica

Para avaliar o efeito da temperatura de secagem em leite de jorro sobre a qualidade protéica do produto desidratado, foi realizada a quantificação dos aminoácidos e determinados o escore químico (EQ), o coeficiente de eficiência protéica estimada ( $PER_{est}$ ) e determinada a *Relação de Fischer*. Os experimentos avaliados foram selecionados com base na condição de menores perdas de lisina e AAE que correspondeu ao experimento 9 da Tabela 2 (90 °C, 6,5% e 200 mL/h: (MMED90)), e na maior temperatura do ar, sendo selecionado o experimento 11 (110 °C, 6,5% e 200mL/h: (MMED110)).

A Tabela 5 apresenta a quantificação dos aminoácidos e o escore químico (EQ) para os músculos modificados enzimaticamente desidratados (MMED90) e (MMED110).

Tabela 5: Perfil de aminoácidos e escore químico (EQ) para os músculos modificados enzimaticamente desidratados a 90°C (MMED90) e 110°C (MMED110).

	MMED90 <sup>a</sup>	MMED110 <sup>a</sup>	FAO/WHO <sup>b</sup> crianças 2-5 anos	EQ MMED90	EQ MMED110
	<u>g/100g<sub>proteína</sub></u>				
Ác. aspártico	9,43±0,35	10,63±0,1	-	-	-
Ác. glutâmico	11,8±0,18	9,94±0,09	-	-	-
Serina	3,75±0,14	4,24±0,10	-	-	-
Histidina*	2,46±0,05	2,12±0,14	1,9	1,30	1,11
Glicina	3,04±0,02	4,79±0,12	-	-	-
Treonina*	4,47±0,14	3,26±0,19	3,4	1,32	0,96
Arginina	4,78±0,20	3,93±0,11	-	-	-
Alanina	5,56±0,04	6,96±0,12	-	-	-
Prolina	4,66±0,08	5,48±0,11	-	-	-
Tirosina	2,73±0,13	2,13±0,10	-	-	-
Valina*	4,40±0,21	3,14±0,09	3,5	1,26	0,89
Metionina*	2,45±0,10	2,16±0,26	2,5 <sup>c</sup>	1,42	1,18
Cisteína	1,10±0,03	0,80±0,10	-	-	-
Isoleucina*	4,61±0,10	3,01±0,10	2,8	1,65	1,07
Leucina*	7,57±0,24	5,43±0,10	6,6	1,15	0,82
Fenilalanina*	3,87±0,16	3,34±0,10	6,3 <sup>d</sup>	1,05	0,53
Lisina*	8,37±0,18	5,71±0,15	5,8	1,44	0,98
Triptofano*	1,10±0,05	0,62±0,03	1,1	1,01	0,56
$\Sigma$ aa <sub>ess</sub>	39,35	28,80	-	-	-

EQ – Escore Químico; <sup>a</sup>média e erro padrão de duas repetições; <sup>b</sup>padrão FAO/WHO/UNU; <sup>c</sup>metionina+cisteína; <sup>d</sup>fenilalanina+tirosina; \* aminoácidos essenciais;  $\Sigma$ aa<sub>ess</sub> (somatório dos aminoácidos essenciais)

Pode-se observar na Tabela 5 que o tratamento térmico com a maior temperatura (110 °C) ocasionou uma diminuição em todos os aminoácidos essenciais, sendo esta redução de aproximadamente 27%. Os aminoácidos triptofano, isoleucina e lisina foram os mais afetados pela temperatura, chegando a uma redução de aproximadamente 43%, 34% e 32%, respectivamente. Perdas de treonina, leucina e valina foram de aproximadamente 28%. Abdul-Hamid et al., (2002), observaram uma perda de aproximadamente 35% nos aminoácidos essenciais com o aumento da temperatura de secagem (*spray dryer*) de hidrolisados protéicos de pescado, sendo as maiores perdas de lisina (62%), treonina (56%) e isoleucina (50%).

Segundo Elias et al. (2008), os principais aminoácidos responsáveis pela atividade antioxidante são os de radicais sulfurados (metionina e cisteína) e

aromáticos (triptofano, tirosina e fenilalanina). A diminuição da AAE do MMED110 em relação ao MMED90 foi de aproximadamente 29%, podendo estar relacionada à redução destes aminoácidos, que foi de 20% (Tabela 5). A perda dos aminoácidos pode ter ocorrido devido ligações cruzadas inter- e intra-moleculares entre os aminoácidos, ligações com outros componentes do produto e ligações com oxigênio, durante a exposição à elevada temperatura do ar de secagem (CÓRDOVA MURETA et al., 2007; ELIAS et al., 2008).

Segundo FAO/WHO/UNU uma proteína que apresenta EQ maior que o valor 1,0, para todos os aminoácidos é considerada de alto valor nutricional, e o aminoácido que apresentar EQ menor que 1,0 é chamado aminoácido limitante. Os valores obtidos para a composição dos aminoácidos essenciais das proteínas estudadas foram divididos pelos valores recomendados pela FAO/WHO/UNU, e o resultado, denominado escore químico de aminoácido (EQ), apresentado na Tabela 5, permitiu verificar que MMED90 não apresentou aminoácidos limitantes. Já o MMED110 apresentou EQ menor que 1 para a maioria dos aminoácidos avaliados com exceção da histidina, metionina+cisteína e isoleucina. Avaliando quimicamente o MMED90, o mesmo caracterizou-se então, como uma fonte protéica de elevado valor biológico levando em conta o perfil de seus aminoácidos essenciais, pois é capaz de atender às recomendações nutricionais para crianças na faixa etária de 2 a 5 anos, e até mesmo adultos, que apresentam uma menor necessidade de aminoácidos essenciais, segundo a FAO/WHO/UNU.

Formulações à base de hidrolisados protéicos com alto teor de aminoácidos ramificados (ACR), valina, leucina e isoleucina, e com um baixo conteúdo em aminoácidos aromáticos (AA), fenilalanina e tirosina, podem ser empregados com sucesso no tratamento dietético de pacientes com lesões hepáticas crônicas, incluindo a encefalopatia hepática. Segundo Fischer et al. (1976) e Clemente (2000) uma relação ACR/AA, denominada de "Relação de Fischer" maior que 3,0 contribui para melhoria significativa no quadro clínico dos pacientes, atribuída à normalização da concentração plasmática de aminoácidos e à manutenção de um aporte protéico adequado. Hidrolisados enzimáticos com uma Relação de Fischer igual ou maior que três (3,0) poderiam ser utilizados no tratamento destes pacientes, contribuindo para a normalização da concentração molar plasmática dos aminoácidos. Os produtos obtidos, MMED90 e MMED110, apresentaram uma Relação de Fischer, calculados através da Equação 4, de 3,38 e 3,17, respectivamente, valores estes superiores a

3,0, o que poderia garantir um aporte protéico adequado e também sendo de interesse especial para o tratamento clínico de doenças hepáticas.

Segundo Friedman (1996), um coeficiente de eficiência protéica (PER) abaixo de 1,5, aproximadamente, é descrito como uma proteína de baixa ou inferior qualidade; entre 1,5 e 2,0, de qualidade intermediária; e acima de 2,0 de boa ou elevada qualidade. Estudos utilizam como padrão o PER estimado para caseína, que é de 2,5. No presente estudo o PER<sub>estimado</sub>, segundo o perfil de aminoácidos, calculado através da Equação 5, para o MMED90 e MMED110 foram em média de 2,7 e 2,0, mostrando que o produto seco a 90°C pode ser classificado como de elevada qualidade, apresentado valor superior ao da caseína, e o produto seco a 110°C de qualidade intermediária. Shaidi et al. (1995) e Abdul-Hamid et al.(2002) encontram um PER estimado médio para hidrolisados de pescado de 2,81 e 3,0, respectivamente, superiores ao do presente estudo. Entretanto, os GH estimados por estes autores foram muito superiores, em torno de 12-14%, o que pode influenciar na estimativa do PER.

#### 4 Conclusão

A temperatura do ar de entrada, concentração e vazão de alimentação da suspensão influenciaram significativamente a secagem da suspensão protéica modificada enzimaticamente (SPME) em leite de jorro, quanto aos conteúdos de lisina disponível e atividade antioxidante específica. A condição mais adequada para desidratação deste tipo de matéria prima foi a temperatura do ar de secagem de 90°C, concentração da suspensão de 6,5% e vazão de alimentação da suspensão de 200 mL/h. Nesta condição, a redução de lisina disponível e atividade antioxidante específica, do produto desidratado em relação a suspensão protéica (SPME), foram de apenas 9 e 8%, respectivamente. O produto desidratado caracterizou-se como uma fonte protéica de elevado valor biológico, considerando o perfil de seus aminoácidos essenciais, pois foi capaz de atender às recomendações nutricionais recomendadas pela FAO/WHO, apresentando escore químico (EQ) superior a 1,0, coeficiente de eficiência protéica estimada (PER) em média de 2,7 e uma *Relação de Fischer* superior de 3,3.

