

Hidrolisados enzimáticos como suplementos alimentares



<https://doi.org/10.56238/tecnolocienagrariabiosoci-038>

Ana Luiza Furtado Almeida

Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Campus Universitário de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Rua Badejos, chácaras 69/72, Gurupi-TO

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1072-0727>

Gabriel Nascimento Ciribelli

Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Campus Universitário de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Rua Badejos, chácaras 69/72, Gurupi-TO

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-7794-0831>

Kymbely Kaylany Ribeiro de Medeiros

Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Campus Universitário de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Rua Badejos, chácaras 69/72, Gurupi-TO

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0085-0010>

Leticia Oliveira Santana

Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Campus Universitário de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Rua Badejos, chácaras 69/72, Gurupi-TO

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-9532-2744>

Luciana Pereira Araujo

Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Campus Universitário de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Rua Badejos, chácaras 69/72, Gurupi-TO

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-8030-4757>

Erika Carolina Vieira-Almeida

Farmácia, Universidade de Gurupi, Rua Guanabara, Gurupi-TO

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0714-9775>

Roze Anne Ferreira Lima

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Universitário de Palmas, Universidade Federal do Tocantins, Avenida NS 15, ALCNO-14, Palmas-TO

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3518-2911>

Catarina Francisca Morais Lima

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Universitário de Palmas, Universidade Federal do Tocantins, Avenida NS 15, ALCNO-14, Palmas-TO

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5748-3478>

Alex Fernando de Almeida

Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Campus Universitário de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, Rua Badejos, chácaras 69/72, Gurupi-TO

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Universitário de Palmas, Universidade Federal do Tocantins, Avenida NS 15, ALCNO-14, Palmas-TO

E-mail: alexfernando@mail.uft.edu.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5391-4621>

RESUMO

Hidrolisados enzimáticos são os produtos obtidos pela hidrólise proteica, que quebram ligações peptídicas, gerando peptídeos de diferentes tamanhos e aminoácidos livres. Os peptídeos podem ser obtidos por fontes como animais, plantas e microrganismos. A partir dessas, a bioatividade adquirida através da hidrólise agrega maior valor ao hidrolisado. Dentre as propriedades bioativas, destacam-se os efeitos antioxidante e antibacteriano, que contribuem para a saúde humana e preservação dos alimentos. A composição química varia em função do substrato, das condições de hidrólise e da purificação aplicada. Quando as proteínas são hidrolisadas, aumentam sua solubilidade e digestibilidade, podendo facilitar a absorção de nutrientes, pois os peptídeos e aminoácidos resultantes são geralmente de tamanho menor e mais facilmente absorvidos pelo trato gastrointestinal. Os hidrolisados são de extrema importância e por isso muito explorados pela indústria alimentícia, que pode utilizá-los para o melhoramento de texturas, aumento do valor nutricional e até mesmo realçar o sabor.



1 INTRODUÇÃO

Hidrolisados enzimáticos são produtos obtidos pela hidrólise de proteínas por enzimas proteolíticas que quebram ligações peptídicas e geram peptídeos de diferentes tamanhos e aminoácidos livres. Devido às suas propriedades funcionais, nutricionais e bioativas esses produtos possuem diversas aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética. Dentre as propriedades bioativas dos hidrolisados enzimáticos destacam-se os efeitos antioxidante e antibacteriano que contribuem para a saúde humana e preservação dos alimentos (SCHEUERMANN et al., 2019).

Os efeitos antioxidantes dos hidrolisados enzimáticos estão relacionados à sua capacidade de doar elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, espécies reativas que causam danos celulares e estão envolvidos em processos inflamatórios, degenerativos e carcinogênicos. Além disso, os hidrolisados enzimáticos podem quelar metais, inibir oxidases e aumentar a atividade de enzimas antioxidantes endógenas. O efeito antimicrobiano dos hidrolisados enzimáticos reside na sua capacidade de interagir com as membranas das células microbianas, modificar a sua permeabilidade e provocar a sua lise. No entanto, os produtos da hidrólise enzimática inibem a síntese de proteínas, ácidos nucleicos e da parede celular microbiana (BARBOSA et al, 2010).

Existem diferentes tipos de hidrolisados enzimáticos dependendo da fonte de proteína, tipo de enzima, condições de hidrólise e grau de hidrólise. O grau de hidrólise é uma medida do grau de clivagem da ligação peptídica que afeta as propriedades físico-químicas e biológicas do hidrolisado. Os hidrolisados enzimáticos podem ser obtidos de origem animal ou vegetal, sendo as fontes animais mais comumente utilizadas leite, colágeno, soro de leite e peixe (CENTENARO et al, 2009).

Os hidrolisados enzimáticos são considerados superiores aos hidrolisados químicos ou térmicos devido à sua maior seletividade, menor formação de subprodutos indesejados, menor alteração das propriedades organolépticas e melhor preservação da atividade biológica. Além disso, os hidrolisados enzimáticos podem ser regulados selecionando a enzima apropriada para cada fonte de proteína e para a finalidade apropriada. Os biocatalisadores mais utilizados para a produção de hidrolisados são as proteases, que podem ser classificadas como endopeptidases ou exopeptidases dependendo do sítio de ação da cadeia peptídica. As endopeptidases clivam as ligações terminais das cadeias peptídicas, produzindo peptídeos menores ou aminoácidos livres (HOOPER, 2002).

A indústria tem utilizado cada vez mais os hidrolisados enzimáticos como suplementos alimentares devido às suas vantagens como maior digestibilidade, melhor absorção intestinal, maior valor nutricional e maior bioatividade. O hidrolisado enzimático pode ser usado como suplemento para idosos, atletas, recém-nascidos e pacientes com limitações de proteínas ou aminoácidos (NEVES et al, 2004). Os hidrolisados enzimáticos podem ainda fornecer aminoácidos essenciais, que o corpo não pode sintetizar e deve obter através da dieta, e aminoácidos condicionalmente essenciais, que o corpo pode sintetizar, mas pode tornar-se deficiente em situações de estresse ou doença, mas eles são



peptídeos bioativos, que são peptídeos que têm efeitos fisiológicos específicos, além da nutrição, também podem ser fornecidos. Os hidrolisados enzimáticos são, compreensivelmente, produtos de grande interesse para a indústria e para a saúde humana devido às suas propriedades funcionais, nutricionais e bioativas que auxiliam na prevenção e tratamento de diversas doenças, bem como na melhoria da qualidade de vida (BIASUTTI et al, 2008).

