

Título: *Produção e Caracterização de Hidrolisados Proteicos de Pescado (HPP) a partir de subprodutos de Cavala (Scomber colias)*

Copyright © Cátia Folhas Bulhões

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche

Instituto Politécnico de Leiria

2013

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação/trabalho de projeto/relatório de estágio através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



*“One, remember to look up at the stars and not down at your feet. Two, never give up work. Work gives you meaning and purpose and life is empty without it. Three, if you are lucky enough to find love, remember it is there and don't throw it away.”*

Stephen Hawking



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço de forma especial à Doutora Susana Silva, pelos ensinamentos, pela ajuda incansável, pela compreensão, pela simpatia e pensamentos positivos que me transmitiu durante toda a realização deste trabalho. Estou-lhe muito grata por tudo!

À Doutora Susana Mendes, pela ajuda importantíssima que me deu e pela disponibilidade imediata com que me recebeu.

À Ana Augusto, por todo o apoio prestado, por dedicar parte do seu tempo a ajudar-me na realização deste trabalho, pelos conselhos, pelas palavras amigas e por me encorajar a continuar quando eu pensava que seria impossível.

À Isa Ferreira, pela amizade, pelo apoio e companheirismo, por estar sempre ao meu lado sempre que precisei, pela companhia nas horas (tantas!) passadas no laboratório, pelas gargalhadas que demos, pela força transmitida, pelo ombro amigo.

Aos amigos, aqueles de sempre, aqueles para sempre, por estarem sempre comigo e acompanharem-me durante o meu percurso, por compreenderem a minha ausência.

Aos meus pais, por tudo o que significam para mim, por tudo o que sou hoje, por me darem força para continuar e encorajarem-me a não desistir, por acreditarem em mim, por ter chegado até aqui e ter atingido mais uma etapa da minha vida. Por não se cansarem de me dizer que sou o seu orgulho!

Aos meus maninhos, por serem a alegria dos meus dias e o brilho dos meus olhos.

À minha avó, por acreditar sempre que sou capaz, mesmo quando eu própria penso não acreditar.

Às minhas bichinhas, pela companhia que me fizeram durante a escrita deste trabalho e por não reclamarem muito pela falta de atenção.

À minha metade, minha fonte de inspiração, meu sorriso, meu companheiro, pela sua paciência incansável, pelo apoio, pela força, pela compreensão, por prescindir do seu tempo para ficar sempre comigo, por acreditar sempre que eu alcançaria este objectivo e por ficar tão feliz quanto eu. Mas principalmente pelo amor!



## RESUMO

Em Portugal, o consumo de produtos da pesca e aquacultura é um dos maiores da Europa. Associado a este consumo está uma elevada quantidade de pescado subvalorizado, através de rejeições a bordo, retiradas em lota e geração de subprodutos nas cadeias de produção industrial. Os subprodutos representam 40% da matéria-prima no caso da indústria conserveira e 10-50% no caso das indústrias de pescado congelado.

Os hidrolisados proteicos de pescado (HPP) são uma das tecnologias mais promissoras para a valorização destes subprodutos. Baseiam-se na recuperação das proteínas do pescado por ação enzimática, originando péptidos e polipéptidos.

Com o presente estudo pretendeu-se investigar o efeito do tipo de enzima e do tempo de hidrólise nas características dos HPP obtidos a partir de subprodutos de cavala. Foram utilizadas três enzimas: Endógenas, Neutrased e Alcalased, e os hidrolisados foram caracterizados em termos de: recuperação de azoto, grau de hidrólise, recuperação de gordura, teor de humidade e teor de cinzas.

Foram obtidos rendimentos médios de recuperação de azoto efetiva de 17,35% para a Alcalased, contra 3,58% para a Neutrased. No entanto, foi a Neutrased que quebrou um maior número de ligações peptídicas tendo tido preferência pelo ataque à proteína solubilizada. Os hidrolisados proteicos de pescado obtidos com a ação da Alcalased apresentaram valores de grau de hidrólise inferiores, o que indica que esta enzima tem preferência pelo ataque à proteína da matéria-prima.

O tempo de reação teve um efeito significativo no grau de hidrólise (GH), uma vez que o número de ligações clivadas foi tanto maior quanto maior o tempo de hidrólise, como indicado pelo maior GH obtido nos hidrolisados proteicos de pescado produzidos com Neutrased.