A secagem em leite de jorro da suspensão protéica modificada enzimaticamente (SPME) mostrou ser um equipamento viável para a desidratação deste tipo de matéria prima, visando à obtenção de um produto estável, sem

comprometimento da qualidade protéica. Os resultados apresentados pelo MMED90 foram satisfatórios, indicando um futuro potencial para sua utilização como ingrediente e/ou aditivo para formulação de alimentos.

## 5 Referências

- Abdul-Hamid, A.; Baker, J.; Bee, G.H. Nutritional quality of spray dried protein hydrolysate from Black Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Food Chemistry**., v.78, p. 69-74, 2002.
- Adler-Nissen, J.; Determination of the degree of hydrolysis of food protein by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.27, n.6, p. 1256-1262, 1979. Czerner, M., Tomás, M. C., Yeannes, M.I. Ripening of salted anchovy (*Engraulis anchoita*); development of lipid oxidation, colour and other sensorial characteristics. **Journal of Food Science and Food Agricultural**, v. 91, p. 609-615, 2001.
- A.O.A.C Official Methods of Analysis of A.O.A.C International, 17<sup>th</sup> Edition, Maryland EUA, 2000.
- Bacelos, M.S.; Spitzner-Neto, P.I; Silveira, A.M.; Freire, J.T. Analysis of fluid dynamic behavior of conical spouted bed in presence of pastes. **Drying Technology**, v.23, p. 427–453, 2005.
- Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p. 911-917, 1959.
- Brand-williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology** . v. 28, p. 25-30, 1995.
- Clemente, A.; Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends in Food Science and Technology**., v.11, p.254–262, 2000.
- Córdova-Mureta, J.H.; Del Toro, N.; Carreño, F.G. Concentrates of fish protein from bycatch species produced by various drying process. **Food Chemistry**, v. 100, p. 705-711, 2007.
- Costa, E.L.; Contijo, J.A.R.; Netto, F.M.; Effect of heat and enzymatic treatment on antihypertensive activity of whey protein hydrolysates. **International Dairy Journal**, v.17, p. 632-640, 2007.
- Czerner, M., Tomás, M. C., Yeannes, M.I. Ripening of salted anchovy (*Engraulis anchoita*); development of lipid oxidation, colour and other sensorial

- characteristics. **Journal of Food Science and Food Agricultural**, v. 91, p. 609-615, 2011.
- Dinnella, C.; Gargaro, M.T.; Rossano, R. Monteleone, E. Spectrophotometric assay using o-phtaldialdehyde for the determination of transglutaminase activity on casein. **Food Chemistry**, v. 78, p. 363-368, 2002.
- Dotto, G.L., Souza, V.C. Pinto, L.A.A. Drying of chitosan in a spouted bed: The influences of temperature and equipment geometry in powder quality. **LWT-Food Science and Technology**, v.44, p. 1786 – 1792, 2011.
- Elias, R.J.; Kellerby, S.S.; Decker, E.A. Antioxidant activity of proteins and peptides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.48, p. 430-441, 2008.
- FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirements. 1991. Disponível em: <http://www.fao.org/DOCREP/003/AA040E/AA040E08.htm#ch7.3> último acesso em: julho de 2011.
- Feddern,V.; Furlong, E.B.; Soares, L.A.S. Efeito da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais do farelo de arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.800-804, 2007.
- Fellows, P. **Food processing technology: principles and practice**. Second edition. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, p. 338, 2000.
- Fischer, J.E.; Rosen, H.M.; Ebeid, A.M.; James, J.H.; Keane, J.M.; Soeters, P.B. The effect of normalization of plasma amino acids on hepatic encephalopathy in man. **Surgery**, v.80, p.77–91, 1976.
- Foh, M.B.K.; Amadou, I.; Foh, B. M.; Kamara, M.T.; Xia, W.; Functionality and Antioxidant Properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as Influenced the Degree of Hydrolysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p. 1851-1869, 2010.
- Friedman M. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. **Journal and Agriculture and Food Chemistry**, v. 44, p. 6-29, 1996
- Govindaraju, K.; Srinivas, H.; Studies on the effects of enzymatic hydrolysis on functional and physico-chemical properties of arachin. **LWT - Food Science and Technology** , v. 39, p. 54-62, 2006.
- Guan, X.; Yao, H.; Chen, Z.; Shan, L.; Zhang, G. M. Some Functional properties of oat bran protein concentrate modified by tripsin. **Food Chemistry** v.101, p. 163-170, 2007.

- Jacob-Lopes, E.; Zepka, L.Q.; Pinto, L.A.A.; Queiroz, M.I. Drying of *Aphanothece microscopica* Nägeli microalgae in spouted bed. **Alimentos e Nutrição**, v.17, p. 387-392, 2006.
- Klompong, V.; Benjakul, S.; Kantachote, D.; Shaidi, F. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow strip trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by degree of hydrolysis and enzyme type. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1317-1327, 2007.
- Kristinsson, H.G.; Rasco, B. A Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical and Functional Properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.40, p.43-81, 2000.
- Medeiros, M.F.D.; Rocha, A.C.S.; Alsina, O.L.S.; Jerônimo, C.E.M.; Medeiros, U.K.L.; Mata, L.M.L. Drying of pulps tropical fruits in spouted bed: effect of composition on drying performance. **Drying Technology**, v. 20, p. 855-881, 2002.
- Menegalli, F.; Cunha, R.; Maialle, K. Evaluation of the drying process in spouted bed and spout fluidized bed of xanthan gum: focus on product quality. **Powder Technology**, v.107, p.234-242, 2000.
- Moore, S. On the determination of cystine as cysteic acid. **The Journal of Biological Chemistry**, v.238, p. 235-237, 1963.
- Moraes, K. Desenvolvimento de um processo de obtenção de proteína de anchoita (*Engraulis anchoita*) modificada enzimaticamente. 2007. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2007.
- Moraes, K.; Miyasaki, E.K.; Feisther, V.A.; Ruiz, W.A.; Pinto, L.A.A. Sensory evaluation of dehydrated soup enriched with enzymatically modified anchovy muscle. **4th International Congress on Bioprocess in Food Industries – Curitiba – PR – Brazil**. (05 to 08 october, 2010)
- Morrison, A.B.; Sabry, Z.I. Factors influencing the nutritional value of fish flour: II. Availability of lysine and sulphur amino acids. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 41, p. 649-655, 1963.
- Mujumdar, A.S.; Huang, L.X. Global R&D needs in drying. **Drying Technology**, v. 25, p. 647-658, 2007.
- Nielsen, P. M., Petersen, D., Dambmann, C. Improved method for determining food protein degree hydrolysis. **Journal of Food Science**, v.66, p. 642-646, 2001.

- Nilsang, S.; Lertsiri, S.; Supphantharika, M.; Assavaning, A.; Optimization of hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. **Journal of Food Engineering**, v.70, p.571-578, 2005.
- Oliveira, I.M.; Passos, M.L. Simulation of drying suspension in a conical spouted bed. **Drying Technology**, v. 15, p. 593-604, 1997.
- Oliveira, E.G.; Rosa, G.S.; Moraes, M.A.; Pinto, L.A.A. Phycocyanin content of *Spirulina Platensis* dried in spouted bed and thin layer. **Journal of Food Processing Engineering**, v. 31, p. 34-50, 2008.
- Panyam, D.; Kilara, A. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. **Trends in Food Science and Technology** v.7, p. 120-125, 1996.
- Passos, M.L.; Mujumdar, A.S. Effect of cohesive forces on fluidized and spouted bed of wet particles. **Powder Technology**, v. 110, p. 222-238, 2000.
- Pastous-Madureira, L.S., Castello, J.P., Prentice-Hernández, C., Queiroz, M.I., Espírito Santo, M.L., Ruiz, W.A., Raggi Abdallah, P., Hansen, J., Bertolotti, M.I., Manca, E., Yeannes, M.I., Avdalov, N. and Fernández Amorín, S. Current and potential alternative food uses of the Argentine anchoita (*Engraulis anchoita*) in Argentina, Uruguay and Brazil. In M.R. Hasan and M. Halwart (eds). Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Rome, FAO, n. 518, pp. 269–287, 2009.
- Pereira, N.R.; Godoi F.C.; Rocha, C.S. Drying of starch suspension in spouted bed drying with inert particles: physical thermal analysis of product. **Drying Technology**, v. 28, p. 1288-1296, 2010
- Ribeiro, E.P.; Seravalli, E.A.G. **Química de Alimentos**. 2ª ed. Blucher, São Paulo, 2007.
- Rodrigues, A.M.C; Tobinaga, S. Secagem de suspensão protéica de peixe em leito de jorro: propriedades funcionais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 3, p. 31-36, 2001.
- Samaranayaka, A.G.P.; Li-Chan, E.C.Y. Autolysis-assisted production of fish protein hydrolysates with antioxidant properties from Pacific hake (*Merluccius productus*) **Food Chemistry**, v. 107, p. 768-776, 2008.
- Shahidi, F.; Han, X.Q.; Synowiecki, J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). **Food Chemistry**., v.53, p. 285-293, 1995.

