

EXTRAÇÃO DE PROTEÍNA FOLIAR DE BATATA-DOCE *BEAUREGARD* POR TRATAMENTO CONVENCIONAL E ULTRASSÔNICO

REBECA SILVA CAROZZI¹, DIANE MASCHIO DE SOUZA², DIVAIR CHRIST³, LUCIANA BILL MIKITO KOTTWITZ⁵, SILVIA RENATA MACHADO COELHO⁴

¹ Graduanda em Engenharia Agrícola, Depto. Engenharia Agrícola, Unioeste, Cascavel – PR, rebeca.carozzi@unioeste.br.

² Engenharia Agrícola, Doutoranda em Engenharia Agrícola, Depto. Engenharia Agrícola, Unioeste, Cascavel - PR.

³ Engenharia Agrícola, Prof. Adjunto, Doutor, Depto. de Engenharia Agrícola, Unioeste, Cascavel - PR.

⁴ Engenharia Agrícola, Prof. Adjunta, Doutora, Depto. de Engenharia Agrícola, Unioeste, Cascavel - PR.

⁵ Farmácia, Prof. Adjunta, Doutora, Depto. de Ciências Farmacêuticas, Unioeste, Cascavel - PR

Apresentado no
LI Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola - CONBEA 2022
27 a 29 de outubro de 2022 - Pelotas - RS, Brasil

RESUMO: As folhas de batata-doce *Beauregard* são resíduos gerados ainda no campo. As folhas apresentam grande quantidade de proteínas, fibras, vitaminas e micronutrientes. Objetivo do presente trabalho foi comparar o método convencional e ultrassônico na extração de proteína foliar de folha de batata-doce *Beauregard*. Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado, com oito ensaios, variando pH inicial (8, 10, 11 e 12), tempo de homogeneização (20, 10 e 60 min.), parâmetros do ultrassom [(Tempo 15, 30 e 60 min.), (Temperatura 27 e 37 °C), (potência 100 e 135 Watts) e (frequência 27 e 40 kHz) e pH final (2, 2.5, 3 e 4)]. Avaliou-se, o rendimento de extração de proteína (%), concentrado proteico (%) e proteína bruta (%). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância. O concentrado proteico de folha de batata-doce *Beauregard* (CPFDB) foi menor ($38,39 \pm 0,42\%$) no método convencional em relação ao método ultrassônico ($78,48 \pm 0,4\%$). A aplicação de ultrassom, no processo de extração de proteína foliar de batata-doce *Beauregard*, mostrou-se um método eficiente e vantajoso, quando comparado ao método convencional.

PALAVRAS-CHAVE: Resíduo agroindustrial; *Ipomoea batatas*; Peptídeos.

THE LEAVES EXTRACTION PROTEIN FROM *BEAUREGARD* SWEET POTATO BY CONVENTIONAL AND ULTRASONIC TREATMENT

ABSTRACT: The leaves of *Beauregard* sweet potato are residue in the field. The leaves showing big number of proteins, grain, vitamins and micronutrients. The reason of this project was comparing the conventional and ultrasound extraction of leaves protein from *Beauregard* sweet potato leaves. That was subject at delineation entirely randomized, with eight tests, varying the start pH (8, 10, 11 and 12), homogenization time (20, 10 and 60 min.), ultrasound configuration [(time 15, 30 and 60 min.), (temperature 27 and 37 °C), (potency 100 and 135 Watts) and (frequency 27 and 40 kHz) and final pH (2, 2.5, 3 and 4)]. Testing the yield extraction of protein (%), protein concentrated (%) and crude protein (%). The results were submitted at test varying the mean using the Tukey test at 5% of significance. The protein concentrated of *Beauregard* leaves (CPFDB) was lesser ($38,39 \pm 0,42\%$) with traditional way than the ultrasound way ($78,48 \pm 0,4\%$). The ultrasound application in the extraction protein of *Beauregard* sweet potato leaves showing better than the traditional method.

KEYWORDS: residue agroindustry; *Ipomoea batatas*; peptides.

