

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DESSALINIZAÇÃO DE HIDROLISADOS PROTÉICOS

EVERARDO FERREIRA PRAÇA¹
OLAVO RUSIG²

PRAÇA, E.F.; RUSIG, O. Desenvolvimento de método para dessalinização de hidrolisados protéicos.

Semina: Ci. Exatas/Tecnol., Londrina, v. 13, n. 4, p. 223-230, set. 1993.

RESUMO- Um método foi desenvolvido para obter hidrolisados protéicos com baixos teores de sal pela injeção de vapor de água no recipiente de destilação e aplicação de vácuo para eliminar o ácido clorídrico usado no processo. A eficiência do método foi medida pela determinação do teor de cloreto de sódio nas amostras após destilação e neutralização com hidróxido de sódio. Constatou-se que em 90 minutos de destilação ocorre uma redução de 88% da concentração original de cloreto de sódio quando o hidrolisado é preparado com 30% (v/v) de ácido.

PALAVRAS-CHAVE: Hidrolisado; hidrólise; dessalinização.

INTRODUÇÃO

Os hidrolisados protéicos são largamente utilizados na produção de alimentos, particularmente em sopas e molhos, como condimento, e ainda, como acentuadores de sabor em produtos de milho, extrusados, snacks, pescados, conservas, gelatinas, carnes cozidas, assadas e tecnologicamente processadas. São utilizados também como antioxidantes nas indústrias de panificação e confeitarias (MURRAY, 1977; DZANIC et al, 1985; PRENDERGAST, 1974). No sudeste asiático esses produtos têm servido não somente como condimentos, mas também como uma fonte de aminoácidos na dieta alimentar (PHAN & ROSÁRIO, 1983).

As matérias primas utilizadas para a produção de hidrolisados protéicos, podem ser de qualquer fonte com teor de proteína oscilando entre 40 e 60% (MURRAY, 1977). Comumente, os hidrolisados protéicos são produzidos utilizando-se como matéria prima o trigo, a farinha de soja desengordurada (45-54% de proteína) e outros produtos vegetais, entre os quais, algas e cereais (DZANIK et al, 1985; MINOR, 1945). Os hidrolisados podem, também, ser elaborados de uma grande variedade de proteínas animais como as do leite, carnes, peixes e outras (WEST, 1984).

Os métodos de hidrólise de proteínas são conhecidos desde 1820 (BRACONNOT, citado por VICKERY, 1922), contudo, o primeiro produto comercial, o molho de soja shoyu, foi desenvolvido por cientistas chineses a partir do feijão de soja (MINOR, 1945). As primeiras patentes foram concedidas no Japão em 1912 (IKEDA, cita-

do por MURRAY, 1977 e PRENDERGAST, 1974) e, atualmente, com os grandes avanços tecnológicos, pode-se produzir hidrolisados que se ajustam aos requisitos de cada produto individualmente. Desse modo, as características de cor, sabor e propriedades organolépticas em geral, podem ser alteradas por variações nos processos de produção (KONRAD & LIESKE, 1979).

Basicamente, o processo de produção de hidrolisados protéicos consiste em quebrar as ligações peptídicas das proteínas, liberando aminoácidos, peptídeos e polipeptídeos. A quebra das ligações peptídicas pode ser efetuada pela hidrólise alcalina, enzimática ou ácida (VICKERY, 1922).

A hidrólise alcalina em proteína é de uso limitado, uma vez que ocorre uma extensiva decomposição de aminoácidos. Além disso, se o hidróxido de sódio ou cálcio é utilizado, o produto resultante apresenta um sabor amargo e desagradável o que, praticamente, inviabiliza a sua utilização em alimentos (FUGIMAKI et al, 1968).

Embora o sistema enzimático dos organismos vivos funcione com perfeição, a sua adaptação para produção industrial de hidrolisados protéico é desvantajosa, uma vez que são necessários, para a atividade ótima das enzimas, uma série de controles rigorosos como temperatura, pH do meio, concentração de substrato, além de uma planta especializada que permita evitar contaminações. Na prática o que se observa é que o processo é caro, lento e difícil de ser completado (FUGIMAKI et al, 1968).

Industrialmente, a hidrólise ácida é o método preferido para a produção de hidrolisados protéicos. Os

1 - Escola Superior de Agricultura de Mossoró - ESAM (Departamento de Química e Tecnologia) Tel (084) 321-6019

2 - Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP (Departamento de Tecnologia Geral)

agentes hidrolíticos comercialmente utilizados, são os ácidos clorídrico e sulfúrico. Quando o ácido clorídrico é utilizado, o produto fica, virtualmente, saturado de cloreto de sódio ou potássio em consequência da neutralização. Contudo, raras vezes isso se constitui um problema, já que se utiliza uma certa proporção de sal na maioria dos alimentos. Comercialmente, o ácido clorídrico é o meio hidrolítico mais utilizado. Quando se usa o ácido sulfúrico, obtém-se um produto isento de sal, mas com sabor desagradável; além disso, após a neutralização são filtradas grandes quantidades de sulfato de cálcio ou sódio, dando um rendimento baixo, o que torna o produto muito caro. Devido esse custo elevado, os hidrolisados protéicos isentos de sal são utilizados apenas em produtos dietéticos e especialidades (MURRAY, 1977; SIMONS, 1982; PRENDERGAST, 1974).