- Shuhana, I.K.; Aguiar, M.L.; Oliveira, W.P.; Freitas, L.A.P. Experimental production of annatto powders in spouted bed dryer. **Journal of Food Engineering**, v. 59, p. 93-97, 2003.
- Silveira, C.M. & Furlong, E.B. Caracterização de compostos nitrogenados presentes em farelos fermentados em estado sólido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, V.27, p. 805-811, 2007.
- Sinha, R.; Radha, J.; Kaul, P.; Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1484-1491, 2007.
- Souza, C. R. F.; Oliveira, W. P. Drying of herbal extract in a draft-tube spouted bed. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, v. 87, p.279-288, 2009.
- Spackman, D.H.; Stein, W.H.; Moore, S.; Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Analytical Chemistry** v.30, p.1190-1206, 1958.
- Spies, J. R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**. v.39, p.1412-1415, 1967.
- Spintzer Neto, P.I.; Cunha, F.O.; Freire, J.T. Effect of presence of paste in conical spouted bed dryer with continuous feeding. **Drying Technology**, v. 20, p. 789-811, 2002.
- Taruna, I.; Jindal, V. Drying soy pulp (Okara) in bed of particles. **Drying Technology**, v.20, p. 1035-1051, 2002.
- Usydus, Z.; Szilinder-Richert, J. Functional properties of fish and fish products: A review. *International Journal of Food Properties*, available on line, DOI: 10.1080/10942912.2010.503356.
- Vega-Gálvez, A.; Miranda, M.; Clavería, R.; Quispe, I.; Vergara, J.; Uribe, E.; Paez, H.; Di Scala, K. Effect of air temperature on drying kinetics and quality characteristics of osmo-treated jumbo squid (*Dosidicus gigas*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 16-23, 2011.
- Wachiraphansakul, S; Devahastin, S. Drying kinetics and quality of okara dried in a jet spouted bed of sorbent particles. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, p. 207-219, 2007.
- Wang, C.; Xue, C.; Liu, Y.; Lou, W.; Chen, X. Utilization of fish protein and oil from anchovy (*Engraulis japonicus*). **Asian Fisheries Science**, v. 9, p. 201-208, 1996.

Wu, H.C.; Chen, H.M.; Shiau, C.Y. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). **Food Research International**, v. 36, p. 949-957, 2003.

## CAPÍTULO IV

---

(CONCLUSÃO GERAL)

#### 4 CONCLUSÃO GERAL

A modificação enzimática de filé de anchoita, além de promover um aumento significativo na capacidade de sequestrar o radical livre DPPH, também promoveu um aumento da umidade de monocamada e das constantes relacionadas às multicamadas. O que levou a um aumento na intensidade da ligação da água, mostrada através das entalpias diferencial e integral, e uma diminuição do número de sítios ativos livres e mobilidade molecular da água, mostrada através das entropias diferencial e integral, em conteúdos de umidade abaixo de 20%. Com a hidrólise também ocorreu um aumento da área superficial de sorção e, conseqüentemente diminuição do tamanho dos poros. Estes fatos explicam a maior dificuldade na secagem do material modificado enzimaticamente em relação ao filé *in natura*, o que foi comprovado, nos experimentos de secagem, pela diminuição da difusividade efetiva de umidade e aumento da energia de ativação.

A secagem em camada delgada dos filés de anchoita mostrou que a pele voltada para cima, durante a operação, acarretou significativas alterações tanto na difusividade efetiva de umidade, criando uma barreira à difusão, quanto nas características do produto desidratado. A condição mais indicada para a secagem dos filés, com as menores alterações do produto em relação ao *in natura*, foi a temperatura de 60 °C com a pele voltada para baixo e escoamento do ar pelos dois lados. Em relação à secagem da pasta modificada enzimaticamente, a melhor condição de operação, em relação à alteração do produto, foi a uma temperatura de 60 °C e espessura de 2,5 mm. Nestas condições os produtos apresentaram baixa oxidação lipídica e elevado teor de lisina, estando dentro do recomendado para pescados.

A secagem em leito de jorro da suspensão protéica modificada enzimaticamente (SPME) mostrou-se viável no que diz respeito à qualidade da proteína, sendo os produtos desidratados caracterizados como de elevado valor biológico, levando em conta o perfil de seus aminoácidos essenciais, pois foi capaz de atender às recomendações nutricionais da FAO/WHO. Os produtos desidratados obtidos podem servir como uma base protéica para uma futura utilização na formulação de produtos alimentícios.

#### 4.1 Sugestões para trabalhos futuros

- Traçar o perfil de lipídico das amostras *in natura* e desidratada nas melhores condições de secagem em camada delgada e leite de jorro;
- Traçar o perfil de aminoácidos das amostras *in natura* e desidratadas em camada delgada;
- Elaborar um processo de obtenção do modificado protéico com enzimas endógenas;
- Avaliar a estabilidade dos filés e modificados enzimáticos frente à adição de conservantes;
- Obter concentrados protéicos modificados enzimaticamente e avaliar sua potencialidade antioxidante frente a outras metodologias;
- Fazer o aproveitamento de cabeça e vísceras na obtenção e concentração de ácidos graxos poliinsaturados.

## CAPÍTULO V

---

(REFERÊNCIAS)

## 5 REFERÊNCIAS

- Abdul-Hamid, A.; Baker, J.; Bee, G.H.; Nutritional quality of spray dried protein hydrolysate from black tilapia (*Oreochromis mossambicus*). **Food Chemistry**, v.78, p.69-74, 2002.
- Adebowale, A.R., Sanni, I., Awonorin, S., Daniel, I., Kuye, A. Effect of cassava varieties on the sorption isotherm of tapioca grits. **International Journal of food Science and Technology**, v. 42, p. 448-452, 2007.
- Adler-Nissen, J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein by trinitobenzenesulfonic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.27, p. 1256-1262, 1979.
- Al-Kahtani, H.A.; Abu-Tarboush, H.M.; Bajader, A.S.; Atia, M.; Abou-Arab, A.A.; El-Majoddidi, M.A. Chemical changes after irradiation and post irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 91, p. 729-733.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M.; Magee, T.R.A. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review. **Trans IChem E**, v.80, p. 118-128, 2002.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M.; Magee T.R.A Water sorption isotherms of starch powders Part 1: mathematical description of experimental data. **Journal of Food Engineering**, v.60 p. 297-307, 2004<sup>a</sup>.
- Al-Muhtaseb, A.H., McMinn, W.A.M.; Magee, T.R.A. Water sorption isotherms of starch powders. Part 2: Thermodynamic characteristics. **Journal of Food Engineering** v. 64, p. 135-142, 2004<sup>b</sup>.
- Akeson, W.R.; Stahmann, M.A.A. Pepsin-pancreatin digest index of protein quality evaluation. **The Journal of Nutrition**, v. 83, p. 257-261, 1964.
- Anderson, R.B. Modifications of the Brunauer, Emmett and Teller equation. **Journal of the American Chemical Society**, v.68, p.686-691, 1946.
- Angelo, A.J.St.; Vercellotti, J.; Jacks, T.; Legendre, M. Lipid oxidation in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.36, p.175-224, 1996.
- A.O.A.C **Official Methods of Analysis of A.O.A.C** International, 17th Edition, Maryland EUA, 2000.
- Ariahu, C.C.; Kaze, S.A.; Achem, C.D. Moisture sorption characteristics of tropical fresh water crayfish (*Procambarus clarkia*). **Journal of Food Engineering**, v.75, n.3, p. 355-363, 2006.