INTRODUÇÃO: A batata-doce (*Ipomoea batatas* L. (Lam.) é originária da América Central e da América do Sul, sendo encontrada desde a Península de Yucatam, no México, até a Colômbia. É uma dicotiledônea, da família *Convolvulaceae*, a qual engloba mais de 1000 espécies, sendo sua espécie *Ipomoea batatas* L. Lam. Uma planta tuberosa tipicamente tropical e subtropical, rústica, de fácil manutenção, com boa resistência a períodos de seca e ampla adaptação. Apresenta custo de produção relativamente baixo, com investimento mínimo e de retorno elevado (COSTA, 2015). No Brasil estão registradas 29 cultivares de batata-doce no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a que vem se destacando nos últimos anos é a *Beauregard*, por apresenta um teor médio de 115 µg de β-caroteno em raízes frescas, apresenta alto rendimento por hectare, alcançando 23 a 29 toneladas por hectare e ciclo de produção de 120 a 150 dias (EMBRAPA, 2010; RODRIGUEZ-AMAYA et al., 2011). A cultura da batata-doce gera muitos subprodutos, dependendo do método de processamento e do produto desejado. São obtidos resíduos a partir da remoção das ramas, das folhas e das tuberosas que não atendem aos requisitos de classificação de tamanho ou estão danificadas devido às técnicas de colheita. Esses resíduos são ricos em carboidratos, proteínas, vitaminas e minerais, os quais podem ser aproveitados como matérias-primas para fabricação de produtos de valor nutricional (AKOETEY; BRITAIN; MORAWICKI, 2017). A alta procura de proteínas de origem vegetal levou os cientistas a buscarem novas fontes e alternativas de extração de proteínas. Recentemente, as técnicas de recuperação de proteínas de subprodutos de origem vegetal vêm ganhando destaque, pois apresentam vantagens quando comparadas a proteínas de origem animal, uma vez que apresentam baixo teor de colesterol e ácidos graxos saturados (GÖRGÜÇ; BIRCAN; YILMAZ, 2019). Deste modo, as proteínas extraídas de vegetais desempenham papéis significativos na nutrição humana, principalmente em países subdesenvolvidos, onde a ingestão diária de proteínas é menor do que a recomendada. Assim, essas proteínas retiradas de vegetais estão despertando cada vez mais interesse por parte dos pesquisadores (MAO; HUA, 2012). A utilização mais eficiente da proteína foliar é alcançada por processos mecânicos, nos quais a proteína é extraída da folha e utilizada para alimentação humana, já o resíduo fibroso gerado no processamento da extração é utilizado para silagem. A porcentagem de extração irá depender da cultivar e do processo de extração escolhido. Pode-se chamar a proteína extraída da folha de concentrado proteico (CP), o qual pode conter de 60 a 90% de proteína (DIJKSTRA et al., 2003). Algumas técnicas inovadoras foram desenvolvidas e otimizadas para facilitar a extração de proteínas de maneira sustentável e eficiente. Desde a década passada, tecnólogos em alimentos estão usando ultrassom, campo elétrico pulsado e energia elétrica de alta tensão e descarga para obter proteínas vegetais funcionais (ARYEE et al., 2017; ZHANG et al., 2019). Deste modo, o objetivo do trabalho foi realizar comparação do método convencional e do método ultrassônico na extração de proteína foliar.

MATERIAL E MÉTODOS: A extração de concentrado proteico de folha de batata-doce *Beauregard* (CPFBD), seguiu a metodologia descrita por CEREDA e VILPOUX (2003), com modificações. Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com oito ensaios, variando pH inicial (8, 10, 11 e 12), tempo de homogeneização (20, 10 e 60 min.), parâmetros do ultrassom (Tempo 15, 30 e 60 min.), (Temperatura 27 e 37 °C), (Potencia 100 e 135 Watts) e (Frequência 27 e 40 kHz) e pH final (2, 2.5, 3 e 4). Para extração de proteína foram pesadas 1 g de folha seca, adicionados 20 ml de água ultrapura, o valor de pH foi ajustado de acordo DIC, apresentado TABELA 1, com solução NaOH, homogeneizou-se a solução no tempo encontrado para o ensaio. A dispersão foi submetida à sonificação em banho de ultrassom no tempo, temperatura, potência e frequência estabelecidos (Tabela 1). Ao

termino do tempo a solução, foi centrifugada a 11.979 g por 15 min (25°C), o precipitado (Resíduo (R1)) foi armazenado para quantificação de proteína posteriormente, e o sobrenadante coletado, sendo seu pH ajustado para o valor encontrado na TABELA 1, considerado o ponto isoelétrico das proteínas das folhas. As soluções foram deixadas em repouso por 24 horas para precipitação a frio (10°C), seguido de centrifugação a 11.979 g por 15 min (25°C). O sobrenadante (Resíduo (R2)) coletado e armazenado e o precipitado obtido teve seu pH neutralizado em 7 com NaOH. Posteriormente, as amostras foram congeladas a -18°C, para serem liofilizadas em pressão absoluta menor que 0,5 mBar, temperatura de aquecimento de 40°C por 24 h.

