



CATÓLICA PORTO
BIOTECNOLOGIA

Perspetivas para a aplicação de resíduos Agroalimentares

Maria Manuela E. Pintado

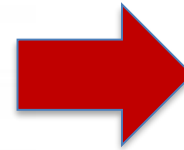
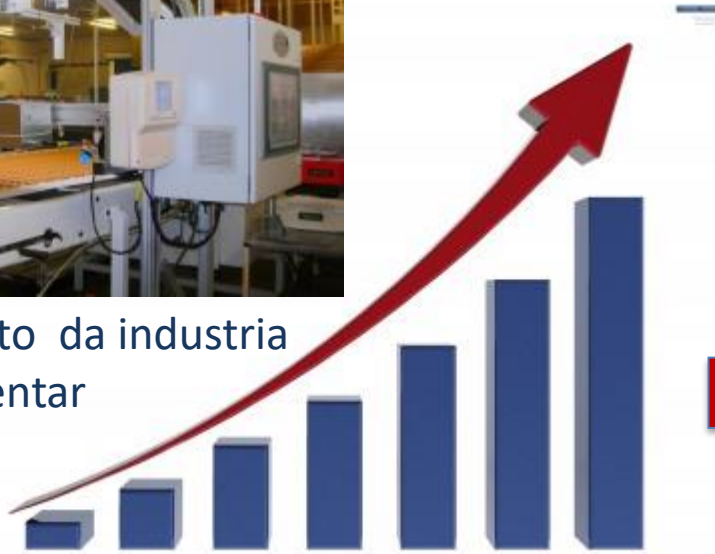
(mpintado@porto.ucp.pt)

CBQF-Escola Superior Biotecnologia – Universidade Católica
Portuguesa, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto
PORTUGAL

III SIAN Simpósio de Alimentos e Nutrição
Rio de Janeiro
18 de Maio 2017



Crescimento da indústria
Agro-alimentar



Aumento de produção de
subprodutos (co-produtos)
e resíduos Agro-
Industriais



A gestão e eliminação de resíduos
implica um custo económico
acrescido para as empresas
e
ainda causa serios problemas
ambientais.



Produção mundial de
Resíduos alimentares
1,3 bilhões tn /ano

1/3 dos alimentos para consumo humano é perdida mundialmente (como resíduo de processamento ou perda na cadeia)

Apenas uma parte valorizada até produtos com diferente valor acrescido:

- Aplicação na agricultura
- Alimentação animal
- Compostagem – fertilizantes
- Energia
- Compostos de valor acrescido



Principais limitações dos subprodutos





European Commission

Tendências atuais

Towards a circular economy

The European Commission has adopted an ambitious new Circular Economy Package to help European businesses and consumers to make the transition to a stronger and more circular economy where resources are used in a more sustainable way.

The proposed actions will contribute to "closing the loop" of product lifecycles through greater recycling and re-use, and bring benefits for both the environment and the economy. The plans will extract the maximum value and use from all raw materials, products and waste, fostering energy savings and reducing Green House Gas emissions.



CONFERÊNCIA
*PÔR A
ECONOMIA
A CIRCULAR*

... Assim ...

Resíduos Alimentares são hoje considerados como uma **fonte barata** de **componentes de valor**, uma vez que as tecnologias existentes permitem a **recuperação de compostos-alvo** e sua **reciclagem dentro da cadeia de alimentos** como **aditivos funcionais** em diferentes produtos.



Subprodutos Alimentares



Valorização ?

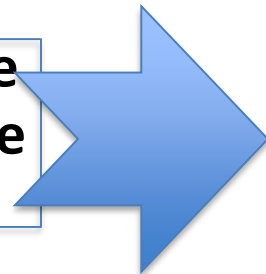
Extracção de substâncias bioactivas
(composto ou extracto)

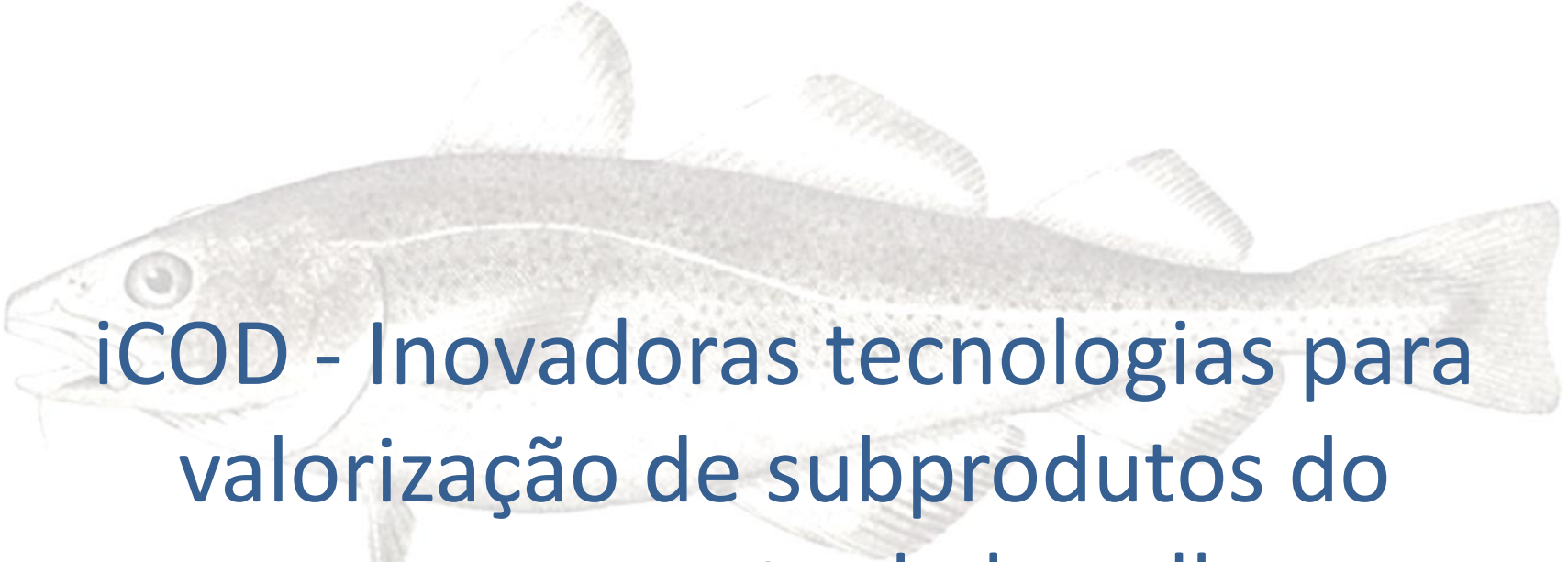
Degradação via
enzimática para
libertação de
novos
compostos

Fermentação
com produção
de novos
produtos

Fases de recuperação de compostos a partir de subprodutos

- selecção do método de extracção de forma a maximizar o rendimento dos compostos-alvo,
- adequar às exigências do processamento industrial,
- purificar os ingredientes de alto valor eliminando impurezas e compostos tóxicos,
- evitar a deterioração e perda de funcionalidade durante processamento e
- garantir a natureza de grau alimentar do produto final
- No caso de ser ingrediente funcional avaliar a actividade biológica, biodisponibilidade e toxicidade do ingrediente





iCOD - Inovadoras tecnologias para valorização de subprodutos do processamento de bacalhau

A. PORTELA¹, E. RODRIGUES¹, J. VIEIRA¹, R. MARTINS¹, C. PICCIRILLO², M.M.E. PINTADO², P.M.L. CASTRO², S. MOURA², F.A.S.G. ANTUNES³, I.I.R. BAPTISTA³, I.B. CRUZ³, R.M.F. JORGE³, T.A.C. OLIVEIRA^{*3}

¹Pascoal & Filhos, S.A., Cais dos Bacalhoeiros, Gafanha da Nazaré, Portugal

²CBQF - Escola Superior de Biotecnologia, Porto, Portugal

³WeDoTech, Porto, Portugal



CATÓLICA
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA
ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA



Processo de produção de bacalhau



Pesca



**Remoção das
cabeças e
evisceração**



Corte
Espinhas 1 ton/d
Água de escorrências
300L/dia



Salga / Cura
6 dias
Moira 4 m3/dia



**Corte
Demolha
Congelação
Embalagem**

Peles 300 kg/dia
Água salgada 78 m3/dia

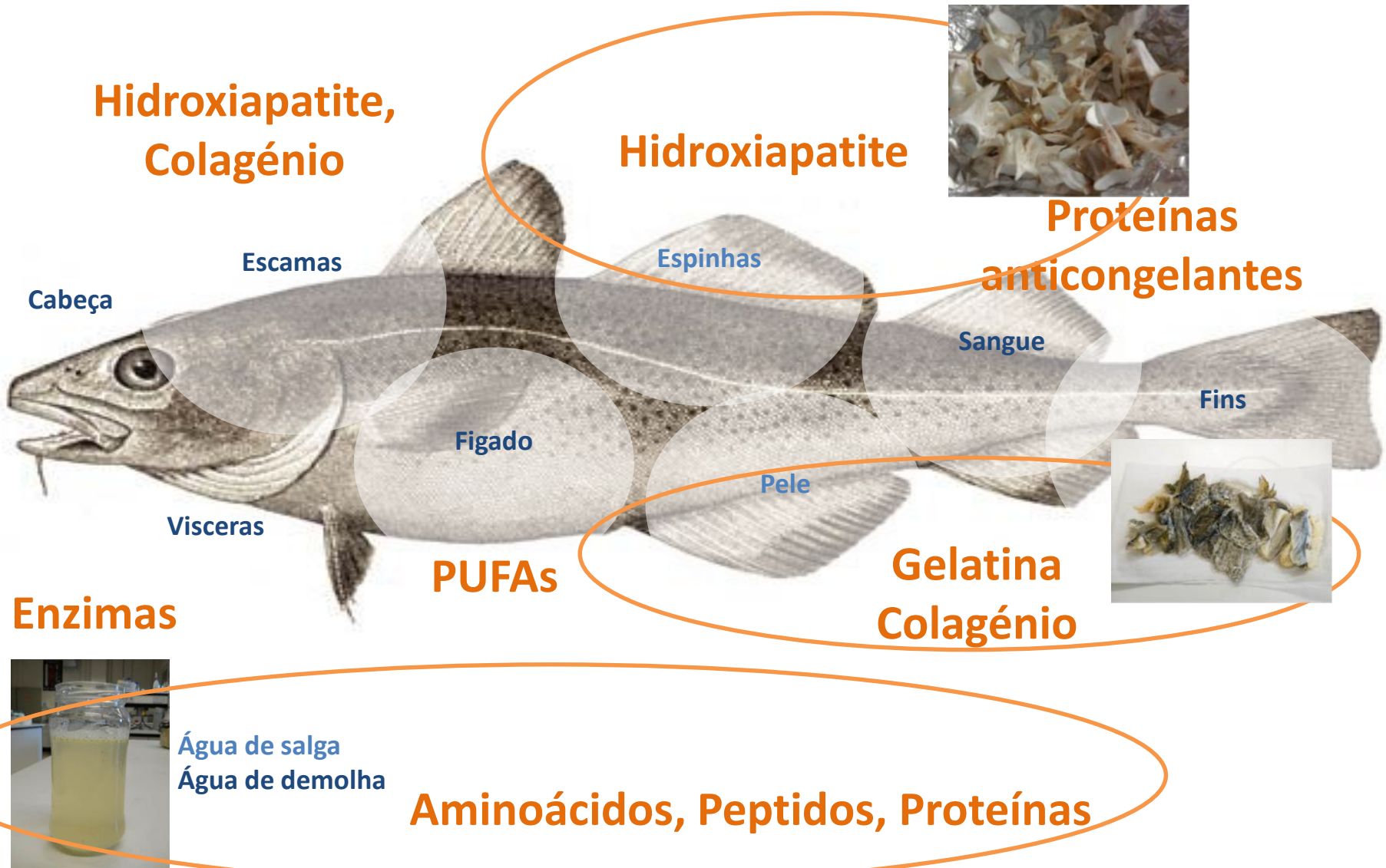


Secagem
≈ 22°C
≈ 3 dias



Cura (aberta)
3 meses

Compostos de valor acrescentado explorados



Exemplo de Extração de gelatina de subprodutos de peixe

- ① Lavagem → ② Remoção de proteína não conetiva → ③ Despigmentação →
④ Cozedura em água



escamas



escamas : água, 1:2 (w/v)