- Armatas, G.S. Determination of the effects of the pore size distribution and pore connectivity distribution on the pore tortuosity and diffusive transport in model porous networks. **Chemical Engineering Science** v. 61, p.4662 – 4675, 2006.
- Aviara, N.A.; Ajibola, O.O.; Oni, S.A., Sorption equilibrium and thermodynamic characteristics of soya bean. **Biosystems Engineering**, v.87, p. 179-190, 2004.
- Bacelos, M.S.; Spintzer Neto, P.I.; Silveira, A.M.; Freire, J.T. Analysis of fluids dynamics behavior of conical spouted bed in presence of paste. **Drying Technology**, v. 23, p.427-453, 2005.
- Bakun, A.; Parrish, R. H. Comparative studies of coastal pelagic fish reproductive habitats: The anchovy (*Engraulis anchoita*) of the southwestern Atlantic. **Journal of Marine Science**, v.48, p. 343-361, 1991.
- Bala, B.K.; Woods, J.L. Thin layer drying models for malts. **Journal Food Engineering**, v.16, p. 239-149, 1992.
- Barrozo, M.A.S.; Sartori, D.J.M.; Freire, J.T. A study of the statistical discrimination of drying kinetics equations. **Food and BioProducts Processing**, v. 82, p. 219-225, 2004.
- Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p. 911-917, 1959.
- Bougatef, A.; Hajji, M.; Balti, R.; Lassoued, I.; Triki-Ellouz, Y.; Narsi, M. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. **Food Chemistry**, v.114, p. 1198-1205, 2009.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- Brunauer, S., Deming, L.S., Deming, W.E., Troller, E. On the theory of Van der Waals adsorption of gases. **Journal American Chemical Society**, v. 62, p. 1723-1732, 1940.
- Cândido, L.M.B., Sgarbiere, V.C. Enzymatic hydrolysis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) myofibrillar proteins: effects on nutritional and hydrophilic properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 937-944, 2003.
- Cândido, L.M.B., Sgarbiere, V.C. Enzymatic hydrolysis of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) myofibrillar proteins: effects on nutritional and hydrophilic properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 937-944, 2003.

- Cassini, A.S., Marczak, L.D.F e Noreña, C.P.Z. Water adsorption isotherms of texturized soy protein. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 194-199, 2006.
- Castello, J. P. Anchovy Stocks (*Engraulis anchoita*) and Larval Growth in the SW Atlantic. **Fisheries Research**, v.59, n.3, p.409-421, 2003.
- Castello, J.P. A Anchoita - *Engraulis anchoita* (Engraulididae:Teleostei) no Sul do Brasil - Avaliação do Potencial Sustentável de Recursos Vivos na Zona Econômica - REVIZEE. Anexo 2, v. 31, n. 3, 61p.; Disponível em: < <http://www.mma.gov.br/port/sqa/projeto/revizee/doc/textos/anchoita.pdf> > Último acesso em: 29/01/2007.
- Cavalcante, J. A. Análise experimental da cinética de secagem da alga marinha Sargassum sp. (Tese de Doutorado) Campinas: Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, 169 p. 2003.
- Chirife, J.& Iglesias, H.A. **Equations for fitting water sorption isotherms of foods:** part-1 a , 1978.
- Chirife, J. **Fundamentals of the drying mechanism during air dehydration of foods.** In: MUJUMDAR, A. Advances in drying. Washington/ New York/ London. Ed. Hemisphere Publishing Corporation, v.3, 73-102. 1983.
- Cladera-Oliveira, F.; Petterman, A.C., Noreña, C.P., Wada, K., Marczak, L.D.F., Thermodynamic properties of moisture desorption of raw pinhão (*Auracaria angustifolia* seeds). **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.900-907, 2008.
- Clemente, A.; Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends in Food Science and Technology.**, v.11, p.254–262, 2000.
- Colembergue, J.P. Processamento e e avaliação da qualidade da conserva de anchoita (*Engraulis anchoita*) em molho de tomate. 76p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande-RS, 2011.
- Connell, J.J. **Control of fish quality.** 4<sup>th</sup> Ed. 256pp. p. 159-160, Fishing News Books Ltd, Farnham, Surrey UK, 1995.
- Contreras,G. E. S.; **Bioquímica de pescados e derivados.** FUNEP: Jaboticabal, 1994.
- Córdova-Mureta, J.H.; Del Toro, N.; Carreño, F.G. Concentrates of fish protein from bycatch species produced by various drying process. **Food Chemistry**, v. 100, p. 705-711, 2007.

- Costa, E.L.; Contijo, J.A.R.; Netto, F.M.; Effect of heat and enzymatic treatment on antihypertensive activity of whey protein hydrolysates. **International Dairy Journal**, v.17, p. 632-640, 2007.
- Crank, J. **The mathematics of diffusion**. P. 44-68. Oxford , England: Claredon Press, 1975.
- Cui, H.; Grace, J.R. Spouting of biomass particles: A review. **Bioresource Technology**, v.99, p.4008-4020, 2008.
- Czerner, M., Tomás, M. C., Yeannes, M.I. Ripening of salted anchovy (*Engraulis anchoita*); development of lipid oxidation, colour and other sensorial characteristics. **Journal of Food Science and Food Agricultural**, v. 91, p. 609-615, 2011.
- Damodaram, S.; Kirk, L.; Fennema, O.R. *Química de alimentos de Fennema*. 4<sup>a</sup> Ed. Editora Artmed, 900p., 2010.
- Das, M.; Das, S.K. Analysis of moisture sorption characteristics of fish protein myosin. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p. 223-227, 2002.
- Davies, M.J. The oxidative environment and protein damage. **Biochimica et BioPhysica Acta**, v. 1703 p. 93– 109, 2005.
- Delgado, A.E.; Sun, D. Desorption isotherms for cooked and cured beef and pork. **Journal of Food Engineering**, v.51, p.163-170, 2002.
- Dinara. A anchoita: ficha técnica. Disponível em: <<http://www.dinara.gub.uy>> Último acesso em: 10/06/2011
- Dinnella, C.; Cargaro, M.T.; Rossano, R.; Monteleone, E. Spectrophotometric assay using o-phtaldialdehyde for the determination of transglutaminase activity on casein. **Food Chemistry**, v.78, p.363-368, 2002.
- Diniz, F. M.; Martin, A. M. Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) muscle. **International Journal of Food Science and Technology**, v.31, n.5, p 419-426, 1996.
- Djendoubi, N., Boudrhioa, N., Binazzi, C., Kechaou, N. Drying of sardine muscles: Experimental and mathematical investigations. **Food and Bioproducts Processing**, v.87, p. 115-123, 2009.
- Dotto, G.L., Souza, V.C. Pinto, L.A.A. Drying of chitosan in a spouted bed: The influences of temperature and equipment geometry in powder quality. **LWT-Food Science and Technology**, v.44, p. 1786 – 1792, 2011.

- Duyar, H. A.; Eke, E. Production and Quality determination of marinade from different fish species. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 8, p. 270-275, 2009.
- Elias, R. J.; McClements, D.J.; Decker, E.A. Antioxidant activity of cysteine, tryptophan, and methionine residues in continuous phase beta-lactoglobulin in oil-water emulsions. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 10248-10253, 2005.
- Elias, R.J.; Kellerby, S.S.; Decker, E.A. Antioxidant activity of proteins and peptides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. V.48, p. 430-441, 2008.
- Erbay, Z.; Icier, F. A reviews of thin layer drying foods: theory, modeling, and experimental results. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, p. 441-464, 2010.
- FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirements. 1991. Disponível em: <http://www.fao.org/DOCREP/003/AA040E/AA040E08.htm#ch7.3> último acesso em: julho de 2011.
- FAO. Fish protein concentrate (FPC). Torry advisory note N.39. Disponível em: <http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5917E/x5917e01.htm> último acesso em julho de 2011.
- Fasina, O.; Sokhansanj, S.; Tyler, R. Thermodynamics of moisture sorption in alfafa pellets. **Drying Technology**, v. 15, p. 1553-1570, 1997.
- Fasina, O.O.; Ajibola, O.O.; Tyler, R.T. Thermodynamics of moisture sorption in winged been seed and gari. **Journal of Food Process Engineering**, v. 22, p. 405-418, 1999.
- Fasina O.O. Thermodynamics properties of sweetpotato. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 149-155, 2006.
- Fedderm ,V.; Furlong, E.B.; Soares, L.A.S. Efeito da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais do farelo de arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.800-804, 2007.
- Fedele, E.; Bergamo, P. Protein and lipid oxidative stresses during cheese manufacture. **Journal of Food Science**, v.66, p. 932-935, 2001.
- Fellows, P. **Food processing technology: principles and practice**. Second edition. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, p. 338, 2000.
- Finot, P.A. Influencing of processing on the nutritional value of proteins. **Plant foods for human nutrition**, v. 32, p. 439-453, 1983.