O processos de dessalinização mais conhecidos são aqueles empregados no tratamento de águas salinas para o consumo humano, como osmose reversa (SOURIRAJAN, 1978; PODAL, 1971; BANFIELD, 1970), eletrodialise e troca iônica (BANFIELD, 1970; SIMONS, 1982) e ultrafiltração (REID & SPENCER, 1960).

O presente trabalho teve por objetivo obter hidrolisados protéicos praticamente isentos de sal, de baixo custo e utilizando o ácido clorídrico como meio hidrolítico. Para isso, foi desenvolvido um método que elimina o

ácido clorídrico utilizado na hidrólise antes da neutralização, através da destilação a vácuo do ácido com injeção de vapor.

MATERIAL E MÉTODOS

1 - Matéria prima

As matérias primas utilizadas na preparação dos hidrolisados foram cedidas pela RMB - Refinações de Milho Brasil Ltda., com o nome comercial de Refinasil (farelo de milho) e Protenose (concentrado protéico de milho) com 21 e 60% de proteína, respectivamente.

O teor de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl.

2 - Preparo do hidrolisado

Os hidrolisados foram preparados em balões de fundo redondo de 2 litros com agitação e temperatura de refluxo de 100°C durante quatro horas, segundo fluxograma da Fig. 1. Em todas as formulações foram mantidas as seguintes proporções: matéria prima, 25% (p/v); ácido clorídrico, 10, 20 e 30% (v/v), e água destilada em quantidade suficiente para obter-se um volume final de 1500 ml de hidrolisado protéicos.

