



Universidade Estadual de Campinas  
Faculdade de Engenharia de Alimentos  
Departamento de Engenharia de Alimentos



Resumo de atividades do projeto de iniciação científica

## Otimização do processo de extração de proteínas do feijão Carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) por via enzimática

Aluno: Henrique Pillon D`Aloia

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carla Kawazoe Sato

### Introdução:

Nos últimos anos, a demanda de proteínas para aplicações em alimentos tem aumentado devido ao crescimento da população mundial. As proteínas vegetais estão sendo exploradas como alternativas às proteínas animais devido à disponibilidade e o baixo impacto ambiental.

As leguminosas, como ervilha, feijão, grão de bico e lentilha, desempenham papel importante como novas fontes de proteínas vegetais devido ao alto teor proteico (20 a 40% da semente madura).

Dentre as proteínas vegetais da classe das leguminosas, o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta alto valor econômico, respondendo por um terço da produção mundial total de leguminosas. O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de feijão, com uma produção de 3,0 milhões de toneladas em 2017.

A técnica clássica e a mais eficiente em termos de rendimento de extração é a extração alcalina. Entretanto, novas estratégias para o aumento no rendimento de extração foram propostas, a extração por via enzimática tem apresentado resultados promissores.

### Materiais e métodos

O feijão Carioca foi obtido no comércio da cidade de Campinas - SP. As enzimas Celluclast 1.5L (700 unid./g), Viscozyme (100 FBGU/g) e Pectinex® Ultra SP-L (3800 Unidades/ml) foram fornecidas pela Novozymes Latin America Ltda.

A primeira etapa consistiu no preparo inicial do feijão carioca cru, que foi triturado com liquidificador. A farinha obtida foi caracterizada quanto a distribuição de tamanho de partículas, utilizando peneiras da série de Tyler.

A composição centesimal do feijão carioca triturado foi realizada de acordo com os métodos oficiais da AOAC (2009), 925.10 (umidade), 923.03 (cinzas) e 999.03 (carboidratos). O conteúdo de proteínas totais dos isolados proteicos foi determinado de acordo com a AOAC (2009) 920.87, utilizando-se 6,25 como fator de conversão. A fração lipídica foi determinada de acordo com metodologia descrita por Bligh e Dyer (1959). O teor fibras totais foi determinado por diferença.

O potencial zeta em função do pH da farinha de feijão carioca foi determinado utilizando o equipamento MPT-2 Multi Purpose Titrator (Malvern instruments, UK) acoplado ao Zetasizer Nano Series (Malvern instruments, UK).

Após as etapas de caracterização da matéria prima, foi realizada a cinética das extrações, na qual foram realizados tratamentos enzimáticos, nas condições ótimas das enzimas, seguindo por extrações alcalinas com o objetivo de determinar o melhor tempo e a melhor enzima para a extração das proteínas do feijão carioca. A Figura 1 mostra um diagrama de fluxo exemplificando o processo geral de obtenção do isolado proteico.

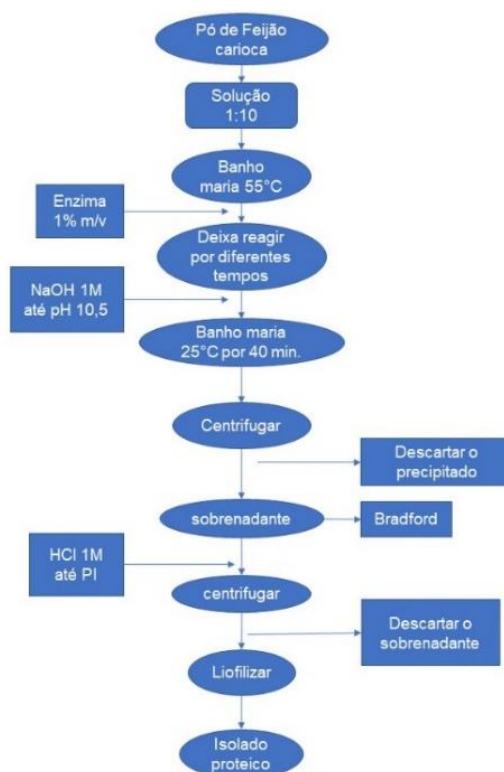


Figura 1: Diagrama de fluxo para obtenção do isolado proteico.