2 FONTES DE HIDROLISADOS ENZIMÁTICOS PARA USO ANIMAL E HUMANO

As proteínas são uma importante fonte de hidrolisados por conter peptídeos com atividades biológicas. Esses peptídeos bioativos são codificados em sequências de proteínas e liberados através da proteólise enzimática, que ocorre na digestão gastrointestinal ou por hidrólise *in vitro* utilizando enzimas. Os peptídeos podem ser obtidos por fontes alimentares, como animais, plantas, microrganismos e seus produtos ou por recursos marinhos, como algas e frutos do mar (XIE et al., 2019).

Os peixes são uma fonte de proteínas importante na área de suplementação alimentar. As enzimas proteolíticas são capazes de solubilizar a proteína do peixe e produzir hidrolisados enzimáticos de duas frações: insolúvel, que pode ser usada como ração animal; e solúvel, onde está presente a proteína hidrolisada, sendo empregada como ingrediente alimentar. Ao desidratar o hidrolisado solúvel, também é possível obter um produto rico em proteínas, em pó e mais estável (OVISSIPOUR et al., 2012). Grandes quantidades de peixe de baixo valor e de pequeno tamanho oriundo das fábricas de processamento são utilizados para alimentação animal ou apenas descartados como resíduos, por não haver tentativas de recuperação dos nutrientes, acabam causando distúrbios no meio ambiente. Resíduos de pesca contêm ácidos graxos ômega 3 e são ricos em proteínas e moléculas bioativas, mas esses resíduos são descartados em muitos países, enquanto pesquisas indicam o potencial uso para produzir produtos de maior valor agregado (KAUR et al., 2021).

Das fontes aquáticas possíveis de se obter hidrolisados enzimáticos para a suplementação alimentar, uma fonte que contém alto valor biológico e muito utilizada na indústria alimentícia são as microalgas comestíveis. Elas agregam valor por conter substâncias como proteínas, aminoácidos, antioxidantes, vitaminas, minerais e ácidos graxos. As algas possuem alto nível de proteína e algumas espécies chegam a ter o mesmo teor proteico de carnes, ovos, soja e leite (BLEAKLEY & HAYES, 2017). As microalgas apresentam-se como fonte de peptídeos bioativos, com elevado potencial de aplicação em indústrias de alimentos, farmácia e cosméticos (CUNHA e PINTADO, 2022).

Pesquisas foram realizadas ao longo dos anos com o objetivo de identificar o potencial dos peptídeos através da caracterização dos hidrolisados, como a possível ação antioxidante e antimicrobiana, com a finalidade de aplicar essas propriedades na indústria de alimentos (Tabela 1).



Tabela 1. Fontes aquáticas de hidrolisados enzimáticos.

Substrato	Enzima	Condições estudadas		Ação principal do hidrolisado	Autores
		T (°C)	pH		
Camarão (<i>Heterocarpus reedi</i>)	Flavourzyme	30	7	Antioxidante em ração de peixe	LEIVA-PORTILLA et al., (2023)
Atum amarelo (<i>Thunnus albacares</i>)	Alcalase	50	8,5	Nutriente em ração	PHAM et al. (2021)
Mexilhão azul (<i>Mytilus edulis L.</i>)	Protease neutra	50	7,5	Regeneração e formação óssea	QIAO et al. (2023)
Microalga (<i>Arthrospira platensis</i>)	Papaína, Ficina, Pepsina e Alcalase	90	7,0	Antioxidante	VILLARO et al. (2023)
Ossos, carcaça e barbatanas de <u>tilápia do Nilo</u> (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Alcalase	42-58	7,2-8,8	Inibição da acetilcolinesterase	MOREIRA et al. (2022)
Farinha de peixe de atum (<i>Thunnus sp.</i>)	Alcalase e Novozym	60	8,0	Antioxidante	BAREA et al. (2023)
Gelatina de peixe	Pancreatina	50	8,0	Antioxidante	LE et al. (2023)

As proteínas alimentares são uma fonte proteica de alta qualidade por serem um ingrediente natural em alimentos funcionais. São proteínas derivadas de plantas e animais, como carne, leite, ovo, peixe, soja, trigo, entre outros. Com relação à fonte proteica animal, o elevado teor nutricional



encontrado nas proteínas do soro de leite bovino transformou o soro em um substrato de alto valor para as indústrias de alimentos (DULLIUS et al., 2018).

Um subproduto de procedência animal que se origina de uma grande demanda humana e é descartado por não haver uma recuperação são os resíduos da bovinocultura. As indústrias de alimentos vêm buscando aplicar diferentes tecnologias para converter essa matéria prima em produtos com valor agregado. O coproduto originado do gado apresenta alta qualidade proteica, as quais podem ser hidrolisadas por proteases para que sejam obtidos peptídeos bioativos, com funções nutricionais e terapêuticas, em especial para aplicação em produtos lácteos. Com relação a utilização desses hidrolisados do gado em ração animal, o objetivo é obter ingredientes mais baratos para melhorar o ganho de peso e a produção de leite (KAUR et al., 2021).

As aves também apresentam uma fonte proteica que contém alta quantidade de aminoácidos essenciais, sendo importante fonte antioxidante. Os subprodutos compõem cerca de 30% do peso corporal total e são em sua maioria descartados, contudo, são ricos em enzimas proteolíticas e em proteínas. Com isso, pesquisas sobre os peptídeos em hidrolisados de aves possuem potencial na suplementação alimentar, tanto humana quanto animal (KAUR et al., 2021). A Tabela 2 apresenta estudos que utilizaram diferentes fontes de origem animal para produzir hidrolisados e apresentaram potencial uso na suplementação alimentar humana e/ou animal.

Tabela 2: Fontes animais de hidrolisados enzimáticos.

Substrato	Enzima	Condições estudadas		Ação principal do hidrolisado	Autores	
		T (°C)	pH			
Soro do leite	Alcalase	65	8,5	Agente antioxidante e retentor de água	KONG et al. (2023)	
Sangue suíno	Protease	55	5,2	Suplementação alimentar	RESENDE et al. (2023)	
Carne de foca	Alcalase	25	7,5	Suplementação alimentar e antioxidante	ZHANG et al. (2022)	
Leite de cabra	Alcalase	60	6,8	Antioxidante	MAGALHÃES et al. (2022)	



Leite de vaca e camelo	Alcalase e Pronase E	50	7,0	Anti-hipercolesterêmico	MUDGIL et al. (2022)	
Osso bovino	Protease alcalina	50	5,0	Pré-tratamento para melhorar a eficiência enzimática	YAO et al. (2020)	
Casca de ovo	Protease extraída de <i>Pseudomonas</i>	45-50	7,0-8,0	Eliminação de radicais livres	SHINJI et al. (2019)	

A aplicação e o consumo de proteínas derivadas de animais com alto custo nas indústrias elevaram as emissões de gases do efeito estufa, diminuição da biodiversidade e a degradação climática. Com isso, a utilização de proteínas de fonte vegetal apresenta-se como possível substituto, por exemplo proteínas do amendoim, noz, soja e feijão (LIU et al., 2022). As plantas apresentam uma rica fonte de peptídeos bioativos antimicrobianos, que possibilitam o aumento da vida útil dos produtos. A utilização de peptídeos derivados das plantas para a indústria de alimentos pode prolongar o tempo de prateleira dos produtos ao desacelerar a deterioração de alimentos frescos, ou produtos à base de carne que estão sujeitos a peroxidação lipídica (RIVERO-PINO et al., 2023).