TABELA 1. Parâmetros variados em cada ensaio.

Ensaio	pH Inicial	Tempo de homogeneização (min.)	Ultrassom				pH final
			Tempo (min.)	Temperatura (°C)	Potencia (Watts)	Frequência (kHz)	
1	10	10					2,5
2	10	10					2
3	11	10	60	27	100	40	2,5
4	12	10	90	27	100	40	2,5
5	10	20	60	27	100	40	2,5
6	8	60	30	37	100	37	3
7	8	60	15	37	100	37	3
8	10	60	30	37	135	40	4

Nos ensaios foram realizadas as análises de rendimento de extração de proteína (REP) na qual foi calculado de acordo com a equação 1. E a análise de rendimento de concentrado proteico que foi calculado de acordo com a equação 2.

$$\text{Rendimento de extração (\%)} = \frac{\text{PBCP}}{\text{PBIE}} * 100 \quad (1)$$

Em que,

PBCP = Massa de proteína bruta do concentrado proteico (g);

PBIE = Massa de proteína bruta presente no início da extração (g).

$$\text{Rendimento proteico (\%)} = \frac{\text{MCP}}{\text{MIE}} * 100 \quad (2)$$

Em que,

MCP = Massa do concentrado proteico (g) em base seca;

MIE = Massa de folha de batata-doce presente no início da extração (g) em base seca.

A proteína bruta foi determinada pelo método de Kjeldahl, conforme procedimento da AOAC (2000). Após a digestão da amostra com a mistura digestora (sulfato de cobre e sulfato de potássio) e ácido sulfúrico, será realizada a destilação e posterior titulação com solução de ácido clorídrico. Os resultados serão expressos em porcentagem, empregando-se 6,25 como fator de conversão de nitrogênio em proteína. Os dados foram testados para os pressupostos da análise de variância (normalidade e independência de resíduos, homogeneidade de variância). Quando esses requisitos foram atendidos, os dados foram submetidos a uma análise de variância ($p < 0,05$) utilizando o software estatístico Sisvar® (Statistical Analysis Software, UFLa, Lavras, MG, BRA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey e a

