

EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DA CASTANHA DE BARU E DO GRÃO DE BICO: EFEITO DO PROCESSO NO RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO

Palavras-Chave: PROTEÍNA VEGETAL, EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS, FITATO

Autores(as):

Danielle Thainá Rocha Arifa Sena – FEA/UNICAMP

Leandro Vinícius Bernardes – FEA/UNICAMP

Claudia Leia Strada Cerqueira – FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Guilherme M. Tavares – FEA/UNICAMP

INTRODUÇÃO

O aumento da demanda populacional e a crescente pressão sobre os recursos naturais têm levado à busca por fontes alimentares alternativas e sustentáveis. Nesse contexto, há um crescente interesse nas proteínas emergentes como substitutas parciais ou totais das proteínas de origem animal, tradicionalmente consumidas. No entanto, para a consolidação das proteínas emergentes, o desenvolvimento de métodos de extração eficientes é crucial, pois o comportamento tecnológico de ingredientes proteicos é dependente do seu histórico de processamento (ALLENDE, 2016).

Nesse contexto, a castanha de baru e o grão de bico, podem ser sugeridos como alternativas para a produção de ingredientes proteicos sustentáveis, podendo substituir ingredientes proteicos de origem animal no desenvolvimento de alimentos para pessoas intolerantes à lactose, alérgicas à proteína do leite ou soja, e veganas (VIEIRA *et al.*, 2020). Assim, este projeto teve como objetivo avaliar três diferentes métodos de extração de proteínas da castanha de baru e do grão de bico, quanto ao rendimento de extração, perfil eletroforético das proteínas e o teor de ácido fítico.

METODOLOGIA

1. Extração de proteínas

Foram utilizadas três metodologias de extração proteica para as duas matrizes alimentares, a castanha de baru e o grão de bico. Inicialmente, a farinha desengordurada de castanha de baru (FD) ou a farinha de grão de bico foram dispersas em água milli-Q (1:20 m/v) e agitadas por 60 min a temperatura ambiente. A primeira metodologia, utilizada como controle, se baseou na extração das proteínas em meio alcalino, seguido de sua precipitação no ponto isoelétrico (PI). Para tanto, o pH do meio reacional foi ajustado para 10 (NaOH 1 M). Na sequência, após agitação e centrifugação, o sobrenadante obtido foi acidificado (pH 4,8, HCl 1 M) e novamente centrifugado. O precipitado foi

ressuspensão em água deionizada, neutralizado (pH 7), armazenado a -80°C e liofilizado. Os outros dois métodos aplicados encontram-se em avaliação de patenteabilidade pela INOVA/UNICAMP sob o código [2011_PROTEICOS]. O primeiro dos métodos, denominado FIL, baseou-se em etapas de filtração, enquanto o segundo dos métodos, denominado FIL-ENZ, baseou-se em etapas de filtração assistido pelo uso de enzimas. Os extratos proteicos obtidos foram congelados à - 80 °C e liofilizados.

2. Método de Kjeldahl

A determinação do teor de proteína dos ingredientes proteicos oriundos de cada uma das três extrações proteicas foi realizada segundo o método de Kjeldahl, segundo o Instituto Adolfo Lutz (2008), com algumas modificações. Foi utilizado o fator de conversão de 6,25, conforme estabelece a FAO/WHO (1973), e as análises foram realizadas em triplicatas.

3. Eletroforese em gel de poliacrilamida

O perfil de proteínas dos ingredientes proteicos foi avaliado seguindo o método de Laemmli (1970), com algumas modificações. As amostras foram avaliadas em condições redutoras, utilizado o β -mercaptoetanol como agente redutor. As amostras foram aplicadas em gel de poliacrilamida 12%, e submetido a corrida de eletroforese, e posteriormente coradas em corante Coomassie Brilliant Blue.

4. Quantificação de fitato

A quantificação de ácido fítico presente nos ingredientes proteicos foi realizada utilizando o kit de ensaio Megazyme (Irlanda). As amostras foram submetidas à ambiente ácido (HCl, 0,66 M), por 3 horas, sob agitação no escuro. Posteriormente as amostras foram neutralizadas, seguindo com as etapas de reação de desfosforilação enzimática e determinação colorimétrica de fósforo, conforme metodologia proposta pelo protocolo do kit de ensaio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração proteica dos ingredientes obtidos em cada método, bem como o rendimento de extração proteica estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração proteica dos ingredientes obtidos e rendimento de extração proteica

Amostra	Rendimento de proteína (%)					
	Baru			Grão de bico		
	PI	FIL	FIL-ENZ	PI	FIL	FIL-ENZ
¹ Teor de proteína (%)	81,7 ± 1,8	90,6 ± 0,7	91,4 ± 0,1	71,2 ± 1,3	77,9 ± 3,0	82,9 ± 0,6
² Recuperação no concentrado (%)	71,2 ± 0,9	63,3 ± 4,7	76,5 ± 2,1	48,0 ± 0,7	48,2 ± 0,6	53,0 ± 2,7

¹O valor do teor de proteína representa as médias e desvios padrões de 6 medidas.

²Os valores de recuperação representam a proporção entre a massa de proteína no início do processo e nos ingredientes obtidos.

Para a castanha de Baru, o método FIL-ENZ destacou-se entre as demais, atingindo uma média de 91,4% de teor de proteínas, com uma recuperação proteica de 76,5% no concentrado proteico, sendo, portanto, a extração que forneceu um produto de maior rendimento e pureza. Para o

grão de bico, resultados positivos foram igualmente observados para este método, onde o teor de proteínas observado foi de 82,9% e a recuperação proteica foi de 53%. Portanto, para ambas as matrizes, essa metodologia forneceu um ganho de pureza e rendimento, comparado ao método tradicional de extração proteica por precipitação isoelétrica. No comparativo com os demais métodos, o método FIL-ENZ, pôde fornecer um aumento de até 10% na pureza dos ingredientes obtidos e pelo menos 5% de rendimento de extração.

