

Extração de proteínas do farelo de arroz por tratamento ultrassônico em equipamento tipo sonda

Extraction of rice bran proteins by ultrasonic treatment using probe equipment

RESUMO

Thayná Domingues de Almeida
almeida.thayna27@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Ediane Umbelina Ferrazzo do Carmo
edianeuferrazzo@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Eliane Colla
collaeliane@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



Devido ao fato de grande parte da produção mundial de farelo de arroz ser destinado à alimentação animal ou para obtenção de óleo, o estudo de novas formas de aproveitamento deste resíduo é uma necessidade científica atual. O ultrassom vem sendo testado para a extração de proteínas vegetais devido ao efeito mecânico e térmico da cavitação. Com a intenção de se obter um Concentrado Proteico de Farelo de Arroz (CPFA), o objetivo principal deste trabalho foi avaliar a extração de proteínas deste resíduo por tratamento ultrassônico em equipamento do tipo sonda, aplicando-se uma estratégia sequencial de planejamento experimental (Planejamento Fatorial Fracionário (PFF) seguido de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR)). No planejamento fracionário foram avaliadas quatro variáveis independentes: pH, tempo, amplitude da potência e razão farelo:água (frequência fixa em 20 KHz). O FAD foi submetido às condições de extração determinadas no DCCR (pH 10, 40% de amplitude de potência, 5 minutos e 50 g/L), seguida da precipitação ácida, centrifugação, neutralização e liofilização. O rendimento do processo foi de 6,01%, sendo que em 50 g de FAD foi possível obter 0,5638 g de CPFA. O tratamento ultrassônico apresentou maior eficiência em comparação ao método de extração alcalina relatado na literatura.

PALAVRAS-CHAVE: Ultrassom. Cavitação. Resíduos agroindustriais. Proteínas de origem vegetal.

ABSTRACT

Due to the fact that much of the world production of rice bran is destined to animal feed or to obtain oil, the study of new ways to use this residue is a scientific trend. Ultrasound has been tested for the extraction of plant proteins due to the mechanical and thermal effect of cavitation. With the intention of obtaining a Rice Bran Protein Concentrate (RBPC), the main objective of this work was to evaluate the protein extraction of this residue by ultrasonic treatment in probe type equipment, applying a sequential strategy of experimental design (Fractional Factorial Design (FFD) followed by a Central Composite Rotatable Design (CCRD)). In the FFD four independent variables were evaluated: pH, time, power amplitude and bran: water ratio (fixed frequency at 20 KHz). The DRB was subjected to the extraction conditions determined in the CCRD (pH 10, 40% power amplitude, 5 minutes and 50 g/L), followed by acid precipitation, centrifugation, neutralization and lyophilization. The process yield was 6.01%, and in 50 g DRB it was possible to obtain 0.5638 g RBPC. Ultrasonic treatment showed higher efficiency compared to the alkaline extraction method reported in the literature.

KEYWORDS: Ultrasound. Cavitation. Agroindustrial waste. Proteins of plant origin.

INTRODUÇÃO

O arroz é um dos cereais mais consumidos no mundo. Em relação a sua composição, o amido é o nutriente em maior quantidade, seguido da proteína, que se apresenta na forma de albumina, globulina, glutelina e prolamina. Comparado a outros cereais, o arroz possui maior valor biológico e digestibilidade, além de sua proteína ser hipoalergênica, hipocolesterolêmica, anticancerígena e antioxidante (Zhang, Y. et al., 2019). Os subprodutos do beneficiamento do arroz são constituídos por 20% de casca, 8% de farelo (sendo destes, aproximadamente 13% de proteína bruta) e 2% de gérmen (Van Hoed et al., 2006). Grande parte da produção do farelo de arroz produzido no mundo é destinado à alimentação animal ou para obtenção de óleo (Zullaikah, Melwita, & Ju, 2009).

Para que a proteína do farelo de arroz possa ser utilizada industrialmente, é necessário o processo de extração. Um método não convencional que tem atraído atenção devido as suas vantagens, é a extração assistida por ultrassom (EAU), devido ao tempo e energia reduzidos em comparação a outros métodos, e por não necessitar o uso de solventes (Tao, Wu, Zhang, & Sun, 2014). Esse método baseia-se na cavitação acústica em meio líquido (Azmir, et al., 2013). A extração ocorre devido ao rompimento da parede celular, causada pelas ondas de choque e as forças de cisalhamento resultantes do colapso das bolhas de cavitação próximo a superfície do material vegetal (Tao, Wu, Zhang, & Sun, 2014).

O presente trabalho teve como objetivo obter concentrado proteico de farelo de arroz desengordurado através de tratamento ultrassônico em equipamento tipo sonda e avaliar o rendimento do processo.