- Fischer, J.E.; Rosen, H.M.; Ebeid, A.M.; James, J.H.; Keane, J.M.; Soeters, P.B. The effect of normalization of plasma amino acids on hepatic encephalopathy in man. **Surgery**, v.80, p.77–91, 1976.
- Foh, M.B.K.; Amadou, I.; Foh, B. M.; Kamara, M.T.; Xia, W.; Functionality and Antioxidant Properties of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as Influenced the Degree of Hydrolysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v.11, p. 1851-1869, 2010.
- Foust, A.S.; Wenzel, L.A.; Clump, C.W.; Maus, L.; Anderson, L.B. **Princípios das Operações Unitárias**. 2ª ed. LTC, Rio de Janeiro, 1983.
- Fonkwe, L. G. & Singh, R. K. Protein recovery from mechanically deboned Turkey residue by enzymic hydrolysis. **Process Biochemistry**, v.31, n.6, p.605-616, 1996.
- Fortes, M.; Okos, M. R. Drying theories: Their bases and limitations as applied to food and grain, In: MUJUMDAR, A. **Advances in drying**, Washington, ed. Hemisphere Publishing Corporation. v. 1, p.119-154, 1980.
- Freire, J.T.; In: Freire, J.T; Sartori, T.D.J.M.; **Tópicos especiais em secagem**. Editora São Carlos, UFSCar, São Carlos, SP, v.1, p.43-81, 1992.
- Friedman, M. Nutritional value of proteins from different food sources: a review. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 44, p. 6-29, 1996.
- Furmaniak, S.; Terzyk, A.P.; Gołembiewski, R.; Gauden, P.A.; Czepirski, L. Searching the most optimal model of water sorption on foodstuffs in the whole range relative humidity. **Food Research International**, v.42, p. 1203-1214, 2009.
- Gabas A.L.; Menegalli, F.C.; Telis-Romero, J. Water sorption enthalpy-entropy compensation based on isotherms of plum skin and pulp. **Journal of Food Science: Food Engineering and Physical Properties**, v. 65, p. 680-684, 2000.
- Geankoplis, C. **Transport and Unit Operations**. 2<sup>nd</sup> Ed. Prentice-Hall International Inc. New Jersey, USA, 921p., 1983.
- Gildberg, A. Enzymic processing of raw materials. **Process Biochemistry**, v.28, n.11, p. 1-15, 1993.
- Girón-Calle, J.; Alaiz, M.; Millán, F.; Ruiz-Gutiérrez, V.; Vioque, E. Bound malonaldehyde in foods: Bioavailability of the N-2-propenals of lisina. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6194-6198, 2002.
- Govindaraju, K.; Srinivas, H.; Studies on the effects of enzymatic hydrolysis on functional and physico-chemical properties of arachin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, p. 54-62, 2006.

- Goulas, A.E.; Kontominas, M.G. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. **Food Chemistry**, v. 93, p. 511-520, 2005.
- Guan, X.; Yao, H.; Chen, Z.; Shan, L.; Zhang, M.; Some Functional properties of oat bran protein concentrate modified by tripsin. **Food Chemistry**, v.101, p. 163-170, 2007.
- Guérard, F.; Guimas, L.; Binet, A.; Production of tuna waste hydrolysates by commercial neutral protease preparation. **Journal of Molecular Catalysis**, v. 19, p. 489-498, 2002.
- Guillén-Sans, R.; Guzmán-Chozas, M. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 38, p. 315-350, 1998.
- Iglesias, H.A. Chirife, J. Isosteric heat of water vapor sorption on dehydrated foods. Part I. Analysis of the differential heat curves. . **LWT – Food Science and Technology**, v.9, p.116-122, 1976<sup>a</sup>.
- Iglesias, H.A., Chirife, J., Viollaz, P. Thermodynamics of water vapour sorption by sugar beet root. **Journal Food Technology**, v. 11, p. 91-101, 1976<sup>b</sup>.
- Hacihafizoglu, O.; Cihan, A.; Kahveci, K. Mathematical modeling of drying of thin layer rice. **Food and BioProducts Processing**, v. 86, p. 268-275, 2008.
- Hadrich, B.; Boudhrioua, N.; Kechaou, N. Drying of Tunisian sardine (*Sardinella aurita*) experimental study and three-dimensional transfer modeling of drying kinetics. **Journal of Food Engineering**, v.84, p. 92-100, 2008.
- Hamilton, R.J. **The chemistry of rancidity in foods**. In: Hamilton, R. J.; Allen, J. C. Rancidity in foods. 3th ed. London: Blackie Academic & Professional, 1-21, 1994.
- Harkins, W.D.; Levingston, H. K. Energy Relations of the surface solids. II Spreading pressure as related to the work of adhesion between a solid and a liquid. **Journal of Chemical Physics**, v.10, p. 342-356, 1942.
- Hęś, M.; Korczak, J.; Granza, A. Changes of lipid oxidation degrees and their influence on protein nutritive value of frozen meat products. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. V. 57, p. 323-328, 2007.
- Hęś, M.; Korczak, J.; Pyrcz, J.; kowalski, R. Influence of lipid stabilization on the retention of available lysine and methionine in stored raw polish sausage. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. V. 65, p. 19-25, 2009.

- Jacob Lopes, E.; Zepka, L.Q.; Pinto, L.A.A; Queiroz, M.A. Secagem da microalga *Aphanotece microscopia* Nägeli em leite de jorro. **Alimentos e Nutrição**, v.17, p.35-40, 2006.
- Kaya, S.; Kahyaoglu, T. Moisture sorption and thermodynamic properties of safflower petals and tarragon. **Journal of Food Engineering**, v.78, p, 413-421, 2007.
- Kaya, A.; Aydin, O.; Kolayli,S. Effect of different drying conditions on the vitamin C (ascorbic acid) content of Hayward kiwifruits (*Actinidia deliciosa Planch*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 165-173, 2010.
- Khraisheh, M.A.M.; Cooper, T.J.R.; Magee, T.R.A. Transport mechanisms of moisture during air drying process. *Food and Bioproducts Processing* v.75, p.34-40, 1997.
- Khury, A.I.; Cornell, J.A. **Response Surfaces**. 2<sup>nd</sup> Edition. New York, 1996.
- Kiranoudis, C.T.; Maroulis, Z.B.; Tsami,E.C.; Marinos-Kouris, D. **Drying Technology**, v. 15, p. 1399-1418, 1997.
- Kilinc, B. Microbiological, sensory and color changes of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) patties during refrigerated storage. **Journal of Muscle Foods**, v.20, p. 129-137.
- Klompong, V.; Benjakul, S.; Kantachote, D.; Shaidi, F. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow strip trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by degree of hydrolysis and enzyme type. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1317-1327, 2007.
- Konishi, Y.; Horiuchi, J.; Kobayashi, M. Dynamic evaluation of the dehydration response curves of food characterized by a poultice-up process using a fish paste sausage. II A new tank model for a computer simulation. **Drying Technology**, v. 19, p. 1271-1285, 2001.
- Kristinsson, H. G.; Rasco, B.; A. Fish protein hHydrolysates: production, biochemical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.40, p.43-81, 2000<sup>a</sup>.
- Kristinsson, H. G. & Rasco, B. A.; Kinetics of the Hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) Musle Proteins Hydrolyzed with Various Alkaline Proteases. **Process Biochemistry**, v.36, n. 1, p.131-139, 2000<sup>b</sup>.
- Krokida, M.K.; Founddoukidis, E.; Maroulis, Z. Drying constant: literature data compilation for foodstuffs. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p. 321-330, 2004.

- Lahl, W.J. & Braum, S. D. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. **Food Technology**, v.58, n.10, p. 68-71, 1994.
- Lastoskie, C.; Gubbins, K.E.; Quirke, N. Pore size distribution analysis of microporous carbons: a density functional theory approach. **Journal of Physical Chemistry**, v. 97, p. 4786-4796, 1993.
- Levine, R. L., Mosoni, L., Berlett, B. S., and Stadtman, E. R. Methionine residues as endogenous antioxidants in proteins. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v. 93, p. 15036–15040, 1996.
- Lewicki, P.P. Water as the determinant of food engineering properties. A review. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p. 483-495, 2004.
- Lima, I. D.; Castello, J. P. Distribution and abundance of South-west Atlantic anchovy spawners (*Engraulis anchoita*) in relation to oceanographic processes in the southern Brazilian shelf. **Fisheries Oceanography**, v.4, n.1, p.1-16, 1995.
- Lowry, O.H.; Resenbrought, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J. Protein measurement with the folin-phenol reagent, **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.
- Madamba, P.S.; Driscoll, R.H., Buckle, K.A. Enthalpy-Entropy compensation models for sorption and browning of garlic. **Journal of Food Engineering**, v. 28, p. 109-119, 1996.
- Madureira, L.S.P., Habiaga, R., Gonçalves, A.; Greig, A.; Duvoisin, A.; Soares, C.; Fuse, I.; Caldeira, F.; Carvalho, L.; Weigert, S.; Saldo, P.; Ferreira, C. Prospecção de recursos pesqueiros pelágicos por métodos hidroacústicos na plataforma, talude e região oceânica da costa central do Brasil. São Paulo, Série Documentos Revizee: Score Sul. Ed. Instituto Oceanográfico de São Paulo. 56p., 2004.
- Mahmoud, M. I. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. **Food Technology**, v.48, n.10, p.89-95, 1994.
- Massarani, G. **Fluidodinâmica em sistemas particulados**. Editora UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, 1997.
- Mathur, K. B.; Epstein, N. **Spouted beds**. Ed. Academic Press, New York, 304p. 1974.
- Mayta, S.M.A.; Massarani, G.; Pinto, J.C. Modeling of grain drying in continuous crossflow sliding bed dryers. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v.74, 1996.

