



Investigação das propriedades tecno-funcionais das proteínas do feijão

Palavras chave: Gelificação, proteína de origem vegetal; emulsão

Autores/as:

Leonardo Bonventre Neto [Faculdade de Engenharia de Alimentos]

Prof.^a Dr.^a Ana Carla Kawazoe Sato (orientador/a) [Faculdade de Engenharia de Alimentos]

School of Food Engineering, Unicamp, Campinas, Brazil – 13083-862 – Campinas, SP

Introdução

O consumo de proteínas de origem vegetal tem sido associado a uma melhora na resposta hormonal para a insulina, diminuição dos níveis de glicose no sangue (López-Barón et al., 2018) e redução da pressão arterial (Richter *et al.*, 2015). Essas proteínas podem ser obtidas através de subprodutos de origem vegetal gerados durante o processamento na indústria de alimentos, como é o caso da batata, soja, milho, girassol e a bandinha do feijão

O feijão é um alimento básico da população brasileira, fornecendo nutrientes essenciais na dieta do ser humano, sendo classificado como a principal fonte proteica na alimentação brasileira, contendo de 20 a 25% de proteínas em sua composição (Campos-Vega et al., 2009; Mesquita et al., 2007). Durante o processo de beneficiamento do feijão, é gerado um subproduto denominado “feijão fragmentado” ou popularmente conhecido como “bandinha de feijão” obtido pela abertura física dos cotilédones do grão (Froes, 2012). Porém por conta do padrão de identidade e qualidade, ele não é comercializado pelos mercados, e por ser tratar de um subproduto, ele é vendido por 1/5 do valor comercial do grão inteiro de feijão, mesmo possuindo a mesma composição (Froes, 2012; Mesquita et al., 2007).

Além das propriedades nutricionais, as proteínas podem desempenhar diversas funções tecnológicas e funcionais nos alimentos, conferindo textura e estabilizando estruturas em alimentos, como emulsões, espumas e géis (Damodaran, 1992). A capacidade de formar géis é muito importante para a estruturação de alimentos, no qual forma-se uma estrutura tridimensional capaz de aprisionar água, que possui propriedades elástico-viscosas (Banerjee & Bhattacharya, 2012; Zayas, 1997), sendo que a escolha do método de obtenção do isolado proteico pode mudar as propriedades do gel formado.

Nesse sentido, o presente estudo visou analisar as capacidades de formação de gel do feijão fragmentado utilizando diferentes concentrações do isolado proteico em conjunto com diferentes tratamentos para obtenção do mesmo, sendo eles a extração alcalina, alcalina + ultrassom e o tratamento enzimático seguido da extração alcalina, com o objetivo de observar as mudanças nas propriedades de formação de gel, ou seja, se houve ou não formação de gel, sua força e comportamento viscoelástico.

Materiais e Métodos

Para a obtenção do isolado proteico, foram utilizadas as metodologias descritas na tabela 1.

Tabela 1. Metodologias de extração e obtenção do isolado proteico de feijão.

| | |
|-------------------|---|
| Extração alcalina | Mistura da farinha integral de feijão com água 1:10 (m/v), solubilização em pH 10,5 NaOH 2M e precipitação no pI (pH 4,5) |
|-------------------|---|

| | |
|-------------------------------|--|
| Extração alcalina + ultrassom | Mistura da farinha integral de feijão com água 1:10 (m/v) tratada com ultrassom (450W, 15 min) com posterior extração alcalina |
| Extração enzimática | Mistura da farinha integral de feijão com água 1:10 (m/v), pH ajustado em 6,5 HCl 0,5M para adição de viscozyme L 3% (v/m) |

Quantificação do teor proteico dos isolados

Para determinar o teor de proteínas, nitrogênio total foi quantificado através do método micro Kjeldahl (fator de conversão 6,25).

Preparação dos géis

A preparação dos géis consistiu em aquecer as dispersões dos isolados proteicos em concentrações de 2, 4, 6, 8, 10 e 12% (m/v) em pH 7,0 em tubos de ensaio imersos em água fervente por 30 minutos para os ensaios de reologia. A formação dos géis foi verificada visualmente, através de ensaios de inclinação dos tubos (“tilt test”).

