



**OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTEICOS E FIBROSOS A PARTIR DE  
FARELO DE GIRASSOL (*Helianthus annuus L.*) DESENGORDURADO.**

Thaís Hitomi Kirita<sup>1</sup>; Lucia de La Hoz<sup>2</sup>, Vera S. Nunes da Silva<sup>2</sup>, Adriana Barreto  
Alves<sup>2</sup>, Maria Teresa Bertoldo Pacheco<sup>3</sup>

**Nº 14222**

**RESUMO** - A semente de girassol (*Helianthus annuus L.*) é considerada uma oleaginosa de elevado valor nutricional. No entanto, o alto teor de compostos fenólicos presente na semente do girassol, restringe a utilização do farelo, obtido do processo de extração do óleo. Este trabalho objetivou extrair os compostos fenólicos do farelo desengordurado antes do seu fracionamento em concentrado proteico e fibroso. Para tal foram testadas três tipos de soluções extratoras: etanol 70%, bissulfito de sódio 0,1% e mistura etanol 70% e bissulfito de sódio 0,1% (70:30 v/v). O concentrado proteico de maior conteúdo em proteínas (88,14%) foi resultante da extração com etanol, enquanto a maior concentração de fibras (76,06%) foi resultante da extração com bissulfito de sódio. A mistura de solventes apresentou um comportamento intermediário para o conteúdo de fibras (54,74%), enquanto o teor de proteínas (78,22%) foi similar da extração com bissulfito de sódio (78,31%). A avaliação do extrato rico em polifenóis mostrou que o mesmo não apresenta atividade antiproliferativa das células tumorais humanas cultivadas *in vitro*, indicando a inexistência de ação de natureza citotóxica. O melhor desempenho em reduzir os compostos fenólicos ocorreu na extração da mistura de etanol/bissulfito, pois apresentou um concentrado proteico com o menor teor de fenólicos (33,78mg/100g) e, por isso a coloração mais clara que as demais amostras. As soluções extratoras resultaram em concentrados de composição físico-química diferenciadas, com teores reduzidos de compostos fenólicos, que podem ser direcionadas para diferentes aplicações tecnológicas.

**Palavras-chaves:** girassol, compostos fenólicos, concentrado proteico, fração fibrosa.

1 Autor: Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas-SP, thaiskirita@gmail.com

2 Colaboradora: Pesquisadora, CCQA/ITAL, Campinas-SP, lucia.delahoz@gmail.com

3 Orientadora: Pesquisadora, CCQA/ITAL, Campinas-SP, bertoldopacheco@gmail.com



**ABSTRACT** - The sunflower seed (*Helianthus annuus* L.) is considered an oilseed with great nutritional value. However, the high content of phenolic compounds in seeds of sunflower restricts their use. This study has the main objective the extraction of the phenolic compounds from the defatted sunflower meal, before its division into protein concentrate and fibrous. Three different extract solutions were tested: 70% ethanol, 0.1% sodium bisulfite, and mixing 70% ethanol and 0.1% sodium bisulfite solution (70:30 v/v). The protein concentrate with higher protein content (88.14%) was resulted of the extraction with ethanol, while the highest concentration of fiber (76.06%) resulted from the extraction with sodium bisulfite. The solvent mixture showed an intermediate behavior for the fiber fraction (54.74%), while the protein content (78.22%) was similar with the extraction with sodium bisulfite (78.31%). The evaluation of the extract rich in polyphenols showed that it has not anti proliferative activity in human tumor cells cultured in vitro, indicating no cytotoxic action. The best performance in reducing the phenolic compounds occurred with the mixture of ethanol/bisulfite, it showed a phenolic concentrate with the lowest phenolic content (33,78mg/100g) and that is why it has a lighter color when compared with the samples. The extraction resulted in differentiated physical and chemical composition concentrated, with low levels of phenolic compounds, which can be used to different technological applications.

