



EXTRAÇÃO ENZIMÁTICA DE PROTEÍNA SOLÚVEL E AMINOÁCIDOS DO GRÃO DE MILHO

Henrique Holowka¹ (FECILCAM) – henrique.holowka@hotmail.com

Lorena Tosoni² (FECILCAM) – lorena.tosoni@hotmail.com

Tânia Maria³ (FECILCAM) – coelho.tania@ymail.com

Nabi Assadi Filho⁴ (FECILCAM) – nabiasadi@uol.com.br

Resumo: A qualidade da proteína de um alimento é avaliada pela composição em aminoácidos. A pesquisa objetiva otimizar a extração enzimática de proteína do grão de milho, visando a produção de um suplemento nutricional diversificado, através dos resíduos de uma simulação protótipo da extração de amido. Com este processo obteve-se um complexo de aminoácidos essenciais, considerados fundamentais para a saúde humana.

Palavras-chave: Cereal; Hidrólise enzimática; Suplemento alimentar.

1. Introdução

Os grãos de cereais constituem uma fonte valiosa de proteínas para a alimentação humana. No Brasil, os cereais mais importantes, com relação à economia e valor nutricional, são o trigo, o milho e o arroz (SGARBIERI, 1996, apud VIEIRA *et al.*, 2008).

De acordo com Matos (2007) o milho é o cereal mais produtivo dentre estes três grãos, extensivamente utilizado como alimento humano ou ração animal, e na indústria para produção de cola, amido, óleo, álcool, entre outros.

O grão de milho é formado por endosperma (82,3%), embrião (11,5%), pericarpo (5,3%) e ponta (0,8%). Nessas porções da semente são encontradas as proteínas, que em média representam 8,5% do endosperma, 18,5% do embrião, 5,0% do pericarpo e 9,1% da ponta. A soma desses valores apresenta uma média de proteína, no grão, de aproximadamente 10%, o que pode variar com o tipo de grão, fertilidade do solo e condições climáticas (Tosello 1987, apud OLIVEIRA *et al.*, 2004).

No processo de extração de amido são gerados diversos resíduos sólidos, dentre eles a proteína, a fibra e o gérmen (que contém um alto teor de óleo). Em geral, as indústrias secam estes resíduos em estufas, e os vendem a um baixo preço para a alimentação animal. Com isso, considerando a ocupação do milho na dieta do brasileiro, seria conveniente utilizar estes

¹ Graduando em Engenharia de Produção Agroindustrial (EPA) pela Universidade Estadual do Paraná (UNESPAR) – Campus Campo Mourão.

² Graduanda em EPA pela UNESPAR – Campus Cmapo Mourão.

³ Professora Doutora da UNESPAR

⁴ Professor Mestre da UNESPAR.

resíduos como matéria-prima para o desenvolvimento de um novo produto, a base de proteína para alimentação humana.

Com a pesquisa pretende-se otimizar a extração de proteína, a partir de um método enzimático, visando a produção de um suplemento nutricional diversificado.

2. Fundamentação Teórica

Os constituintes não aquosos em mais abundância no protoplasma das células são os compostos moleculares de alto peso molecular conhecidos como proteínas. O termo proteína foi usado pela primeira vez por Mulder, químico holandês, que primeiro reconheceu as similaridades entre os vários compostos isolados de tecidos de plantas e animais. Considerando que estas substâncias poderiam desempenhar um papel fundamental na economia da célula receberam esse nome, que significa “de primeira importância” (NERY *et al.*, 2004).

As proteínas foram classificadas, no início do século, sob bases puramente empíricas, as quais estavam na dependência de suas diferenças de solubilidade. Hoje em dia sabe-se que as proteínas de armazenamento podem ser qualificadas em quatro grandes grupos, de acordo com sua solubilidade: albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas (NERY *et al.*, 2004).

As proteínas do grão de milho classificam-se em seis frações: albumina, globulina, zeína, glutelina 1, glutelina 2 e glutelina 3. A zeína é uma prolamina, é a maior classe das proteínas constituintes do milho (CAPOBIANGO *et al.*, 2006 b).

De acordo com Capobiango (2006 a), o conteúdo de proteínas em diferentes tipos de milho varia entre 6 a 12% na base seca, sendo que aproximadamente 75% das proteínas estão contidas no endosperma.

A Tabela 1 ratifica a distribuição das proteínas do milho e sua solubilidade.

TABELA 1: Distribuição das frações de proteínas no milho (% base seca).

Proteína	Solubilidade	Grão inteiro	Endosperma	Gérmen
Albumina	Água	8	4	30
Globulina	Sal	9	4	30
Glutelina	Álcali	40	39	25
Zeína	Álcool	39	47	5

Fonte:CAPOBIANGO, 2006.

A qualidade da proteína de um alimento é avaliada pela composição em aminoácidos (SANTOS, 2010).

A uma grande diferença entre o aminoácido da proteína do gérmen com relação ao aminoácido da proteína do endosperma, é possível visualizar esta diferença na Tabela 2.

TABELA 2: Quantidade de aminoácidos essenciais da proteína do gérmen e do endosperma do milho.