Cozedura 70 a 90 °C (5 h)



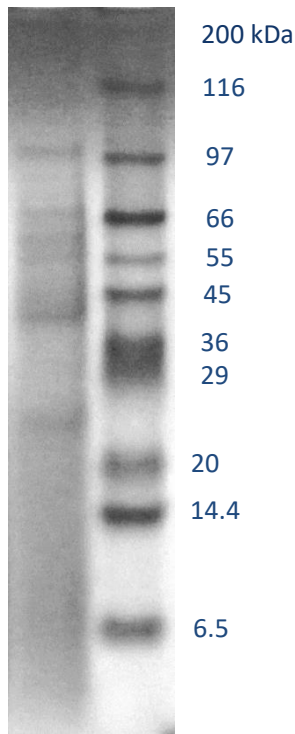
Rendimento em gelatina:

1 kg escamas → 1.8 L gelatina (7 % p/p)

Extração de gelatina

A gelatina é um hidrolizado proteico, onde há

- 1) Fração de alto peso, 200-100 kDa
- 2) Fração de médio peso, 66-40 kDa
- 3) Fração de baixo peso, 25-2 kDa



Líquida, $T > 15^{\circ}\text{C}$

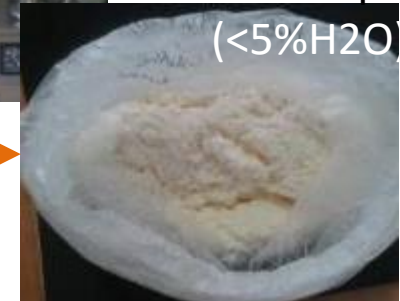


Em gel, $T < 7-8^{\circ}\text{C}$

Em lascas, $T > 85^{\circ}\text{C}$, 16 h



Gelatina em pó
($< 5\% \text{H}_2\text{O}$)

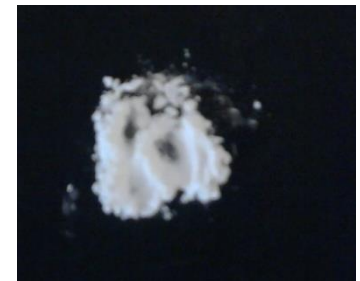
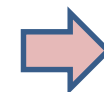
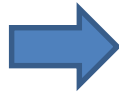


Estudo: melhoria de valorização via hidrólise

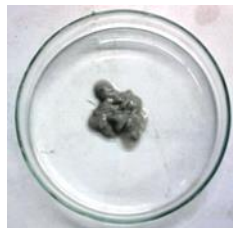
Extração de colagénio e obtenção de hidrolisados

O processo de extração passa pelas seguintes fases:

① Lavagem → ② Solubilização em ácido → ④ Hidrolise enzimática (hidrolisados)



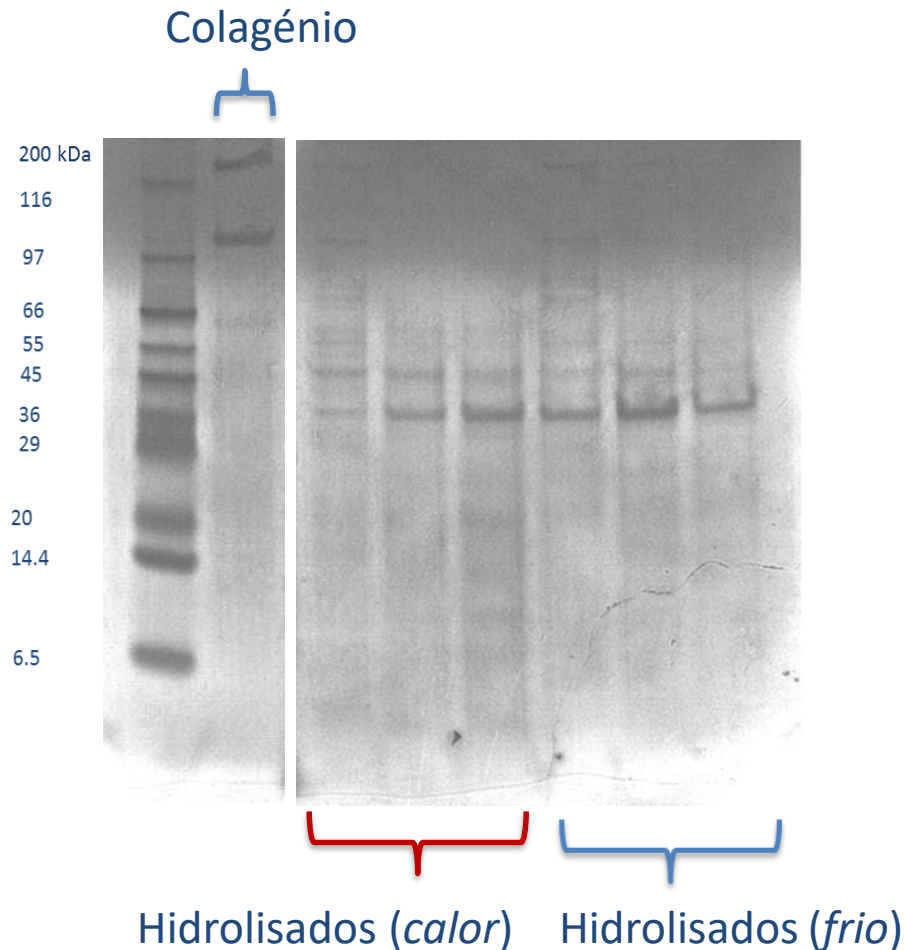
Colagénio



Atelocolagénio

- Formulações anti-hipertensivas
- Formulações cosméticas e alimentares
- Firmeza da pele
- Na **biomedicina** para implantes ósseos e

Extração de colagénio e obtenção de hidrolisados



Colagénio de tipo I:

- Uma hélice β (200 kDa)
- Uma hélice α (100 kDa)

Hidrolisados

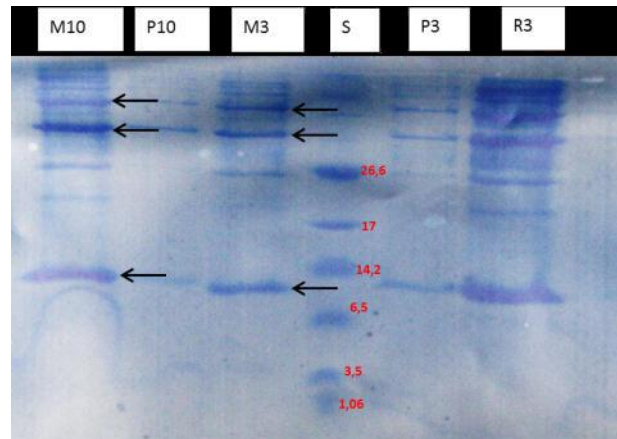
- Diferentes kDa dependendo da quantidade e do tipo de enzima

Estudo: aumento de hidrólise - péptidos BPM <3000 Da

Proteínas, péptidos, aminoácidos e

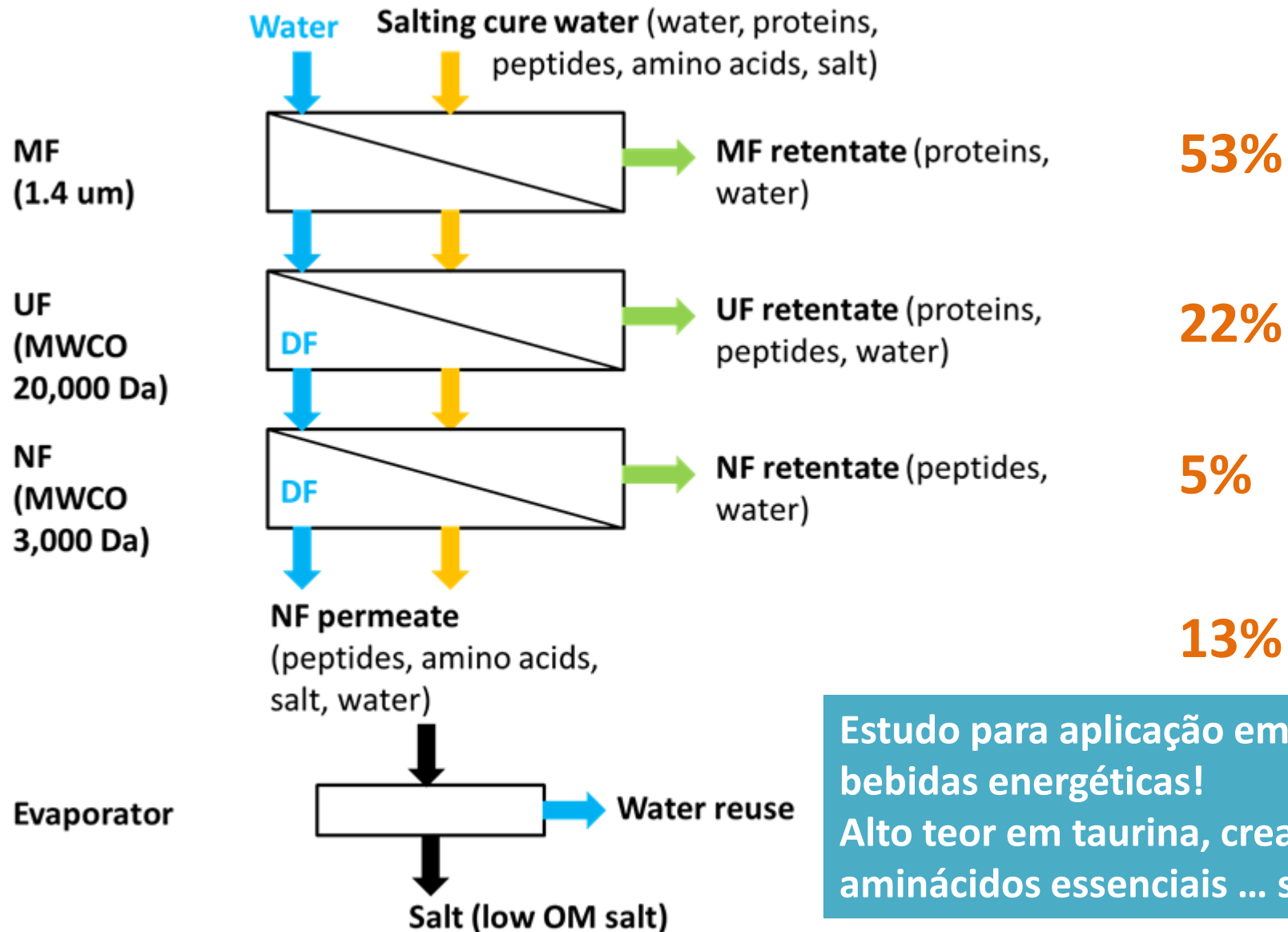


- Águas de salga e demolha muito concentradas em sal. Obstáculo considerável para a recuperação de compostos de alto valor (proteínas, peptídeos e aminoácidos livres) ... embora seja o sal que preserva os compostos!