Todavia, o rendimento de extração do método FIL, para a castanha de baru, mostrou-se ligeiramente inferior em comparação ao rendimento de extração observado para o método PI, resultado inverso ao observado para o grão de bico, que apresentou um leve aumento no rendimento, como valor de 48,2%. Esses resultados, demonstram que a eficiência do processo de extração, tem relação com a matriz vegetal, sendo, portanto, um processo com comportamento matriz-dependente.

Os perfis eletroforéticos obtidos para cada ingrediente proteico podem ser visualizados na Figura 1. É flagrante que as diferentes matrizes apresentam perfis proteicos distintos. Para a castanha de baru, observou-se claramente que as diferentes extrações resultaram em proteínas com perfis similares, sem que houvesse alterações significativas na natureza das proteínas presentes em cada ingrediente. Por outro lado, no caso do grão-de-bico, há algumas diferenças sutis no comparativo entre os ingredientes proteicos obtidos pelos métodos FIL e FIL-ENZ e o método PI.

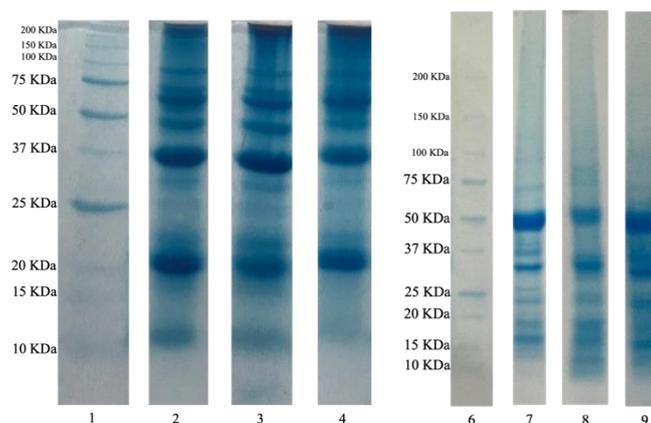


Figura 1- A) Castanha de baru: Padrão de tamanho (1); Concentrado proteico PI (2); Concentrado proteico FIL (3) e Concentrado proteico FIL-ENZ (4). B) Grão de bico: Padrão de tamanho (6); Concentrado proteico PI (7); Concentrado proteico FIL (8) e Concentrado proteico FIL-ENZ (9).

Vale salientar que, para ambas as matrizes, nenhum efeito significativo no perfil das proteínas pôde ser observado no comparativo entre os ingredientes obtidos pelos métodos FIL e FIL-ENZ.

Por fim, os resultados da quantificação de ácido fítico podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2. Quantificação de ácido fítico.

Ingrediente/Processo	Ácido fítico (g/100g de amostra)	
	Castanha de Baru	Grão de bico
PI	0,59 ± 0,06	0,41 ± 0,08
FIL	0,96 ± 0,10	1,52 ± 0,17
FIL-ENZ	0,90 ± 0,05	1,32 ± 0,16

O ácido fítico ocorre naturalmente nas sementes e é essencial para a segurança, crescimento e desenvolvimento das plantas. No entanto, ele pode ter efeitos prejudiciais na nutrição humana, sendo considerado um composto anti-nutricional, devido a sua capacidade de poder se ligar a minerais como ferro, cálcio e zinco, prejudicando sua absorção e, conseqüentemente, reduzindo sua disponibilidade (Amat *et al.*, 2024). Portanto, é crucial garantir que os ingredientes proteicos contenham níveis aceitáveis desse composto. Assim, nota-se que os valores obtidos para os três métodos de extração proteica (Tabela 2) são consideravelmente inferiores aos reportados para ingredientes proteicos derivados da fava (Amat *et al.*, 2024), e estão no mesmo intervalo de valores daqueles relatados para frações ricas em proteínas provenientes do grão-de-bico (Xing *et al.*, 2020).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que a extração proteica pelo método FIL-ENZ apresentou melhores resultados para as diferentes matrizes proteicas, proporcionando um ganho significativo de pureza e rendimento em comparação ao método tradicional de precipitação isoelétrica (PI). Os ingredientes proteicos obtidos por meio dos diferentes métodos de extração apresentaram perfis eletroforéticos similares entre si. Os níveis de fitato para os diferentes ingredientes se mostraram em concentrações aceitáveis. O estudo do comportamento tecno-funcional dos diferentes ingredientes aparece como uma importante perspectiva de trabalho.

BIBLIOGRAFIA

ALLENDE, D. B. **Proteínas emergentes y su aplicación en la industria alimentaria**. *Vitae*, v. 23, p. 27–30, 2016.

AMAT, Tiffany et al. **Effect of extraction method on the calcium binding capacity of faba bean globulin fractions at various pH**. *Food Chemistry*, p. 140176, 2024.

FAO/WHO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Energy and protein requirements: Report of a joint FAO/WHO Ad Hoc expert committee**. FAO and WHO, 1973.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Eletrológica, 2008.

LAEMMLI, U.K. **Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4**. *Nature*, v.227, n.15, p. 685-689, 1970.

VIEIRA, C. F. DE S.; ZUÑIGA, A. D. G.; OGAWA, T. A. B. **Obtenção e caracterização físico-química do extrato hidrossolúvel de amêndoa de baru.** Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, v. 14, n. 01, p. 3104–3121, 2020.

XING, Qinhui et al. **Enhanced nutritional value of chickpea protein concentrate by dry separation and solid state fermentation.** Innovative Food Science & Emerging Technologies, v. 59, p. 102269, 2020.