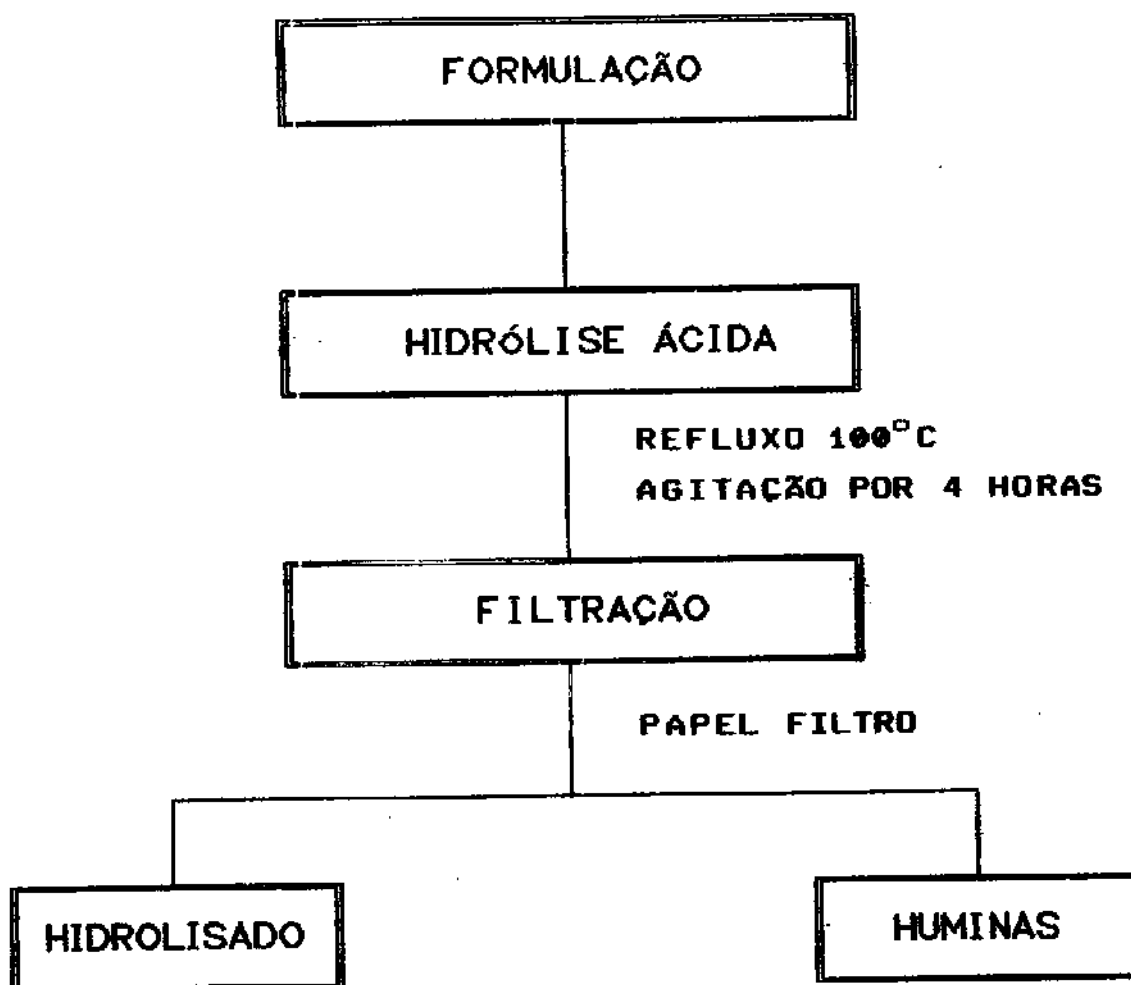


FIGURA 1 - Fluxograma de produção do hidrolisado protéico

Após a hidrólise, as huminas, subproduto sólido de coloração escura formado durante a hidrólise ácida pela condensação do triptofano e componentes aldeídicos, foram separadas por filtração em papel de filtro e os hidrolisados acondicionados em frascos de vidro.

3 - DESTILAÇÃO A VÁCUO DO ÁCIDO CLORÍDRICO COM INJEÇÃO DE VAPOR DE ÁGUA

3.1 — Sistema de destilação

O vapor foi produzido pelo aquecimento de água destilada, até ebulição, e a injeção desse vapor no balão de destilação foi feito através de um tubo de vidro de 5 mm de diâmetro imerso no hidrolisado, de maneira que

promovesse a agitação da amostra, homogeneizando a injeção de vapor e aumentando a superfície de destilação. A amostra a ser destilada estava contida em um balão de fundo redondo de 500 ml, mantido, durante todo o processo, em banho-maria a $88^{\circ}\text{C} + 2^{\circ}\text{C}$. O vácuo utilizado foi de 26 mmHg.

3.2 — Destilação

Foram destiladas alíquotas de 50 ml de cada amostra de hidrolisado protéico durante 10, 30, 60 e 90 minutos respectivamente. A contagem do tempo de destilação foi iniciada quando o vácuo no sistema atingia 26 mmHg.