- McCormick, P.Y.; Porter, H.F.; Lucas, R.L.; Wells, D.F. **Solids drying fundamentals**. In. PERRY, R.H. and CHILTON, C.H. Chemical engineer's handbook. McGraw Hill Book Company, 5 ed., section 21:1-16, 1983.
- McMinn, W.A.M.; Magee, T.R.A. Thermodynamic properties of moisture sorption of potato. **Journal of Food Engineering**, v. 60, p. 157-165, 2003.
- McMinn, W.A.M.; McKee, D.J.; Magee, T.R.A. Moisture adsorption behavior of oatmeal biscuit and oat flakes. **Journal of Food Engineering**, v.79; p. 481–493, 2007.
- Medeiros, M.F.D.; Alsina, O. L. S.; Rocha, S. C.; Jerônimo, C.; Escobabilidade de Leitos de Partículas Inertes com Polpa de Frutas Tropicais: Efeitos na Secagem em Leito de Jorro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.5, n.3, p.475-480, 2001.
- Medeiros, M.F.D.; Rocha, A.C.S.; Alsina, O.L.S.; Jerônimo, C.E.M.; Medeiros, U.K.L.; Mata, L.M.L. Drying of pulps tropical fruits in spouted bed: effect of composition on drying performance. **Drying Technology**, v. 20, p. 855-881, 2002.
- Menegalli, F.; Cunha, R.; Maialle, K. Evaluation of the drying process in spouted bed and spout fluidized bed of xanthan gum: focus on product quality. **Powder Technology**, v.107, p.234-242, 2000.
- Metcalf, L.D.A.A.; Schimitz, J.R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 38 p. 514-515, 1966.
- Mitropoulos. A.Ch. The Kelvin Equation. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.317, p. 643-648, 2008.
- Miyata, T., Endo, A., Ohmori, T., Akiya, T., Nakaiwa, M. Evaluation of pore size distribution in boundary region of micropore and mesopore using gás adsorption method. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.262, p. 116-125, 2003.
- Moore, S. On the determination of cystine as cysteic acid. **The Journal of Biological Chemistry**. v.238, p. 235-237, 1963.
- Moraes, K. Desenvolvimento de um processo de obtenção de proteína de anchoita (*Engraulis anchoita*) modificada enzimaticamente. 120p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande-RS, 2007.
- Moraes, M.A.; Rosa, G. S.; Pinto, L.A.A.; Moisture sorption isotherms and thermodynamics properties of apple Fuji and Garlic. **International Journal of Food Science and Technology**. V. 43, p.1824-1831, 2008.

- Moraes, K.; Miyasaki, E.K.; Feisther, V.A.; Ruiz, W.A.; Pinto, L.A.A. Sensory evaluation of dehydrated soup enriched with enzymatically modified anchovy muscle. 4<sup>th</sup> International Congress on Bioprocess in Food Industries – Curitiba – PR – Brazil. (05 to 08 october, 2010)
- Morr, C.V.; German, B.; Kinsela, J.E.; Regenstein, J.M.; Van Buren, J.P.; Kilara, A.; Lewis, B.A.; Magnino, M.E. Collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, v.50, p.1715–1718, 1985.
- Morrison, A.B.; McLaughlan, J.M. Variability in nutritional value of fish flour. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. V. 39, p. 511-517, 1961.
- Morrison, A.B.; Sabry, Z.I. Factors influencing the nutritional value of fish flour: II. Availability of lysine and sulphur amino acids. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. V. 41, p. 649-655, 1963.
- Mujumdar, A.S.; Huang, L.X. Global R&D needs in drying. **Drying Technology**, v. 25, p. 647-658, 2007.
- Mullaly, M. M.; O'Callaghan, D. M.; Fitzgerald, R. J.; Donnelly, W. J.; Dalton, J. P. Zymogen Activation in Pancreatic Endoproteolytic Preparations and Influence on Some whey Protein Characteristics. **Journal of Food Science**, v.60, n.2, p.227-233, 1995.
- Murueta, J.H.C.; Navarrete del Toro, M.A.; Carreño, F.G. Concentrates of fish protein from bycatch species produces by various drying process. **Food Chemistry**, v. 100, p. 705-711, 2007.
- Myers, R. H.; Montgomery, D. C. **Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments** (2nd ed.). New York: John Wiley & Sons, 2002.
- Nilsang, S.; Lertsiri, S.; Suphantharika, M.; Assavaning, A.; Optimization of hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. **Journal of Food Engineering**, v.70, p.571-578, 2005.
- Nielsen, H.K.; De Weck, D.; Finot, P.A.; Liardon, R.; Hurrell, R.F. Stability of tryptophan during food processing and storage. 1. Comparative losses of tryptophan, lysine and methionine in different model systems. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 281-292, 1985a
- Nielsen, H.K.; Löfliger, J.; Hurrell, R.F. Reactions of proteins with oxidizing lipids. 1. Analytical measurements of lipid oxidation and of amino acid losses in a whey

- protein-methyl linolenate model system. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 61-73, 1985b
- Nielsen, H.K.; Finot, P.A.; Hurrell, R.F. Reactions of proteins with oxidizing lipids. 2. Influence on protein quality and on the bioavailability of lysine, methionine, cyst(e)ine and tryptophan as measured in rat assays. **The British Journal of Nutrition**, v. 53, p. 75-86, 1985c
- Nielsen, P. M., Petersen, D., Dambmann, C. Improved method for determining food protein degree hydrolysis. *Journal of Food Science.*, v.66, p. 642-646, 2001
- Oetterer, M. Proteína do Pescado. Apostila do curso de graduação da ESALQ – Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição. "Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Proteinas%20pescado.pdf>> Último acesso em 28/01/2007.
- Oetterer M.; Furlan, F. E. Hidrolisado Protéico de Pescado. *Revista de Ciência e Tecnologia*, v.10, n.19, p.79-89, 2002.
- Ogawa, N. Y.; Maia, E. L. **Manual de pesca, Ciência e Tecnologia do Pescado**. São Paulo, Editora: Varela. 429p., 1999.
- Oliveira, I.M.; Passos, M.L. Simulation of drying suspension in a conical spouted bed. **Drying Technology**, v. 15, p. 593-604, 1997.
- Oliveira, E.G.; Rosa, G.S.; Moraes, M.A; Pinto L.A.A. Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. **Journal of Food Process Engineering**, 31, p.34–50, 2008.
- Oliveira, E.G.; Rosa, G.S.; Moraes, M.A; Pinto L.A.A. Moisture sorption characteristics of microalgae *Spirulina Platensis*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.26, p.189-197, 2009.
- Oliveira, E.G.; Duarte, J. H.; Moraes; K., Crexi, V.T.; Pinto, L.A.A. Optimization of *Spirulina platensis* convective drying: evaluation of phycocyanin loss and lipid oxidation. **International Journal of Food Science & Technology**, v.45, p. 1572-1578, 2010.
- Olley, J.; Watson, H. The "available lysine" content of fish meals. **Journal of the Science and Agriculture**. V. 12, p. 316-326, 1961.
- Ordóñez-Pereda, J.A. **Tecnologia de Alimentos e Processos**. Porto Alegre: Artmed, 294 p. v.1, 2005.
- Panyam, D., Kilara, A. Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. **Trends in Food Science and Technology**, v.7, p. 120-125, 1996.

