

3.06.99 - Engenharia Química.

## **PRODUÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO A BASE DE CARÇA DE CARPA HÚNGARA (*Cyprinus carpio* L.)<sup>1</sup>.**

Camila H. Goi<sup>2</sup>, Carolina A. Bragato<sup>3</sup>, Fernanda C. Pereira<sup>4</sup>

1. Estudo vinculado a pesquisa institucional “Desenvolvimento de novos produtos alimentícios a base de carne de peixe”, Grupo de Pesquisa Alimentos e Nutrição da UNIJUÍ.
2. Aluna do curso de Graduação em Engenharia Química da UNIJUÍ, bolsista iniciação científica PIBITI/CNPQ, camilahgoi@hotmail.com;
3. Aluna do curso de Graduação em Engenharia Química da UNIJUÍ, bolsista iniciação científica PIBIC/UNIJUÍ, carolbragato@hotmail.com;
4. Professora Doutora do Departamento de Ciências Exatas e Engenharias da UNIJUÍ, orientadora, fernanda.cunha@unijui.edu.br

### **Resumo:**

Este artigo apresenta parte do trabalho realizado no projeto “Desenvolvimento de novos produtos alimentícios à base de carne de peixe”, da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ). Durante o desenvolvimento dos produtos, verificou-se que a elaboração de alimentos à base de pescado gera uma significativa quantidade de resíduos sólidos devido ao beneficiamento do peixe. Assim, para minimizar o impacto ambiental causado, foi proposto o uso do resíduo de carpa húngara na produção do hidrolisado proteico de peixe, a partir de uma hidrólise enzimática utilizando a enzima proteolítica Alcalase®. Os resultados mostram a diminuição de lipídios, a permanência de ácidos graxos, assim como um grau de hidrólise de 34%.

**Palavras-chave:** Hidrólise Enzimática; Biotecnologia; Reaproveitamento;

**Apoio financeiro:** SDECT - Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência e Tecnologia do estado do Rio Grande do Sul, CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, UNIJUÍ – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul.

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** UNIJUÍ

### **Introdução:**

O consumo mundial de pescado vem sofrendo um relevante crescimento nos últimos anos, não só em função do crescimento populacional, mas também pela busca de uma alimentação mais sadia (BRABO et al., 2016), já que este tipo de alimento dispõe de propriedades como alto teor de proteínas, mineirais e ômega 3 (SARTORI E AMANCIO, 2012). Investigando o processo de beneficiamento do pescado, somente o filé é utilizado na alimentação, o que faz com que de 50% a 70% da matéria-prima seja classificada como resíduo de processamento (SUCASAS, 2011). Com isso, torna-se pertinente o uso de tecnologias que possibilitem o reaproveitamento deste resíduo, possibilitando a redução dos impactos ambientais gerados pelo processo de filetagem e também o aumento da produtividade.

A hidrólise das proteínas pode ser realizada utilizando enzimas, ácidos e álcalis. Entretanto, a hidrólise enzimática é mais indicada do que a que utiliza químicos para a produção de hidrolisados com aplicações nutricionais, já que não proporciona a formação de produtos nocivos. Outro fator deve-se ao maior controle da hidrólise realizada com enzimas, melhorando as propriedades do produto final, além deste método ser mais simples, eficiente, envolvendo condições alcalinas moderadas que não destroem as proteínas recuperadas por racemização e outras reações químicas (FONKWE E SINGH, 1996). Os hidrolisados podem ser utilizados na alimentação de indivíduos que não conseguem digerir totalmente a proteína pura (BHASKAR et al., 2007). Fazem parte de formulações específicas, tais como produtos alimentares geriátricos, suplementos energéticos, dietas para controle de peso ou terapêuticas (SLIZYTE et al., 2005). A grande maioria dos hidrolisados utilizados, atualmente, são obtidos da caseína e da proteína de soja.

A proposta deste trabalho é a realização da hidrólise enzimática a partir dos resíduos do processamento de carpa húngara (*Cyprinus carpio* L.). Este processo consiste na utilização de enzimas visando à quebra das proteínas de cadeias longas em cadeias menores que possam ser recuperadas (SANTOS, 2011; LUNELLI, 2015). O hidrolisado proteico de pescado obtido poderá ser utilizado em produtos com valor nutricional e comercial. A enzima escolhida foi a Alcalase® que é uma endopeptidase produzida por fermentação submersa do microrganismo de *Bacillus licheniformis*, e muitos pesquisadores indicam esta como sendo uma das melhores enzimas utilizada na preparação de hidrolisados proteicos (KRISTINSSON, 2000).