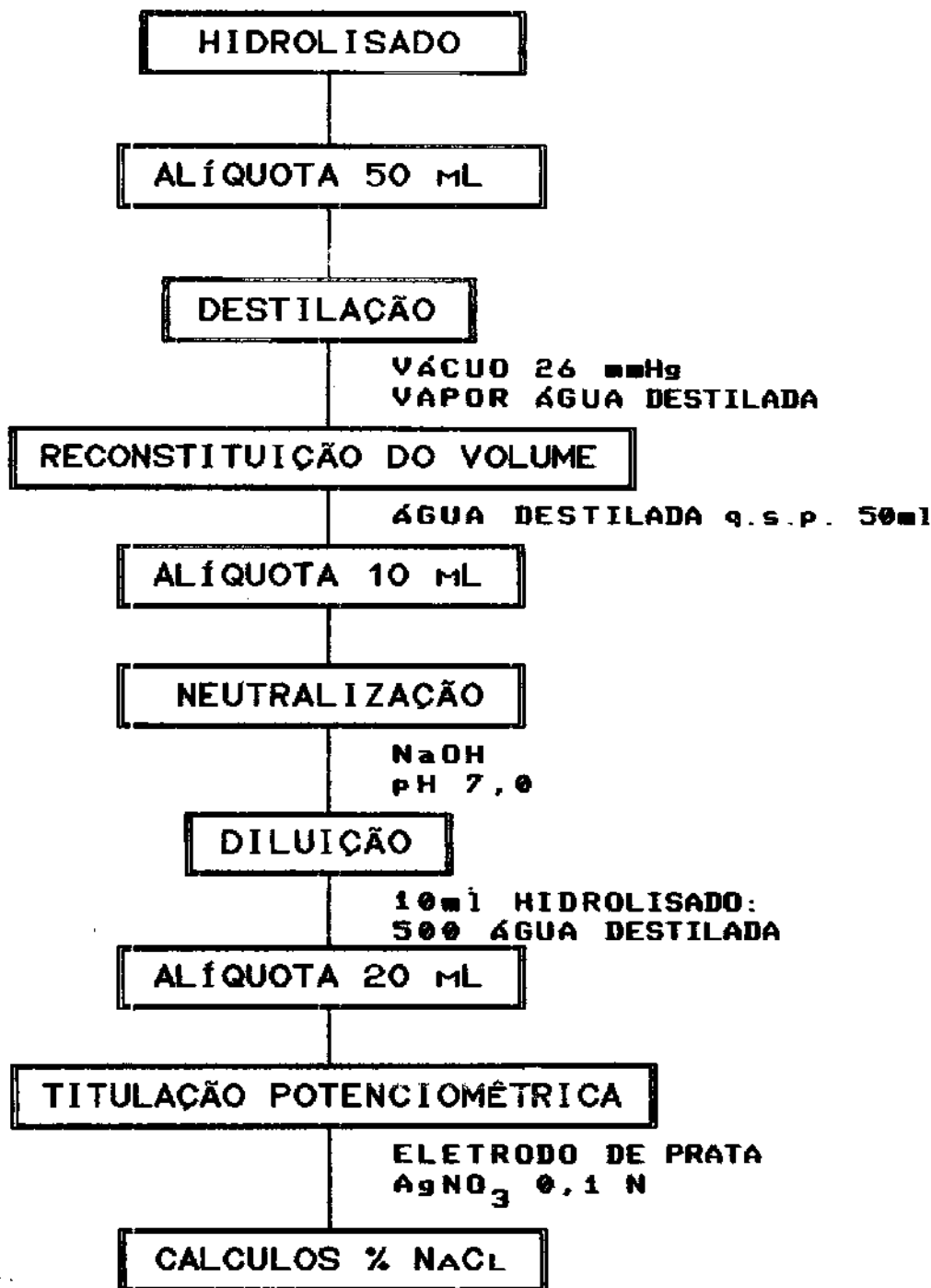


FIGURA 2 - Fluxograma da destilação e determinação do teor de cloreto de sódio dos hidrolisados protéicos

Após a destilação, o volume das amostras foi reconstituído em balões volumétricos de 50 ml, pela adição de água destilada, tomando-se a precaução de recuperar todo o hidrolisado contido no balão de destilação. Em seguida, tomou-se alíquotas de 10 ml, de cada amostra destilada, neutralizou-se com hidróxido de sódio até pH 7,0 e completou-se o volume com água destilada para 500 ml (Fig. 3).

3.3 - Determinação do teor de cloreto de sódio

A determinação da percentagem de cloreto de sódio no hidrolisado protéico, foi feita por potenciometria, utilizando-se um potenciômetro B.374-Micronal com auxílio de um eletrodo combinado de prata 6.0404.100 (OF)-Metrohm específico para cloreto de sódio. O perfil da titulação é mostrado na Figura 3.

Onde;

V_2 = volume de $AgNO_3$, em litros, gastos na titulação

N_2 = normalidade do $AgNO_3$

f_2 = fator de correção da normalidade do $AgNO_3$

E_1 = equivalente grama do cloreto de sódio

d = diluição do hidrolisado

HPV = hidrolisado protéico vegetal

Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficiência do método apresentado foi avaliada pela determinação do teor de cloreto de sódio remanescente após a destilação e neutralização das amostras de hidrolisados.