**Keywords:** sunflower, phenolic compounds, protein concentrate, fiber fraction.

## **1 INTRODUÇÃO**

O principal destino da semente do girassol (*Helianthus annuus* L.) é para extração do óleo, tanto em indústrias de alimentos como para produção de biodiesel. Desta extração é gerado, o farelo ou a torta, atualmente utilizado apenas na fabricação de ração animal. Os coprodutos resultantes do processamento do óleo de girassol apresentam elevado teor proteico e com um tratamento adequado poderiam ser utilizados na alimentação humana, como um destino sustentável aos resíduos da indústria (LOMASCOLO et al., 2012).

A principal restrição à utilização da proteína de girassol na alimentação humana é seu elevado teor de compostos fenólicos, que resulta em um produto de coloração verde escura, de baixa qualidade nutricional, sabor adstringente e conseqüentemente, valor comercial reduzido. Os compostos fenólicos ocasionam redução da solubilidade



das proteínas globulares, condição primordial para sua utilização como ingrediente funcional (SALGADO et al., 2011).

A reação de escurecimento do farelo ocorre pela ação das polifenoloxidasas, que ocasionam a oxidação dos polifenóis que interagem com a proteína, através de ligação covalente, pontes de hidrogênio, interação iônica ou hidrofóbica. Ocorre ainda, oxidação dos compostos fenólicos para quinonas, reduzindo assim a qualidade nutricional do produto (ZILÍC et al., 2010).

Varias estratégias têm sido utilizadas para tentar reduzir a presença dos compostos fenólicos em produtos proteicos do girassol. Os principais esforços estão baseados nos seguintes princípios: 1) extração com misturas de solventes orgânicos e água, 2) extração com soluções aquosas ácidas salinas e ou agentes redutores, 3) filtração em membrana, 4) remoção por co-precipitação através da complexação com compostos não proteicos ou pigmentos, e 5) combinação destes procedimentos (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2007).

Esse estudo consiste na avaliação de diferentes soluções para extração previa dos compostos fenólicos do farelo desengordurado e, posteriormente, seu fracionamento em concentrado proteico e fibroso. Desta forma, de acordo com as características físico-químicas das frações poderão ser direcionados para diferentes aplicações tecnológicas como ingrediente alimentar.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Matéria prima**

As sementes de girassol foram fornecidas pela empresa Heliagro Agricultura e Pecuária Ltda. Foram descascadas em um equipamento quebrador/descascador cinético QC-300, que possibilitou trabalhar apenas com sementes totalmente descascadas, inteiras e sem nenhum tipo de impurezas. O farelo desengordurado foi obtido por extração por Soxhlet com hexano a temperatura de 25°C por 9 horas, na proporção 1:5 (farelo:hexano).



## **2.2 Caracterização da matéria-prima, farelo desengordurado e frações.**

As sementes, amêndoas, casca, farelo desengordurado e seus fracionados foram caracterizados quanto à composição centesimal segundo metodologia oficial da AOAC (HORWITZ, 2010). O teor de carboidratos foi calculado por diferença. Os compostos fenólicos foram determinados segundo a metodologia de Kim et al. (2003), utilizando para construção da curva padrão o ácido gálico (mg EAG/100g amostra).

## **2.3 Fracionamento do farelo desengordurado**

Para o fracionamento do farelo, os compostos fenólicos foram os primeiros a serem extraídos. Foram utilizadas 3 tipos de soluções extratoras e obtido 3 frações: concentrado proteico, farelo fibroso e um extrato rico em polifenóis.

## **2.4 Concentrado proteico sem extração de compostos fenólicos – Controle**

O farelo de girassol desengordurado foi disperso em água destilada na proporção 1:10(p/v), o pH ajustado para 9,0 com NaOH 2N e deixado em agitação magnética por uma hora. A seguir foi centrifugado a 9.820g, por 20 minutos a 20°C. O sobrenadante foi coletado e o precipitado foi submetido a uma nova extração de proteínas, como descrito acima. O processo resultou em uma parte líquida (sobrenadante, rico em proteínas) e outra residual (precipitado, rico em fibras). O precipitado teve seu pH ajustado para 7,0 e liofilizado para análises posteriores. Os sobrenadantes ricos em proteína da 1º e 2º extração foram misturados e filtrados e tiveram o pH ajustado para 4,5. Após repouso de 1h foi centrifugado (9820g; 20 min; 20°C), congelado e liofilizado.