Aminoácido	Endosperma		Gérmen		FAO/WHO
	mg %	mg/g N	mg%	mg/g N	
Triptofano	18	38	144	62	60
Treonina	315	249	622	268	250
Isoleucina	365	289	578	249	250
Leucina	1024	810	1030	444	440
Lisina	228	180	791	341	340
Total de aminoácidos	249	197	362	156	220
Sulforados					
Fenilalanina	359	284	483	208	380
Tirosina	483	382	343	148	380
Valina	403	319	789	340	210

Fonte: CAPOBINGO, 2006.

A proteína do gérmen é onde se apresenta as maiores quantidades de aminoácidos, embora esta proteína não seja de alta qualidade. O gérmen fornece lisina e triptofano, aminoácidos essenciais presentes na proteína do milho, já o endosperma é pobre em lisina e triptofano.

2.1 Extração Enzimática de Proteína

A possibilidade de aumentar o teor de proteína e aminoácido dos alimentos é de inegável valor. Com isso, tem sido utilizada a hidrólise enzimática das proteínas para aperfeiçoar o processo de extração das mesmas. De acordo com ADACHI *et al.*, (1991, apud SANTOS, 2010), o processo de extração enzimática pode melhorar as propriedades funcionais das proteínas como a solubilidade, o poder emulsificante e a textura, com várias aplicações na indústria alimentícia.

Com este processo de extração, as proteínas são hidrolisadas, o valor nutricional dos produtos hidrolisados está diretamente relacionado à natureza da proteína de origem, que deverá ser de alto valor nutricional, e ao método de hidrólise utilizado (VIEIRA, 2007, apud SANTOS, 2010).

Diferentes enzimas são utilizadas para a extração enzimática da proteína do milho. Dentre elas, destacam-se, a protease alcalina, fúngica ou bacteriana; endoprotease (alcalase de grau alimentício do *Bacillus licheniformis*) um complexo de protease (flavourzina do *Aspergillus oryzae*) seguido de uma preparação de carboidrase do *Aspergillus aculeatus* e do *Humicola ínsoules*, endoprotease e amilase, α -amilase, β -amilase e alcalase (CAPOBIANGO *et al.*, 2006 b).

3. Materiais e Métodos

A pesquisa está sendo realizada no período letivo de 2011, no curso de Engenharia de Produção Agroindustrial, o experimento foi realizado no laboratório de Química Aplicada da

Universidade Estadual do Paraná – campus de Campo Mourão/ Unespar, através do grupo de pesquisa GPMAgro.

Foi uma simulação em escala protótipo da extração de amido, com os resíduos sólidos obtidos no processo foi feita a extração enzimática de proteínas.

Primeiramente foi selecionada uma amostra de uma variedade de milho, retirado na cooperativa COAMO, em torno de 1,5 Kg por lote, da safra 2010/2011, híbrido comercial cultivado na região de Campo Mourão, Paraná. Os grãos foram colocados em uma panela de pressão (com capacidade para 6 l, inox 18/10, com pressão de trabalho de 86 KPa da marca Rochedo), com água mineral suficiente para o processo de fermentação, foi adicionado uma quantidade de 90 g de metabisulfeto e 60g de ácido láctico, para baixar o pH da mistura para 4,5, a panela com a mistura foi posta em um recipiente térmico para cozimento em “banho maria” da marca NOVA ÉTICA modelo 314-8DN, a uma temperatura de 60°C, o calor é de fundamental importância para auxiliar o processo de fermentação, este dura aproximadamente 120 horas (5 dias). Através deste método, os grãos amoleceram o que auxiliou na retirada da película (rica em fibras) e do gérmen (rico em óleo), estes dois componentes serão descartados após batido os grãos em um liquidificador (ARNO do modelo MAGD 127 V~), então peneirada a mistura em peneira com furos de 50 mm para que se separe a película e o gérmen do restante. A mistura final é uma solução aquosa de cor característica, formada pelo endosperma e o pericarpo do grão de milho, a mesma foi transferida para um recipiente de vidro para que fosse feito o processo de decantação da solução, a água resultante deste processo de decantação é descartada restando somente o amido e a proteína.

Para separar o amido da proteína foi acrescentada uma quantidade de 0,5 %, do peso da mistura, da enzima α -amilase, uma das endoamilase mais conhecidas, que catalisou a mistura para a hidrólise do amido, também foram acrescentadas 3 partes de água destilada para cada parte da mistura e então, através do cozimento da mesma à uma temperatura média de 80°C por aproximadamente 1 hora, separou-se o amido da proteína, a solução foi filtrada, em um filtro de tecido de algodão para a retirada do amido, este sendo reservado para outros fins, a sobra do filtro é a proteína bruta.