significância estatística foi testado em $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Na Tabela 2 são apresentados os valores em porcentagem para REP e RCPFB, bem como o teor proteico CPFBD, R1 e R2. Pela análise de variância, os percentuais médios de REP e RCPFB, entre os ensaios, apresentaram diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. O ensaio quatro apresentou maior porcentagem de REP e RCPFB com valores de $19,72 \pm 0,14\%$ e $18,58 \pm 0,19\%$ respectivamente. No entanto apresentou baixo teor proteico ($38,39 \pm 0,42\%$). O pH elevado (12) do suco verde, pode ter influenciado negativamente na solubilidade da proteína, afetando o rendimento de extração, diminuindo a pureza da proteína e carregando consigo outros nutrientes, exemplos fibras. Assim sendo, o R1 obteve um teor proteico de $23,96 \pm 0,14\%$ e R2 $16,14 \pm 0,97\%$ (Ensaio 4). É necessidade reduzir o pH para que ocorra maior interação entre solvente e proteína. Esse fenômeno pode ser observado nos resultados encontrados no ensaio seis, onde o pH do suco foi reduzido para 8, proporcionando menor rendimento de extração de proteína ($3,34 \pm 0,07\%$) e CPFBD ($1,53 \pm 0,03\%$), porém ocorreu o aumento do teor proteico do CPFBD ($78,48 \pm 0,41\%$). Consequentemente o teor proteico do R1 (Resíduo fibroso) e R2 (Sobrenadante) foram menores $10,52 \pm 0,04$ e $3,65 \pm 0,03\%$ respectivamente. Bernardi (2015) avaliou a extração de concentrado proteico de farelo de arroz (CPFA) em meio alcalino sob agitação, assistida por tratamento em banho ultrassônico. Os autores verificaram rendimento de 4,74% e teor de proteínas do CPFA de 83,36%, quando utilizado pH 10, 30 min de ultrassom, 100% de amplitude da potência (30°C). Phongthai et al. (2016), ao extraírem proteína de farelo de arroz, observaram que ao aumentar o tempo de extração de 60 para 120 segundos, foi verificado variação do rendimento de extração de $3,55 \pm 0,04\%$ para $4,08 \pm 0,00\%$, respectivamente. Paula (2021) realizou a extração de concentrado proteico do bagaço de malte (CPBM) através da extração assistida por ultrassom. De acordo com os autores, o CPBM obtido apresentou teor de $48,3 \pm 0,8\%$ de proteínas, com rendimento em massa de 30,5% e rendimento da extração de 62,7%. O aumento da extração proteica promovido pelo ultrassom pode ser explicado pelo rompimento da parede celular da farinha de batata-doce, onde favoreceu o acesso a solventes e a difusão de proteínas através de canais e poros formados na matriz vegetal (ZHANG et al. 2019). O ensaio 1, a solução (farinha de folha de batata-doce *Beauregard* e água), teve seu pH inicial ajustado a 10, homogeneizado por 10 min., e após a filtração seu pH final foi corrigido para 2,5 não passando pelo processo de ultrassom, obteve o menor teor proteico no CPFBD de $35,66 \pm 0,22\%$ ficando uma porcentagem maior de peptídeos no resíduo 1 ($21,61 \pm 0,03\%$) e 2 ($27,91 \pm 0,21\%$). Deste modo, foi verificado que os métodos de extração convencional, foram insuficientes para extrair uma maior concentração de proteínas, no material de interesse. Para Gharib-Bibalan (2018), na extração convencional as moléculas de solvente são incapazes de entrar nos interstícios da celulose e liberar as moléculas. Assim, pode-se dizer que os métodos convencionais são menos produtivos.

TABELA 2. Resultado obtidos para rendimento de extração de proteína (REP), rendimento de CPFBD (RCPFB), e o teor proteico de CPFBD, R1 e R2.

Ensaio	Rendimento (%)		Teor Proteico (%)		
	E.P	CPFBD	CPFBD	R1	R2
1	$11,05 \pm 0,07$ e	$8,09 \pm 0,10$ d	$35,66 \pm 0,22$ g	$21,61 \pm 0,03$ e	$27,91 \pm 0,21$ a
2	$6,31 \pm 0,05$ f	$4,75 \pm 0,08$ f	$36,61 \pm 0,48$ f	$37,52 \pm 0,39$ a	$22,78 \pm 0,48$ b
3	$12,45 \pm 0,07$ d	$14,69 \pm 0,13$ b	$38,39 \pm 0,42$ e	$32,50 \pm 0,40$ b	$19,02 \pm 0,22$ c
4	$19,72 \pm 0,14$ a	$18,58 \pm 0,19$ a	$38,29 \pm 0,14$ e	$23,96 \pm 0,14$ c	$16,14 \pm 0,97$ d

5	18,20 ± 0,18 b	12,34 ± 0,14 c	39,54 ± 0,09 d	22,67 ± 0,32 d	18,61 ± 0,17 c
6	3,34 ± 0,07 h	1,53 ± 0,03 h	78,48 ± 0,41 a	10,52 ± 0,04 h	3,65 ± 0,03 g
7	3,84 ± 0,03 g	1,93 ± 0,03 g	73,87 ± 0,06 b	12,28 ± 0,03 g	5,42 ± 0,03 f
8	13,41 ± 0,04 c	7,323 ± 0,04 e	67,49 ± 0,04 c	15,05 ± 0,04 f	8,25 ± 0,04 e

E.P - Extração de proteína; CPFBD - Concentrado proteico de folhas de batata doce; R1 – Resíduo fibroso; R2 – Resíduo sobrenadante;

CONCLUSÕES: Pode-se concluir que a aplicação de ultrassom, no processo de extração de proteína foliar de batata-doce *Beauregard*, mostrou-se um método eficiente e vantajoso, quando comparado ao método convencional. Entre os parâmetros estudados, em pH 8, homogeneização por 60 min., banho de ultrassom nos parâmetros tempo 30 min, temperatura 37°C, potência 100 Watts, frequência 37kHz e pH final 3, foi possível obter um CPFBD com teor de proteína de 78,48 ± 0,41 % (b.s.). Já o ensaio 1, a solução não passou pelo processo de ultrassom, deste modo obteve o menor teor proteico de 35,66 ± 0,22% para CPFBD. Assim, pode-se dizer que a ultrassom, aumentou a extração proteica das amostras, e a mesma pode ser aplicada não somente para melhorar a qualidade e segurança dos alimentos processados, mas também oferece um potencial para o desenvolvimento de novos produtos.