## **2.5 Concentrado proteico com extração prévia de compostos fenólicos**

Para obtenção de um concentrado proteico com baixo teor de compostos fenólicos foi realizada uma extração prévia destes compostos. Foram utilizadas três tipos de soluções extratoras: 1) etanol 70%, 2) bissulfito de sódio 0,1% e 3) mistura de bissulfito de sódio 0,1% com etanol 70% na proporção 30:70 (v/v), antes da extração alcalina das proteínas, como descrito acima (item 2.4).



## 2.6 Avaliação da atividade citotóxica do extrato rico em polifenóis

O extrato rico em polifenóis foi avaliado, quanto a sua citotoxicidade, pelo estudo da atividade antitumoral com células humanas em ensaios “*in vitro*”, de acordo com a metodologia recomendada pelo Instituto Nacional do Câncer. Foram utilizadas as seguintes linhagens de células tumorais humanas: U251(glioma), MCF-7 (mama), UACC-62 (melanoma), NCI-ADR (mama com fenótipo resistente), NCI-460 (pulmão), PCO-3 (próstata), HT-29 (cólon), OVCAR (ovário), 786-0 (rim), K-S 62 (leucemia). Estas linhagens foram cultivadas em RPMI com 5% de soro fetal bovino inativado em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C e ambiente úmido de acordo com as metodologias de Monks et al (1991) e Shoemaker (2006). As análises realizadas no CPQBA da UNICAMP.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Caracterização físico-química parcial das amostras.

A Tabela 1 apresenta a composição centesimal da amostra de sementes de girassol, amêndoas, cascas e farelo desengordurado, assim como o conteúdo de polifenóis expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100g amostra.

**Tabela 1.** Composição química parcial da semente integral (amêndoa com casca), amêndoa, cascas e farelo desengordurado de girassol, em base seca (bs).

Componentes (g/100g)	Semente Integral	Amêndoa	Cascas	Farelo desengordurado
<b>Sólidos totais</b>	92,57(0,23)	96,36(0,27)	90,58(0,19)	90,58(0,12)
<b>Lipídeos</b>	47,53(0,12)	62,50(0,19)	6,80(0,11)	5,65(0,37)
<b>Proteína</b>	16,78(0,11)	20,07(0,13)	5,59(0,09)	42,24(0,26)
<b>Cinzas</b>	2,58(0,09)	2,75(0,03)	3,31(0,04)	6,65(0,15)
<b>Fibra Alimentar</b>	22,46(0,14)	2,57(0,01)	39,56(0,15)	28,30(0,18)
<b>Carboidratos</b>	10,65	12,10	44,72	15,37(0,37)
<b>Compostos fenólicos*</b>	710,00(0,19)	1100,00(0,03)	820,00(0,03)	1.920,00(0,04)

Valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão da média das triplicatas. \* expressos em mg equivalentes de ácido Gálico (EAG)/100 g.

Na semente integral a maior porcentagem dos componentes avaliados foram os lipídeos, na ordem de 47,53%. Podemos destacar na amêndoa, teores elevados de lipídeos (62,50%) e uma pequena elevação nos teores de proteínas (20,07%), redução