- Panagiotou, N.M.; Krokida, M.K.; Maroulis, Z.B.; Saravacos, G.D. Moisture diffusivity: literature data compilation for foodstuffs. **International Journal of Food Properties**, v. 7, p. 273-299, 2004.
- Park, K.J. Diffusional model with and without shrinkage during salted fish muscle drying. **Drying Technology**, v. 16, p. 889-905, 1998.
- Passos, M.L.; Mujumdar, A.S. Effect of cohesive forces on fluidized and spouted bed of wet particles. **Powder Technology**, v. 110, p. 222-238, 2000.
- Pastous-Madureira, L.S., Castello, J.P., Prentice-Hernández, C., Queiroz, M.I., Espírito Santo, M.L., Ruiz, W.A., Raggi Abdallah, P., Hansen, J., Bertolotti, M.I., Manca, E., Yeannes, M.I., Avdalov, N. and Fernández Amorín, S. Current and potential alternative food uses of the Argentine anchoita (*Engraulis anchoita*) in Argentina, Uruguay and Brazil. In M.R. Hasan and M. Halwart (eds). Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. FAO **Fisheries and Aquaculture Technical Paper**. No. 518. Rome, FAO. p. 269–287, 2009.
- Pereira, A.A.F.; Tenuta-Filho, A. Avaliação de condições de consumo da sardinha (*Sardinella brasilienses*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 720-725, 2005.
- Pereira, N.R.; Godoi F.C.; Rocha, C.S. Drying of starch suspension in spouted bed drying with inert particles: physical thermal analysis of product. **Drying Technology**, v. 28, p. 1288-1296, 2010.
- Perry, R.H. Chemical engineers' handbook (6<sup>th</sup> ed). New York: McGraw-Hill, cap. 3 p. 43-80, 1984.
- Pham, Q.T.; Behavior of a conical spouted-bed dryer for animal blood. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v.61, n.3, p.426-434, 1983.
- Piche, L.A.; Cole, P.D.; Hadley, M.; Van den Berg, R.; Draper, H.H. Identification of (2-propenal) lysine as the main of malondialdehyde in food digesta. **Carcinogenesis**, v.9, p. 473-477, 1988.
- Pinto, L.A.A. Cinética de secagem de filés de peixe: uso de um modelo difusivo com variação de volume. UFSCar, São Carlos, SP, 1996, 154p. Tese de Doutorado.
- Pinto, L.A.A.; Tobinaga, S. Diffusive model with shrinkage in the thin layer drying of fish muscles. **Drying Technology**, v.24, p. 509-516, 2006.
- Polatoglu, B., Beşe, A.V.; Kaya, M., Aktaş, N. Moisture adsorption isotherms and thermodynamics properties of sucuk (Turkish dry-fermented sausage), **Food and Bioproducts Process**, doi:10.1016/j.fbp.2010.06.003, 2010.

- Pons-Sánchez-Cascado, S., Vidal-Carou, M. C., Nunes, M. L., Vecina-Nógués, M. T. Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. **Food Control** v. 17, p. 564-569, 2006.
- Reyes, A. E.; Massarani, G. Secado de pastas em lecho de chorro. In: ENCONTRO SOBRE ESCOAMENTO EM MEIOS POROSOS, 19, 1991, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, v.1, p. 406-418, 1991
- Rizvi, S.S.H., Benado, A.L. Thermodynamics properties of dehydrated foods. **Food Technology**, v. 38, p. 83-92, 1984.
- Rizvi, S.S.H. **Thermodynamics of foods in dehydration**. In: Engineering properties of food (Rao, M.A.; Rizvi, S.S.H.; Eds), p. 133-1-214. New York, USA, Marcel Decker, 1986.
- Rizvi, S.S.H. Thermodynamics properties of foods in dehydration. In: Rao M.A., Rizvi S.S.H. (eds), Engineering properties of foods. New York : Academic Press. P. 223-309, 1995.
- Rodrigues, A.M.C.; Tobinaga, S. Secagem de suspensão protéica de peixe em leite de jorro: propriedades funcionais. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.3, p.31-36, 2001.
- Rosa, G.S.; Moraes, M.A.; Pinto, L.A.A. Moisture Sorption properties of chitosan. **LWT – Food Science and Technology**, v.43, p. 415-420, 2010.
- Sablani, S.S.; Rahman, M.S. Special issue: Quality of dried foods na biomaterials. **Drying Technology**, v. 23, p. 693, 2005.
- Samaranayaka, A.G.P.; Li-Chan, E.C.Y. Autolysis-assisted production of fish protein hydrolysates with antioxidant properties from Pacific hake (*Merluccius productus*) **Food Chemistry**, v. 107, p. 768-776, 2008.
- Shaidi, F.; Synowiecki, J.; Balejko, J. Proteolytic Hydrolysis of Muscle Protein of Harp Seal (*Phoca groenlandica*). **Journal Food Agriculture and Chemistry**, v.42, n.11, p.2634-2638, 1994.
- Shahidi, F.; Han, X. Q.; Synowiecki, J. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). **Food Chemistry**, v.53, p. 285-293, 1995.
- Shahidi, F.; Kamil, Y. V. A. J. Enzymes from fish aquatic invertebrates and their application in the food industry; **Trends in Food Science & Technology**, v.12, n.12, p.435-464, 2001.

- Shuhana, I.K.; Aguiar, M.L.; Oliveira, W.P.; Freitas, L.A.P. Experimental production of annatto powders in spouted bed dryer. **Journal of Food Engineering**, v. 59, p. 93-97, 2003.
- Silveira, C.M. & Furlong. E.B. Caracterização de compostos nitrogenados presentes em farelos fermentados em estado sólido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, V.27, p. 805-811, 2007.
- Singh, R.B.B.; Rao, K.H.; Anjaneyulu, A.S.R.; Patil, G.R. Moisture sorption properties of somoked chicken sausages from spent hen meat. **Food Research International**, v. 34, p. 143 – 148, 2001.
- Singh, R.B.B.; Rao, K.H.; Anjaneyulu, A.S.R.; Patil, G.R. Water desorption characteristics of raw goat meat: Effect of temperature. **Journal of Food Engineering**, v.75, p. 226-236, 2006.
- Sinha, R.; Radha, J.; Kaul, P.; Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, v. 101,p. 1484-1491, 2007.
- Souza, C. R. F.; Oliveira, W. P. Drying of herbal extract in a draft-tube spouted bed. The Canadian **Journal of Chemical Engineering**, v. 87, p.279-288, 2009.
- Spackman, D.H.; Stein, W.H.; Moore, S.; Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Analytical Chemistry** v.30, p.1190-1206, 1958.
- Spies, J. R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**. v.39, p.1412-1415, 1967.
- Spintzer Neto, P.I.; Cunha, F.O.; Freire, J.T. Effect of presence of paste in conical spouted bed dryer with continuous feeding. **Drying Technology**, v. 20, p. 789-811, 2002.
- Strumillo, C.Z.; Kudra, T. Drying: Principles, Application and Design. In Hughes, R. Topics in Chemical Engineering. v.3, UK; Gordon and Breach Science Publisher, 1986.
- Taruna, I.; Jindal, V. Drying soy pulp (Okara) in bed of particles. **Drying Technology**, v.20, p. 1035-1051, 2002.
- Teng, D.; Fang, Y.; Song, X.; Gao, Y. Optimization of enzymatic hydrolysis parameters for antioxidant capacity of peptide from goat placenta. **Food and Bioproducts Processing**. V. 89, p. 202-208, 2011.

- Timmermman, E.O.; Chirife, J.; Iglesias, H.A. Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? **Journal of Food Engineering**, v.48, p. 19-31, 2001.
- Togrul, H., Arslan, N. Moisture sorption isotherm and thermodynamic properties of walnut kernels. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 252-264, 2007.
- Tunç, S. e Duman, O. Thermodynamic properties and moisture adsorption isotherms of cottonseed protein isolate and different forms of cottonseed samples. **Journal of Food Engineering**, v.81, p. 133-143, 2007.
- Turban, S.; Ustun, N.S.; Temiz, H. Lipid quality of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) fillets affected by different cooking methods. **International Journal of Food Properties**, *In Press*. DOI: 10.1080/10942911003672159, 2011.
- Usydus, Z.; Szilnder-Richert, J. Functional properties of fish and fish products: A review. **International Journal of Food Properties**, *available on line*, DOI: 10.1080/10942912.2010.503356.
- Van den Berg C.; Bruin, S. Water activity and its estimation in food systems. In: Rockland, L.B., Stewart, F. (Eds), **Water activity: Influence on food quality**. Academic Press, New York, p. 147-177, 1981.
- Vega-Gálvez, A.; Andrés, A.; Gonzales, E.; Notte-Cuello, E.; Chacana, M.; Lemus-Mondaca, R. Mathematical modelling on the drying processo f yellow squat lobster (*Cervimunida jhoni*) fishery waste for animal feed. **Animal Feed Science and Technology**. V. 151, p. 268-279, 2009.
- Vega-Gálvez, A.; Miranda, M.; Clavería, R.; Quispe, I.; Vergara, J.; Uribe, E.; Paez, H.; Di Scala, K. Effect of air temperature on drying kinetics and quality characteristicsof osmo-treated jumbo squid (*Dosidicus gigas*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 16-23, 2011.
- Vivanco, M.M.; Taboada, O.M. Thermodynamic behavior of fish meal during adsorption. **Drying Technology**, v. 16, p. 1827-1842, 1998.
- Vyncke, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v.72, p.1084-1087, 1970.
- Wachiraphansakul, S; Devahastin, S. Drying kinetics and quality of okara dried in a jet spouted bed of sorbent particles. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, p. 207-219, 2007.