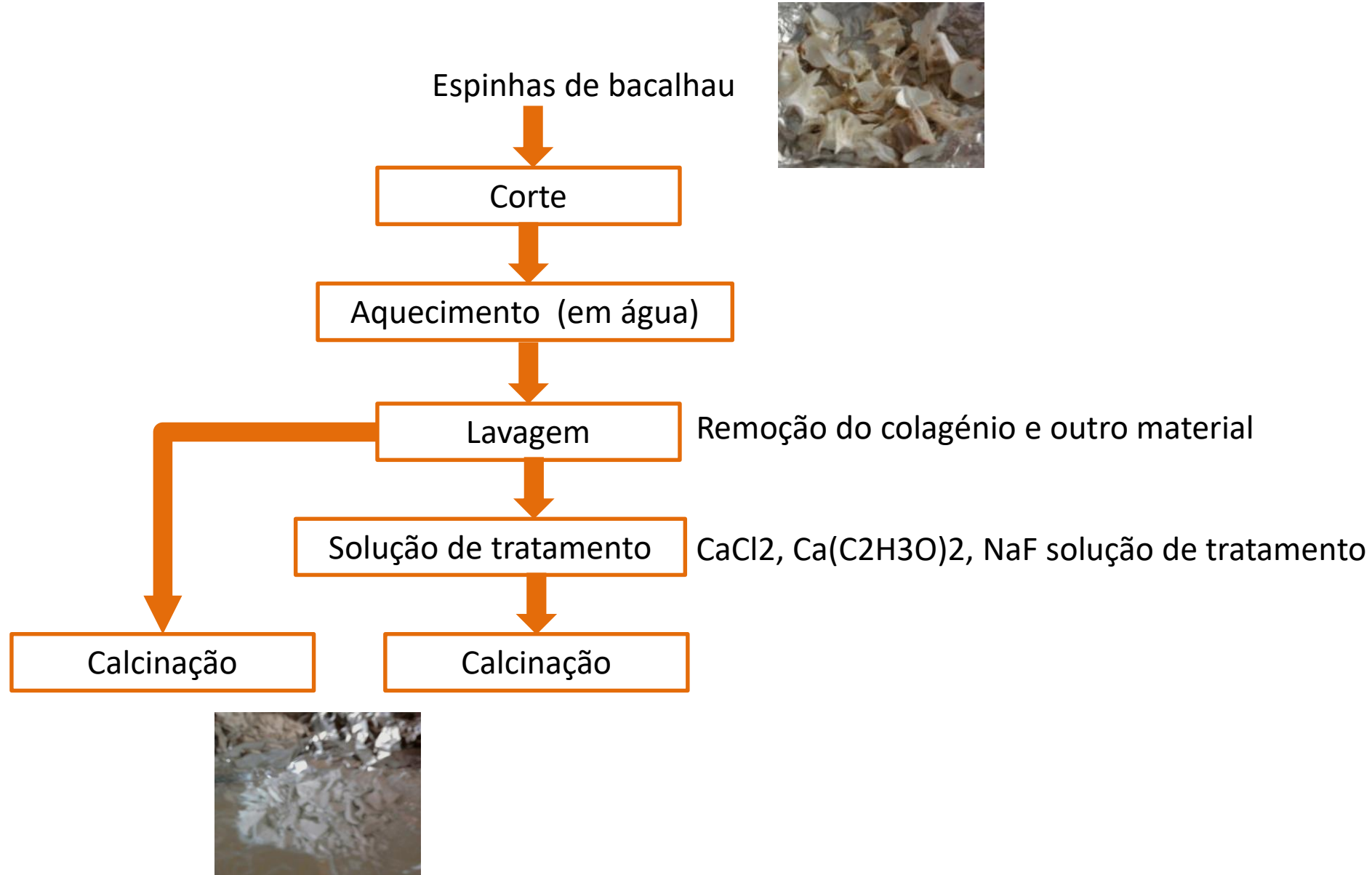
- Geração de resíduos e efluentes sólidos ricos em cloreto de - tratamento / disposição adequado exigido

Proteínas, péptidos, aminoácidos e sal

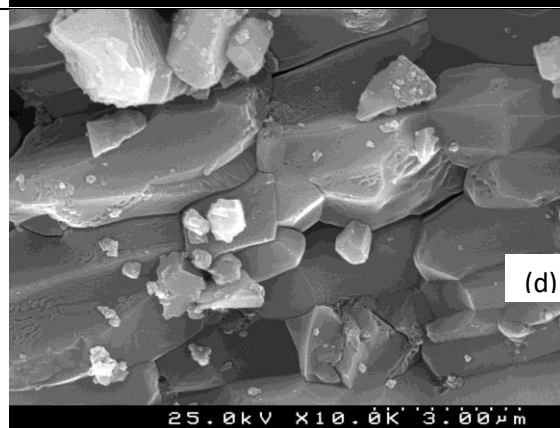
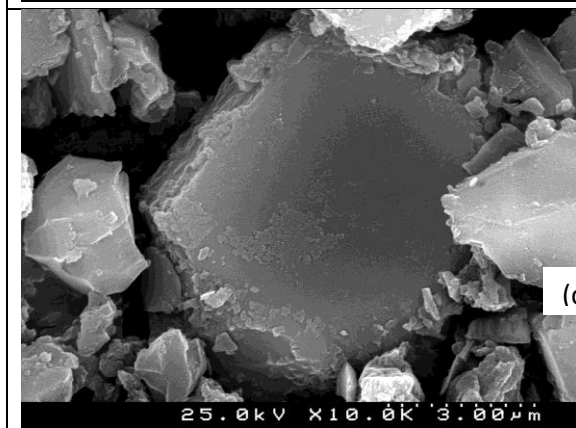
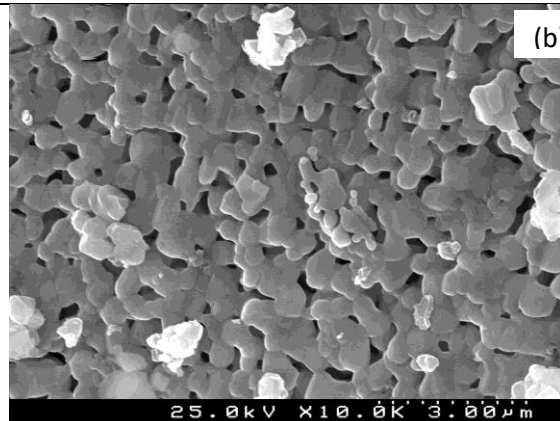
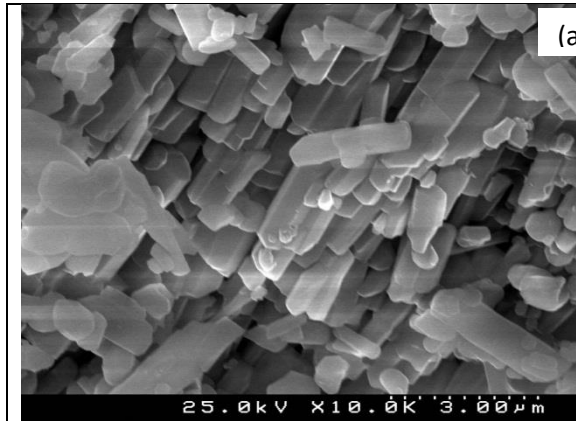


Estudo para aplicação em
bebidas energéticas!
Alto teor em taurina, creatina e
aminácidos essenciais ... sal!

Hidroxiapatite - processo



Hidroxiapatite - Produto



a) HAP:Ca₃(PO₄)₂

b) HAP

c) CIAP

d) FAP

Em estudo:

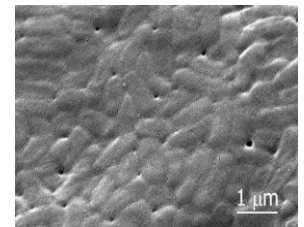
1. Biomateriais

(substituição óssea):

- Composição elementar
- Biocompatibilidade

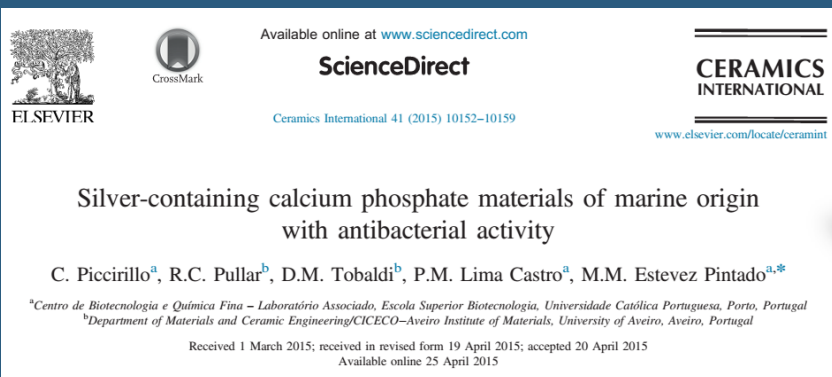
2. Tratamento de efluentes:

Remoção de metais pesados





ICOD – INNOVATIVE TECCHNOLOGIES TOWARDS THE VALORIZATION OF CODFISH PROCESSING INDUSTRY



Patent: 2012056757
**A method for obtaining
hydroxyapatite based materials
from a natural source**



Cite this: *J. Mater. Chem. B*, 2014, 2, 5999

A hydroxyapatite–Fe₂O₃ based material of natural origin as an active sunscreen filter

C. Piccirillo,^{*a} C. Rocha,^{ab} D. M. Tobaldi,^c R. C. Pullar,^c J. A. Labrincha,^c M. O. Ferreira,^d P. M. L. Castro^a and M. M. E. Pintado^a

Materials Science and Engineering C 71 (2017) 141–149

Contents lists available at ScienceDirect



Materials Science and Engineering C

journal homepage: www.elsevier.com/locate/msec

Effect of preparation and processing conditions on UV absorbing properties of hydroxyapatite–Fe₂O₃ sunscreen

M.A. C. Teixeira^a, C. Piccirillo^{a,*}, D.M. Tobaldi^b, R.C. Pullar^b, J.A. Labrincha^b, M.O. Ferreira^c, P.M. L. Castro^a, M.M. E. Pintado^a



Runner up in 2015 IChemE Awards, Sustainable Development Category.