As indústrias de processamento de farinhas de matérias primas originadas de vegetais apresentam um potencial na identificação de compostos eficazes para desenvolver produtos que podem ser utilizados como fonte de energia, com aminoácidos regulatórios das propriedades físico-químicas dos alimentos e mais acessíveis, por meio de novas tecnologias de alta eficiência. Ao comparar o hidrolisado de plantas com a proteína bruta, observa-se que as propriedades fisiológicas e o rendimento são melhores no produto que passou pela hidrólise. Isso ocorre devido a liberação dos peptídeos bioativos da proteína bruta no processo da hidrólise enzimática (KAUR et al., 2021). A Tabela 3 apresenta algumas das fontes vegetais recentes que foram estudadas para suplementação animal e humana.

Tabela 3. Fontes vegetais de hidrolisados enzimáticos.

Substrato	Enzima	Condições estudadas		Ação principal do hidrolisado	Autores	
		T (°C)	pH			



Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Pepsina (P7000)	37	8,0	Conservante de carne	SAAD et al. (2020)	
Arroz integral	Celulase	40	4,5	Melhoramento da qualidade de alimentos congelados à base de amido	LU et al. (2023)	
Feijão mungo	Neutrase, Papaína, Protamex e Flavourzyme	50	7,0	Antioxidante	LIU et al. (2022)	
Semente de Coix e flor de <i>Crisântemo morifolium</i>	Amilase e Protease	55	7,0	Bebida com potencial anti-inflamatório	RAO et al. (2023)	
Batata	Alcalase, Neutrase e Flavourzyme	50	8,0; 6,0 e 7,0	Suplementação alimentar	LIU et al. (2023)	
Soja	Neutrase	47	6,9	Suplementação alimentar e realçar sabores	GUO et al., (2018)	

Ainda há mais uma fonte para o desenvolvimento de hidrolisados amplamente estudada, os microrganismos, como algas, protozoários, fungos e bactérias. Os mais estudados são os fungos comestíveis e as algas. As algas foram citadas anteriormente como fonte aquática, contudo são pertencentes ao reino Protista e também se enquadram no grupo dos microrganismos. As microalgas possuem uma biomassa com capacidade de acumular proteínas, carboidratos e lipídios, o que possibilita a produção de uma abrangente gama de bioprodutos aplicáveis na indústria alimentícia e reaproveitamento dos resíduos através da hidrólise enzimática (ROJO et al., 2021). Os fungos comestíveis, os cogumelos, apresentam uma variedade de componentes, como proteínas, polissacarídeos, compostos medicinais e biofuncionais. Geram subprodutos que geralmente são descartados como resíduos de cozinha, mas o potencial uso desse subproduto pode aumentar o valor e melhorar a margem de lucro das empresas de processamento (YU et al., 2020).



A partir dessas fontes, a bioatividade obtida através da hidrólise enzimática agrega maior valor ao hidrolisado (CRUZ-CASAS et al., 2021; LEMES et al., 2016). A bioatividade descrita sobre peptídeos originados de alimentos são diversas. Alguns exemplos são as atividades antioxidante, anti-hipertensivo, antidiabético, ansiolítico, imunomodulador e anti-inflamatório, assim como também podem exercer atividade antimicrobiana, onde previnem doenças transmitidas por alimentos e a deterioração dos alimentos (AHMAD et al., 2023; NAGAOKA et al., 2021; RIVERO-PINO et al., 2020; SANTOS-SÁNCHEZ et al., 2022; KIM et al., 2013; SHARMA et al., 2022). A bioatividade que o peptídeo apresenta depende de sua estrutura, composição e sequência. O fator mais relevante para a escolha da proteína que irá liberar os peptídeos está relacionado a composição proteica, em associação às sequências determinadas, e a partir de uma enzima as proteínas liberam sequências específicas de aminoácidos. A partir da análise das possíveis fontes e suas propriedades, torna-se possível a produção de hidrolisados enzimáticos (AGUILAR-TOALÁ et al., 2019).

3 OBTENÇÃO E PRODUÇÃO DE HIDROLISADOS ENZIMÁTICOS

Como observado anteriormente, existem diferentes fontes para obtenção de hidrolisados enzimáticos, assim como diferentes métodos para obter e produzir. A hidrólise de proteínas pode ser realizada através da fermentação microbiana, hidrólise ácida, alcalina ou enzimática, onde afetam a aparência, sabor, dissolução e desempenho dos hidrolisados (SILA et al., 2014). Ao comparar as técnicas, o tratamento com enzima é mais vantajoso por atuar em condições mais brandas de pH, temperatura e por sua alta especificidade. O produto da hidrólise enzimática é mais consistente e não gera subprodutos, quando comparado aos outros tratamentos (ALAHMAD et al., 2022; NASRABADI et al., 2021).

As enzimas proteolíticas catalisam de forma específica a hidrólise de proteínas, onde ocorre a quebra da estrutura proteica e modificação ou aprimoramento das propriedades funcionais, biológicas e nutricionais (DE HOLANDA e Netto, 2006). Os hidrolisados, em especial os peptídeos bioativos, apresentam um valor potencial em comparação com as proteínas brutas, o que gera possibilidades comerciais para a reutilização de resíduos de pescados (ZOU et al., 2016).

Segundo o trabalho de Leiva-Portilla et al. (2023), proteínas extraídas dos resíduos de camarão podem ser utilizadas como ingredientes em ração animal e com a hidrólise enzimática por Flavourzyme, uma protease, é possível agregar maior valor ao hidrolisado, por apresentar propriedades antioxidantes. A extração proteica ocorreu em um agitador orbital, e foram posteriormente imersos em banho maria. Realizaram a avaliação do grau de hidrólise (DH) e a capacidade antioxidante (NIELSEN et al., 2001). Os dois testes demonstraram que dependendo da protease utilizada no processo, apresentam diferentes produtos. O trabalho demonstra um potencial conversão de resíduos de camarão em produtos de alto valor, através da hidrólise dos resíduos de camarão.



