

OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS EM AMOSTRAS VEGETAIS

Ryan Guilherme Maurício França da Silva^{1,2}, Mario Takayuki Kato²

¹Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil (ryan.guilherme@ufpe.br)

²Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA-UFPE), Recife, Brasil

Resumo: A determinação de proteínas em matrizes vegetais é fundamental para avaliação nutricional de alimentos. Este trabalho avaliou a extração alcalina de proteínas em feijão utilizando planejamento fatorial 2³ e quantificação espectrofotométrica pelo método de Lowry. O tamanho de partícula foi o fator de maior influência no rendimento da extração, enquanto tempo e temperatura apresentaram efeito reduzido. A validação indicou interferências da matriz que podem comprometer a exatidão do método.

Palavras-chave: proteínas; método de Lowry; extração alcalina; validação analítica; feijão.

INTRODUÇÃO

As proteínas representam um dos principais constituintes nutricionais dos alimentos de origem vegetal, sendo essenciais para a nutrição humana e para diversas aplicações tecnológicas na indústria alimentícia (XIAO et al., 2023). A determinação precisa desses compostos é fundamental para caracterização nutricional, desenvolvimento de produtos e controle de qualidade. Entre os métodos disponíveis para quantificação de proteínas, destaca-se o método de Lowry, amplamente utilizado devido à sua elevada sensibilidade e simplicidade operacional. O método baseia-se inicialmente na reação de Biureto, na qual íons cobre interagem com ligações peptídicas em meio alcalino, seguida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu, formando um complexo azul cuja intensidade é proporcional à concentração proteica (CAETANO-SILVA; NETTO, 2025). Entretanto, a eficiência da extração proteica pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo tamanho de partícula da amostra, temperatura, tempo de extração e características da matriz alimentar. Além disso, substâncias interferentes presentes em amostras vegetais podem comprometer a exatidão das determinações espectrofotométricas. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo otimizar o procedimento de extração de proteínas em amostras de feijão por meio de planejamento fatorial e avaliar o desempenho analítico do método espectrofotométrico empregado.

MATERIAL E MÉTODOS

A quantificação de proteínas foi realizada pelo método de Lowry, utilizando curva analítica entre

100 e 1000 mg L⁻¹ nos comprimentos de onda de 550 e 750 nm (LOWRY et al., 1951). A otimização da extração foi conduzida por planejamento fatorial 2³ com ponto central (Figura 1), avaliando tamanho de partícula, tempo e temperatura. A reação colorimétrica baseou-se na formação do complexo cobre-proteína em meio alcalino e posterior redução do reagente Folin-Ciocalteu (Figura 2). A validação incluiu comparação com o método Kjeldahl, materiais de referência certificados e ensaios de recuperação.



Figura 1. Esquemática do planejamento fatorial 2³ para extração proteica.