### **Metodologia:**

Para a realização deste trabalho, foram utilizadas carcaças evisceradas e trituradas de exemplares de carpa húngara (*Cyprinus carpio* L.), originárias da Cooperativa de Piscicultores de Ajuricaba e Nova Ramada (COPRANA). A realização da hidrólise enzimática e análises centesimais efetuaram-se nos laboratórios da UNIJUÍ (Laboratório de Nutrição, Laboratório de Processamento de Alimentos e Laboratório de Engenharia

Química). Sendo estes realizados em triplicata. As análises centesimais envolvendo proteínas, umidade, cinzas e lipídios, foram realizadas pelas metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

A hidrólise enzimática foi realizada utilizando 75 g de substrato, o qual foi adicionado a frascos do tipo Erlenmeyer de 250 mL, diluído em água destilada na proporção 1:1 e foi introduzido 5% da enzima Alcalase® 2.4 U/g (Sigma Aldrich). Em seguida, os frascos foram acondicionados em uma incubadora Shaker com agitação orbital refrigerada de piso SL-221 com temperatura estabilizada em 60°C e rotação de 200 rpm. O tempo de hidrólise escolhido foi de duas horas, mantendo os parâmetros de temperatura e rotação constantes.

Terminada a hidrólise as amostras foram submetidas a banho termostatizado 093/CF estabilizado na temperatura de 85°C durante 10 minutos, afim de inativar a enzima presente nestas. Na sequência, estas foram centrifugadas em centrífuga refrigerada 9300R durante 10 minutos à 10.000 rpm, visando a separação das fases e obtenção da fração contendo a proteína solúvel.

Ao final dos procedimentos, amostras dos hidrolisados foram encaminhadas para análise de lipídeos e ácidos graxos a serem realizadas pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), localizada no Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos, Campinas/SP. A análise de lipídeos totais foi feita com método baseado em IAL (2005) método 034B e a análise de ácidos graxos baseado em AOCS (2014), Official Method Ce 1a-13 e 43 Ce 1h-05, AOAC (2010), Official Method 996.06, Hartman & Lago Lab. Practice (1973), e FSA (2002). A proteína solubilizada após a realização da hidrólise enzimática, também feita no ITAL utilizando o método de Kjeldahl modificado baseado no Instituto Adolfo Lutz (2005).

Para a quantificação do grau de hidrólise (%GH), equação (1), foi realizado o cálculo baseado nos resultados obtidos para a concentração de proteínas na amostra antes e depois da realização da hidrólise enzimática.

$$\%GH = \frac{\text{Proteína solúvel}}{\text{Proteína total da amostra}} * 100 \quad (1)$$

### Resultados e Discussão:

Os resultados das análises centesimais da carcaça eviscerada (resíduo) e do filé de carpa húngara estão expressas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Ao comparar os resultados, pode-se observar que os valores para proteína bruta são semelhantes. Assim, a carcaça apresenta potencial proteico a ser explorado por meio da hidrólise enzimática.

Tabela 1. Composição centesimal do resíduo de carpa húngara

Parâmetro Químico	Valor (%)
Umidade	58,06±0,40
Lipídios Totais	20,58±0,38
Resíduo Mineral	4,06±0,32
Proteína Bruta	19,93±0,96

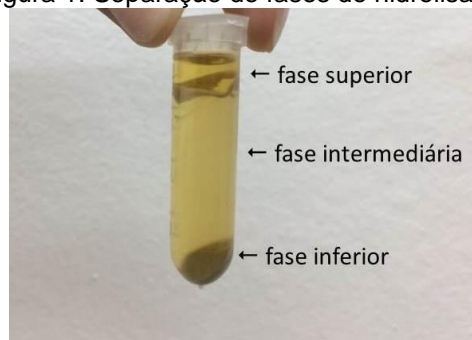
Tabela 2. Composição centesimal do filé de carpa húngara

Parâmetro Químico	Valor (%)
Umidade	72,82±3,21
Lipídios Totais	6,80±2,40
Resíduo Mineral	1,14±0,44
Proteína Bruta	21,19±2,79

Fonte: DIDONET, F. P. et al., 2015

A partir destes resultados, foram realizados os experimentos utilizando o resíduo de carpa húngara para o desenvolvimento do hidrolisado. Após a inativação da enzima, as amostras foram centrifugadas e obteve-se três fases nitidamente distintas mostradas na Figura 1. A fase superior constituída de lipídios, a fase intermediária contendo as proteínas solúveis resultantes do processo de hidrólise e a fase inferior contendo uma fração insolúvel.

Figura 1. Separação de fases do hidrolisado.



As fases superior e intermediária foram encaminhadas ao ITAL para análise de proteína e de ácidos graxos. A Tabela 3 apresenta os resultados.

Tabela 3. Composição do hidrolisado proteico de resíduo de carpa húngara com relação a proteína e ácidos graxos.