Os hidrolisados da proteína de peixe apresentaram atividades biológicas devido à ação de peptídeos bioativos, como antioxidante, antimicrobiana e imunomodulador (HOLLEN et al., 2016). Sendo usado em ração animal e como ingrediente alimentar, pesquisas foram realizadas para investigar diferentes formas de obtenção de hidrolisados enzimáticos provenientes da proteína de peixe. Um estudo de Pham et al. (2021) investigou a forma de suplementação enzimática de farinha do subproduto de aves (PB) e hidrolisado de atum (TH), onde modula o crescimento, nutrição e fisiologia do peixe, *Trachinotus blochii*. Prepararam o hidrolisado de peixe a partir dos resíduos das vísceras de atum, *Thunnus albacares*, em seguida, realizaram testes com diferentes dietas estudadas anteriormente. Ao final do estudo, identificou-se que a incorporação do TH aumentou significativamente a taxa de crescimento, ingestão de ração e o peso corporal final, assim como o nível de glicose no sangue foi reduzido pelo uso do TH, o que melhora a saúde dos peixes (JIA et al., 2018).

Outra fonte de obtenção dos hidrolisados enzimáticos, são os microrganismos. Adicionar produtos da hidrólise enzimática de fungos comestíveis tem se tornado uma prática viável, assim como um recurso para melhorar o sabor de alimentos e controlar a adição de sal (YANG et al., 2022). Uma pesquisa, realizada por Zhu et al. (2022), buscou tratar os subprodutos de cogumelos com hidrólise enzimática, para obter um hidrolisado com sabor ou função específica, com o objetivo de utilizá-lo na produção de outros produtos. O hidrolisado obtido apresentou melhor capacidade antioxidante, com uma cor marrom-amarelada e pouca volatilidade.

O uso de proteínas provenientes de plantas é uma área amplamente estudada. Os pesquisadores se concentram em hidrolisados enzimáticos derivados de plantas devido às suas ações biológicas e por aumentar as propriedades funcionais sem alterar o valor nutricional do alimento (XIE et al., 2019). Um estudo apresentado por Liu et al. (2022) analisou a ação de diferentes proteases para aplicação na indústria alimentícia, onde observaram a forma como essas enzimas afetam o resultado final da hidrólise da proteína de feijão mungo. Das enzimas testadas, a alcalase apresentou maior capacidade hidrolítica e o hidrolisado obtido por ela apresentou maior capacidade antioxidante.

Com frequência, hidrolisados são obtidos a partir de subprodutos ricos em proteínas, o que contribui para uma economia circular, onde há reaproveitamento (FAUSTINO et al., 2019). O sangue suíno é um subproduto da produção de carne e estima-se que 859 milhões de litros desse sangue são coletados em um ano. Eles são processados em farinha de sangue, possuem um baixo custo, são usados como fonte proteica em ração animal e em fertilizantes ou são apenas descartados (HARDY e BARROWS, 2002). Com a diminuição no preço da farinha de sangue, o processamento em hidrolisado sanguíneo apresenta um potencial que permite agregar maior valor às rações animais devido à geração de peptídeos bioativos (BAH et al., 2013).

O uso de hidrolisado sanguíneo em rações para animais aquáticos pode melhorar o consumo, crescimento e absorção de minerais, assim como apresentar ação imunomoduladora, melhorar o estado



oxidativo, aumentar a resposta de peixes ao estresse ou a infecções (BAH et al., 2013; RESENDE et al., 2022). Pesquisas anteriores indicaram que ao incluir hidrolisado sanguíneo de porco em uma dieta baseada em vegetais reduziu em oito vezes a mortalidade por infecção do robalo, *Tenacibaculum maritimum* (RESENDE et al., 2022).

Um dos principais motivos que induzem o tempo de prateleira dos produtos são a oxidação lipídica e a deterioração microbiana. Com o intuito de retardar esses efeitos, compostos antimicrobianos e antioxidantes podem ser utilizados como aditivos alimentares. A oxidação lipídica pode afetar as características sensoriais dos alimentos, assim como os produtos provenientes da oxidação podem prejudicar a saúde humana (LIMA et al., 2019). No estudo de Saad et al. (2020), o hidrolisado da proteína de feijão vermelho foi analisado devido à sua ação antioxidante e antimicrobiana. O trabalho realizou a obtenção do hidrolisado a partir da enzima pepsina e observaram que ao adicionar o produto à carne moída, houve um aumento de 7 dias de armazenamento seguro da carne, demonstrando assim um potencial uso como conservante.

Os peptídeos bioativos podem ser gerados de fontes contendo proteínas, como arroz, grão de bico, leite, queijo, carne, ovo e podem ser obtidos a partir de microalgas. O nome comercial para microalgas, *Arthrospira platensis* e *Arthrospira maxima*, é spirulina. Possuem um alto teor proteico, mas por dispor de uma baixa quantidade de peptídeos bioativos, faz-se necessário o processo de hidrólise para liberar os peptídeos derivados da *A. platensis* (VILLARO et al., 2023).

Ao longo dos anos, novos estudos foram realizados, como o desenvolvimento da cultura de células. Esse é um processo em que há o cultivo de células humanas, animais ou de insetos em um suporte artificial. A cultura de células animais é uma ferramenta usada nas áreas de pesquisas onde podem agregar um valor comercial e econômico, assim como pode ser aplicada em uma variedade de campos de pesquisa (VERMA et al., 2020). Com isso, tornou-se possível pesquisas acerca de culturas de células-tronco, assim como estudos os quais obtiveram resultados que indicavam o eventual uso de suplementação alimentar para aumentar a atividade de células-tronco musculares (FERNYHOUGH et al., 2010).

A partir de frangos de corte é possível obter um hidrolisado enzimático do tecido linfóide, que é usado para aumentar a imunidade em aves, assim como também é utilizado em pesquisas onde o hidrolisado é um imunomodulador e adicionado em vacinas (KOLBERG, 2017). O hidrolisado do tecido linfóide de frangos de corte se apresenta como um potencial fármaco, onde os pesquisadores Kolberg et al., (2021) avaliaram o mecanismo de ação do hidrolisado em diferentes grupos de células, para futuro uso como medicamento. Obtiveram resultados que possibilitam novos estudos na área da oncologia prática, a partir de peptídeos ativos isolados.

No trabalho de Souza et al. (2019), foi analisada a atividade antioxidante e antimicrobiana de uma outra fonte de proteína, o soro do leite. O hidrolisado obtido por diferentes proteases apresentou



maior atividade antioxidante quando utilizada a enzima Alcalase no processo de hidrólise, isso pode ocorrer devido a influência da enzima no número e na localização das ligações clivadas após a hidrólise, o que gera a liberação de peptídeos de diversos comprimentos e a composição de aminoácidos pode favorecer a ação antioxidante, por isso faz-se necessária a avaliação da composição dos hidrolisados.