No que respeita à recuperação de gordura, a Neutrased foi menos eficaz do que a Alcalased sendo, no entanto, o maior rendimento obtido pelas endógenas (69,27%). A elevada recuperação de gordura verificada comprova que os hidrolisados proteicos de pescado possuem capacidade emulsionante, estando esta relacionada com o tamanho dos péptidos formados durante o processo de hidrólise. HPP com graus de hidrólise inferiores apresentaram maior capacidade emulsionante.

Os resultados obtidos sugerem o potencial da aplicação de hidrolisados proteicos na tecnologia de processamento de produtos com valor acrescentado e uma base para o desenvolvimento de novos produtos funcionais, transformando matéria anteriormente considerada de baixo valor comercial numa fonte de lucro.

Palavras-chave: Hidrolisados Proteicos de Pescado (HPP); Subprodutos de cavala; Grau de Hidrólise (GH); Propriedades emulsificantes; Hidrólise.

## **ABSTRACT**

In Portugal, the consumption of fishery products and aquaculture is one of the largest in Europe. This consumption is associated with a high amount of fish undervalued by discards, withdrawals auction and generation of by-products in industrial production chains. The by-products represent 40 % of the raw material in the case of canning and 10-50 % in the case of frozen fish industries.

Fish protein hydrolysates (FPH) is one of the most promising technologies for the recovery of these by-products. Based on the recovery of fish proteins by enzymatic action, resulting in peptides and polypeptides.

In the present study aims to investigate the effect of the type of enzyme and time of hydrolysis in the characteristics of FPH obtained from mackerel by-products. Three enzymes were used: Endogenous, Alcalase and Neutrase and the hydrolysates were characterized in terms of: nitrogen recovery, degree of hydrolysis (DH), fat recovery, moisture and ash content .

The yield of nitrogen average effective recovery of 17.35 % for Alcalase , compared to 3.58% Neutrase . However, Neutrase broken more peptide bonds than the remaining enzymes, and had a preference for attack solubilized protein, whereas Alcalase prefer the protein contained in the by-products.

The reaction time had a significant effect on the degree of hydrolysis, since the number of cleaved bonds is greater the higher the hydrolysis time, as indicated by the increased GH obtained in the fish protein hydrolysates produced with Neutrase .

As regards the recovery of fat, Neutrase was less effective than with Alcalase , however, the highest yield obtained by endogenous (69.27 %). The high recovery of fat verified shows that fish protein hydrolysates have emulsifying capacity , this being related to the size of the peptides formed during the hydrolysis process. FPH with lower degrees of hydrolysis showed higher emulsifying capacity.

The results suggest the potential application of protein hydrolysates in processing technology products with added value and a basis for the development of new functional products , transforming matter previously considered low commercial value into a source of profit.

Keywords: Fish Protein Hydrolysates (FPH); Mackerel by-products; Degree of Hydrolysis (DH); Emulsifying properties; Hydrolysis.

## ÍNDICE GERAL

Agradecimentos	vii
Resumo	ix
Abstract	xi
Índice de Matérias	xiii
Índice de Figuras	xv
Índice de Tabelas	xvii
1. Introdução Geral	1
1.1. Enquadramento do Tema	1
1.2. Área de estudo	4
1.3. Espécie utilizada: cavala ( <i>Scomber colias</i> )	5
1.4. Produção e caracterização de Hidrolisados Proteicos de Pescado (HPP)	7
1.4.1. Produção de HPP	7
1.4.2. Caracterização de HPP	10
1.4.3. Teor de Proteína Bruta – Método de Kjeldahl	14
1.4.4. Teor de Gordura – Bligh & Dyer	16
1.4.5. Teor de Cinzas	17
1.4.6. Teor de Humidade	17
2. Objectivos	19
3. Material e Métodos	21
3.1. Recolha dos subprodutos de cavala	21
3.2. Preparação dos resíduos de <i>S. colias</i> para o processo de hidrólise.....	22
3.2.1. Processo de hidrólise	22
3.2.2. Teor de proteínas	23
3.2.3. Grau de Hidrólise	24
3.2.4. Teor de Gordura	26
3.2.5. Teor de Cinzas	26
3.2.6. Teor de Humidade	27
3.2.7. Análise Estatística	..... 27
4. Resultados e discussão	29
4.1. Composição química dos HPP	29
4.2. Produção dos HPP	30
4.3. Rendimento de recuperação de azoto	31
4.4. Grau de Hidrólise	34
4.5. Teor de gordura	37
5. Conclusão	41
6. Perspectivas Futuras	43
7. Referências Bibliográficas	45



## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.1** - Estimativa anual de quantidades de pescado desembarcado correspondente a rejeições e retiradas, em toneladas e percentagem (INE, 2013).....Pág. 1
- Figura 1.2** - Localização espacial da Península de Peniche (A), da Indústria Conserveira (B) e da Fábrica de Farinha e Óleo de Peixe (©Google Earth, 2009).....Pág. 5
- Figura 1.3** – (A) Distribuição geográfica da espécie *Scomber colias* (Fishbase, 2013); (B) Exemplar da espécie (Lord, 2008).....Pág. 6
- Figura 1.4** – Valores nutricionais da Cavala, por 100 g de Parte Edível (adaptado de ACOPE, 2012).....Pág. 6
- Figura 1.5** – Esquema geral de preparação de hidrolisados proteicos (retirado de Batista, *et al.*, 2006).....Pág. 8
- Figura 1.6** – Reacção OPA. O reagente OPA reage com o primeiro grupo de aminoácidos e com o grupo do composto SH (ditiotreitól, DTT) formando um composto que absorve radiação a 340 nm (retirado de Nielsen *et al.*, 2001).....Pág. 14
- Figura 4.2** - Recuperação de azoto pelas três enzimas em estudo ao longo dos três tempos de hidrólise (T0 – 0 minutos; T60 – 60 minutos; T120 – 120 minutos); Valores apresentam-se sob a forma de média  $\pm$  2DP (n = 2). Diferenças estatisticamente significativas (*p-value*<0,05; ANOVA, teste LSD): (\*)entre Endógenas e Neutrase; (#)entre Endógenas e Alcalase ; (†) entre Neutrase e Alcalase.....Pág. 32
- Figura 4.3** – Grau de Hidrólise obtido pelas três enzimas em estudo ao longo dos três tempos de hidrólise (T0 – 0 minutos; T60 – 60 minutos; T120 – 120 minutos); Valores apresentam-se sob a forma de média  $\pm$  2DP (n = 2). Diferenças estatisticamente significativas (*p-value*<0,05; ANOVA, teste LSD): (\*)entre Endógenas e Neutrase; (#)entre Endógenas e Alcalase ; (†) entre Neutrase e Alcalase.....Pág. 34
- Figura 4.4** – Recuperação de gordura pelas três enzimas em estudo ao longo dos três tempos de hidrólise (T0 – 0 minutos; T60 – 60 minutos; T120 – 120 minutos); Valores apresentam-se sob a forma de média  $\pm$  2DP (n = 2). Diferenças estatisticamente significativas (*p-value*<0,05; ANOVA, teste LSD): (\*)entre Endógenas e Neutrase; (#)entre Endógenas e Alcalase ; (†) entre Neutrase e Alcalase.....Pág. 37
- Figura 4.5** – Relação entre a % de recuperação de gordura vs grau de hidrólise.....Pág. 38



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.1</b> – Composição aproximada de subprodutos de Arenque ( <i>Clupea harengus</i> ). Valores apresentam-se na forma de Média $\pm$ Desvio-padrão.....	Pág. 11
<b>Tabela 1.2</b> – Composição química típica de Hidrolisados Proteicos de Pescado (retirado de Batista <i>et al.</i> , 2006).....	Pág. 11
<b>Tabela 1.3</b> – Valores das constantes $\alpha$ , $\beta$ e $h_{tot}$ para as diferentes matérias-primas que contém proteínas (retirado de Nielsen, <i>et al.</i> , 2001).....	Pág. 14
<b>Tabela 1.4</b> – Factores de correlação “F” para as várias amostras de produtos alimentares (retirado de Park e António, 2006).....	Pág. 15
<b>Tabela 3.1</b> - Desenho Experimental da Hidrólise Enzimática (n= número de réplicas).....	Pág. 23
<b>Tabela 4.1</b> – Composição química (%) dos subprodutos de cavala. Valores apresentam-se sob a forma de média $\pm$ Desvio-Padrão (n=2).....	Pág. 29
<b>Tabela 4.2</b> - Composição química (%) dos subprodutos de cavala. Valores apresentam-se sob a forma de média $\pm$ Desvio-Padrão (n=2).....	Pág. 30