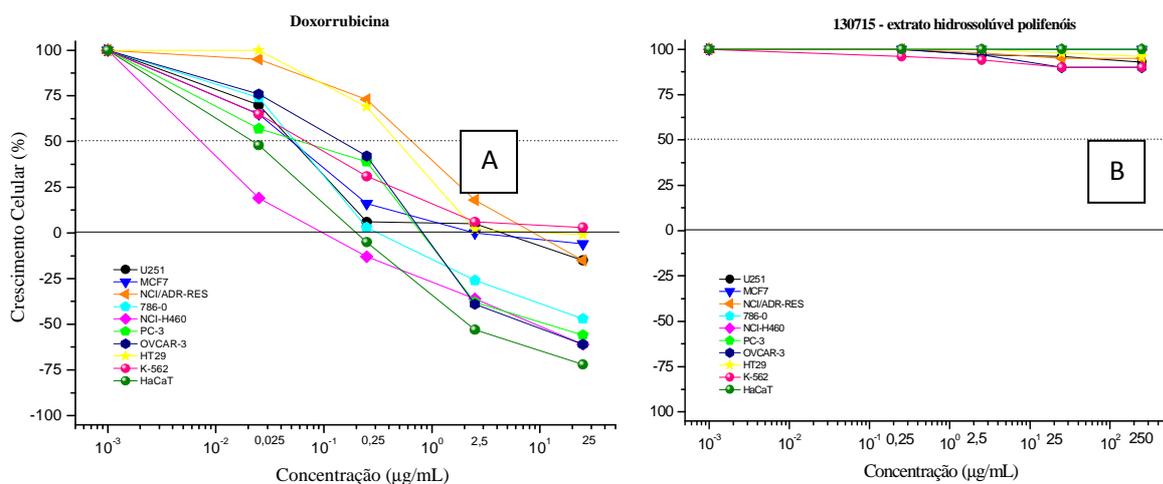


das fibras e aumento dos compostos fenólicos, quando comparado com a semente integral, devido a retirada das cascas. As cascas da semente apresentaram elevado teor de carboidratos que incluindo a fração de fibras foi superior a 80%. O farelo desengordurado por apresentar seu conteúdo lipídico reduzido em aproximadamente 88%, mostrou a elevação dos demais teores da composição centesimal. Os compostos fenólicos foram concentrados no farelo desengordurado, apontando a necessidade de tratamento para reduzir esta contaminação indesejada.

### 3.2 Fracionamento do farelo de girassol desengordurado

#### 3.2.1 Obtenção da fração rica em polifenóis e sua avaliação biológica

O extrato rico em polifenóis extraído em etanol apresentou elevada capacidade antioxidante (153,61mMTrolox/g). O extrato foi liofilizado e avaliado com relação a sua capacidade antiproliferativa em células tumorais humanas de diferentes linhagens. Os resultados mostraram que não houve uma ação citotóxica às células e o crescimento foi mantido ao longo do cultivo para todas as linhagens testadas (Fig 1). A Figura 1A mostra a morte celular decorrente do uso da droga dexorrubicina, (citotóxica), onde a dose utilizada reduziu o número de células viáveis abaixo da linha (zero). A Figura 1B, referente a aplicação do extrato, mostra que a contagem permaneceu constante e bem acima do ponto de morte celular delimitado pela linha (zero).

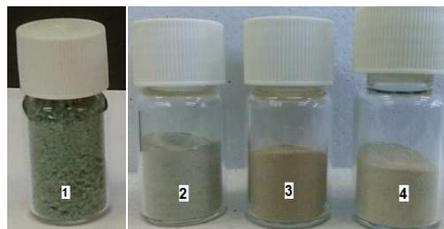


**Figura 1.** Capacidade antiproliferativa em células tumorais humanas de diferentes linhagens: U251(glioma), MCF-7 (mama), UACC-62 (melanoma), NCI-ADR (mama com fenótipo resistente), NCI-460 (pulmão), PCO-3 (próstata), HT-29 (côlon), OVCAR (ovário), 786-0 (rim), K-S 62 (leucemia)



### 3.3 Obtenção dos concentrados proteicos e fibrosos

O concentrado proteico controle obtido pelo método convencional em solução alcalina (pH 9) e precipitação no ponto isoelétrico (pH 4,5) foi avaliado com relação a coloração, aos obtidos com diferentes soluções extratoras (Fig.2). As determinações químicas parciais estão apresentadas na Tabela. 2.



**Figura 2.** Concentrados proteicos sem pré-extração dos compostos fenólicos - controle **(1)** e com pré-extração utilizando: etanol 70% **(2)**, bissulfito de sódio 0,1% **(3)** e mistura de bissulfito de sódio 0,1% com etanol 70% na proporção 30:70 (v/v) **(4)**.