Reologia

Para a avaliação do efeito da temperatura na gelificação das proteínas do feijão, foi realizado o ensaio oscilatório com varredura de temperatura durante as etapas de aquecimento e resfriamento utilizando o reômetro MCR 301 (Anton Paar, Physica), com valores de deformação e frequência fixos em 1% e 1Hz, respectivamente. Com base nos ensaios de gelificação (tilt test), foi definida a concentração proteica de 12% (m/v) para os ensaios reológicos dos isolados obtidos das diferentes extrações. Foram medidos os módulos de armazenamento (G') e dissipação (G'') durante as etapas de aquecimento e resfriamento do gel, e o ângulo de fase foi calculado ($\tan \delta = G''/G'$).

Resultados e Discussão

Testes de formação de gel dos isolados proteicos do feijão carioca

Através dos testes de formação de gel para as metodologias, alcalina, alcalina + ultrassom e enzimática + alcalina, foram obtidos os dados que podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2. Características dos géis com diferentes concentrações de proteínas obtidas a partir das metodologias.

| | Alcalino | Alcalino + ultrassom | enzimático |
|-------------|----------|----------------------|------------|
| % proteínas | | | |
| 2 | - | - | - |
| 4 | - | - | - |
| 6 | + | + | - |
| 8 | ++ | +++ | - |
| 10 | +++ | +++ | + |
| 12 | +++ | +++ | + |

“-“ = não formou gel autossustentável, “+” = pouca formação, “++” = gel +/- duro, “+++” = gel duro

Os géis que foram classificados com “-” não conseguiram formar um gel autossustentável, ocorrendo apenas precipitação das proteínas; os géis classificados com “+” resultaram na formação de um gel pouco estruturado, apresentando um comportamento mais líquido, com facilidade de escoamento; os géis classificados com “++” possuíam uma consistência parecida com creme, enquanto os géis classificados com

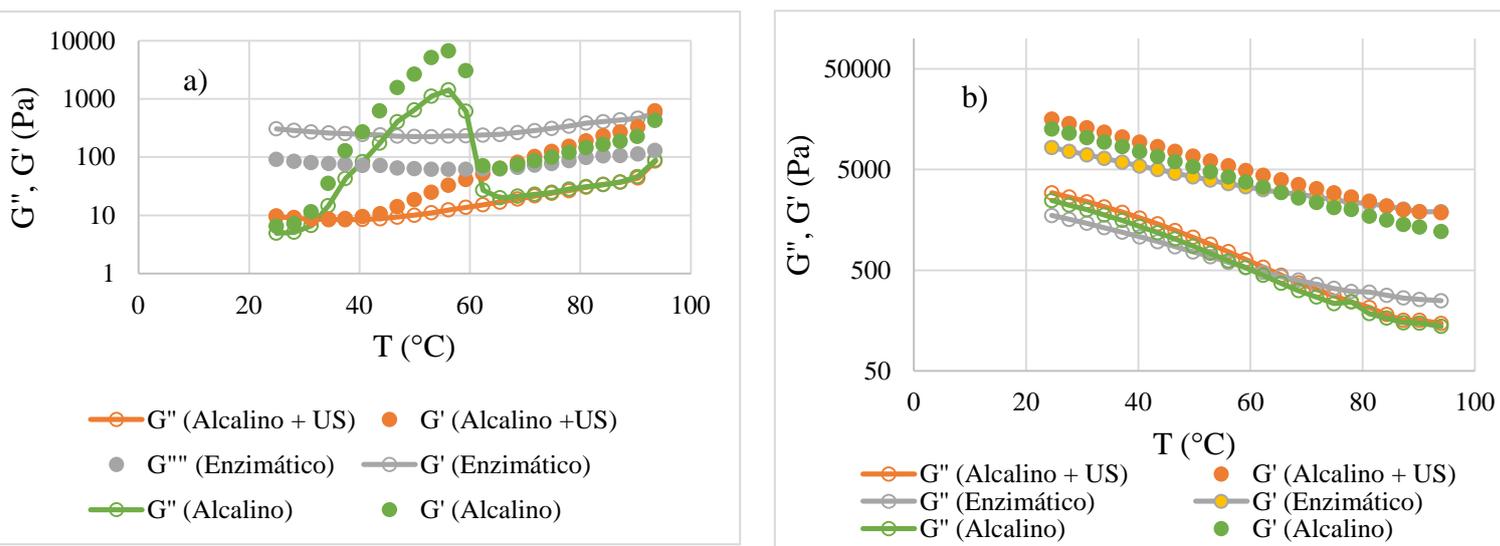
“+++” foram classificados como bastante estruturados e que não escoavam mais, possuindo uma consistência semelhante à gelatina.