As extrações foram realizadas com uma relação farinha:água deionizada de 1:10 (m/m). As extrações ocorreram em banho termostatizado com agitação a 120 rpm. Todas as enzimas foram usadas em uma concentração de 1%(m/v) em relação ao substrato. O pH de atuação ótimo das enzimas foi fornecido pelo fabricante, sendo que, para a Celluclast® e para a Viscozyme o pH foi 6,0 e para

a Pectinex foi 5,0. A temperatura de atuação da enzima para todas as extrações foi de 55°C, com agitação de 120rpm.

Os tempos avaliados de atuação das enzimas foram de 15 e 30 minutos, 1 e 2 horas, seguidos de 40 minutos de extração alcalina em pH 10,5 para solubilização das proteínas (25°C em e 120 rpm). Após a solubilização, as amostras foram centrifugadas, por 20 minutos a 4°C a 10.000xg, o sobrenadante foi separado e o precipitado foi descartado. O sobrenadante foi analisado por Bradford (1976).

Durante a realização do projeto, foi observado que, utilizando um tempo menor de solubilização das proteínas em pH alcalino, era possível obter quantidades iguais de proteína ao utilizar o tempo maior de 40 minutos. Dessa forma, foi avaliado o tempo de solubilização das proteínas no meio alcalino, comparando os tempos de 40 e 10 minutos.

Avaliou-se também a variação da concentração da enzima, utilizando a Celluclast. Foram utilizadas as condições previamente otimizadas: 15 minutos de reação e 10 minutos de solubilização em NaOH. As concentrações avaliadas foram de 0,5, 1 e 2%,

## Resultados

A distribuição dos tamanhos dos grânulos da farinha do feijão carioca mostrou que, 86,2% dos grânulos são menores que 1,18mm. O elevado teor de partículas com tamanho reduzido favorece o processo de extração, uma vez que partículas menores aumentam a superfície de contato com a solução melhorando a transferência de massa da matriz vegetal (Makanjuola, 2017).

Os resultados da caracterização centesimal estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Composição centesimal do feijão carioca:

Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteínas (%)	Fibras (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)
14,2 ± 0,1	0,7 ± 0,1	16,0 ± 1,0	11,0 ± 1,0	2,5 ± 0,1	55,1 ± 1,0

Esses resultados mostram que o feijão carioca é rico em proteínas e carboidratos.

O ponto isoelétrico (PI) representa o pH no qual a carga líquida é igual a zero. O valor do PI obtido pela análise de potencial zeta foi de 4,37. Esse resultado é de extrema importância pois ele mostra o melhor pH para precipitação das proteínas, esse resultado obtido corrobora com o valor de 4,5 utilizado por diversos autores para a precipitação de proteínas vegetais. como no estudo de Jafari et al., (2018) para o feijão branco e Boye et al., (2010) para leguminosas, como ervilha, lentilha e grão-de-bico.

Com a realização dos testes de cinética foi possível obter o teor de proteínas solubilizadas, para cada enzima usada em cada tempo de atuação

desta. A Figura 2 mostra a concentração de proteínas solúveis obtidas para a extração com as diferentes enzimas em diferentes tempos de atuação.

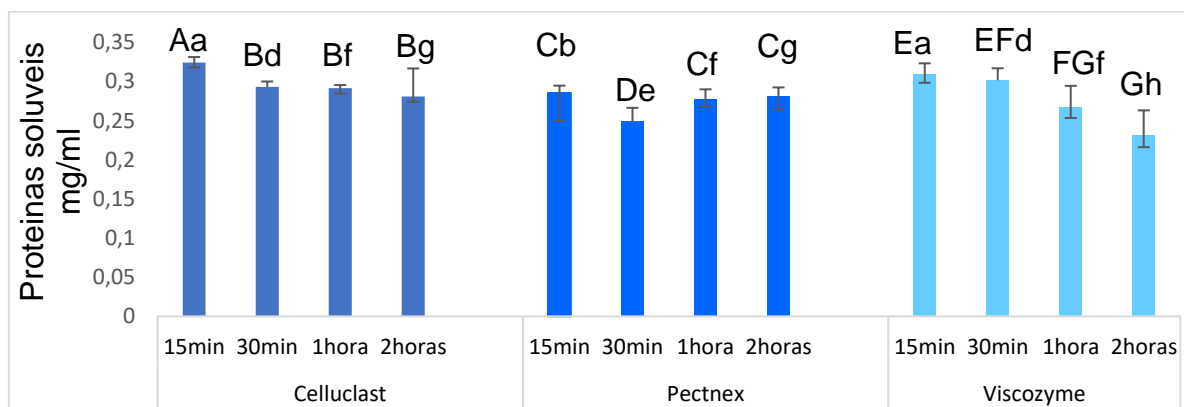


Figura 2: Concentração de proteínas para cada tempo de atuação de cada enzima.