4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS HIDROLISADOS ENZIMÁTICOS

A proteína hidrolisada é a melhor proteína em termos de propriedades nutricionais e funcionais. Nas últimas décadas, a melhoria da qualidade da proteína hidrolisada tem sido estudada, e por isso, a aplicação de proteínas hidrolisadas em alimentos, rações. Hidrolisados enzimáticos são produtos produzidos pela quebra de macromoléculas como proteínas, carboidratos ou lipídios por enzimas específicas. A composição química dos hidrolisados enzimáticos pode variar em função do substrato utilizado, do tipo de enzima utilizada, das condições de hidrólise e do processo de purificação aplicado.

As selenoproteínas contêm selenocisteína como um aminoácido raro, mas nenhuma selenocisteína livre está presente em células animais. Mas tratando-se de hidrolisados enzimáticos de proteínas, cuja composição química está relacionada principalmente aos aminoácidos presentes, a hidrólise enzimática de proteínas quebra as ligações peptídicas, gerando peptídeos e aminoácidos livres. A composição de aminoácidos pode ser analisada por técnicas como cromatografia de aminoácidos ou espectrometria de massa. Com relação à hidrólise enzimática de carboidratos e lipídios, eles terão composições químicas diferentes refletindo os monossacarídeos e ácidos graxos produzidos pela quebra enzimática desses substratos (HOU, Y. et al.2017)

Os microrganismos liberam proteases para hidrolisar proteínas extracelulares em grandes peptídeos, pequenos peptídeos e aminoácidos livres. Pequenos peptídeos podem ser absorvidos pelos micróbios para sofrer hidrólise intracelular, produzindo aminoácidos livres. Os microrganismos também produzem outras enzimas além das proteases para degradar carboidratos e lipídios complexos. A fermentação proteica é classificada em um tipo de estado líquido ou sólido. A fermentação em estado líquido é realizada com substratos proteicos sob condições de fermentação de alta umidade, enquanto a fermentação em estado sólido é realizada sob condições de fermentação de baixa umidade.

O baixo nível de umidade da fermentação em estado sólido pode ajudar a reduzir o tempo de secagem dos hidrolisados proteicos. A escolha do método de hidrólise de proteínas depende de sua fonte. Produtos de origem animal (por exemplo, caseína, soro de leite, intestinos e carne) e componentes vegetais (por exemplo, soja, trigo, arroz, ervilha e proteínas de semente de algodão) são frequentemente submetidos a hidrólise microbiana enzimática ou geral. A proteólise por proteases



livres de células, microrganismos, ácidos ou bases resulta na produção de hidrolisados proteicos. Dependendo do método utilizado, os tempos de hidrólise podem variar (HOU, Y. et al.2017)

No caso da fermentação em estado líquido é realizada com substratos proteicos sob condições de fermentação de alta umidade, enquanto a fermentação em estado sólido é realizada sob condições de fermentação de baixa umidade. O baixo nível de umidade da fermentação em estado sólido pode ajudar a reduzir o tempo de secagem dos hidrolisados proteicos.

5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS HIDROLISADOS ENZIMÁTICOS

5.1 ENTRADA E ABSORÇÃO DE NUTRIENTES

Os hidrolisados enzimáticos se destacam na indústria pelas suas propriedades funcionais que facilitam a entrada e a absorção de nutrientes no organismo. Quando as proteínas são hidrolisadas, elas são quebradas em peptídeos menores e aminoácidos, aumentando sua solubilidade e por consequência a digestibilidade. Essa quebra enzimática pode facilitar a absorção de nutrientes, pois os peptídeos e aminoácidos resultantes são geralmente de tamanho menor e mais facilmente absorvidos pelo trato gastrointestinal (SIEMENSMA et al., 1993).

A quebra das proteínas dietéticas em seus aminoácidos constituintes é necessária antes que qualquer benefício nutricional ou metabólico possa ser obtido. Acreditava-se que a quebra completa de proteínas em aminoácidos livres era necessária antes que a entrada nas células da mucosa intestinal fosse possível (SIEMENSMA et al., 1993) No entanto, ficou claro que a absorção de proteínas pode ocorrer com peptídeos ou aminoácidos, mas a absorção com peptídeos de cadeia curta (principalmente, dipeptídeo e tripeptídeo) é considerada um método mais eficiente de absorção de aminoácidos em comparação com uma quantidade equivalente de aminoácidos livres (CLEMENTE, 2000). Fato que é associado a disponibilidade de sistemas de transporte específicos de peptídeos e à subsequente fase terminal da digestão de peptídeos em aminoácidos pela ação de peptidases citoplasmáticas dentro dos enterócitos, antes do transporte para a circulação (SILK et al., 1980). Alguns aminoácidos como a cisteína e a glutamina apresentam instabilidade química ou insolubilidade em água, dificultando a administração em forma livre.

O uso de hidrolisados enzimáticos em formulações específicas é uma área crescente. Os principais produtos incluem a área clínica no tratamento de distúrbios de digestão, absorção, metabolismo de aminoácidos e desnutrição (CLEMENTE, 2000). Há diversos estudos em andamento avaliando a capacidade de hidrolisados enzimáticos reduzirem ou eliminarem a antigenicidade e a alergenicidade, como o do Liang et al., 2021, onde relatam a avaliação da antigenicidade e propriedades nutricionais do leite de vaca hidrolisado enzimaticamente reduzindo significativamente a antigenicidade do leite de 44,05% para 86,55%. No trabalho de Sung et al., 2014, foi estudado os efeitos da hidrólise enzimática da proteína do trigo sarraceno na antigenicidade e alergenicidade. Os



resultados mostraram que as peptidases do tipo serina parecem mostrar uma redução relativamente eficaz da alergenicidade do trigo sarraceno. No entanto, a antigenicidade medida com antissoro de coelho não correspondeu à alergenicidade medida com soro de pacientes humanos. A produção de proteína de trigo sarraceno menos alergênica pode ser possível usando hidrólise enzimática.

Os hidrolisados enzimáticos também podem apresentar propriedades funcionais específicas, como propriedades antioxidantes, anti-hipertensivas, imunomoduladoras ou estimulantes do crescimento muscular. Essas propriedades variam de acordo com o tipo de aminoácido e as condições do meio. Além de influenciarem a entrada e absorção de nutrientes no organismo de diferentes maneiras, proporcionando benefícios adicionais para a saúde (CLEMENTE, 2000).

5.2 LIMITAÇÕES

Mesmo que os hidrolisados enzimáticos proporcionem benefícios é necessário pontuar alguns fatores considerados limitantes para o hidrolisado. A qualidade e as propriedades funcionais dos hidrolisados variam de acordo com a fonte de proteína utilizada, enzima aplicada e dos parâmetros das condições. É necessário garantir uma seleção adequada das matérias primas utilizadas e controle dos parâmetros utilizados.