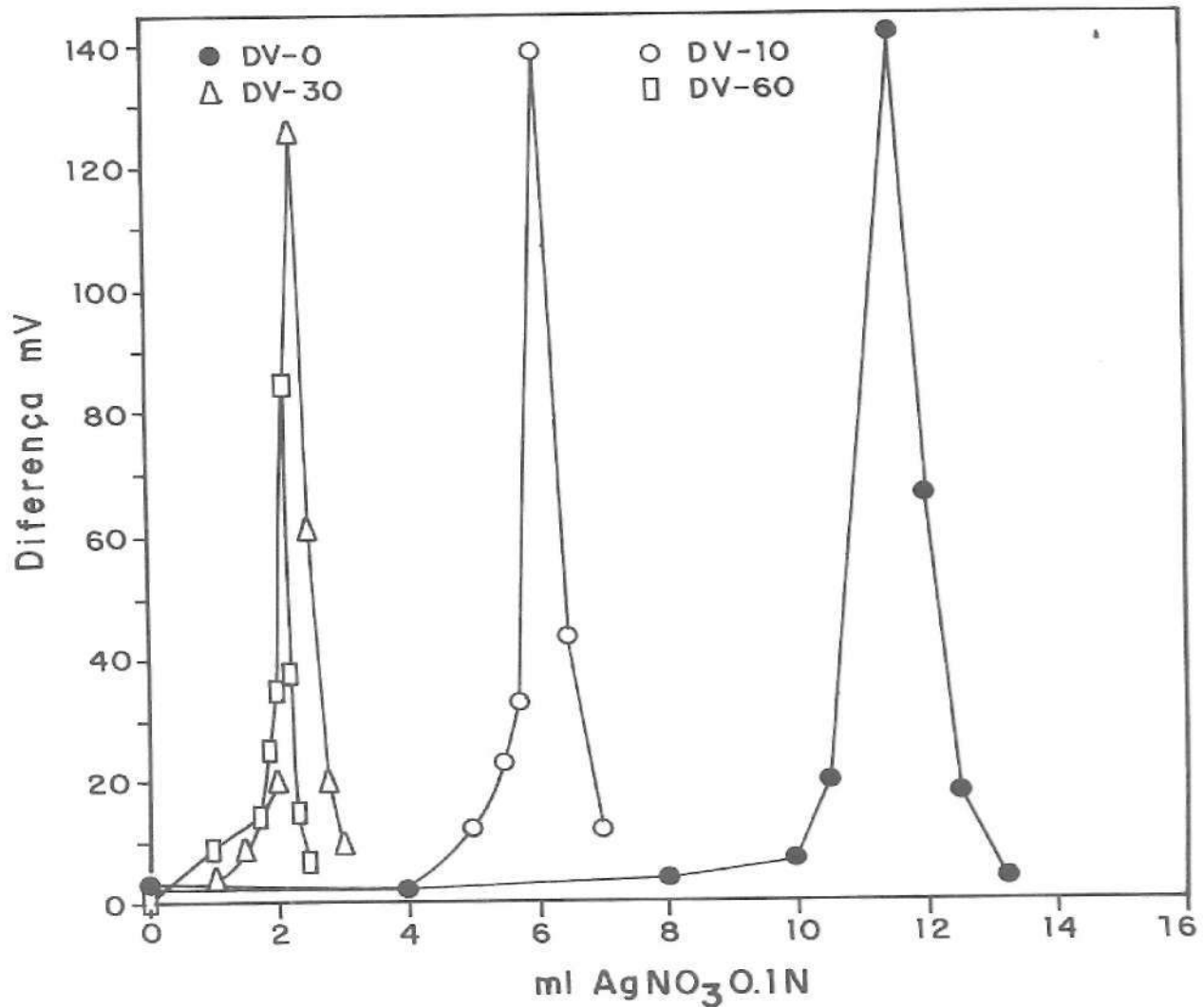


FIGURA 3 - Perfil de titulação de NaCl com $AgNO_3$ 0,1N utilizando eletrodo de prata combinado, específico para NaCl. DV-0 (amostra sem destilação), DV-10, DV-20, DV-30 (amostras destiladas a vácuo com injeção de vapor durante 10,20 e 30 minutos respectivamente)

Em todos os experimentos realizados (Fig. 4 e 5) houve uma redução progressiva na porcentagem de cloreto de sódio, quando as amostras foram destiladas até 30 minutos. Após esse tempo de destilação houve, praticamente, uma estabilização e o conteúdo de cloreto de sódio foi reduzido muito pouco.

Parece que a eliminação do ácido clorídrico é mais eficiente quando o meio líquido favorece a homogeneização do vapor na amostra, facilitando a transferência de massa, e portanto, o arraste do ácido clorídrico. A estabilização que se verifica após esse tempo de destilação, como pode ser observado nas Figuras 4 e 5, ocorre em função do aumento da concentração de sólidos solúveis do meio, como conseqüência da perda de água nos 30

minutos iniciais de destilação. O aumento da concentração do meio com que o vapor passe pela amostra através de canais preferenciais e não de forma homogênea, o que impede uma maior interação do vapor com o ácido clorídrico, tornando mais difícil sua eliminação.

Muitas substâncias são difíceis de serem separadas a pressão ordinária por causa da sua alta temperatura de vaporização. A solução para esse problema é destilar a mistura baixando a pressão do meio através de vácuo, decrescendo assim a temperatura, e reduzir a pressão parcial dos componentes a serem destilados, pela injeção de vapor. A maioria das indústrias utilizam o vapor de água pela sua disponibilidade, baixo custo e remoção fácil pela condensação (WIRTH & PARK, 1980).