International patent
(PCT/IB2015/055001)

WE'VE BEEN SOLVING COMPLEX CHEMISTRY PROBLEMS GLOBALLY FOR OVER 200 YEARS.



Recycled fish bones offer five star sun protection

24 July 2014 [Cally Haynes](#)

[Like](#) 18
 [Tweet](#)
[G+](#) 6
 [Share](#) 17

An **effective new sunscreen** based on iron-doped hydroxyapatite (HAp)-based materials derived from cod fish bones – a by-product of the food industry – has



DECODED = {science...}

[HEADLINES](#)
[GENERAL SCIENCE](#)
[APPLIED SCIENCE](#)
[LIFE SCIENCE](#)
[PHYSICAL SCIENCE](#)

Sunscreen Filter Made from Cod Fish Bones: Non-Toxic UV Protection?

July 17, 2014 by Clara Piccirillo, PhD — [Leave a Comment](#)



UV rays emitted by the sun can be dangerous for health. Photo by Edsousa.

A new sunscreen made from fish bones? New research shows it's possible.

Researchers from the Escola Superior de Biotecnologia (Porto, Portugal) have developed a sunscreen filter from cod fish bones, a by-product of the food industry.

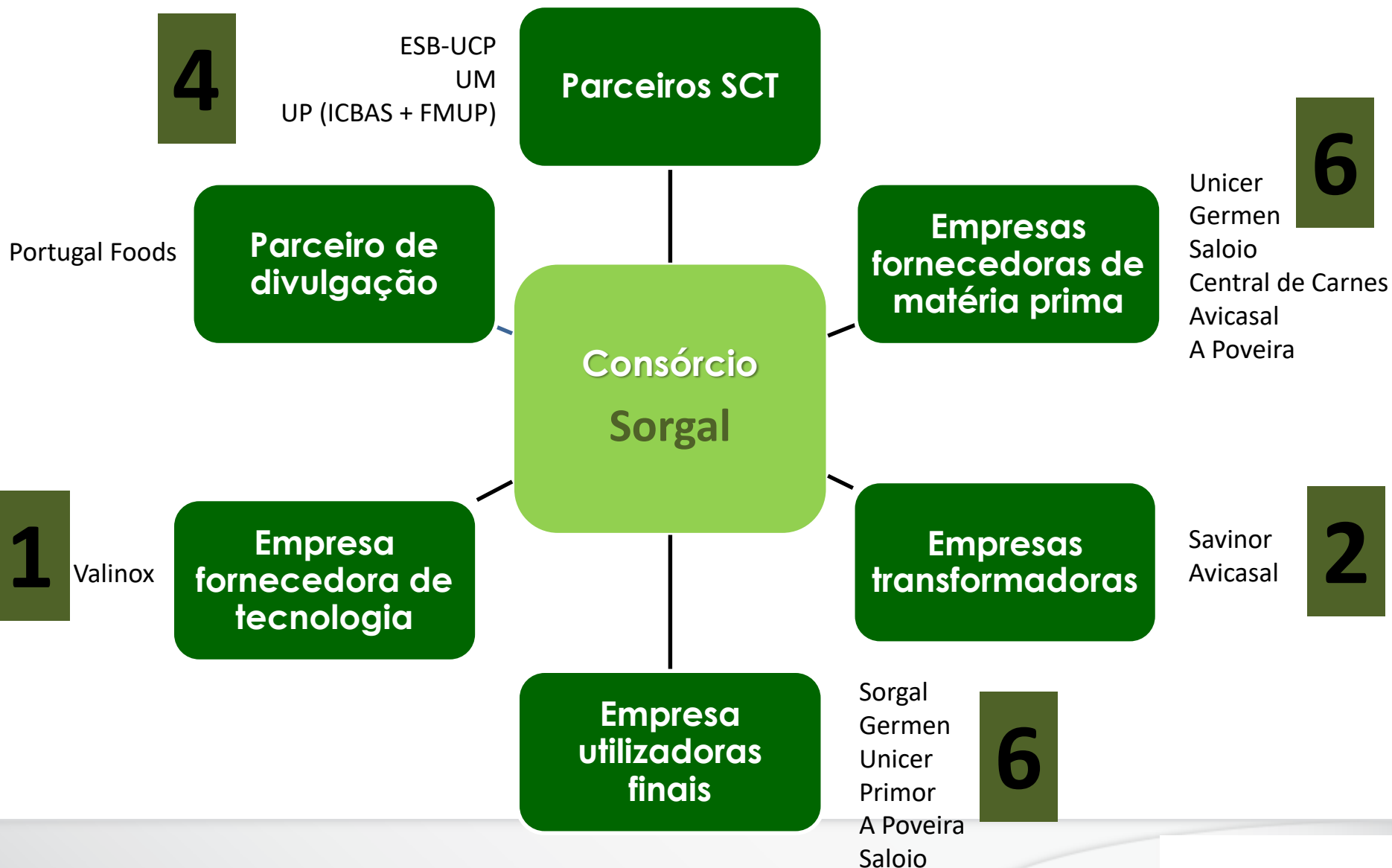
The material – a powder – is based on hydroxyapatite (a calcium phosphate) modified with iron and iron oxide, and absorbs in both UVA and UVB ranges.

Potentially, this powder could be used as additive in sun protection creams or embedded in fabrics and clothes.



Valorização Integrada de Subprodutos Agroalimentares para aplicação na Alimentação Humana e Animal