AGRADECIMENTOS: À Fundação Araucária e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS:

AKOETEY, Winifred; BRITAIN, Margaret Mead; MORAWICKI, Ruben Omar. **Potential use of byproducts from cultivation and processing of sweet potatoes.** *Ciência Rural*, v. 47, n. 5, 2017.

ARYEE, Alberta N. A.; AGYEI, Dominic; UDENIGWE, Chibuike. Chinedu. **Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins.** *Proteins in Food Processing*, p. 27–45, 2018.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists.** 17th ed. Virginia, 2000.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O., Potencialidades das proteínas de folhas de mandioca, 2003. In: CEREDA, M. P., **Tecnologias, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**, v. 3, São Paulo: Fundação Cargill, p. 683-693, 2003.

BERNARDI, Silvia. **Obtenção de concentrado proteico do farelo de arroz e avaliação das propriedades químicas e funcionais.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.

COSTA, Douglas Martins. **Avaliação de cultivares de batata-doce quanto a produtividade, composição e aproveitamento das ramas visando a produção de etanol.** 2015.

DIJKSTRA, Dolf Swaving; LINNEMANN, Anita R.; VAN BOEKEL, Tiny A. J. S. **Towards Sustainable Production of Protein-Rich Foods: Appraisal of Eight Crops for Western Europe.** PART II: Analysis of the Technological Aspects of the Production Chain. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 43, n. 5, p. 481–506, 2003.

EMBRAPA. **Batata-doce *Beauregard***. 2010. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/602/batata-doce-Beauregard>. Acesso em: 19 de mar. de 2020.

GÖRGÜÇ, Ahmet; BIRCAN, Cavit; YILMAZ, Fatih Mehmet. **Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds**. *Food Chemistry*, v. 283, p. 637–645, 2019.

MAO, Xiaoying; HUA, Yufei. **Composition, Structure and Functional Properties of Protein Concentrates and Isolates Produced from Walnut (*Juglans regia* L.)**. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 13, n. 2, p. 1561–1581, 2012.

PAULA, Mariane. **Obtenção de concentrado proteico do bagaço de malte através da extração assistida por ultrassom**. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Universidade federal do rio grande. Rio Grande, p. 47. 2021.

PHONGTHAI, Suphat; LIM, Seung-Taik; RAWDKUEN, Saroot. **Optimization of microwaveassisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties**. *Journal of Cereal Science*, v. 70, p. 146-154, 2016.

RIAL-OTERO, Raquel. **Ultrasonic assisted extraction for the analysis of organic compounds by chromatographic techniques**. *Ultrasound in chemistry: Analytical applications*. Wiley–VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; NUTTI, M. R.; CARVALHO, J. L. V. Carotenoids of sweet potato, cassava, and maize and their use in bread and flour fortification. *In: PREEDY, R. R.; WATSON, R. R.; PATEL, V. B. Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. London; Burlington; San Diego: Academic Press; Elsevier, v. 28, p. 301-311, 2011.

SAHA, Jayabrata; DEKA, Sankar Chandra. **Functional properties of sonicated and non-sonicated extracted leaf protein concentrate from *Diplazium esculentum***. *International Journal of Food Properties*, v. 20, n. 5, p. 1051-1061, 2017.

TEAS, Hawk. **Comparison the Chemical and Functional Properties of Protein Hydrolysates from Different Mature Degree**. *Journal of Food and Nutrition Research*, v. 1, n. 6, p. 138-144, 2013.

ZHANG, Yanpeng; WANG, Bin; ZHANG, Weinong; XU, Wei. **Effects and mechanism of dilute acid soaking with ultrasound pretreatment on rice bran protein extraction**. *Journal of Cereal Science*, v. 87, p. 318-324, 2019.