Tanto as etapas de *upstream* e *downstream* da produção de hidrolisados enzimáticos pode envolver processos complexos e demandar o uso de enzimas específicas, podendo levar a custos de produção dispendiosos, podendo se mostrar um grande desafio para a produção em larga escala. Parâmetros como temperatura, pH, concentração de substrato enzima, presença de oxigênio podem afetar a estabilidade dos hidrolisados, deixando-os vulneráveis a degradação e perda de atividade ao longo do tempo. Desse modo, é necessário a otimização do processo de produção e armazenamento para preservar a estabilidade e qualidade.

Apesar da hidrólise enzimática poder reduzir a alergenicidade de proteínas, ainda pode conter alérgenos residuais que possam representar um risco à saúde em pessoas sensíveis. É necessário fazer testes de alergenicidade atestando a segurança para indivíduos com restrições alimentares, como lentilha, soja e amendoim. Hidrolisados podem conferir características sensoriais indesejáveis, como sabor, textura e cor desagradável. Segundo Liang et al., 2021, foi reduzido significativamente a antigenicidade do leite de 44,05% para 86,55%, no entanto o leite adquiriu sabor amargo, adstringente e coloração amarelada escura. Produtos ou alimentos que contenham hidrolisados juntamente com peptídeos indesejados pode não ser bem aceito pelo consumidor final.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os hidrolisados enzimáticos são estudados devido às suas propriedades funcionais que são benéficas para saúde tanto humana, quanto animal, como a ação antioxidante, antimicrobiana, anti-



hipertensivas, anti-inflamatória e imunomoduladora, que depende da enzima, da matéria-prima a ser hidrolisada e das condições favoráveis de hidrólise. As enzimas hidrolisam as proteínas quebrando em fragmentos menores, peptídeos e aminoácidos pequenos, que são uma forma mais rápida e fácil de ser absorvida pelo organismo, fornecendo também uma melhor qualidade nutricional, que é buscada em tratamentos terapêuticos para pacientes com problemas de absorção, restrição e alergias alimentares. São de extrema importância e por isso muito explorados pela indústria alimentícia, que pode utilizá-los para o melhoramento de texturas, aumento do valor nutricional e até mesmo realçar o sabor.



REFERÊNCIAS

- AGUILAR-TOALÁ, E.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; VALLEJO-CORDOBA, B.; LICEAGA, A. M. Potential role of natural bioactive peptides for development of cosmeceutical skin products. *Peptides*, v. 122, 2019.
- AHMAD, I.; XIONG, Z.; XIONG, H.; AADIL, R. M.; KHALID, N.; LAKHOO, A. B. J.; ZIA-UD-DIN, NAWAZ, A.; WALAYAT, N.; KHAN, R. S. Physicochemical, rheological and antioxidant profiling of yogurt prepared from non-enzymatically and enzymatically hydrolyzed potato powder under refrigeration. *Food Science and Human Wellness*, v. 12, pp. 69-78, 2023.
- AHMAD, M.; QURESHI, S.; AKBAR, M. H.; SIDDIQUI, S. A.; GANI, A.; MUSHTAQ, M.; HASSAN, I.; DHULL, S. B. Plant-based meat alternatives: Compositional analysis, current development and challenges. *Applied Food Research*, v. 2, 2022.
- BAH, C.S.F.; BEKHIT, A.E.-D.A.; CARNE, A.; MCCONNELL, M.A. Slaughterhouse blood: an emerging source of bioactive compounds. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, v. 12, pp. 314-331, 2013.
- BARBOSA, K.; COSTA, N.; ALFENAS, R.; PAULA, S.; MINIM, V.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. Campinas: Revista de Nutrição, 2010.
- BAREA, P.; MELGOSA, R.; ILLERA, A. E.; ALONSO-RIAÑO, P.; DÍAZ DE CERIO, E.; BENITO-ROMÁN, O.; BELTRÁN, S.; SANZ, M. T. Production of small peptides and low molecular weight amino acids by subcritical water from fish meal: Effect of pressurization agente. *Food Chemistry*, v. 418, 2023.
- BIASUTTI, E.; AFONSO, W.; JUNIOR, C.; COELHO, J.; SILVA, V.; SILVESTRE, M. Ação da pancreatina na obtenção de hidrolisados protéicos de soro de leite com elevado teor de oligopeptídeos. Belo Horizonte: Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2008. Vol. 44, n. 1.
- BIN ZOU, T.; HE, T. P.; BIN LI, H.; TANG, H. W.; XIA, E. Q. The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins molecules. *Molecules*, 21, pp. 1-14, 2016.
- BLEAKLEY, S.; HAYES, M. Algal proteins: Extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, v. 6, p. 33, 2017.
- CENTENARO, G.; HERNÁNDEZ, C.; MELLADO, M.; NETTO, F. Efeito da concentração de enzima e de substrato no grau de hidrólise e nas propriedades funcionais de hidrolisados proteicos de corvina (*Micropogonias furnieri*). Natal: Química Nova, 2009. Vol. 32, No.7.
- CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology - TRENDS FOOD SCI TECHNOL.* 11. 254-262, 2000.
- CUNHA, S.; A.; PINTADO, M. E. Bioactive peptides derived from marine sources: Biological and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, v. 119, pp. 348-370, 2022.
- CRUZ-CASAS, D. E.; AGUILAR, C. N.; ASCACIO-VALDÉS, J. A.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; CHÁVEZ-GONZÁLEZ, M. L; FLORES-GALLEGOS, A. C. Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, v. 3, 2021.
- DE HOLANDA, H. D.; NETTO, F. M. Recovery of components from shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis. *J. Food Sci.*, v. 71, pp. 298-303, 2006.