Integração de Subprodutos



**Integração de fontes
de resíduos/subprodutos**



**Soro, levedura, pelo,
penas, osso, espinhas
e peixe**



**Integração de
tecnologias
Maior eficiência de
transformação
Mais sustentável**



**Proteínas
diferenciadas**

Péptidos

Aminoácidos

Hidroxiapatite

**Ingredientes de
valor
diferenciado**

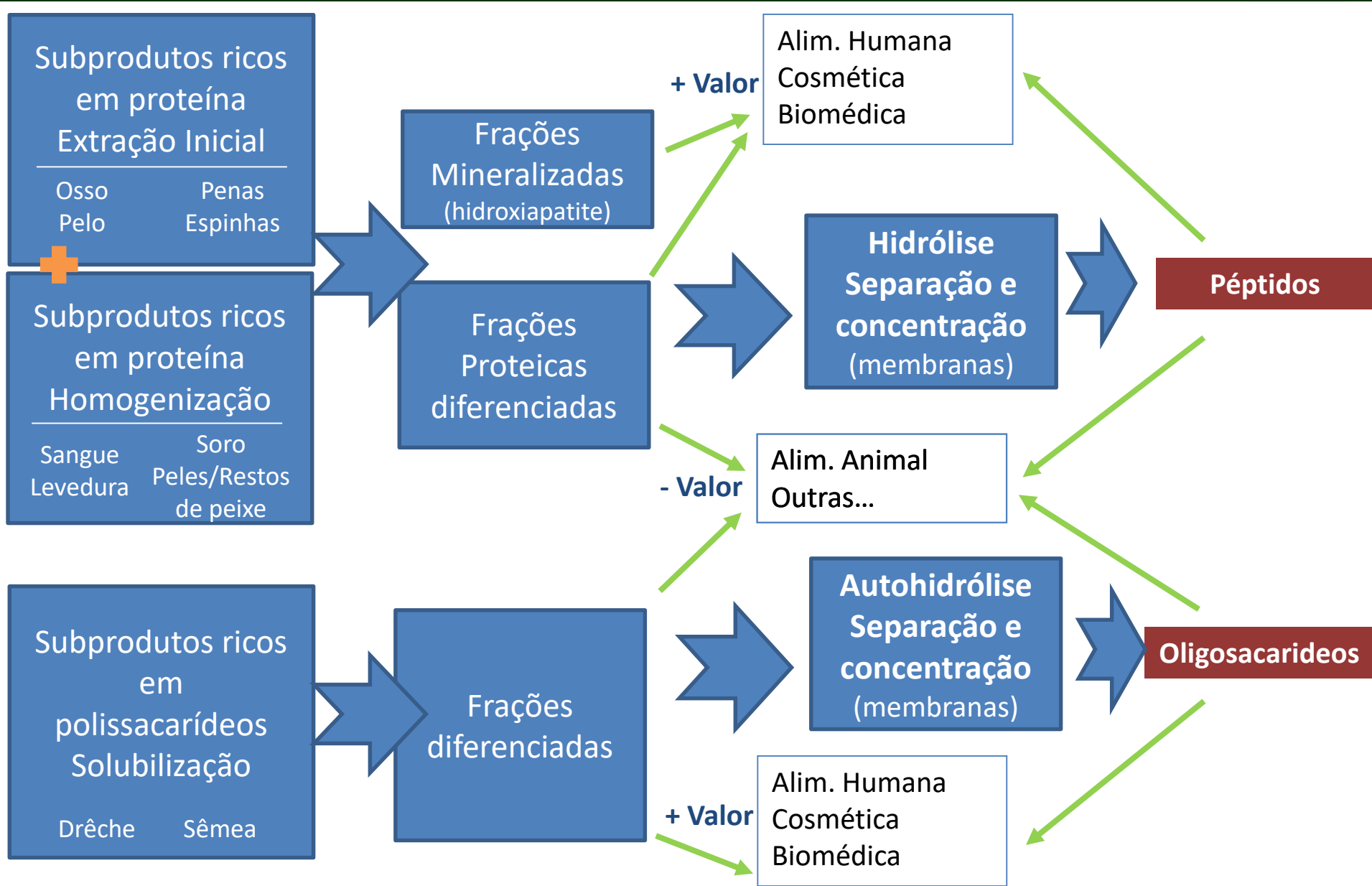
Cosmética

Biomédica

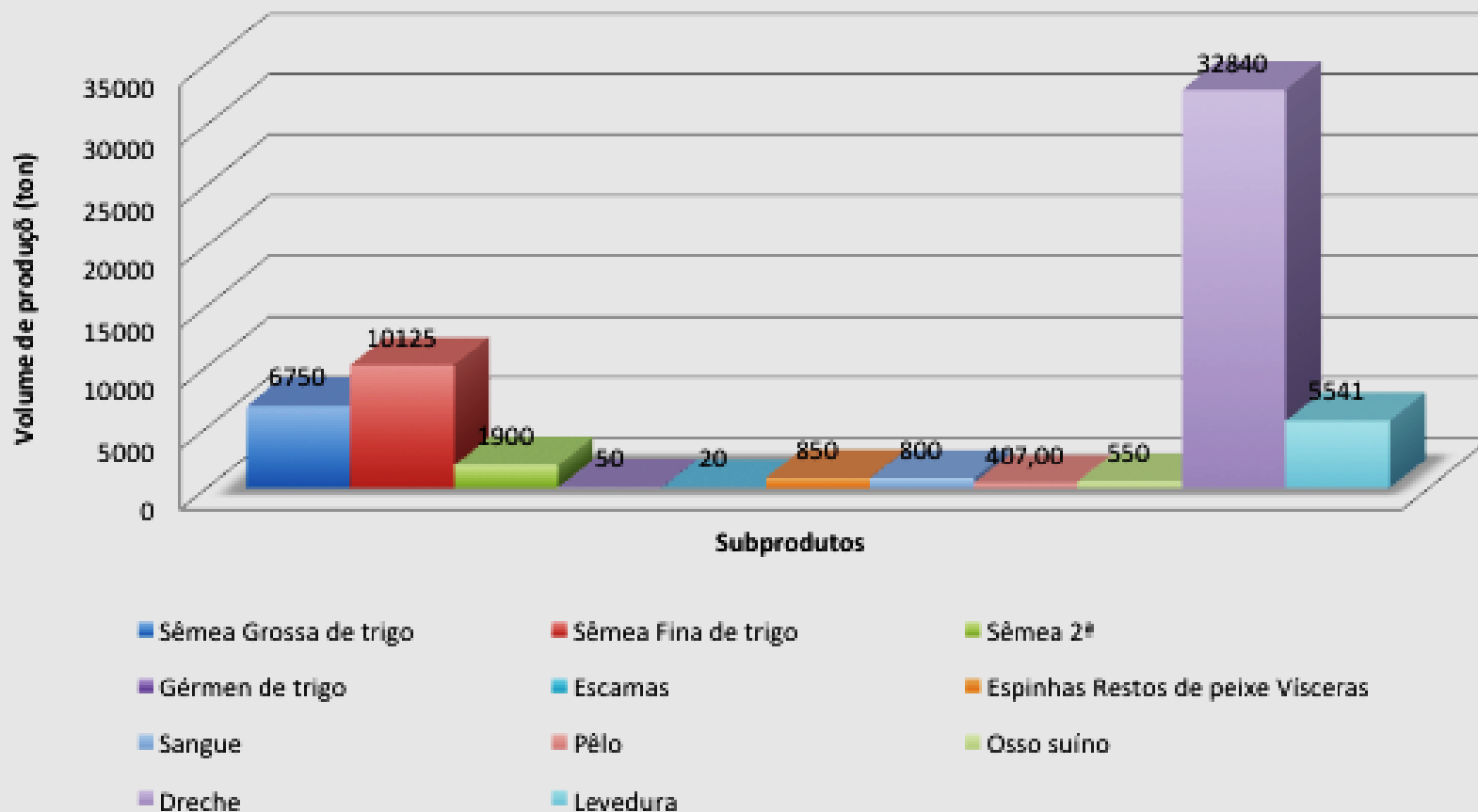
Alimentar

Animal

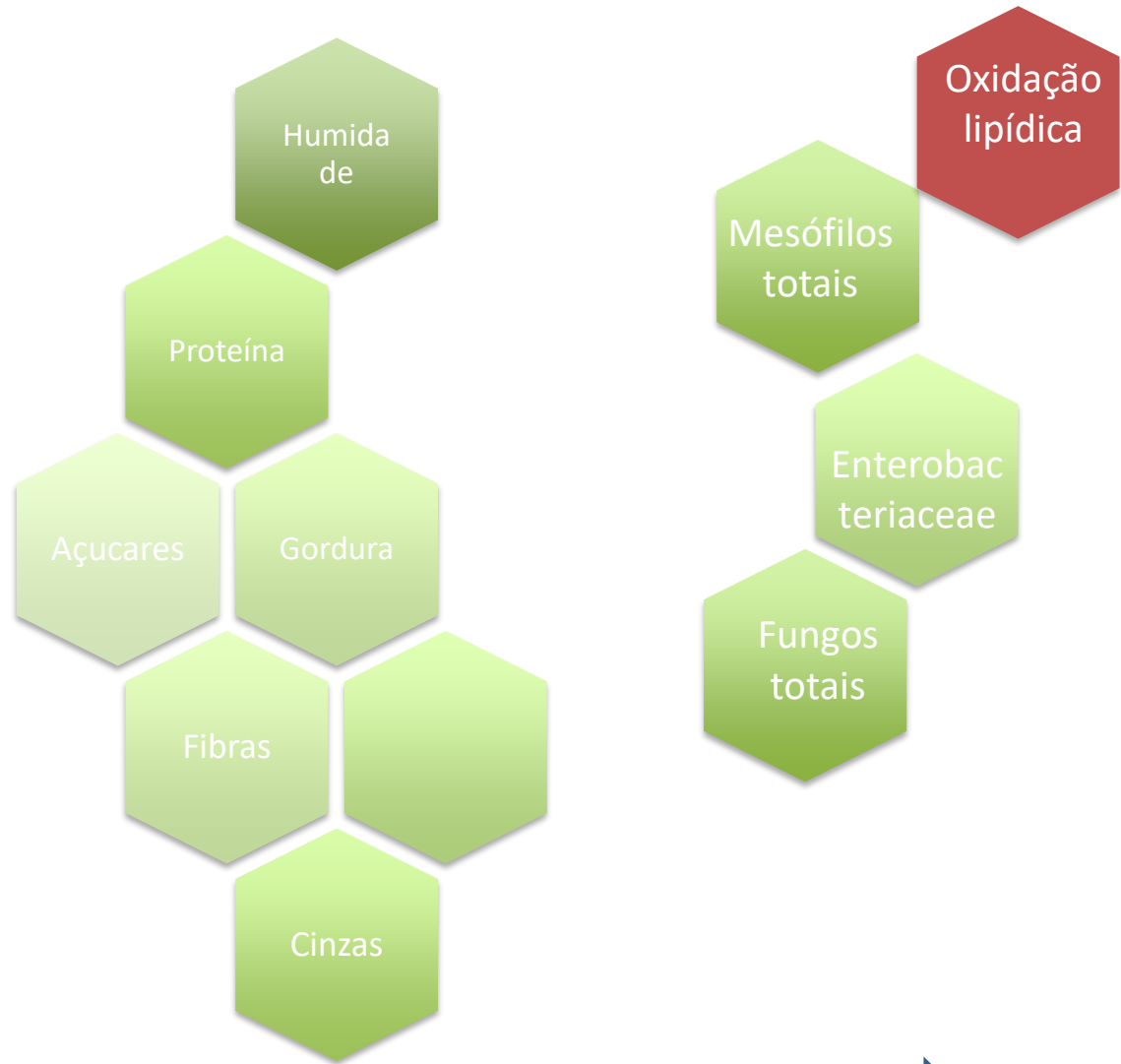
**Aplicações de
valor
diferenciado**



Levantamento dos subprodutos agro-alimentares gerados



Parâmetros avaliados para cada resíduo



Estabilidade ao longo de armazenamento



Composição Potencial Variabilidade

Sangue cozido

Parâmetro	Lote I	Lote II	Lote III
Proteína total (g/100g)	29,05 ± 0,15	29,45 ± 0,25	29,40 ± 0,40
Gordura total (g/100g)	<0,1	<0,1	0,10 ± 0,00
Cinza total (g/100g)	0,88 ± 0,00	0,84 ± 0,00	0,94 ± 0,02
Humidade (g/100g)	68,55 ± 0,25	68,30 ± 0,20	69,25 ± 0,75