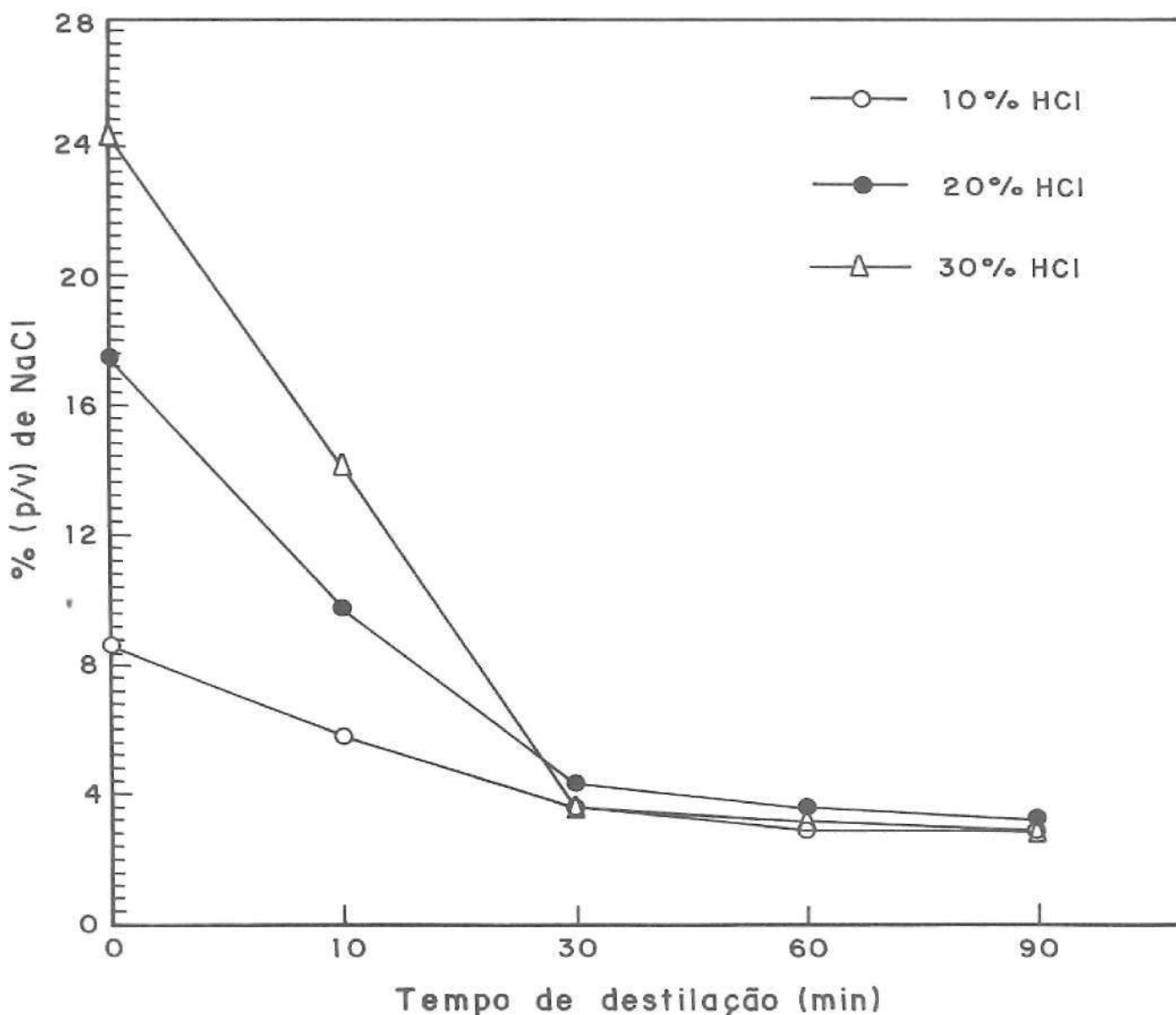


FIGURA 4 - Efeito do tempo de destilação e percentagem de ácido clorídrico (10, 20, 30%) na quantidade de cloreto de sódio (%) remanescente na amostra de hidrolisado protéico de Refinasil (farelo de milho com 21% de proteína)