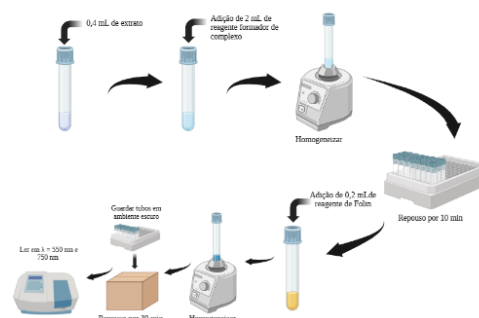


Figura 2. Reação e análise colorimétrica para determinação de proteínas.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva analítica apresentou comportamento linear satisfatório até 900 mg L⁻¹, demonstrando adequação para a faixa de trabalho adotada. Os resultados do planejamento experimental evidenciaram que o tamanho de partícula foi o fator de maior influência sobre a eficiência de extração. Os maiores percentuais foram observados para partículas de 250 µm, atingindo 36% a 550 nm e 38% a 750 nm no experimento 7. Em contrapartida, partículas de 600 µm apresentaram os menores rendimentos, com valores entre 25 e 29%. Os resultados corroboram observações da literatura, que indicam maior eficiência de extração para partículas menores devido ao aumento da área superficial disponível para interação com o solvente extrator. Estudos de Laet et al. (2024) demonstraram que a remoção de partículas maiores favorece o rendimento de extração proteica. Em relação à temperatura, não foram observadas variações expressivas nos rendimentos dentro da faixa estudada. Embora alguns autores relatem aumento da solubilidade proteica com a elevação da temperatura, outros estudos indicam efeito limitado desse parâmetro, recomendando o uso de temperaturas mais baixas para evitar alterações estruturais das proteínas. A comparação entre os resultados obtidos pelo método espectrofotométrico e pelo método de referência NTK revelou diferenças significativas. Para a amostra FC6 (250 µm), o método NTK apresentou teor proteico de aproximadamente 19%, enquanto a técnica espectrofotométrica indicou valores de 36% e 38% para 550 e 750 nm, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Teores de proteínas obtidos por espectrofotometria (550 e 750 nm) e pelo método Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK).

Amostra	Determinação por NTK (% m/m) ^a	Determinação por espectrofotometria (% m/m) ^a
FC6	19 ± 0,4	36 ± 3 (550 nm)
FC6*	21,4 ± 0,2	38 ± 3 (750 nm)

^aMédia ± desvio padrão (n = 3)

*Foi considerada uma massa de 100 mg.

A análise dos materiais de referência também demonstrou discrepâncias entre os valores determinados e os valores certificados. Essas diferenças podem ser atribuídas à presença de compostos interferentes característicos das matrizes vegetais, tais como compostos fenólicos, lipídios, açúcares e outras substâncias capazes de reagir com o reagente Folin-Ciocalteu. Os ensaios de centrifugação e filtração apresentaram pequenas variações nos resultados obtidos, sugerindo

influência limitada desses procedimentos na determinação final da concentração proteica. De modo geral, os resultados evidenciam que, embora o método de Lowry seja uma ferramenta útil para análises rápidas, sua aplicação em matrizes vegetais complexas requer cuidados adicionais devido à possibilidade de interferências analíticas.

CONCLUSÃO

O método espectrofotométrico baseado na reação de Lowry apresentou desempenho satisfatório para determinação de proteínas em amostras vegetais, demonstrando adequada linearidade na faixa estudada. O planejamento experimental permitiu identificar o tamanho de partícula como principal fator responsável pela eficiência da extração proteica, sendo o tamanho de 250 µm o mais favorável para obtenção dos maiores rendimentos. Apesar da praticidade e sensibilidade da técnica, foram observadas discrepâncias em relação ao método de referência e aos materiais de referência certificados, indicando a influência de interferentes presentes nas matrizes vegetais. Dessa forma, recomenda-se cautela na interpretação dos resultados e a utilização de métodos complementares para confirmação analítica quando necessária.

AGRADECIMENTOS

A CNPq, a UFRPE e ao LSA-UFPE.

REFERÊNCIAS

- CAETANO-SILVA, M. E.; NETTO, F. M. Total Protein. In: MARIUTTI, L.; VRIESEKOP, F. (Eds.). Food Chemistry. Methods and Protocols in Food Science. Humana, New York, 2025.
- DE LAET, E.; BERNARTS, T.; DEWETTINCK, K.; HENDRICKX, M. E.; VAN LOEY, A. M. The effect of different particle size reduction techniques on the biomass microstructure and the influence on the pectin extraction yield and structure. Food Hydrocolloids, v. 151, p. 109875, 2024.
- LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, v. 193, p. 265–275, 1951.
- XIAO, X.; ZOU, P. R.; HU, F.; ZHU, W.; WEI, Z. J. Updates on plant-based protein products as an alternative to animal protein: technology, properties, and their health benefits. Molecules, v. 28, n. 10, p. 4016, 2023.