Subprodutos Central Carnes

Obtenção de hidrolisados proteicos Escala Semi – industrial

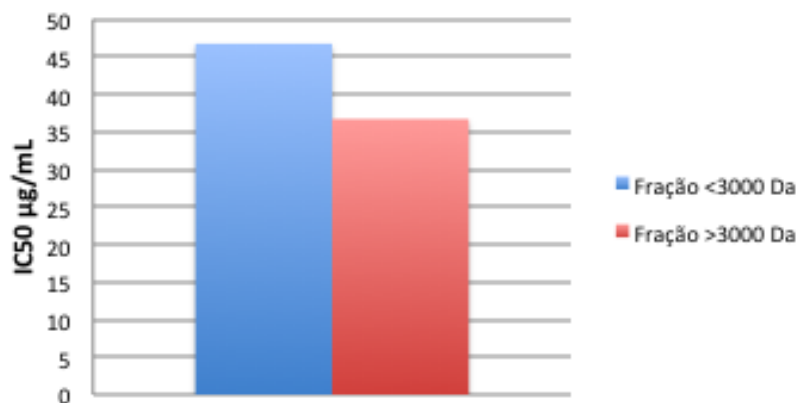




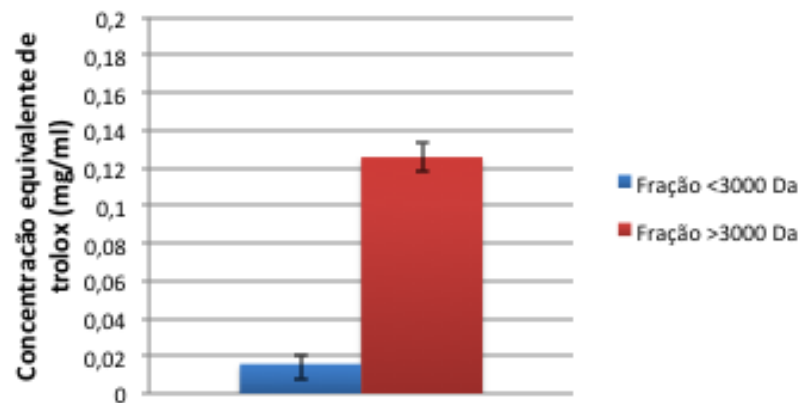
Fração <3000 Da

Fração >3000 Da

Atividade anti-hipertensiva



Atividade antioxidante





Levedura



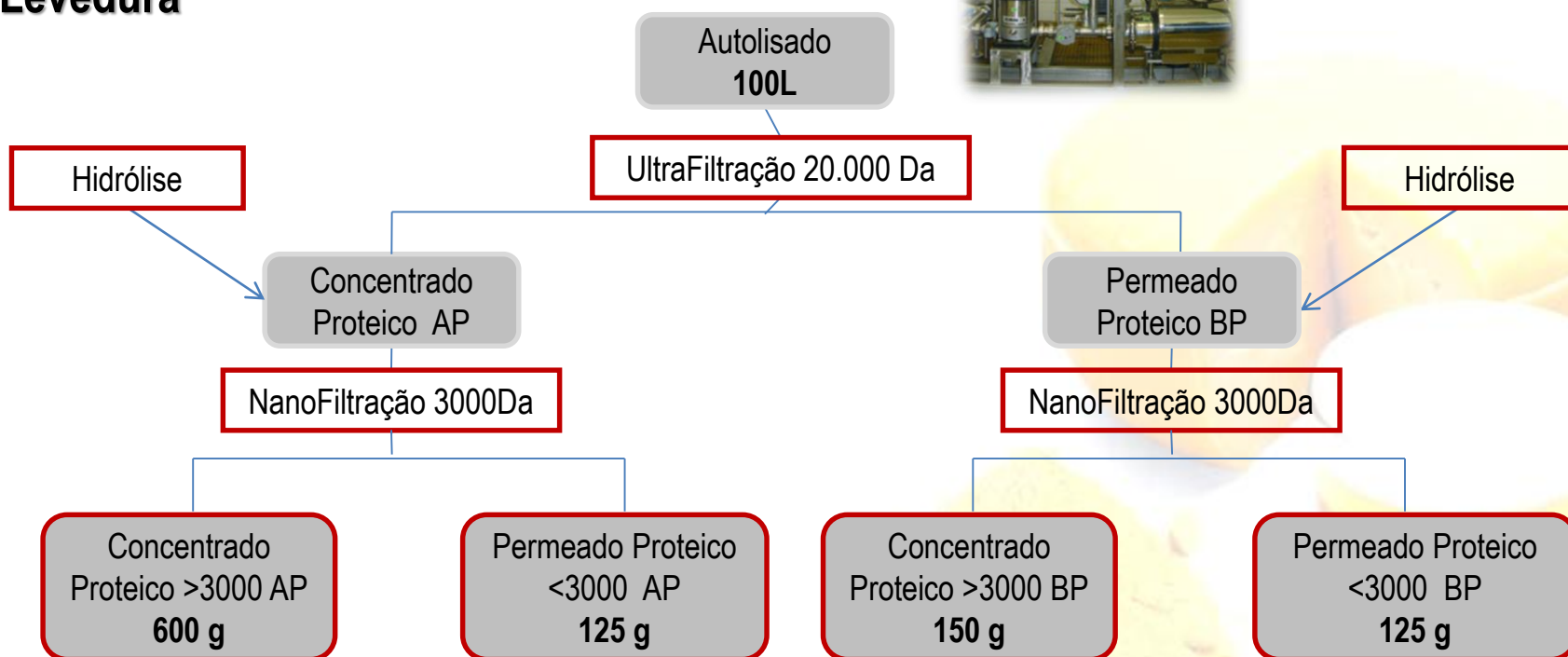
Levedura

Parâmetro	Lote I	Lote II	Lote III
Proteína total (g/100g)	7,75 ± 0,25	9,20 ± 0,40	7,95 ± 0,05
Gordura total (g/100g)	0,30 ± 0,10	0,35 ± 0,05	0,25 ± 0,05
Cinza total (g/100g)	1,02 ± 0,00	1,38 ± 0,00	1,10 ± 0,01
Humidade (g/100g)	82,40 ± 0,00	78,30 ± 0,00	81,90 ± 0,00

Obtenção de hidrolisados proteicos

Processo de Ultrafiltração Selectiva Escala Semi – industrial

Levedura



AP – Alto Peso
BP – Baixo peso

Levedura

levedura de Cerveja – Hidrolisados peptídicos



Concentrado
Proteico >3 kDa AP



Concentrado
Proteico >3 kDa BP



Permeado proteico
<3 kDa AP



Permeado proteico
<3 kDa BP

Resíduo levedura de Cerveja – Hidrolisados peptídicos

AP – Alto peso
BP – Baixo peso

Concentrado
Proteico >3 kDa AP

Permeado proteico
<3 kDa AP

Concentrado
Proteico >3 kDa BP

Permeado proteico
<3 kDa BP

Composição química

Proteína: 69 %
Açúcares: 27 %
Minerais: 4%
Sódio: 0,47%
Potássio: 0,67%

Proteína: : 30%
Açúcares 40%
Minerais : 30%
Sódio: 11,81%
Potássio: 7,95%

Proteína: 40%
Açúcares 20%
Minerais : 26%
Sódio: 2,77%
Potássio: 3,21%

Proteína: 44%
Açúcares : 9%
Minerais : 44%
Sódio: 5,52%
Potássio: 6,62%

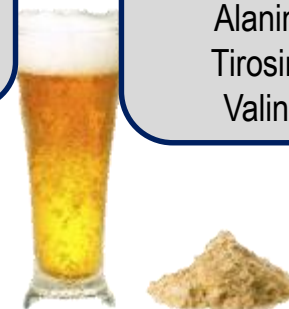
Aminoácidos livres g/100gproteína

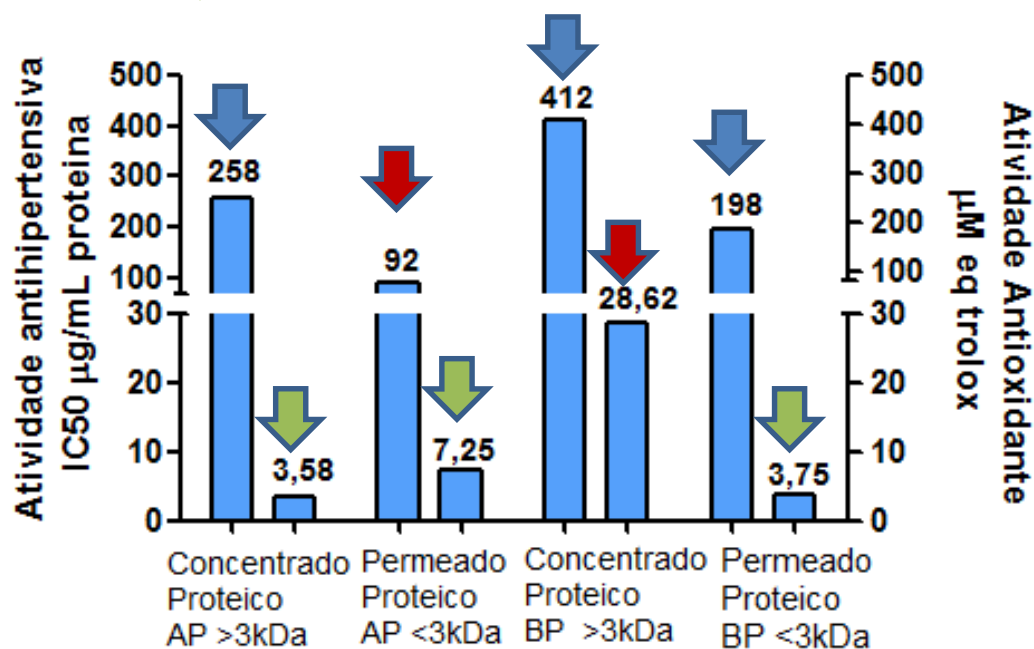
Ácido glutâmico 0,63
Treonina 0,23
Arginina 0,28

Ácido glutâmico 5,57
Glutamina 17,99
Arginina 11,25
Alanina 26,63
Tirosina 0,87
Valina 0,78

Ácido glutâmico 15,0
Ácido aspártico 4,08
Glutamina 7,65
Arginina 4,68
Alanina 11

Ácido glutâmico 7,56
Glutamina 8,17
Arginina 5,34
Alanina 17,5
Tirosina 0,39
Valina 0,69





Péptidos identificados

Massa (Da)	Sequência	
506	EHW	Glu-His-Trp
524	PWW	Pro-Trp-Trp
570	SQPW	Ser-Gln-Pro-Trp
582	RYW	Arg-Trp-Trp

→ Atividade Antihipertensiva *In vitro*
IC50 - 25 µg/mL

Resíduo levedura de Cerveja – Hidrolisados peptídicos

Permeado proteico <3
kDa AP

**Estudos *in vivo* – Estudo em
humanos
FMUP**

- ***Efeito antihipertensor em grupo
de 40 hipertensos***

Aplicações: UNICER

Cerveja sem álcool



Resíduo levedura de Cerveja – Hidrolisados peptídicos

Permeado proteico >3
kDa AP

Estudos em Ruminantes– *In vitro e in vivo* ICBAS



Estudos Digestibilidade – *in vivo* ICBAS



Aplicações:

- A Poveira – Paté de peixe
- Primor – Mortadela
- Germén - Pão



Pão de trigo
+ Levedura



Subprodutos de peixe (A Poveira)

Extração de minerais e proteínas com a produção de um caldo concentrado de peixe

- Água
- Espinhas de atum
- Espinhas de sardinha
- Condimentos (louro, sal, pimenta e cravinho)
- Aquecimento lume brando por 5 h.



- Extração do valor das espinhas.
- Elevado teor em minerais
- Em particular Ca, P, K e Mg
- Proteína



Composição de minerais de caldo de peixe

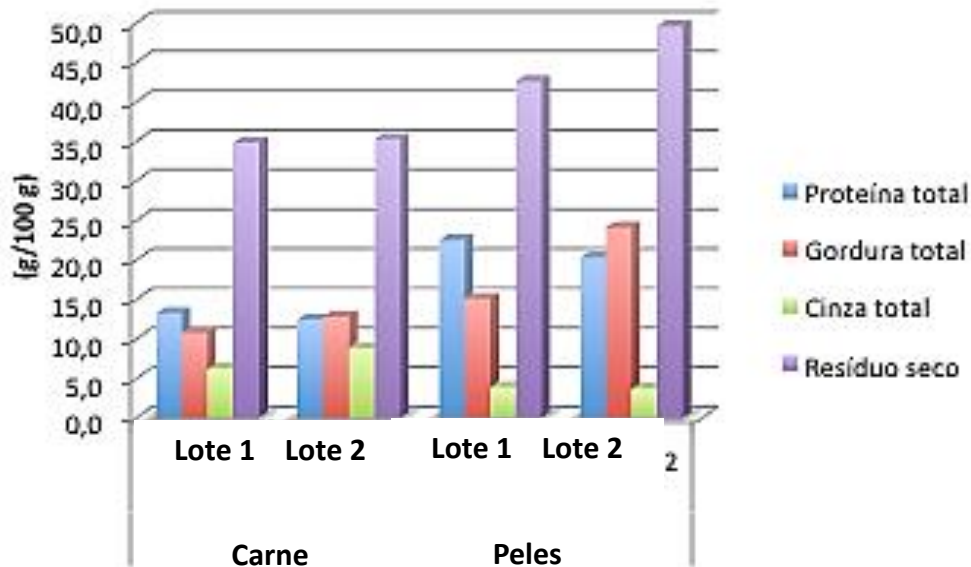
Elemento	Concentração (mg/L)	DDR (mg)
Fe	19,27±5,27	14
Ca	416,14±44,43	800
P	1649,12±168,43	700
Mg	1723,06±167,36	375
K	6350,04±189,64	2000



Resíduo Alimentação Animal

Mineral	Concentração (ppm)
Co	0,29±0,06
Cd	1,37±0,29
Pb	1,70±1,08
Cu	4,53±0,16
B	31,30±0,95
Al	53,84±3,70
Mn	127,91±0,69
Zn	206,88±7,52
Ca	361,64±25,23
Fe	415,69±79,87
Mg	10520,73±113,30
K	14614,13±1343,20
Na	124166,29±3245,04
P	133886,51±2923,80