**Tabela 2:** Determinação de proteína, fibra alimentar, sólidos totais e compostos fenólicos dos concentrados proteicos e fibrosos em base seca (bs)

TIPO EXTRAÇÃO	COMPONENTES (%)			Comp. Fenólicos
<b>ETANOL</b>	<b>Proteína</b>	<b>Sólidos Totais</b>	<b>Fibra Alimentar</b>	(EAG/100g)
<b>Concentrado Fibroso</b>	41,76	92,9959	37,44	
<b>Concentrado Proteico</b>	88,14	93,2174		47,59
<b>BISSULFITO DE SÓDIO</b>	<b>%Proteína</b>	<b>Sólidos Totais</b>	<b>%Fibra Alimentar</b>	<b>Comp. Fenólicos</b>
				(EAG/100g)
<b>Concentrado Fibroso</b>	13,98	90,7348	76,06	
<b>Concentrado Proteico</b>	78,31	95,3235		128,8
<b>MISTURA</b>	<b>%Proteína</b>	<b>Sólidos Totais</b>	<b>%Fibra Alimentar</b>	<b>Comp. Fenólicos</b>
				(EAG/100g)
<b>Concentrado Fibroso</b>	25,78	92,3086	54,74	
<b>Concentrado Proteico</b>	78,22	94,594		33,78

A concentração de proteína dos concentrados (Tabela 2) apresentou valores diferenciados, podendo o solvente ter afetado as características de distribuição de cargas e conformação estereoquímica das proteínas e deste modo ter influenciado na sua solubilização em pH alcalino. A solução de bissulfito apresentou um efeito “salting in”, aumentando a solubilidade e interferindo na precipitação da proteína no ponto



## 8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

isoelétrico, conseqüentemente resultou em menor rendimento de obtenção do concentrado proteico.

### 4 CONCLUSÃO

O método de extração previa dos compostos fenólicos foi eficiente em produzir concentrados proteicos de coloração mais clara e menor conteúdo de polifenóis ligados às proteínas. O solvente mais eficiente para o fracionamento conjunto foi o bissulfito de sódio. Considerando potencial uso do extrato polifenólico e concentrados proteicos e fibrosos de girassol na alimentação, os estudos com células contribuíram para mostrar sua ação não citotóxica no organismo humano, podendo ser usado com segurança.

### 5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ, pela bolsa e ao CCQA – ITAL, pelo estágio concedido.

### 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GONZÁLES-PÉREZ; VEREIJKEN, J.M. Review. Sunflower proteins: overview of their physicochemical, structural and functional properties. **Journal Science of Food Agriculture**, 87: 2173-2191, 2007.
- HORWITZ, W. (2010) **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 19th ed., AOAC, 2005. Current Through Revision 3.
- KIM, D.O.; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v.81, p.321-326, 2003.
- LOMASCOLO A, UZAN-BOUKHRIS E, SIGOILLOT J.C., FINE F. Rapeseed and sunflower meal: a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 95(5): 1105-1114, 2012.
- MONKS A, SCUDIERO D, SKEHAN P, SHOEMAKER R, PAULL K, VISTICA D, HOSE C, LANGLET J, CRONISE P, VAIGRO-WOLFF A, RAY GM, CAMPBELL H, MAYO J, BOYD M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using diverse panel of cultured human tumor cell lines. **Journal of National Cancer Institute**. 83(11):757-766, 1991.
- SALGADO, P.R.; MOLINA ORTIZ, S.E.; PETRUCCELLI, S.; MAURI, A.N. Sunflower protein concentrates and isolates prepared from oil cake have water solubility and antioxidant capacity. **Journal American Oil Chemistry Society**, 88: 351-360, 2011.
- SHOEMAKER, R. H. The NCI60 human tumor cell line anticancer drug screen. **Nat. Rev. Cancer** 2006, 6, 813.
- ŽILIĆ, S.; MAKSIMOVIĆ DRAGIŠIĆ, J.; MAKSIMOVIĆ, V.; MAKSIMOVIĆ, M.; BASIĆ, Z.; CREVAR, M.1; STANKOVIĆ, G. The content of antioxidants in sunflower seed and kernel. **HELIA**, v.33, 52, p.p. 75-84, 2010.