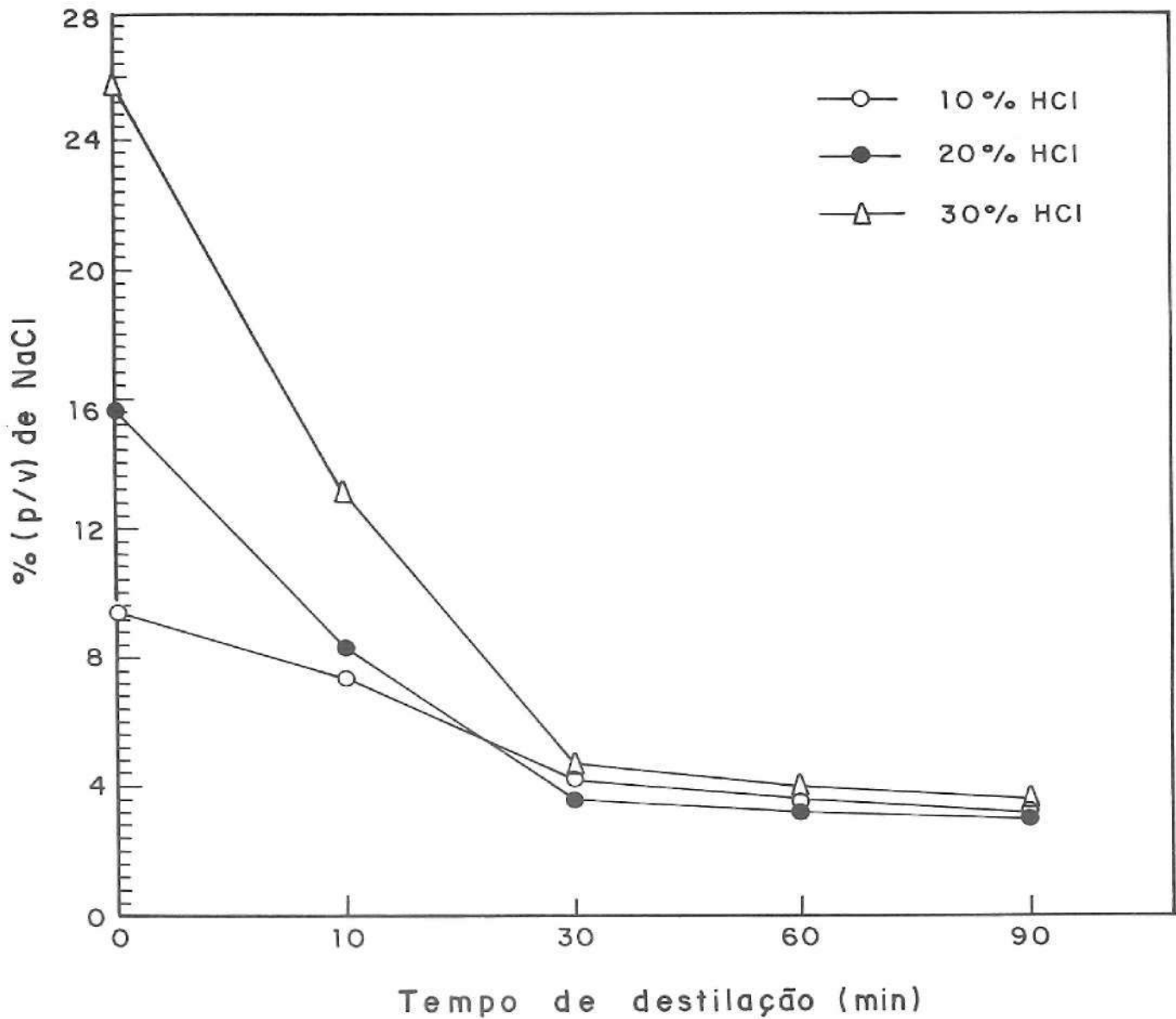


FIGURA 5 - Efeito do tempo de destilação e percentagem de ácido clorídrico (10, 20, 30%) na quantidade de cloreto de sódio (%) remanescente na amostra de hidrolisado protéico de Protenose (concentrado protéico de milho com 60% de proteína)

Pode-se observar também nas Figuras 4 e 5, a influência da concentração de ácido clorídrico nos hidrolisados, sobre a eficiência do processo de arraste a vapor. Quando se aumentou a concentração do ácido no preparo do hidrolisado, houve também um aumento significativo na sua eliminação durante a destilação. Nos primeiros 30 minutos de destilação a percentagem de cloreto de sódio eliminada para 10, 20 e 30% de ácido foi, respectivamente, 58, 75 e 85%, nos hidrolisados preparados com Refinasil (Tabela 1), e 55, 76 e 82%, nos hidrolisados preparados com Protenose (Tabela 2). Esse resultado é compreensível se analisarmos que em uma mistura de substâncias em aquecimento, cada componente exerce uma pressão de vapor na superfície líquida proporcional a sua concentração, ou seja, quanto maior a concentração de uma substância na mistura, maior a sua

proporção na forma de vapor, conseqüentemente, uma concentração mais elevada de ácido clorídrico implica em uma maior percentagem desse ácido na forma gasosa, o que facilita a sua eliminação por arraste a vapor.

Não houve alteração no desempenho do processo quando se utilizou matérias primas com diferentes concentrações de proteínas na formulação dos hidrolisados (Refinasil 21% e Protenose 60%), uma vez que a eliminação de ácido clorídrico nos dois experimentos foi semelhante, independente dos diferentes teores de proteínas das amostras destiladas (Figuras 4 e 5). Isso pode ser explicado se levarmos em consideração que os aminoácidos, peptídios e polipeptídios, que constituem os hidrolisados, tem baixa volatilidade em função do seu peso molecular e de suas estruturas que permitem a formação de pontes de hidrogênio, e em conseqüência, são encon-

trados apenas na fase líquida, não sendo eliminados pelo arraste a vapor.

SIMONS (1982) variando a corrente elétrica aplicada na eletrodialise e a concentração de sal em hidrolisados protéicos de soja, eliminou 97% do cloreto de sódio com uma pequena perda de 8 a 13% de moléculas orgânicas e concluiu que esse método é viável para remover cloreto de sódio. Entretanto, HOULDSWORTH (1980), estudando a desmineralização de soro de leite por eletro-

diálise e troca iônica, demonstrou que o custo operacional da eletrodialise é consideravelmente mais elevado, especialmente em altos níveis de desmineralização e concluiu que para desmineralização acima de 90%, somente a troca iônica é praticável comercialmente.

A destilação a vácuo com injeção de vapor é um processo simples que pode se constituir em uma alternativa de baixo custo para a produção de hidrolisados protéicos com baixos teores de cloreto de sódio.

