

MODELO TECNOLÓGICO PARA PRODUÇÃO ARTESANAL DE CONCENTRADO PROTEICO DE COUVE

RESUMO

A couve é um alimento folhoso, sendo as folhas um reservatório proteico, além de fonte de fibras. O *pool* proteico pode ser subdividido em proteínas solúveis e insolúveis. A fração insolúvel está presente nas membranas tilacóides dentro dos cloroplastos e é chamada de fração verde. A fração solúvel é chamada de fração branca e é predominantemente composta pela RUBISCO, uma enzima chave da fotossíntese. Este trabalho tem como principal objetivo mostrar balanço de massa de um processo tecnológico de produção laboratorial e artesanal de obtenção de concentrado proteico de folha de couve e quantificar o rendimento deste processo para aplicação domiciliar e artesanal. Tal processo mostrou ser bem eficaz com uma massa de 16,68% obtida para a soma da fração verde insolúvel com a fração branca solúvel, sendo 92% representado pela fração verde e 8% pela fração branca. Foi obtido um percentual de proteína solúvel na fração branca de 15,75%.

INTRODUÇÃO

A couve é uma hortaliça bastante apreciada na mesa do brasileiro, mas pouco se fala sobre os níveis de proteína que ela apresenta. Essa folhosa possui 31% de proteína, valores maiores do que encontrado no feijão preto que apresenta níveis de 25% em base seca (TABELA TACO 4ª EDIÇÃO). Este alimento folhoso, assim como todos os outros de cor verde escura, apresentam também altos teores de fibra, mas é uma excelente fonte destes polissacarídeos somente para animais não mono gástricos. Já o feijão é rico em amido e, é, portanto, não somente uma fonte proteica, mas carrega também polissacarídeos digeríveis pelos humanos. Este fato permite que se diga que o feijão pode ser uma boa fonte proteica quando consumido da forma integral, mas o mesmo não se pode falar para a folha de couve devido a seu alto teor de carboidrato não digerível (fibra).

Sabe-se que as folhas são o maior reservatório proteico do planeta, podendo este “pool” proteico ser subdividido em solúveis e insolúveis. As proteínas insolúveis estão presentes nas membranas tilacóides dentro dos cloroplastos e são chamadas de fração verde. A fração solúvel é predominantemente composta pela RUBISCO, enzima chave da fotossíntese (SANTAMARIA-FERNÁNDEZ & LUBEK, 2020) e é chamada de fração branca. STEPHAN *et al.*, 2000 mostraram uma marcha de semi-purificação da RUBISCO com pouca pureza, identificada pela presença nos extratos proteicos de bandas difusas e pouco definidas na eletroforese em gel de poliacrilamida.

A busca atual por proteína vegetal é uma realidade e não pode ser descartada a hipótese de aproveitamento das mesmas em couve, pois ela seria um produto nobre e que está presente de forma majoritária nas folhas (>50%). A obtenção desta fração branca, sem fibras e fração verde solúvel, representaria uma potencial fonte proteica alternativa para toda a sociedade, em especial em países de clima tropical, rico em espécies vegetais de rápido cultivo, tal como a couve, podendo esta representar um excelente modelo de fabricação biológica de produção de proteína. A literatura tem descrito a obtenção de concentrado proteico com valores de 18% a 89% (TAMOYO TENORIO, 2018).

OBJETIVO

Mostrar balanço de massa de um processo tecnológico de produção laboratorial e artesanal de obtenção de concentrado proteico de folha de couve desta forma, obter subsídios para futuros trabalhos de transferência de tecnologia para produção domiciliar de concentrado proteico por pequenos produtores.

RESULTADO E DISCUSSÃO

No presente trabalho foram utilizados quatro molhos de couve como modelo tecnológico laboratorial para produzir um concentrado proteico de folha verde escura para fins alimentícios. Os extratos brutos foram obtidos através de processador de alimentos do tipo comercial e foram avaliados por meio da técnica de eletroforese SDS-PAGE. Foi utilizado o sistema de eletroforese vertical (BioRad) e a metodologia de preparação dos géis foi realizada conforme Laemmli (1970). A

Este tipo de processamento realizado em escala de bancada mostrou resultados similares quando aplicado de forma artesanal em cozinha domiciliar, onde foi substituído o ácido acético 5% por vinagre para produção da fração proteica branca e o aquecimento à 60°C em banho maria para retirada da fração verde insolúvel. O precipitado proteico solúvel (fração branca) ainda misturado com o ácido é mostrado na Figura 1. Sendo, 1A antes da centrifugação 1B após a centrifugação. O rendimento de produção de massa na fração verde e branca foi de, respectivamente, 6,35g e 0,55g (Tabela 1).

A quantificação de proteína solúvel no concentrado proteico foi feita através da solubilização de 0,1048 do material desidratado em 500 µL de água. Foi obtido um valor de 15,75% de proteína solúvel através de quantificação pelo método colorimétrico de Bradford. Possivelmente, este baixo rendimento é devido à baixa solubilidade total desta fração que se apresenta na forma leitosa.