MATERIAL E MÉTODOS

O farelo de arroz desengordurado (FAD) foi gentilmente cedido pela Indústria Riograndense de Óleos Vegetais (IRGOVEL – PELOTAS/RS), na forma de *pellets* e foi submetido a moagem em moinho de facas (Solab, SL 31, Tipo Willye, Brasil) (granulometria média de 70 mesh), seguida de congelamento (-20°C) em sacos de polietileno. O FAD foi caracterizado quanto ao teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl (fator de conversão para proteína total = 5,95) e umidade em estufa a 105°C (AOAC, 2005).

Inicialmente foi aplicado um Planejamento Fatorial Fracionário (PFF) 2^{4-1} (2 níveis, 4 pontos centrais, 12 ensaios), com valores reais e codificados das variáveis conforme a Tabela 1, que permitiu a seleção das variáveis significativas do processo e a realização de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) 2^2 (4 pontos axiais, 3 pontos centrais, 11 ensaios), com tempo fixado em 5 minutos, amplitude da potência em 40% e frequência em 20 KHz. A melhor condição de extração foi considerada a que resultou em maior teor proteico dos extratos. Os dados foram tratados com o auxílio do software *Statistica 10.0* (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). O ajuste da equação do modelo de segunda ordem foi expresso pelo coeficiente de determinação R^2 , e a significância estatística foi determinada pelo Teste F (análise de variância – ANOVA).

Para a obtenção do concentrado proteico do farelo de arroz (CPFA), foi homogeneizado 50 g de FAD em 1 L de água ultrapura e o pH ajustado em pHmetro (Meter Hanna, Brasil) para 10 com adição de NaOH 2mol/L. A suspensão foi

submetida à extração direta em ultrassom tipo sonda (QR500), por 5 minutos, amplitude da potência em 40%. Em seguida procedeu-se a centrifugação (Rotina 420 R, Hettich Zentrifugen, Alemanha), a $11979 \times g$ por 5 minutos, a 25°C . O pH do sobrenadante foi ajustado ao ponto isoelétrico das proteínas do arroz (4,5) com HCl 3 Mol/L (GUPTA; CHANDI; SOGI, 2008). A solução foi deixada em repouso para precipitação a 10°C e submetida a centrifugação sob as mesmas condições. O precipitado foi lavado três vezes com água ultrapura e novamente centrifugado. Os sobrenadantes foram descartados. Utilizando NaOH 2mol.L^{-1} , o precipitado foi neutralizado até atingir pH 7 e em seguida submetido ao congelamento a -18°C e liofilização (Labconco, FreeZone, EUA) em pressão absoluta menor que 0,5 mBar, temperatura de aquecimento de 40°C por 24 horas.

O CPFA foi caracterizado quanto ao teor de nitrogênio total (método de Kjeldahl, fator de conversão 5,95), e umidade em estufa a 105°C , seguindo as metodologias da AOAC (2005). O rendimento da extração foi calculado segundo a metodologia proposta por SELLING et al. (2013) (Eq. 1).

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{(g_{\text{CPFA}} \times PT_{\text{CPFA}}) \times (100 - U_{\text{CPFA}})}{(g_{\text{inicial FAD}} \times PT_{\text{FAD}}) \times (100 - U_{\text{FAD}})} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

g_{CPFA} = massa de concentrado proteico de farelo de arroz obtido em gramas;

$g_{\text{inicial FAD}}$ = massa de farelo de arroz inicial em gramas;

PT_{CPFA} = proteína total no concentrado proteico de farelo de arroz em porcentagem;

PT_{FAD} = proteína total no farelo de arroz em porcentagem;

U_{CPFA} = umidade do concentrado proteico de farelo de arroz em porcentagem;

U_{FAD} = umidade do farelo de arroz em porcentagem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As respostas dos ensaios do PFF 2^{4-1} estão apresentadas na Tabela 1. Pela análise da Tabela 2, observa-se que as variáveis pH e razão farelo:água apresentaram efeitos significativos, ao contrário das variáveis tempo e amplitude da potência. Assim, para a realização do DCCR (Tabela 3), o tempo foi fixado em 5 minutos e a amplitude de potência em 40%. Como efeito do pH foi positivo no PFF, na faixa de 8 a 10, sua faixa de estudo foi deslocada para 9 a 11 no DCCR. Já para a variável razão farelo:água, o efeito foi negativo na faixa estudada no PFF (100 – 180 g/L), portanto sua faixa de estudo foi deslocada para 50 a 150 g/L no DCCR.

A melhor extração foi observada no ensaio 7 (Tabela 3). Na Tabela 4 estão apresentados os coeficientes de regressão para a resposta de extração proteica do DCCR, onde apenas a variável razão farelo:água apresentou efeito significativo e negativo dentro da faixa estudada.