TABELA 1 - Porcentagem de NaCl eliminado na destilação de amostras de hidrolisados protéicos (Refinasil) preparados com diferentes concentrações de ácido clorídrico

TEMPO DE DESTILAÇÃO (min.)	10% de HCl		20% de HCl		30% de HCl	
	% NaCl** Remanescente	% NaCl* Eliminado	% NaCl** Remanescente	% NaCl* Eliminado	% NaCl** Remanescente	% NaCl* Eliminado
0	8,64	0	17,45	0	24,35	0
10	5,82	33	9,81	44	14,17	42
30	3,63	58	4,36	75	3,63	85
60	2,91	66	3,63	79	3,20	87
90	2,91	66	3,27	81	2,91	88

*: % NaCl eliminado = $100 - \frac{\% \text{ REMANESCENTE DE NaCl NO TEMPO } t \times 100}{\% \text{ REMANESCENTE DE NaCl NO TEMPO } t_0}$

** : % NaCl remanescente = NaCl formado na neutralização do hidrolisado, após a destilação.

TABELA 2 - Porcentagem de NaCl eliminada na destilação de amostras de hidrolisados protéicos (Protenose) preparados com diferentes concentrações de ácido clorídrico

TEMPO DE DESTILAÇÃO (min)	10% de HCl		20% de HCl		30% de HCl	
	% NaCl** Remanescente	% NaCl* Eliminado	% NaCl** Remanescente	% NaCl* Eliminado	% NaCl** Remanescente	% NaCl* Eliminado
0	9,45	0	15,63	0	25,80	0
10	7,41	22	8,35	46	13,08	49
30	4,22	55	3,63	76	4,72	82
60	3,63	62	3,20	80	4,00	85
90	3,20	66	3,05	81	3,63	86

* : % NaCl eliminado = $100 - \frac{\% \text{ REMANESCENTE DE NaCl NO TEMPO } t \times 100}{\% \text{ REMANESCENTE DE NaCl NO TEMPO } t_0}$

** : % NaCl remanescente = NaCl formado na neutralização do hidrolisado, após a destilação.

PRAÇA, E.F.; RUSIG, O. Development of method to desalinization of protein hydrolysates. *Semina: Ci. Exatas/Tecnol.*, Londrina, v. 13, n. 4, p. 223-230, Sept. 1993.

ABSTRACT: A method was developed to produce hydrolysates with low sodium chloride level by injection of water vapour into the distillation and application flask of vacuum to eliminate the HCl used in the process. The efficiency of the method was measured by determining the sodium chloride content in the samples after distillation and neutralization with sodium hydroxide. It was noticed that during the 90 minutes of distillation a progressive reduction to 88% of the original concentration of sodium chloride occurred when the hydrolyses was prepared with 30% hydrochloric acid.

KEY-WORDS: Hydrolysates; hydrolysis; desalinization.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANFIELD, D.L. Reverse osmosis costs. *Chem. Ind.*, v. 11, p. 348-351, 1970.
- DZANIC, H.; MUGIC, H.; SUDARSKI-HACK, V. Protein hydrolysate from soy grits and dehydrated alfafa flour. *J. Agric. Food Chem.*, v. 33, p. 683-685, 1985.
- FUGIMAKI, M.; KATO, H.; ARAI, S.; TAMAKI, E. Applying proteolytic enzymes on soybean protein and its effect on the flavor. *Food Technol.*, v. 22, p. 889-893, 1968.
- HOULDSWORTH, D.W. Demineralization of whey by means of ion exchange and eletrodialysis. *J. Soc. Dayry Technol.*, v. 338, n. 2, p. 45-51, 1980.
- KONRAD, G. & LIESKE, B. Preparation and use of protein hydrolysates. *Lebensmittel Ind.*, v. 26, n. 10, p. 445-449, 1979.
- MINOR, J.L. Soya sauce processes and how they can be improved. *Food Ind.*, v. 758, p. 92-94, 1945.
- MURRAY, J.C.F. Producción y utilización de las proteínas vegetales hidrolisadas. *Afinidad*. p. 661-665, nov. 1977.
- PHAN, C.B. & ROSARIO, R.R. The preparation of protein hydrolysate from deffated coconut and soybean meals. *J. Food Technol.*, v. 18, p. 21-34, 1983.
- PODAL, H.E. Recent advances in reverse osmosis membranes for desalinization. *Chem. Eng. Progr.: Symp. Ser.*, v. 67, n. 10, p. 260-266, 1971.
- PRENDERGAST, K. Protein hydrolysate - A review. *Food Trade Rev.* p. 16-21, Jan. 1974.
- REID, C.E. & SPENCER, H.G. Ultrafiltration of salt solution by ion excluding and ion selective membranes. *J. Appl. Polym. Sci.*, v. 4, p. 354-361, 1960.
- SIMONS, R.G. Separation of salt from soya bean hydrolysates by eletrodialysis. *Food Technol. Aust.*, v. 34, n. 6, p. 294-295, 1982.
- SOURIRAJAN, S. The science of reverse osmosis-mechanisms, membranes, transport and applications. *Pure Appl. Chem.*, v. 50, n. 7, p. 593-615, 1978.
- VICKERY, H.B. The rate of hydrolysis of wheat gliadin. *J. Biol. Chem.*, v. 53, p. 495-511, 1922.
- WEST, S.J. Food protein: sources and properties. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, v. 34B, p. 176-181, 1984.
- WIRTH, H.G. & PARK, K.J. *Princípios de destilação aplicados a economia de combustivel*. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia, 1980. 113p.

Recebido para publicação em 22/06/93