- DULLIUS, A.; GOETTERT, M. I.; DE SOUZA, C. F. V. Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods – Biotechnological facilitation of industrial scale-up. *Journal of Functional Foods*, v. 42, pp. 58-74, 2018.
- FAUSTINO, M.; VEIGA, M.; SOUSA, P.; COSTA, E. M.; SILVA, S.; PINTADO, M. Agro-food byproducts as a new source of natural food additives. *Molecules*, v. 24, p. 1056, 2019.
- FERNYHOUGH, M. E.; BUCCI, L. R.; FELICIANO, J.; DODSON, M. V. The effect of nutritional supplements on muscle-derived stem cells *in vitro*. *Int. J. Stem Cells*, v. 3, pp. 63 - 67, 2010.
- GUO, X.; SUN, X.; ZHANG, Y.; WANG, R.; YAN, X. Interactions between soy protein hydrolyzates and wheat proteins in noodle making dough. *Food Chemistry*, v. 245, pp. 500-507, 2018.
- HARDY, R. W.; BARROWS, F. T. Diet formulation and manufacture. J.E. Halver, R.W. Hardy (Eds.), *Fish Nutrition*, Academic Press, San Diego, pp. 505-600, 2002.
- HOLEN, E.; HE, J.; ARAUJO, P.; SELIUSSEN, J.; ESPE, P. Hydrolyzed fish proteins modulates both inflammatory and antioxidant gene expression as well as protein expression in a co culture model of liver and head kidney cells isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish & Shellfish Immunology*, v. 54, 2016.
- HOOPER, N. M. (2002). Proteases: um primer. *Ensaio em bioquímica*, 38, 1–8.
- HOU, Y. et al. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of animal science and biotechnology*, v. 8, n. 1, p. 24, 2017.
- JIA, Y.; GAO, Y.; CHEN, X.; HUANG, B. Determination of optimal fasting time before blood sampling to get baseline data on serum biochemical characteristics in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, v. 487, pp. 83-88, 2018.
- KAUR, A.; KEHINDE, B. A.; SHARMA, P.; SHARMA, D.; KAUR, S. Recently isolated food-derived antihypertensive hydrolysates and peptides: A review. *Food Chemistry*, v. 346, 2021.
- KIM, E. K.; KIM, Y. S.; HWANG, J. W.; KANG, S. H.; CHOI, D. K.; LEE, K. H.; LEE, J. S.; MOON, S. H.; JEON, B. T.; PARK, P. J. Purification of a novel nitric oxide inhibitory peptide derived from enzymatic hydrolysates of *Mytilus coruscus*. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 34, pp. 1416-1420, 2013.
- KOLBERG, N. A. Tissue Preparation "Bursanatalcenter". Its Influence on Resistance and Immunity in Infectious Diseases. *Innovative Technologies in Agriculture*, pp. 21 - 34, 2017.
- KONG, L.; LIU, C.; TANG, H.; YU, P.; WEN, R.; PENG, X.; XU, X.; YU, X. Hygroscopicity and antioxidant activity of whey protein hydrolysate and its ability to improve the water holding capacity of pork patties during freeze–thaw cycles. *LWT*, v. 182, 2023.
- LE, Y.; LOU, X.; YU, C.; GUO, C.; HE, Y.; LU, Y.; YANG, H. Integrated metabolomics analysis of *Lactobacillus* in fermented milk with fish gelatin hydrolysate in different degrees of hydrolysis. *Food Chemistry*, v. 408, 2023.
- LEIVA-PORTILLA, D.; MARTÍNEZ, R.; BERNAL, C. Valorization of shrimp (*Heterocarpus reedi*) processing waste via enzymatic hydrolysis: Protein extractions, hydrolysates and antioxidant peptide fractions. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 48, 2023.



LEMES, A. C.; SALA, L.; MINÉRIOS, J. D. C.; BRAGA, A. R. C.; EGEEA, M. B.; FERNANDES, K. F. A review of the latest advances in encrypted bioactive peptides from protein-rich waste. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, ed. 6, 2016.

LIANG, X., QIAN, G., SUN, J. et al. Evaluation of antigenicity and nutritional properties of enzymatically hydrolyzed cow's milk. *Scientific Representative* 11, 18623, 2021.

LIMA, K. O.; DE QUADROS, C. DE C.; DA ROCHA, M.; DE LACERDA, J. T. J. G.; JULIANO, M. A.; DIAS, M.; MENDES, M. A.; PRENTICE, C. Bioactivity and bioaccessibility of protein hydrolyzates from industrial byproducts of Stripped weakfish (*Cynoscion guatucupa*), *LWT*, v. 111, 2019.

LIU, H.; SUN, H. N.; ZHANG, M.; MU, T. H.; KHAN, N. M. Production, identification and characterization of antioxidant peptides from potato protein by energy-divergent and gathered ultrasound assisted enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, v. 405, parte A, 2023.

LIU, X.; XUE, F.; LI, C.; ADHIKARI, B. Physicochemical properties of films produced using nanoemulsions stabilized by carboxymethyl chitosan-peptide conjugates and application in blueberry preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 202, pp. 26-36, 2022.

LU, S.; MU, Y.; XU, M.; WEN, Y.; LI, H.; WANG, J.; SUN, B. Ultrasound-assisted cellulase pretreatment and cooking with enzymatic hydrolysates enhance the freeze-thaw stability of brown rice. *LWT*, v. 173, 2023.

MAGALHÃES, I. S.; GUIMARÃES, A. D. B.; TRIBST, A. A. L.; DE OLIVEIRA, E. B.; JÚNIOR, B. R. C. L. Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of goat milk casein: Effects on hydrolysis kinetics and on the solubility and antioxidant activity of hydrolysates. *Food Research International*, v. 157, 2022.

MOREIRA, T. F. M.; PESSOA, L. G. A.; SEIXAS, F. A. V.; INEU, R. P.; GONÇALVES, O. H.; LEIMANN, F. V.; RIBEIRO, R. P. Chemometric evaluation of enzymatic hydrolysis in the production of fish protein hydrolysates with acetylcholinesterase inhibitory activity. *Food Chemistry*, v. 367, 2022.

MUDGIL, P.; BABA, W. N.; KAMAL, H.; FITZGERALD, R. J.; HASSAN, H. M.; AYOUB, M. A.; GAN, C. Y.; MAQSOOD, S. A comparative investigation into novel cholesterol esterase and pancreatic lipase inhibitory peptides from cow and camel casein hydrolysates generated upon enzymatic hydrolysis and in-vitro digestion. *Food Chemistry*, v. 367, 2022.

NASRABADI, M. N.; DOOST, A. S.; MEZZENGA, R. Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, v. 118, 2021.

NAGAOKA, S.; TAKEUCHI, A.; BANNO, A. Plant-derived peptides improving lipid and glucose metabolism. *Peptides*, v. 142, 2021.

NEVES, R.; MIRA, N.; MARQUEZ, U. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. Campinas: Food Science and Technology, 2004.

NIELSEN, P. M.; PETERSEN, D.; DAMBMANN, C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *J. Food Sci.*, 66, pp. 642-646, 2001.



OVISSIPOUR, M.; ABEDIAN KENARI, A.; MOTAMEDZADEGAN, A.; NAZARI, R. M. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*). *Food Bioprocess Technol.*, v. 5, pp. 696-705. 2012.

PHAM, H. D.; SIDDIK, A. B. D.; PHAN, U. V.; LE, H. M.; RAHMAN, M. A. Enzymatic tuna hydrolysate supplementation modulates growth, nutrient utilisation and physiological response of pompano (*Trachinotus blochii*) fed high poultry-by product meal diets. *Aquaculture Reports*, v. 21, 2021.