Tabela 1 – PFF 2^{4-1} com valores codificados e reais (entre parênteses) das variáveis estudadas na extração e resposta experimental.

Ensaio	X ₁ ^a	X ₂ ^b	X ₃ ^c	X ₄ ^d	Y ^e
1	-1(8)	-1(5)	-1(40)	-1(100)	6,04 ± 0,02
2	1(10)	-1(5)	-1(40)	1(180)	5,57 ± 0,02
3	-1(8)	1(15)	-1(40)	1(180)	2,63 ± 0,01
4	1(10)	1(15)	-1(40)	-1(100)	6,34 ± 0,04
5	-1(8)	-1(5)	1(80)	1(180)	3,86 ± 0,02
6	1(10)	-1(5)	1(80)	-1(100)	6,21 ± 0,02
7	-1(8)	1(15)	1(80)	-1(100)	4,63 ± 0,01
8	1(10)	1(15)	1(80)	1(180)	5,01 ± 0,01
9	0(9)	0(10)	0(60)	0(140)	3,99 ± 0,01
10	0(9)	0(10)	0(60)	0(140)	3,84 ± 0,06
11	0(9)	0(10)	0(60)	0(140)	4,04 ± 0,02
12	0(9)	0(10)	0(60)	0(140)	4,20 ± 0,05

^a pH; ^b tempo (minutos); ^c amplitude de potência (%); ^d razão farelo:água (g/L); ^e resposta experimental (média ± erro padrão) para o teor de proteínas extraídas.

Fonte: Autoria própria, 2019.

Tabela 2 – Efeitos das variáveis estudadas sobre o rendimento da extração no PFF 2^{4-1}

Fatores	Efeitos	Erro padrão	t(7)	p-valor
Média	4,69	0,22	21,30	0,0000*
(X ₁) pH	1,49	0,54	2,76	0,0280*
(X ₂) Tempo	-0,77	0,54	-1,42	0,1980
(X ₃) Amplitude da potência (%)	-0,22	0,54	-0,49	0,7020
(X ₄) Razão farelo:água (g/L)	-1,54	0,54	-2,85	0,0240*

* $p \leq 0,05$; $R^2 = 0,73$.

Fonte: Autoria própria, 2019.

Tabela 3 – DCCR 2^2 com valores reais e codificados (entre parênteses) das variáveis estudadas na extração.

Ensaio	X ₁ ^a	X ₂ ^b	Y ^c	Ŷ ^d	Desvio relativo ^e (%)
1	-1(9,3)	-1(64)	6,39 ± 0,01	6,76	5,70
2	-1(9,3)	1(136)	6,10 ± 0,03	6,76	10,90
3	1(10,7)	-1(64)	7,24 ± 0,00	4,95	-31,63
4	1(10,7)	1(136)	5,17 ± 0,02	4,95	-4,34
5	-1,41(9)	0(100)	6,32 ± 0,02	6,87	8,66
6	1,41(11)	0(100)	5,32 ± 0,02	4,31	-19,06
7	0(10)	-1,41(50)	7,48 ± 0,04	6,12	-18,10
8	1(10)	1,41(150)	4,03 ± 0,01	6,12	52,03
9	2(10)	0(100)	5,14 ± 0,02	5,59	8,65
10	3(10)	0(100)	5,50 ± 0,01	5,59	1,47
11	4(10)	0(100)	4,90 ± 0,03	5,59	13,96

^a pH; ^b Razão farelo:água (g/L); ^c Resposta Experimental (média ± erro padrão); ^d Resposta predita para o teor de proteínas extraídas; ^e Desvio Relativo para teor de proteínas = $((Y - \hat{Y})/Y) * 100$; onde Y = resposta experimental e Ŷ = resposta predita pelo modelo.

Fonte: Autoria própria, 2019.

Tabela 4 – Coeficientes de regressão para a resposta de extração proteica do DCCR.

Fatores	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t(5)	p-valor
Média	5,18	0,32	15,95	0,0000
X ₁ ^a (L)	-0,19	0,20	-0,94	0,3920
X ₁ ^a (Q)	0,43	0,24	1,81	0,1304
X ₂ ^b (L)	-0,91	0,20	-4,55	0,0061
X ₂ ^b (Q)	0,39	0,24	1,67	0,1564
X ₁ ^a . X ₂ ^b	-0,44	0,28	-1,57	0,1777