Na tabela 2, pode-se notar que não há formação de gel autossustentável para nenhum dos tratamentos até 4% de proteína. Para concentrações de proteína acima de 6%, tanto para o tratamento alcalino, quanto para o tratamento alcalino + ultrassom, tem-se um aumento gradual em sua estruturação até 12% de proteínas em sua composição. Foi observada uma estruturação melhor para as proteínas obtidas com auxílio do ultrassom, demonstrando indiretamente que esse tratamento promoveu a formação de um gel mais estruturado. No entanto, para o tratamento enzimático foi observada a formação de um gel fraco a partir da concentração de 10% de proteínas e para valores abaixo disso foi observada a formação de um gel não autossustentável, com uma aparência mais “líquida”.

Varredura de temperatura dos géis produzidos com as proteínas obtidas a partir de diferentes metodologias

Com os ensaios de varredura de temperatura dos géis, foram obtidos os dados de módulo de armazenamento (G') e de dissipação (G'') para as soluções produzidas com a proteína do feijão obtida pelas diferentes metodologias.

Figura 1. a) Curva de aquecimento; b) Curva de resfriamento.



Como pode-se visualizar nas figuras 1a e 2a foi observado um aumento na diferença entre os valores do módulo de armazenamento em relação ao módulo de dissipação obtidos nas etapas de aquecimento e de resfriamento, demonstrando que os géis apresentam um comportamento mais de sólido viscoelástico do que de líquido para todas as amostras de proteicas obtidas pelos diferentes processos de extração submetidos ao processo de gelificação.

O aumento elevado para o módulo de armazenamento durante a etapa de aquecimento do gel pode ser explicado em relação ao processo de desnaturação das proteínas. As proteínas que compõem o feijão são em sua maioria as proteínas globulares (aproximadamente 90%). Elas apresentam sensibilidade elevada em relação a temperatura, levando a uma rápida desnaturação (Alting & van de Velde, 2012).

Durante a etapa de desnaturação proteica, tem-se início a formação de redes de gel pois, com o aumento da temperatura ocorre um desdobramento da estrutura, expondo os grupos hidrofóbicos presentes no interior da estrutura globular. Através disso, há uma maior interação proteína-proteína, dando início a formação das redes de gel (Opazo-Navarrete et al., 2018). A figura 2 mostra uma diminuição nos valores de $\tan \delta$ para as amostras produzidas com as diferentes metodologias, tanto durante as etapas de aquecimento quanto nas etapas de resfriamento, indicando que os géis estão começando a desenvolver sua estrutura com o

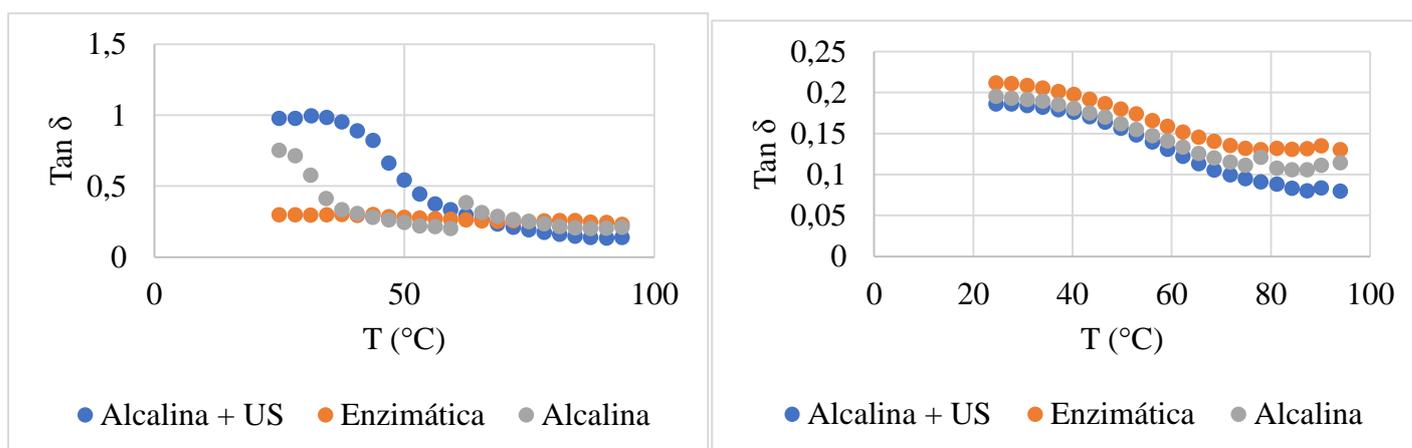
aumento da temperatura e tem-se um aumento nessa estruturação durante a etapa de resfriamento. Além disso, em relação a etapa de aquecimento, os dados estão de acordo com o aumento nos valores dos módulos de armazenamento e dissipação, sendo que para a maioria das leguminosas, a temperatura de desnaturação encontra-se entre 84 e 91°C (RUI et al., 2011) e através da figura 1a, é possível observar que, após a temperatura de 80°C, tem-se uma estabilização nas curvas de aquecimento, indicando que há quase total desnaturação proteica e desenvolvimento da rede de gel, evidenciado pelos valores de $\tan \delta$ na figura 2a.