No processo de hidrólise da proteína, foi acrescentada uma quantidade de 0,15%, do peso da mistura restante, das enzimas: alcalase e flavourzyme, que foram catalisadores responsáveis pela obtenção dos aminoácidos, foram adicionadas 3 partes de água destilada. Após a adição das enzimas, a mistura foi posta em “banho maria” a uma temperatura de 60°C por, aproximadamente, por 24 horas. Com o processo de hidrólise da proteína auxiliado pela utilização das duas enzimas: alcalase e flavourzyme, o líquido restante do processo já não é mais apenas proteína, mas sim uma série de aminoácidos essenciais tais como a lisina, triptofano, dentre outros.

Esta solução aquosa de aminoácidos foi então colocada em um recipiente de vidro e levada a um desidratador da marca Pardal a uma temperatura de 50°C, até que a mesma secasse e virasse um pó.

3. Resultados e Discussões

Depois de realizado o processo de hidrólise enzimática da proteína, foi possível a obtenção de vários dados ligados ao processo de extração dos aminoácidos.

Durante o processo de fermentação, e amolecimento do grão, pode-se observar que o mesmo aumentou de tamanho, e conseqüentemente ganhou uma quantidade maior de massa. Antes de ser moído, o grão foi novamente pesado, tendo então uma massa de aproximadamente 2,1 Kg, deste total foram descartados 0,4 Kg para outros fins, o restante foi moído junto a uma porção de água de 1:1.

Depois de filtrado em peneira esta solução, obteve-se 0,4 Kg de fibra e gérmen, estes sendo colocados em um desidratador, sua massa seca foi então de 0.12 Kg, este composto foi reservado para outros fins. A massa restante foi de 1,2 Kg, esta quantidade é um composto de proteína e amido, a este composto foi adicionado 0,0006 L da enzima α -amilase e mais 4 litros de água, feito o cozimento e a hidrólise do amido, a solução foi então filtrada restando somente a proteína, com uma massa de 0,36 Kg, este produto virou uma nova solução composta de 1 L de água e de 0,00006 L das enzimas alcalase e flavourzime, o resultado desta solução, após feito o processo de cozimento, foi uma série de aminoácidos essenciais que, após secos, renderam 0,03 Kg de aminoácidos.

Uma das grandes vantagens dos métodos enzimáticos é que, mesmo com uma pequena quantidade de amostras é possível obter valores do amido contido nelas. No caso em questão o percentual de proteína e aminoácidos resultantes pode ser determinado, mesmo sendo considerado relativamente baixo quando comparado aos valores já encontrados no vegetal estudado. O valor inicial obtido com a pesquisa representa 3,1% dos aminoácidos contidos no grão do milho, este percentual deve ser aumentado com o aperfeiçoamento do método.

4. Considerações Finais

Através do método de hidrólise enzimática foi possível extrair proteína e aminoácidos essenciais do grão de milho.

A pesquisa teve como principal objetivo otimizar o processo de extração da proteína do grão de milho, através da hidrólise enzimática, para que haja um melhor aproveitamento dos aminoácidos presentes neste grão. Nesta fase inicial já obtivemos bons resultados, pois os ensaios realizados apresentaram o percentual de 3,1% dos aminoácidos contidos no grão do milho. Mesmo sendo considerado baixo o percentual, e tendo conhecimento de várias outras metodologias de extração, o método de hidrólise enzimática ainda é recomendado quando levamos em consideração a relação custo benefício em comparação com os métodos químicos. Por esse fato o processo está em fase de aperfeiçoamento, a análise dos dados garante a eficiência e qualidade dos resultados e algumas restrições como equipamentos e qualidade do grão utilizado devem ser elementos a serem melhorados.

5 Referências

CAPOBIANGO, M. **Extração das proteínas do fubá de milho e obtenção de hidrolisados protéicos com baixo teor de fenilalanina.** Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/1843/MBSA6WGLKJ/1/disserta__o_final_michely.pdf> Acesso em: 15 jun. 2011.

CAPOBIANGO, M., et al. **Extração química e enzimática das proteínas do fubá de milho.** Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n4/26.pdf>> Acesso em: 15 jun. 2011.

MATOS, E., H., S. **Cultivo do milho verde.** Disponível: em <<http://www.slideshare.net/livreinatural/cultivo-do-milho-verde>> Acesso em: 31 ou. 2011.

NERY, F.C., et al. **Separação e quantificação de proteínas e amido em tecidos vegetais.** Disponível em: <http://www.dbi.ufla.br/Ledson/LBMP/LBMP2007/Grupo_Joyce/Amido_Proteina.pdf> Acesso em: 15 jun. 2011.

OLIVEIRA, J. P., **Teor de proteína no grão em populações de milho de alta qualidade protéica e seus cruzamentos.** Disponível em: <<http://www.agrolink.com.br/downloads/111510.pdf>> Acesso em: 14 jun. 2011.

SANTOS, R. E., et al. **Teores de proteína solúvel e aminoácidos livres em farinha de soja hidrolisada com enzimas.** Disponível em: <http://www.fecilcam.br/nupem/anais_v_epct/PDF/engenharias/01_SANTOS_%20GROFF_ASSAD.pdf> Acesso em: 18 jun. 2011.

VIEIRA, C. R., et al., **Extração enzimática das proteínas da farinha de arroz**. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n3/a15v28n3.pdf>> Acesso em: 18 jun. 2011.