QIAO, X.; MA, H. L. Y.; XU, X.; YI, J.; EL-SEEDI, H. R.; DU, M. Effects of ethanol pretreatment on osteogenic activity and off-flavors in blue mussel (*Mytilus edulis* L.) enzymatic hydrolysates. *Food Research International*, v. 167, 2023.

RAO, H.; LIN, L.; ZHAO, M. Insights into a novel chrysanthemum-coix seed beverage prepared by enzymatic hydrolysis: Chemical profile, sensory quality, and functional property. *Food Bioscience*, v. 52, 2023.

RESENDE, D.; COSTAS, B.; SÁ, T.; GOLFETTO, U.; MACHADO, M.; PEREIRA, M.; PEREIRA, C. MARQUES, B.; ROCHA, C. M. R.; PINTADO, R.; VALENTE, L. M. P. Innovative swine blood hydrolysates as promising ingredients for European seabass diets: impact on growth performance and resistance to *Tenacibaculum maritimum* infection. *Aquaculture*, v. 561, 2022.

RIVERO-PINO, F.; ESPEJO-CARPIO, F. J.; GUADIX, E. M. Antidiabetic food-derived peptides for functional feeding: Production, functionality and in vivo evidences. *Foods*, v. 9, p. 883, 2020.

RIVERO-PINO, F.; LEON, M. J.; MILLAN-LINARES, M. C.; MONTSERRAT-DE LA PAZ, S. Antimicrobial plant-derived peptides obtained by enzymatic hydrolysis and fermentation as components to improve current food systems. *Trends in Food Science & Technology*, v. 135, pp. 32-42, 2023.

ROJO, E. M.; PIEDRA, I.; GONZÁLEZ, A. M.; VEGA, M.; BOLADO, S. Effect of process parameters on the valorization of components from microalgal and microalgal-bacteria biomass by enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, v. 335, 2021.

SAAD, A. M.; OSMAN, A. O. M.; MOHAMED, A. S. Enzymatic Hydrolysis of *Phaseolus vulgaris* Protein Isolate: Characterization of Hydrolysates and Effect on the Quality of Minced Beef During Cold Storage. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, v. 26, pp. 567–577, 2020.

SANTOS-SÁNCHEZ, G.; PONCE-ESPAÑA, E.; LÓPEZ, J. C.; ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, N.; ÁLVAREZ-LÓPEZ, A. I.; PEDROCHE, J.; MILLÁN, F.; MILLÁN-LINARES, M. C.; LARDONE, P. J.; BEJARANO, I.; CRUZ-CHAMORRO, I.; CARRILLO-VICO, A. A lupin (*lupinus angustifolius*) protein hydrolysate exerts anxiolytic-like effects in western diet-fed ApoE^{-/-} mice. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, 2022.

SCHEUERMANN, C.; HUBNER, D.; SEIBT, F.; HANAUER, G.; SEVERO, J.; OLIVEIRA, M. Cristina Beatriz *et al.* Suplementos alimentares: obtenção por bioprocessos. Santa maria: Boletim técnico-científico, 2019. Vol. 5, n. 2.

SHARMA, P.; KAUR, J.; SHARMA, G.; KASHYAP, P. Plant derived antimicrobial peptides: Mechanism of target, isolation techniques, sources and pharmaceutical applications. *Journal of Food Biochemistry*, v. 46, pp. 1-22, 2022.



SHINJI, T.; MOE, Y.; YUKIHIRO, K.; YOKO, Y.; HITOSHI, A. Characterization of an organic-solvent-stable elastase from *Pseudomonas indica* and its potential use in eggshell membrane hydrolysis. *Process Biochemistry*, v. 85, pp. 156-163, 2019.

SIEMENSMA, A. D., WEIJER, W. J., & BAK, H. J. The importance of peptide lengths in hypoallergenic infant formulae. *Trends in Food Science & Technology*, 4(1), 16–21, 1993.

SILA, A.; SAYARI, N.; BALTI, R.; MARTINEZ-ALVAREZ, O.; NEDJAR-ARROUME, N.; MONCEF, N.; BOUGATEF, A. Biochemical and antioxidant properties of peptidic fraction of carotenoproteins generated from shrimp by-products by enzymatic hydrolysis. *Food Chem.*, 148, pp. 445-452, 2014.

SILK, D. B. A., FAIRCLOUGH, P. D., CLARK, M. L., HEGARTY, J. E., ADDISON, J. M., BURSTON, D., MATTHEWS, D. M. Use of a Peptide Rather Than Free Amino Acid Nitrogen Source in Chemically Defined “Elemental” Diets. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 4(6), 548–553, 1980.

SOUZA, Renata S. C. D.; TONON, Renata V.; STEPHAN, Marília P.; SILVA, Caroline M.; PENTEADO, Ana L.; CABRAL, Lourdes M. C.; KUROZAWA, Louise E. Avaliação do potencial antioxidante de proteínas do soro de leite concentradas por ultrafiltração e hidrolisadas por diferentes proteases comerciais. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 22, p. e2018021, 2019.

SUNG DONG-EUN, LEE JEONGOK, HAN YOUNGSHIN, SHON DONG-HWA, AHN KANGMO, OH SANGSUK, DO JEONG-RYONG. Effects of enzymatic hydrolysis of buckwheat protein on antigenicity and allergenicity. *Nutrition Research and Practice*, v. 8, p. 278-283, 2014.

VERMA, A.; VERMA, M.; SINGH, A. Animal tissue culture principles and applications. *Anim. Biotechnol.*, pp. 269-293, 2020.

VILLARO, S.; JIMÉNEZ-MÁRQUEZ, S.; MUSARI, E.; BERMEJO, R.; LAFARGA, T. Production of enzymatic hydrolysates with in vitro antioxidant, antihypertensive, and antidiabetic properties from proteins derived from *Arthrospira platensis*. *Food Research International*, v. 163, 2023.

YANG, F.; LV, S.; LIU, Y.; BI, S.; ZHANG, Y. Determination of umami compounds in edible fungi and evaluation of salty enhancement effect of Antler fungus enzymatic hydrolysate. *Food Chemistry*, v. 387, 2022.

YAO, Y.; WANG, M.; LIU, Y.; HAN, L.; LIU, X. Insights into the improvement of the enzymatic hydrolysis of bovine bone protein using lipase pretreatment. *Food Chemistry*, v. 302, 2020.

YU, Q.; GUO, M.; ZHANG, B.; WU, H.; ZHANG, Y.; ZHANG, L.; EL-DEMERDASH F. M. Analysis of nutritional composition in 23 kinds of edible fungi. *Journal of Food Quality*, v. 2020, pp. 1-9, 2020.

ZHANG, Y.; RUI, X.; VAUGEOIS, R.; SIMPSON, B. K. Seal meat enzymatic hydrolysates and its digests: A comparison on protein and minerals profiles. *LWT*, v. 157, 2022.