Durante a etapa de resfriamento, tem-se um aumento das ligações de hidrogênio no gel, o que leva a um aumento na rigidez da estrutura (Opazo-Navarrete et al., 2018) e valores de G' muito maiores do que G'' , gerando uma diminuição no valor de $\tan \delta$ com o tempo, gerando um gel com uma característica mais sólida viscoelástica, ou seja, mais estruturado.

Em relação ao tratamento alcalino e o tratamento alcalino + ultrassom, observa-se valores um pouco maiores dos módulos elástico e viscoso para o tratamento alcalino + ultrassom. Como pode ser observado na figura 2, $\tan \delta$ (Alcalina) é menor que $\tan \delta$ (Alcalino + US), ou seja, o gel obtido pelo tratamento alcalino + US apresenta um comportamento mais estruturado (maior G') em relação a só o tratamento alcalino, resultando em um gel mais forte. O aumento na estruturação do gel observado foi relacionado ao tratamento com ultrassom, o qual promoveu uma maior desnaturação proteica e exposição dos grupos hidrofóbicos em relação ao tratamento alcalino, desenvolvendo uma rede de gel mais forte (Iametti et al., 1996; QI et al., 1997). Além disso, tem-se uma inclinação muito mais elevada para o tratamento alcalino. De acordo com Khatkar et al. (2018), whey protein modificado através do tratamento com ultrassom apresentou mudanças em sua estrutura, sendo uma delas uma maior estabilidade térmica que ocorreu devido a uma desativação dos grupos -SH livres que reduzem o fenômeno de reagregação das proteínas, produzindo estruturas menores e mais estáveis. Portanto, o mesmo efeito pode ter ocorrido durante o tratamento com ultrassom do feijão.

Para o tratamento enzimático durante a etapa final de estruturação dos géis (resfriamento), o valor de $\tan \delta$ foi o maior entre todos, como mostra a figura 2b. Ou seja, o gel formado por esse tratamento apresenta um comportamento menos estruturado que os demais. Isso provavelmente ocorreu, pois, o uso da enzima Viscozyme, uma carboidrase, propiciou a hidrólise dos polissacarídeos que compõem a parede celular. Assim, interações entre proteínas e polissacarídeos do próprio feijão podem ter sido prejudicadas, resultando em um gel mais fraco. Sendo assim, a hidrólise dos polissacarídeos pela utilização de carboidrases pode prejudicar interações que favoreceriam a estruturação da rede, isto porque, para a formação do gel, a presença de polissacarídeos melhora o desenvolvimento da estrutura do gel (Xiao et al., 2020). Nesse sentido, como no tratamento enzimático a hidrólise resultaria na quebra dos polissacarídeos, o gel formado apresentaria um comportamento mais líquido viscoelástico, ou seja, maiores valores de $\tan \delta$. Além disso, os valores do módulo de dissipação são maiores em relação aos tratamentos alcalino e alcalino + ultrassom, contribuindo para um valor de $\tan \delta$ maior e consequentemente um comportamento menos estruturado que as demais amostras.