Produção de péptidos e concentrados proteicos a partir de peles e carne



100L H₂O



50 Kg Pescado

Hidrólise

Filtração

Filtro de Tela
0,5 mm

Eliminação
sólidos grandes



Filtrado
110 L

9L Gordura



Centrifugação

100 L



Micro
Filtração

1,4 Micron

Retido
15L

Filtrado
85L

Nano
Filtração

Retido
15L

Filtrado
70L

Gelificado

Osmose
Inversa

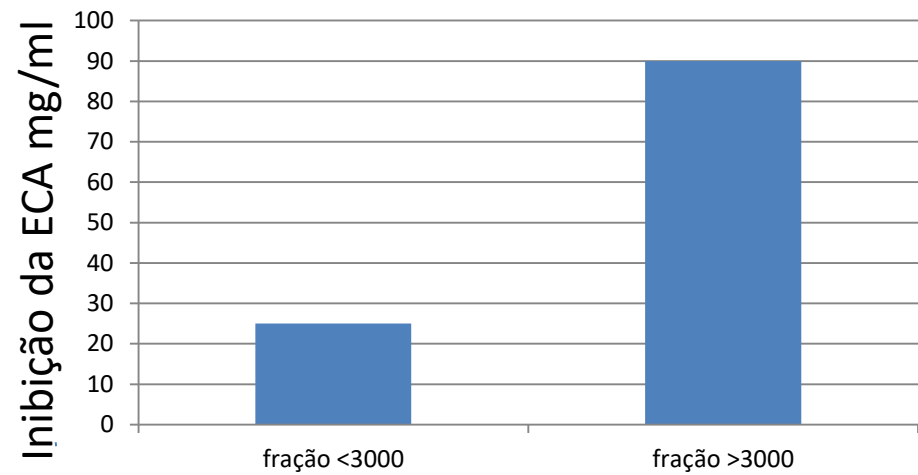
15 L

Liofilização

Hidrolisados peptídicos de peixe

Permeado proteico >3
kDa

Estudos Digestibilidade – *in vivo* ICBAS



Permeado proteico >3
kDa e < 3000

Aplicações:

- A Poveira – Paté de peixe





Pelo

Parâmetro	Lote I	Lote II	Lote III
Proteína total (g/100g)	27,15 ± 1,35	27,90 ± 0,30	28,10 ± 2,20
Gordura total (g/100g)	1,10 ± 0,20	0,85 ± 0,35	1,20 ± 0,00
Cinza total (g/100g)	0,50 ± 0,25	0,26 ± 0,04	0,28 ± 0,05
Humidade (g/100g)	71,85 ± 2,35	70,35 ± 2,65	69,85 ± 3,95

Subprodutos Central Carnes

Pelo – queratina

Método 1



Pelo

100 g (seco)

Pré-tratamento:

Lavagem com éter, 24h; secagem e homogeneização

Dissolução:

Tratamento com sulfeto de sódio 0,5 M, 30 °C, 6 h, agitação, pH 10-13; filtração; centrifugação

Precipitação:

Adição de sulfato de amónio; centrifugação

Purificação:

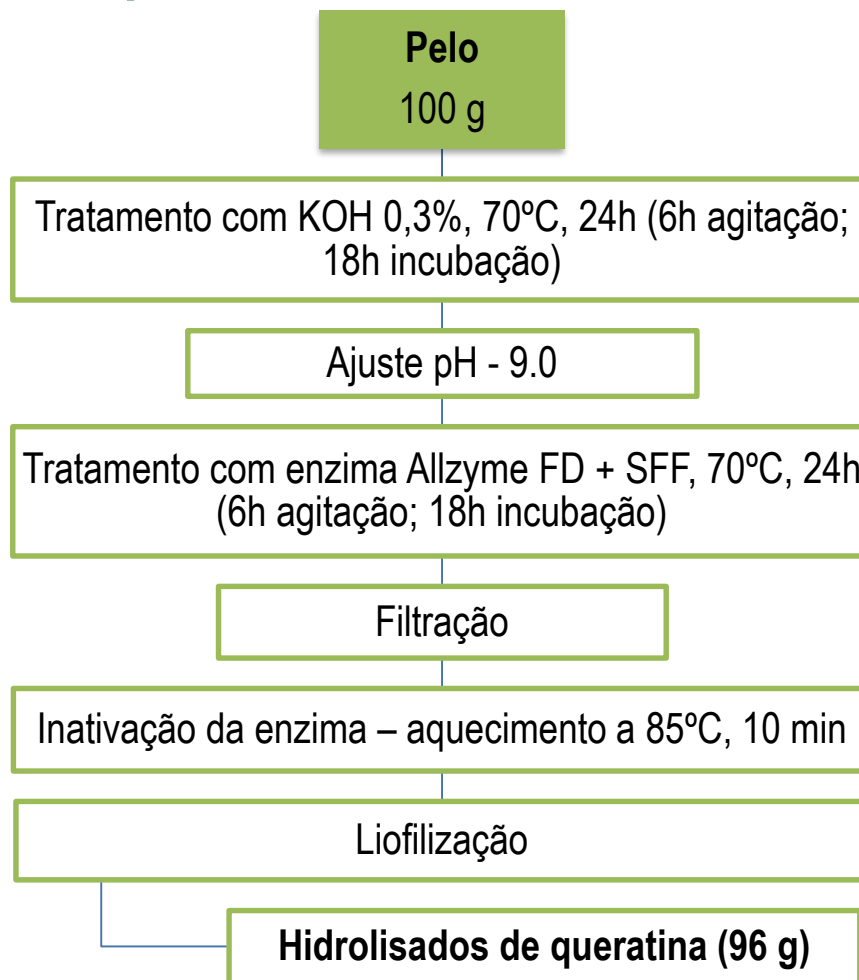
Lavagem com água desionizada; centrifugação; dissolução das partículas sólidas em NaOH 2M; centrifugação; recolha sobrenadante

Liofilização

Queratina (85 g)



Pelo - hidrolisados de queratina



Hidrolisados de queratina

Avaliação da atividade antioxidante

Atividade Biológica	
Antioxidante	$36,52 \pm 4,31$ mg/g Trolox
Antihipertensiva	IC50 - >400 μ g/mL Fraca

Drêche e sêmea

	Composição (g/100g)	
Componente	Drêche	Sêmea
Celulose (glucano)	18.98±0,08	27,47±0,23
Hemicelulose	18,32±0,04	18,14±0,01
Xilano	13,06±0,03	12,50±0,14
Arabinose	5,26±0,07	5,64±0,15
Lenhina	21,53±1,03	8,22±0,05

Drêche e sêmea

		Tratamento térmico						
		Drêche				Sêmea		
	Tempo (min)	20	30	40	50	20	30	50
Composição g/100g	Glucoligossacarídeos	2,9	4,4	3,0	4,8	14,0	13,8	17,1
	Xiloligossacarídeos	3,9	10,1	10,5	10,2	4,4	8,6	11,0
	Arabinoligossacarídeos	2,5	2,1	2,3	1,1	1,4	2,1	2,4
Rendimento da extracção	Glucoligossacarídeos	15,2	23,0	15,8	25,5	51,0	50,3	62,2
	Xiloligossacarídeos	29,8	77,5	80,5	77,9	34,9	68,9	87,8
	Arabinoligossacarídeos	47,6	39,1	44,3	21,4	24,8	37,0	42,0

Drêche e sêmea

		Tratamento enzimático			
		Sêmea		Drêche	
	Concentração	1%	2%	1%	2%
Composição g/100g	Glucoligossacarídeos	5,366471	6,122026	1,341189	2,18787
	Xiloligossacarídeos	1,538769	2,651538	3,813363	4,890046
	Arabinoligossacarídeos	0,354362	0,762521	2,244737	2,586369
Rendimento da extracção	Glucoligossacarídeos	19,53894	22,28986	7,066327	11,52724
	Xiloligossacarídeos	12,30761	21,20792	29,1988	37,44292
	Arabinoligossacarídeos	6,282538	13,51887	42,67561	49,17052



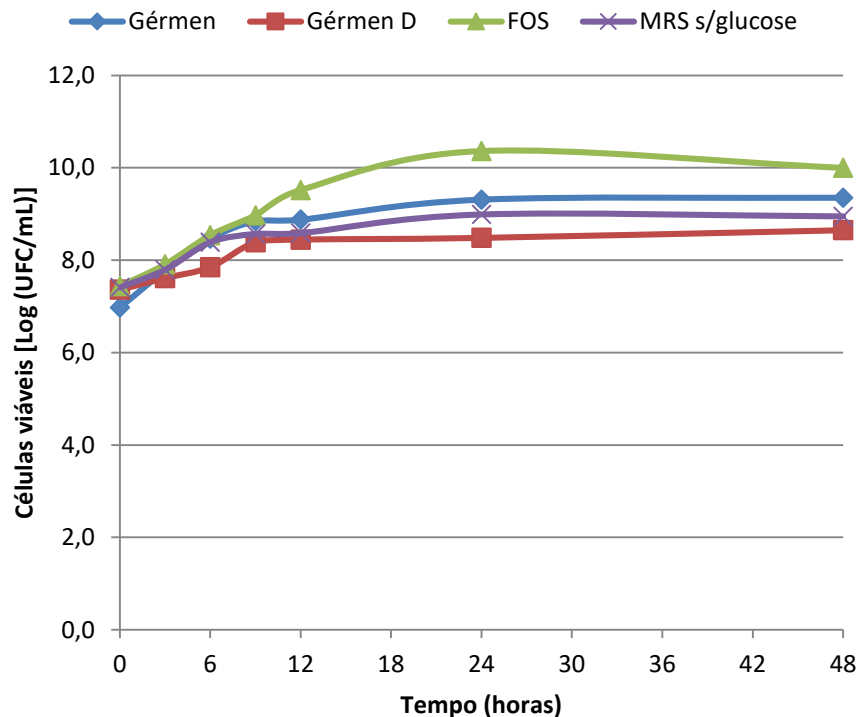
Gérmen

Parâmetro	Lote I	Lote II	Lote III
Proteína total (g/100g)	32,33 ± 1,78	28,85 ± 0,34	33,83 ± 0,53
Gordura total (g/100g)	9,30 ± 0,29	10,49 ± 2,68	14,04 ± 0,09
Cinza total (g/100g)	3,83 ± 0,01	3,86 ± 0,01	3,83 ± 0,00
Humidade (g/100g)	12,01 ± 0,26	11,57 ± 0,06	12,30 ± 0,26
Fibra (g/100g)	18,69 ± 1,14	16,84 ± 1,05	14,41 ± 0,46