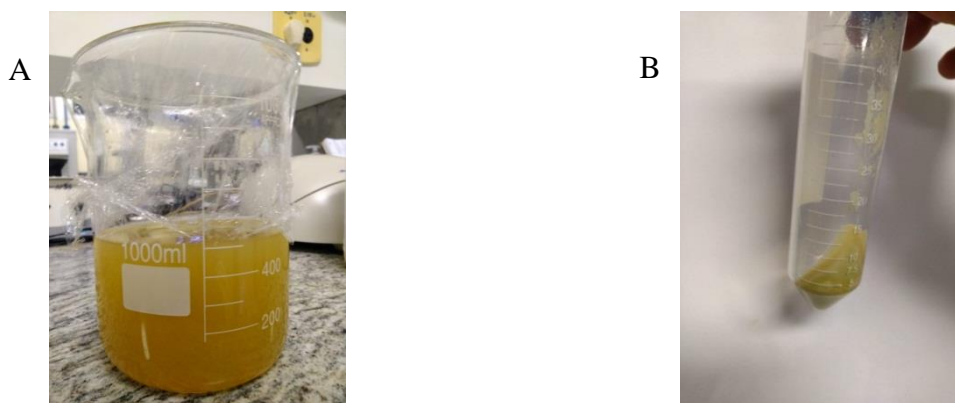


Figura 1: A) aspecto da solução de concentrado proteico após precipitação com ácido acético antes da centrifugação. B) Aspecto da pasta de concentrado proteico após precipitação com ácido acético 5% e centrifugação.

Os quatro molhos de couve integral utilizados neste estudo, apresentaram 321,82g que se transformaram em 41,44g de sólido totais após secagem por liofilização (Tabela

1). O balanço de massa do processo laboratorial de semi-purificação das frações proteica verde e branca é mostrado na Figura 2A. Através de cálculo por diferença, o líquido residual restante mostrou que ainda há um resíduo sólido de 48,69% em relação aos rendimentos das outras frações. Este fato mostra que o processo usado não permitiu uma boa extração de proteína, pois a fração proteica verde teve um valor de massa seca de 15,3% e a branca de 1,38% (Figura 2B).

Desta forma, o total de massa das duas frações está distribuído da seguinte maneira: 92% representados pela fração verde (em massa seca) e 8% pela fração branca (em massa seca). Deve-se lembrar de que a fração verde é rica em proteínas insolúveis e a branca em proteínas solúveis. A quantificação de proteína solúvel foi realizada somente na fração branca, utilizando o método colorimétrico de Bradford. A cor da fração verde e a baixa solubilidade das proteínas nesta fração são fatores limitantes para realização de uma análise colorimétrica. Este fato justifica a não realização desta análise

Como verificado, então, o concentrado proteico da fração branca obtido por precipitação ácida apresenta somente 15,75% de proteína solúvel. Estes valores estão próximos ao descrito na literatura que relata a produção média de concentrado proteico oriundo de folhas na ordem de 18% a 89% (TAMOYO TENORIO, 2018). Sabendo-se que o método de coagulação ácida usado permite uma boa semi-purificação das proteínas, estima-se que estes dados estejam subestimados. Provavelmente, pelo fato das proteínas não terem uma boa ressibilização após a desnaturação ácida e secagem.

Tabela 1: Balanço da massa úmida e seca (em g) do processo laboratorial de semi-purificação da fração proteica verde e branca, obtidas a partir de quatro molhos de couve.

Frações da couve	Massa Úmida (g)	Massa Seca (g)	% Sólidos totais nas frações (base seca)
Folha integral	321,82	41,44	100
Tecido fibroso retido	76,97	14,35	34,63
Fração verde- termocoagulação (60^oC)	22,86	6,35	15,30
Fração branca coagulação ácida pH 3,5	3,24	0,55	1,38
Líquido residual	318,75	-	48,69