Determinação	Valor (g/100g)
Lipídios	9,60
Proteína	6,77
Ácidos Graxos Saturados	2,27
Ácidos Graxos Monoinsaturados	5,36
Ácidos Graxos Poli-insaturados	1,06
Ômega 3	0,22
Ômega 6	0,83

Com base nos resultados observa-se que após a hidrólise houve uma redução de aproximadamente 53% no teor lipídico. Entretanto, houve a permanência de ácidos graxos mono e poli-insaturados. A presença dos ácidos graxos na dieta dos seres humanos é de extrema importância, pois auxilia na melhoria e prevenção de doenças. Os monoinsaturados são benéficos a saúde, pois reduzem o LDL e estimula o aumento do HDL. Os efeitos benéficos foram relatados para doenças cardiovasculares, entretanto doenças como câncer, asma, diabetes, hipertensão arterial, distúrbios neurológicos também são beneficiados por esse nutriente (VAZ, 2014). Também há relatos de que o uso de suplementos contendo ácidos graxos que contenham ômega 3 em pacientes oncológicos são relevantes, sugerindo estimular a ingestão de pescado como forma de prevenção (CARMO E CORREIA, 2009). O ômega 6 também auxilia na prevenção de doenças cardíacas, porém seu consumo deve ser moderado (HARRIS, 2009).

A partir dos resultados para os valores de proteína foi possível determinar o grau de hidrólise de aproximadamente 34% para este trabalho, sendo semelhante a outros trabalhos. Diniz e Martin (1996), utilizaram a metodologia de superfície de resposta para obter os melhores valores de pH, temperatura, proporção enzima/substrato (E/S) para o hidrolisado de músculo *Squalus acanthis* utilizando a mesma enzima. Estes obtiveram um grau de hidrólise de 18,77% para um pH de 8,3; temperatura de 53,6°C e 3,6% de proporção E/S. Centenaro (2007), em estudos preliminares para obtenção do hidrolisado proteico de corvina utilizando Alcalase®, obteve 19,99% de grau de hidrólise quando utilizou pH 8,0, concentração de enzima 2,5% (p/p), concentração de substrato 1,5% (p/v) e tempo de 60 minutos em temperaturas de 55°C.

### Conclusões:

Tendo em vista que foi constatado na análise centesimal, o significativo teor de proteína na carcaça do pescado e a obtenção de um promissor do grau de hidrólise, constata-se que há potencial para estudos mais aprofundados afim de utilizar este resíduo com substrato para a produção de suplemento alimentar. Também foi verificado que o resíduo do pescado apresenta ômega 3 e ômega 6 que são nutrientes benéficos no auxílio do tratamento e prevenção de doenças, principalmente cardiovasculares.

Desta forma, os resultados são satisfatórios quando comparados com estudos similares, no entanto sugere-se para estudos posteriores um planejamento experimental aprofundado em torno do tempo, temperatura e concentração enzima/substrato, já que estes influenciam diretamente nos resultados.

### Referências bibliográficas

BHASKAR, N. et al. **Utilization of meat industry by products: protein hydrolysate from sheep visceral mass.** Bioresource Technology, England, v. 98, n. 2, p. 388-394, 2007.

BRABO, M. F. et al. **Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura.** Acta of Fisheries and Aquatic Resources. v. 4, n. 2, p. 50-58, 2016.

- CARMO M. C. N. S.; CORREIA, M. I. T. D. **A Importância dos Ácidos Graxos Ômega-3 no Câncer.** Revista Brasileira de Cancerologia. v. 55, n. 3, p. 279-287, 2009.
- CENTENARO, G. S. **Efeito do grau de hidrólise nas propriedades funcionais de hidrolisados de corvina (*Micropogonias furnieri*).** 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande.
- DIDONET, F. P. et al. **Composição centesimal da Carpa Húngara (*Cyprinus carpio*, L.).** In: Simpósio de Alimentos para a Região Sul, 9., 2015. Passo Fundo Anais... Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2015. v.9, p. 1-4.
- 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, p. 419-426. 1996.
- 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.
- HARRIS, W. S. et al. **Omega-6 Fatty Acids and Risk for Cardiovascular Disease: A Science Advisory From the American Heart Association Nutrition Subcommittee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Epidemiology and Prevention.** American Heart Association, 2009. v. 119. p. 902-907.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para análises de alimentos.** 4ª. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1000 p.
- KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A.; **Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 40:1, p. 43-81, 2000. DOI: 10.1080/10408690091189266
- LUNELLI, T. **Reciclagem de resíduos do processamento de tilápia (*Oreochromis niloticus*) visando obter hidrolisado proteico como coproduto.** 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- SANTOS, M. F. G. **Produção de hidrolisados de proteína de pescado (HPP) a partir de subprodutos da indústria do pescado de Peniche – Aplicações.** 2011. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar do Instituto Politécnico de Leiria, Leiria.
- SARTORI, G. D. O.; AMANCIO, D. **Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil.** Segurança alimentar e nutricional, Campinas, v. 19, n. 2, p. 83-93, 2012.
- SLIZYTE, R. et al. **Yield and composition of different fractions obtained after enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by products.** Process Biochemistry, London, v. 40, n. 3-4, p. 1415-1424, 2005.
- SUCASAS, L.F.A. **Avaliação do resíduo do processamento de pescado e desenvolvimento de co-produtos visando o incremento da sustentabilidade na cadeia produtiva.** 2011. Tese (doutorado em ciência), Universidade de São Paulo, São Paulo.
- VAZ, D. S. S. et al. **A importância do ômega 3 para a saúde humana: um estudo de revisão.** Revista UNINGÁ Review. v. 20, n. 2, p. 48-54, 2014.