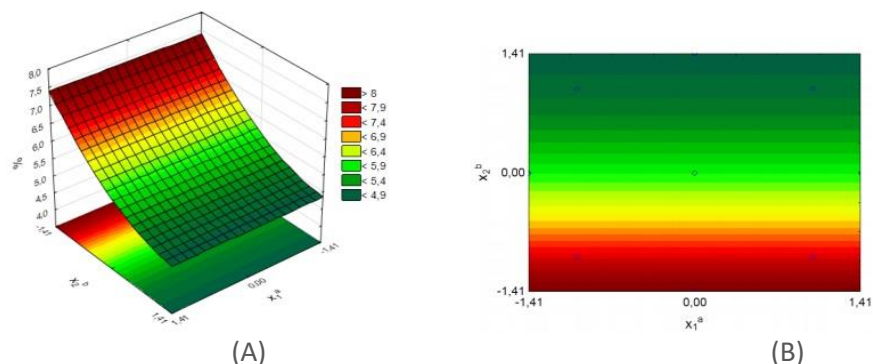
X₁^a = pH; X₂^b = razão farelo:água (g/L); L = termo linear; Q = termo quadrático; * p ≤ 0,05; R² = 0,85.

Fonte: Autoria própria, 2019.

A Eq. 3 representa o modelo para o teor de proteínas extraídas em função das variáveis estudadas. Os parâmetros não significativos foram incorporados aos resíduos para o cálculo da análise de variância (ANOVA), na qual observou-se $F_{calculado}$ (7,62) maior que $F_{tabelado}$ (4,45) ao nível de significância de 5%, possibilitando a validação do modelo (Eq. 3), e a construção das superfícies de resposta (Figura 1).

$$y = 5,58 - 0,91x_2 + 0,27x_2^2 \quad (3)$$

Figura 1 – Superfície de resposta (A) e curvas de contorno (B) do teor de proteína extraído do farelo de arroz de arroz em função do pH e razão farelo:água (g/L).



X₁^a = pH; X₂^b = razão farelo:água (g/L); % teor de proteína extraído do farelo de arroz.

Fonte: Autoria própria, 2019.

Pela análise da superfície de resposta pode-se verificar que menores razões farelo:água (50 e 64 g/L), proporcionaram maior eficiência do processo. Para validar os resultados obtidos no DCCR, foram realizados dois ensaios, em triplicata (Tabela 5). O teor de proteína extraída com a razão farelo:água em 50 g/L foi superior em comparação ao realizado com 65 g/L. Portanto, as melhores condições para a obtenção do CPFA foram 50 g/L, em pH 10, durante 5 minutos, com amplitude de potência em 40%. A partir de 50g de FAD foi possível obter 0,5638g de CPFA, ou seja, o rendimento do processo foi de 6,01%. O baixo rendimento obtido, pode ser devido à presença de diferentes tipos de proteínas presentes no arroz (albumina, globulina, glutelina e prolamina), sendo que cada uma delas apresenta diferentes características, o que gera uma maior dificuldade na sua extração e separação (ROMERO, 2015). Mesmo baixo, o rendimento obtido ainda

é superior ao relatado por outros autores, em processos realizados por agitação em meio alcalino.

Tabela 5 – Resultados obtidos para determinar o rendimento do processo de extração.

Amostras	Teor de proteínas	Umidade
FAD	14,93 ± 0,05	9,89 ± 0,050
CPFA	76,01 ± 0,06	5,68 ± 0,07
Rendimento (%)		6,01

Fonte: Autoria própria, 2019.

CONCLUSÃO

A aplicação do tratamento ultrassônico em equipamento tipo sonda mostrou-se eficiente e vantajoso para a ruptura das paredes celulares do farelo de arroz, obtendo-se rendimento de até 6,01%. Este resultado demonstra a possibilidade da utilização do farelo de arroz por indústrias como fonte alternativa de proteína, já que é uma matéria prima altamente disponível e acessível.

REFERÊNCIAS

- ZHANG, Yifu et al. Effect of rice protein on the water mobility, water migration and microstructure of rice starch during retrogradation. **Food Hydrocolloids**, v. 91, p. 136-142, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X18316308>. Acesso em: 04 ago. 2019.
- BERNARDI, Silvia. **Obtenção de concentrado proteico do farelo de arroz e avaliação das propriedades químicas e funcionais**. 2015. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.
- VAN HOED, V. et al. Influence of chemical refining on the major and minor components of rice bran oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 4, p. 315-321, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11746-006-1206-y>. Acesso em 03 ago. 2019.
- ZULLAIKAH, S. et al. Isolation of oryzanol from crude rice bran oil. **Bioresource technology**, v. 100, n. 1, p. 299-302, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852408005269>. Acesso em 17 ago. 2019.
- Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q. A., & Sun, D. W. Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: modeling, optimization and stability of extracts during storage. **Ultrasonics Sonochemistry**, 21(2), 706-715, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417713002162>. Acesso em 04 ago. 2019.
- Azmir, J. et al. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, 117(4), 426-436. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877413000277>. Acesso em 04 ago. 2019.