Esses resultados mostram que as enzimas atuaram de formas diferentes, alterando a quantidade de proteínas solúveis obtidas no final das extrações, sendo que, no tempo de 15 minutos todas tiveram boas quantidades de proteínas extraídas. Entre as enzimas testadas a Celluclast apresentou o melhor resultado.

Após definida a enzima e o tempo que proporcionou o maior rendimento de extração proteica, foi avaliado o melhor tempo de solubilização das proteínas no pH alcalino após a atuação da enzima. Foram testados os tempos de 40 e 10 minutos de solubilização em pH básico. Foi verificado que não há diferença significativa entre os tempos de solubilização em tratamento alcalino. Com isso, é possível concluir que o tempo de 10 minutos já é suficiente para solubilizar a mesma quantidade de proteínas.

Por último, avaliou-se a melhor concentração da enzima Celluclast para a extração das proteínas do feijão carioca. Foram utilizadas as condições previamente otimizadas: 15 minutos de reação enzimática e 10 minutos de solubilização em pH alcalino. As concentrações avaliadas foram de 0,5, 1 e 2%, obtendo os resultados apresentados na Figura 3:

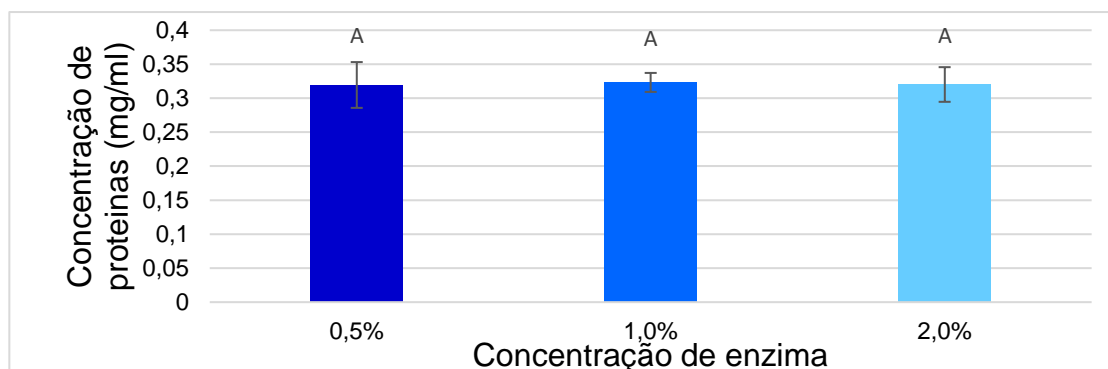


Figura 3: Influência da concentração de enzima na quantidade de proteínas extraídas

Os resultados mostram que as diferentes concentrações da enzima Celluclast avaliadas não influenciou na extração proteica. Portanto, pode-se concluir que na concentração de 0,5% de enzima, o substrato já está saturado.

### **Conclusão**

A Celluclast® forneceu melhor rendimento de extração, com bons resultados em 15 minutos de atuação e concentração de 0,5%(m/v). Essa ação rápida da enzima favorece a sua aplicação em processos industriais.

### **Bibliografia**

Makanjuola SA. Influence of particle size and extraction solvent on antioxidant properties of extracts of tea, ginger, and tea-ginger blend. *Food Sci Nutr*, 5: 1179–1185, 2017.

Boye JI, Aksay S, Roufik S, Ribéreau S, Mondor M, Farnworth E, Rajamohamed SH. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43: 537-546, 2010

Jafari M, Rajabzadeh AR, Tabtabaei S, Marsolais F, Legge RL. Physicochemical characterization of a navy bean (*Phaseolus vulgaris*) protein fraction produced using a solvent-free method. *Food Chemistry*, 208: 35-41, 2016.