- Wang, C.; Xue, C.; Liu, Y.; Lou, W.; Chen, X. Utilization of fish protein and oil from anchovy (*Engraulis japonicus*). **Asian Fisheries Science**, v. 9, p. 201-208, 1996.
- Wang, Y.; Zhang, M.; Mujumdar, A.S. Trends in processing technologies for dried aquatic products. **Drying Technology**, v. 29, p. 382-394, 2011.
- Wu, H.C.; Chen, H.M.; Shiau, C.Y. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). **Food Research International**, v. 36, p. 949-957, 2003.
- Yanar, Y.; Fenercioglu, H. The utilization of carp (*C. carpio*) flesh as fish ball. **Turkish Journal of Veterinary Animal Science**. 23, 361–365, 1998.
- Yanniotis S.; Blahovec, J. Moisture analysis of sorption isotherms. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 1688-1695, 2009.
- Yeannes, M. I. & Almandos, M. E.; Estimation of fish proximate composition starting from water content. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p.81–92, 2003.
- Yeannes, M. I. Aspectos Tecnologicos, Fisicoquimicos, Nutricionales y Sensoriales en Conservas y Preservas de anchoita (*Engraulis anchoita*). Curso Workshop Cytel Internacional: Sobre Alternativas Tecnológicas para o Aproveitamento de anchoita e cefalópodes – Rio Grande - Brasil, 2 - 4 setembro, 2004.
- Yerlikaya, P., Gokoglu, N., Uran, H. Quality changes of fish patties produced from anchovy during refrigerated storage. **European Food Research Technology**, v.220, p.287-291, 2005.

## CAPÍTULO VI

---

(APÊNDICE)

## 6 APÊNDICE

### ARTIGO 1

Tabela 1: Valores de atividade de água, para várias concentrações de ácido sulfúrico, em diferentes temperaturas.

Concentração H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (kg/kg)	Temperatura			
	50 °C	60 °C	70 °C	80 °C
	aw			
0,20	0,888	0,890	0,885	0,884
0,25	0,829	0,830	0,834	0,830
0,30	0,770	0,776	0,770	0,768
0,35	0,681	0,682	0,680	0,687
0,40	0,582	0,584	0,590	0,594
0,45	0,483	0,488	0,496	0,504
0,50	0,380	0,388	0,395	0,402
0,55	0,281	0,287	0,297	0,304
0,60	0,189	0,196	0,205	0,212
0,65	0,110	0,124	0,124	0,132
0,70	0,055	0,061	0,066	0,073

### ARTIGO 2

Tabela 2: Concentração de proteína para determinação da AAE dos filés in natura e desidratados.

Amostra	Concentração (mg <sub>ptna</sub> /mL)
50°C_PC	0,55±0,08
50°C_PB	0,63±0,07
50°C_PB 2L	0,61±0,05
60°C_PC	0,61±0,07
60°C_PB	0,80±0,10
60°C_PB 2L	0,68±0,09
70°C_PC	0,65±0,06
70°C_PB	0,58±0,08
70°C_PB 2L	0,64±0,11
<i>in natura</i>	0,63±0,04

Média±erro padrão (n=6)

## ARTIGO 3

Tabela 3: Solubilidade e concentração de proteína para determinação da AAE da pasta modificada úmida e desidratada.

Experimento	X <sub>1</sub> Temperatura	X <sub>2</sub> Espessura	Solubilidade (%)	Concentração (mg <sub>ptna</sub> /mL)
1	-1	-1	45,2±1,1	0,70±0,01
2	-1	0	49,1±1,3	0,74±0,01
3	-1	1	48,2±1,1	0,74±0,01
4	0	-1	48,2±1,4	0,74±0,01
5	0	0	47,4±1,2	0,69±0,01
6	0	1	44,2±0,9	0,72±0,01
7	1	-1	43,3±1,4	0,67±0,01
8	1	0	45,9±1,1	0,69±0,01
9	1	1	44,8±1,3	0,72±0,01
Pasta úmida	-	-	39,1±1,1	0,77±0,02

Média±erro padrão (n=6)

## ARTIGO 4

Tabela 4: Solubilidade e concentração de proteína para determinação da AAE da SPME e do produto desidratado.

Exp.	X <sub>1</sub> T	X <sub>2</sub> [ ]	X <sub>3</sub> V	Solubilidade (%)	Concentração (mg <sub>ptna</sub> /mL)
1	-1	-1	-1	78,1±1,8	0,67±0,03
2	-1	-1	1	77,3±2,1	0,66±0,04
3	-1	1	-1	77,7±1,2	0,67±0,02
4	-1	1	1	76,5±1,0	0,65±0,06
5	1	-1	-1	80,3±0,9	0,68±0,08
6	1	-1	1	79,9±1,8	0,68±0,03
7	1	1	-1	79,4±1,1	0,67±0,07
8	1	1	1	80,2±0,9	0,68±0,04
9	-1	-1	0	77,4±1,4	0,67±0,02
10	-1	1	0	76,9±1,1	0,64±0,08
11	1	-1	0	79,7±0,8	0,68±0,09
12	1	1	0	79,1±1,9	0,67±0,07
13*	-1	-1	1	78,0±1,7	0,66±0,04
14*	-1	-1	1	77,2±1,2	0,67±0,06
SPME				62,3±2,3	0,71±0,11

Média±erro padrão (n=6)

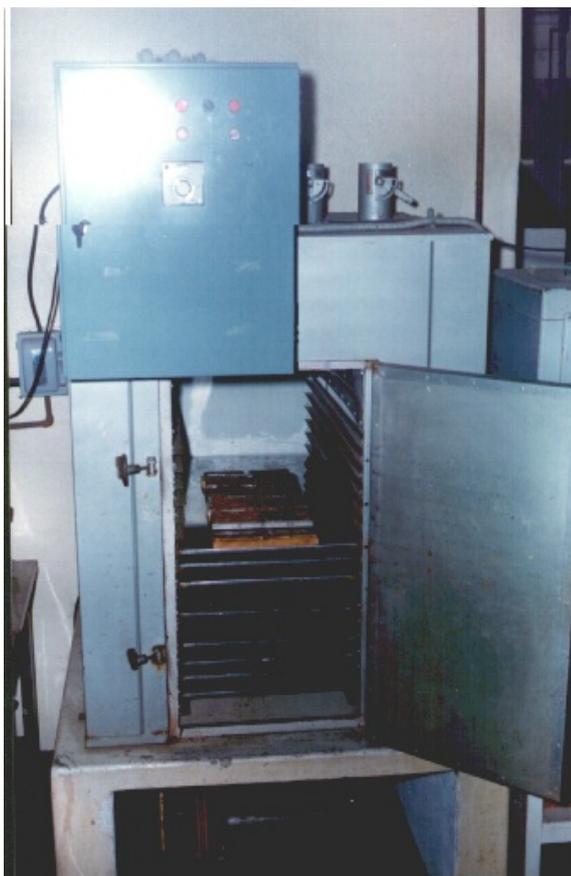


Figura 1: Secador bandejas.



Figura 2: Secador leito de jorro.

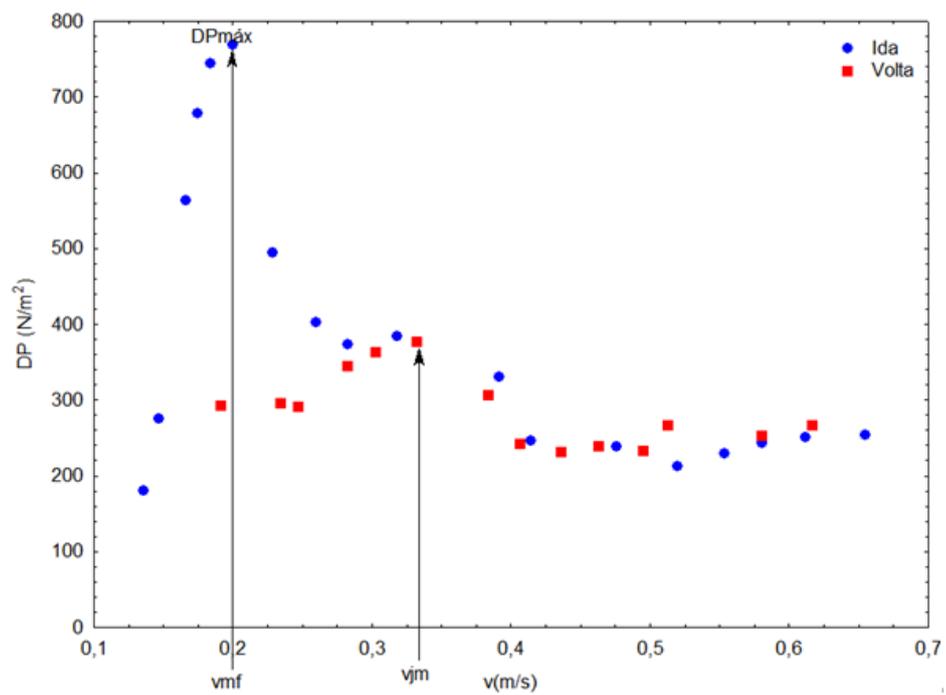


Figura 3: Curva fluidodinâmica do leito de jorro.



Figura 2: MMED90