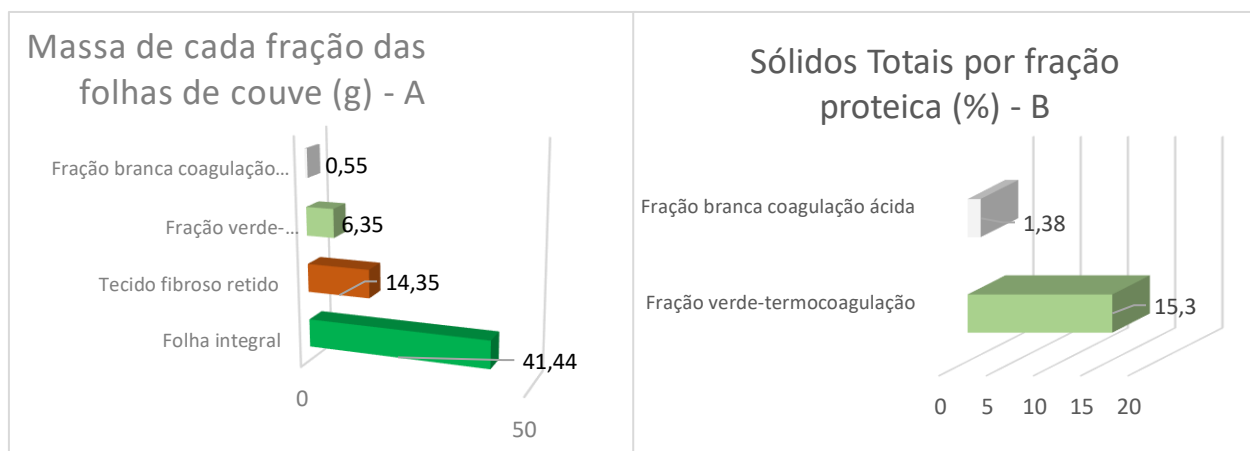


Figura 2: Distribuição de massas (A) e % de sólidos totais (B) nas frações da amostra de couve estudada.

O perfil proteico apresentado na Figura 3 apresenta as cadeias polipeptídicas referentes à proteína RUBISCO. Este resultado reforça que se está trabalhando com a fração solúvel obtida após a semi purificação com coagulação ácida. Pode ser verificado ainda na Figura 3 que o mercaptoetanol e o dodecilsulfato de sódio usados na eletroforese transformam a estrutura conformacional da RUBISCO em oito cadeias polipeptídicas, apresentadas na faixa molecular de 55kDa e 15 kDa.

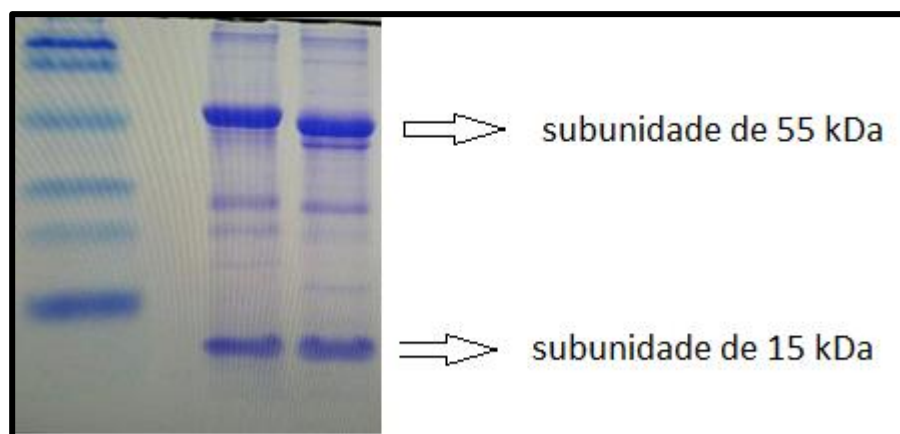


Figura 3: perfil eletroforético (SDS-PAGE) do extrato proteico contendo a RUBISCO, formado por 8 subunidades de 55kDa e 8 de 15 kDa.

CONCLUSÃO

O processo tecnológico de produção laboratorial e artesanal de obtenção de concentrado proteico de folha de couve mostrou ser bem eficaz. Uma massa 6,9% foi obtida para a soma da fração verde insolúvel com a fração branca solúvel, sendo 92% representado pela fração verde e 8% pela fração branca. Foi obtido um percentual de

proteína solúvel na fração branca de 15,75%. A comprovação de que se trabalhou com a fração solúvel foi evidenciada por eletroforese SDS-PAGE ao se identificar um padrão de identidade referente a enzima RUBISCO da fotossíntese (subunidades de 55 e 15kDa). Estes resultados dão subsídios para futuros trabalhos de transferência de tecnologia para produção domiciliar de concentrado proteico por pequenos produtores, além disso, sucos e caldos proteicos poderão ser formulados tanto com as proteínas da fração verde como da fração branca.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *nature*, 227, n. 5259, p. 680-685, 1970.

SANTAMARÍA-FERNÁNDEZ, M.; LÜBECK, M. Production of leaf protein concentrates in green biorefineries as alternative feed for monogastric animals. *Animal Feed Science and Technology*, 268, p. 114605, 2020.

STEPHAN, M.P.1999. Cassava leaves: approach for studies on the applicability of proteins from leaves of cassava as an additive for food fortification or as molecular sensor of abiotic stress. Edited by M.F. Smallwood , C.M., Calvert and D.J., Bowles. Bios Scientific Publishers Limited. ISBN. 1 85996 192 Pages 211-221.

TACO - Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP. 2011- 4. ed. rev. e ampl. - Campinas: **NEPA- UNICAMP**. 161 p.

TAMOYO TENORIO, A.; KYRIAKOPOULO, K.E.; SUAREZ-GARCIA, E.; VAN DEN BERG, C., VAN DER GOOT, A.J.2018. Understanding differences in protein fractionation from conventional crops, and herbaceous and aquatic biomass—Consequences for industrial use. *Trends Food Sci. Technol.*71, 235-245