Figura 2. Valores de $\tan \delta$ para a) Aquecimento b) Resfriamento.



Conclusão

Em relação aos métodos utilizados, é possível concluir que o método alcalino + US apresentou os melhores resultados em termos de estruturação do gel. Isso pode indicar que a assistência do ultrassom para a

extração das proteínas do feijão provocou uma desnaturação proteica que o levou a formar um gel mais estruturado, além de que foi observada uma melhor estabilidade térmica para o mesmo. O tratamento enzimático não formou géis muito estruturados mesmo com elevadas concentrações de proteína provavelmente devido à hidrólise dos carboidratos presentes na parede celular do feijão que prejudicou o desenvolvimento da interação proteína-polissacarídeo e conseqüentemente uma melhor estruturação do gel. Portanto, pode-se concluir que o método de extração alcalino + US possui um potencial melhor de aplicação para a obtenção de melhores géis.

Referências

- ALTING, A. C.; VAN DE VELDE, F. **Proteins as clean label ingredients in foods and beverages**. [s.l.] Woodhead Publishing Limited, 2012.
- BANERJEE, S.; BHATTACHARYA, S. Food Gels: Gelling Process and New Applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 4, p. 334–346, 2012.
- BOYE, J. I. et al. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. **Food Research International**, v. 43, n. 2, p. 537–546, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.021>>.
- CAMPOS-VEGA, R. et al. Chemical composition and in vitro polysaccharide fermentation of different beans (*Phaseolus Vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, v. 74, n. 7, 2009.
- DAMODARAN, S. Amino acids, peptides, and proteins. In: FENNEMA, O. W. (Ed.). **Food Chemistry**. 3. ed. Wisconsin: Marcel Dekker, 1992. p. 321–430.
- FROES, L. de O. **Emprego da farinha de bandinha de feijão carioca extrusada na formulação de misturas para bolo sem glúten contendo farinha de quirera de arroz**. 2012. Universidade Federal de Goiás, 2012.
- IAMETTI, S. et al. Modifications occur at different structural levels during the heat denaturation of β -lactoglobulin. **European Journal of Biochemistry**, v. 237, n. 1, p. 106–112, 1996.
- KHATKAR, A. B. et al. Characterization of heat-stable whey protein: Impact of ultrasound on rheological, thermal, structural and morphological properties. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 49, n. August, p. 333–342, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.08.026>>.
- LE, X. T.; RIOUX, L. E.; TURGEON, S. L. Formation and functional properties of protein–polysaccharide electrostatic hydrogels in comparison to protein or polysaccharide hydrogels. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 239, p. 127–135, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2016.04.006>>.
- LÓPEZ-BARÓN, N. et al. Hydrolysed pea proteins mitigate in vitro wheat starch digestibility. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 117–126, 2018.
- MESQUITA, F. R. et al. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1114–1121, 2007.
- OPAZO-NAVARRETE, M. et al. The Effect of Gel Microstructure on Simulated Gastric Digestion of Protein Gels. **Food Biophysics**, v. 13, n. 2, p. 124–138, 2018.
- PAPALAMPROU, E. M. et al. Influence of preparation methods on physicochemical and gelation properties of chickpea protein isolates. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 2, p. 337–343, 2009.
- QI, X. L. et al. Globule Hypothesis. **Biochem. J.**, v. 324, p. 341–346, 1997.
- RICHTER, C. K. et al. Plant Protein and Animal Proteins: Do They Differentially Affect Cardiovascular Disease Risk? **Advances in Nutrition**, v. 6, n. 6, p. 712–728, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26567196>>.
- RUI, X. et al. Comparative study of the composition and thermal properties of protein isolates prepared from nine *Phaseolus vulgaris* legume varieties. **Food Research International**, v. 44, n. 8, p. 2497–2504, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.008>>.
- TADROS, T. F. **Emulsion Science and Technology**. 1. ed. p. 335, 2009.
- XIAO, Y. et al. Gel properties and formation mechanism of soy protein isolate gels improved by wheat bran cellulose. **Food Chemistry**, v. 324, n. November 2019, p. 126876, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126876>>.
- ZAYAS, J. F. Gelling Properties of Proteins. In: **Functionality of Proteins in Food**. 1. ed. Manhattan: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1997. p. 310–366.