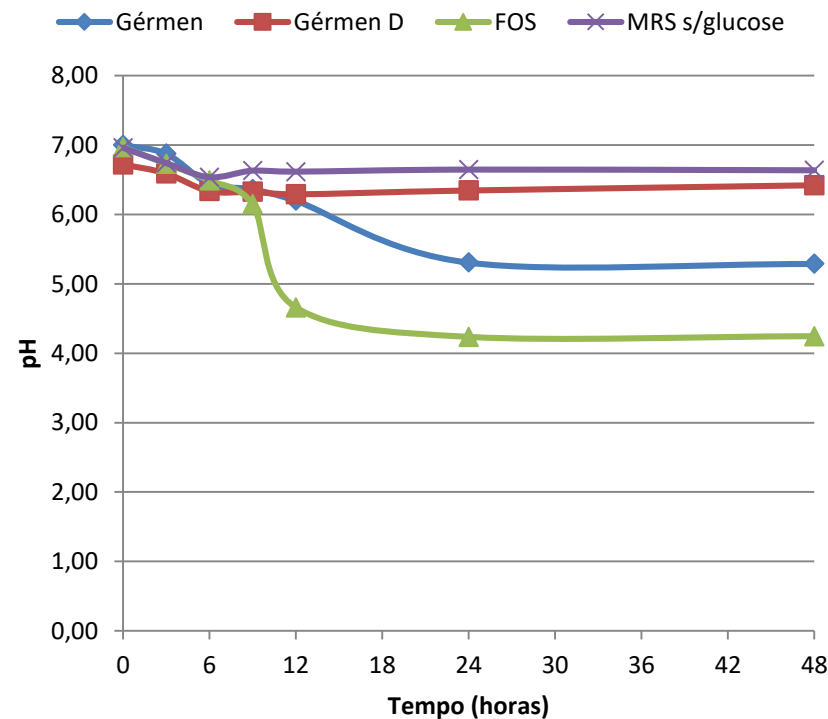
Gérmen

Atividade prebiótica - Lactobacilos

Lactobacillus paracasei L26



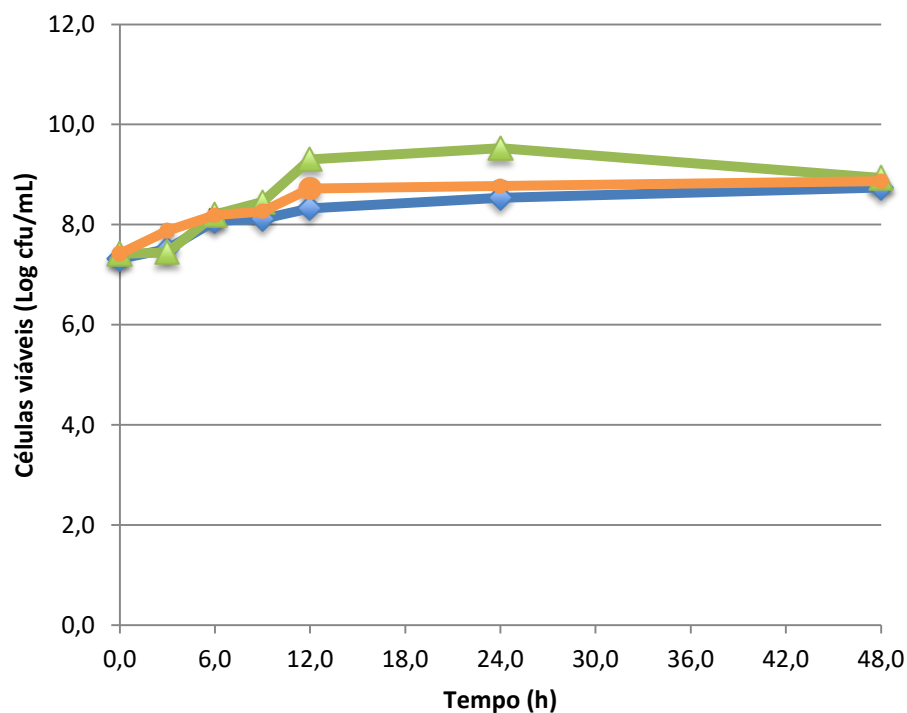
Lactobacillus paracasei L26



Atividade prebiótica - Bifidobactérias

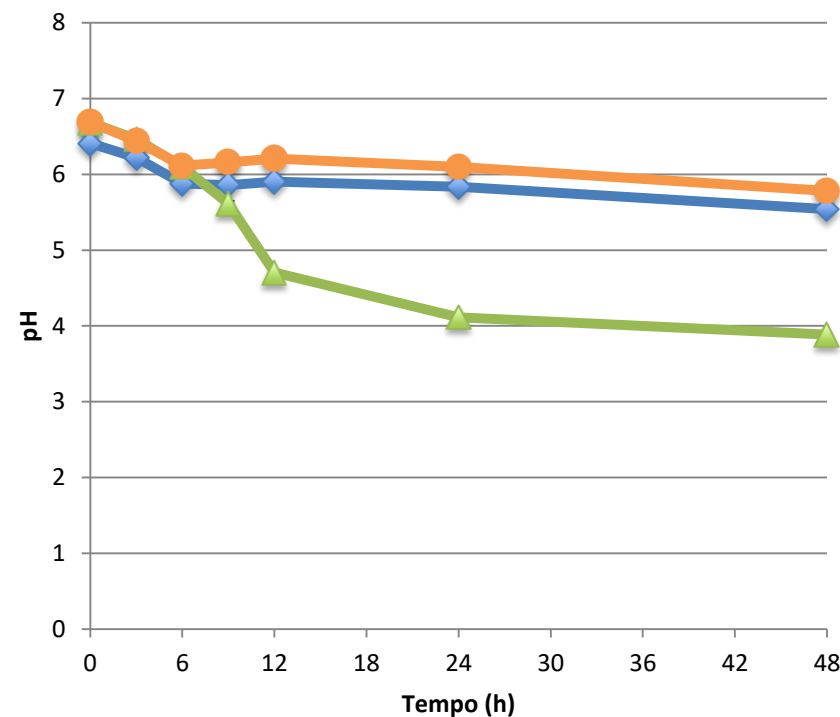
Bifidobacterium lactis Bb12

◆ Germem ▲ FOS ○ Sem Glucose



Bifidobacterium lactis Bb12

◆ Germem ▲ FOS ○ Sem Glucose



Gérmen

Estudos em Aves



Estudos Digestibilidade e crescimento
– *in vivo* ICBAS



Aplicações:

- Primor – Mortadela
- Gérmen - Pão



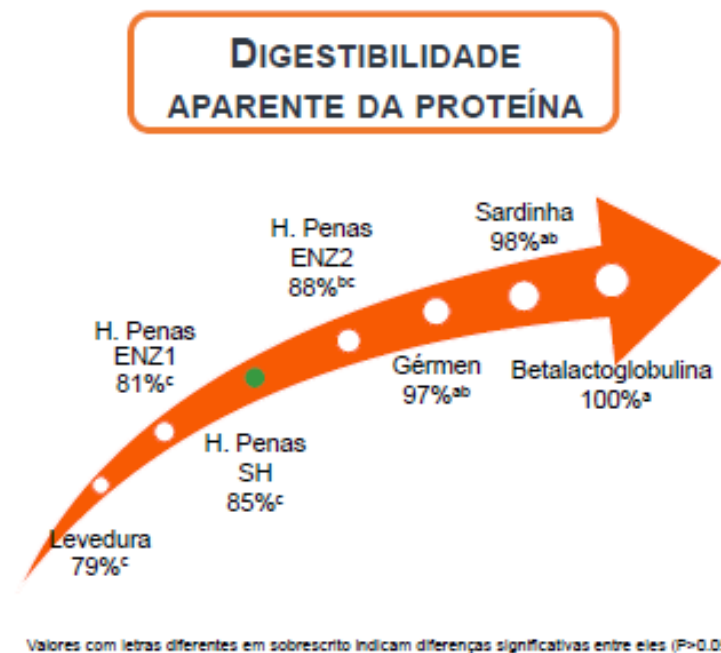
Estudos Digestibilidade e crescimento

– *in vivo* ICBAS



Tabela 1: Subprodutos e frações de subprodutos provenientes da indústria agroalimentar

Ingrediente	Método de processamento	Fração selecionada	Proteína (%MS)
Soro de leite (SALOIO)	Separação por membrana com concentração de proteína, seguida de hidrólise por cardosinas comerciais.	Betalactoglobulina (β -Lg)	79,4
Subproduto de processamento de sardinha (A Poveira)	Homogeneização sólida, seguida por separação por membrana com concentração de proteína e hidrólise por cardosinas comerciais.	Fração >3000 Da	85,9
Levedura de cerveja (UNICER)	Separação de membrana com concentração de proteína, seguida de hidrólise por cardosinas comerciais.	Fração >3000 Da	39,4
Gérmen de trigo (GERMEN)	Este subproduto, obtido do processamento do trigo, foi usado diretamente como ingrediente teste.	Inteiro	27,7
Farinha de penas (AVICASAL)	Farinha de penas misturada com sangue e sujeita a 3 processos de hidrólise: SH – Hidrólise por pressão/temperatura; ENZ1 – hidrólise enzimática com a enzima comercial 1; e ENZ2 – hidrólise enzimática com a enzima comercial 2.	Todo o hidrolisado	SH – 85,5 ALLZ – 85,2 JEFO – 86,2



Estudos *in vivo* – Estudo em humanos
FMUP

Estudo com 60 voluntários

Efeito do germen

Composição do gérmem de trigo	
Humidade %	12
Gordura %	8,5
Proteína %	30
Fibra %	18,4
Açucares %	40,1
Cinzas %	3



Avaliado efeito:

- Colesterol
- Glicemia
- Pre biótico

Pão produzido com a incorporação de 8% de gérmem de trigo.

Agência Consórcio



la Pintado



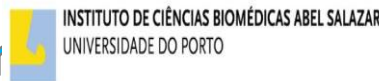
Lígia Pimentel



erraro



Manuel Amorim

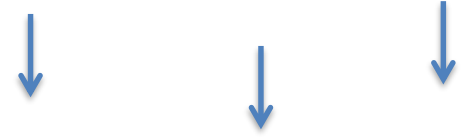


...líguel Pereira



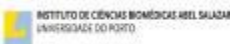
Agradecimentos

- COBEQ
- Todas os elementos das equipas envolvidas
- Todos as entidades:
- **ESB-UCP**
- **FM**
- **UTAD**
- **FMD**
- **FEP**
- **FFP**
- **FRULACT**
- **UNICER**
- **MIRTIUSA**
- **BIOSTRUMENT**
- **QUEIJOS SALOIO**
- **MAPRIL,...**
- Instituições de financiamento
- **QREN**
- **ADI**
- **FCT**
- **7PQ,...**



Obrigado

mpintado@porto.ucp.pt





CATÓLICA PORTO
BIOTECNOLOGIA

Obrigado

mpintado@porto.ucp.pt

SORGAL, S.A.

valinox unicer

avicasal



Universidade do Minho

CINTESUS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ADEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

COMPETE

QR

QUADRO DE REFERÊNCIA
ESTRATÉGICO
NACIONAL
PORTUGAL 2007-2013



UNIÃO EUROPEIA

Fundo Europeu de
Desenvolvimento Regional

CATOLICA PORTO
BIOTECNOLOGIA

PRIMER

CC

germen

Savinor

CATOLICA PORTO