

## PROPRIEDADE EMULSIFICANTE DE HIDROLISADOS PROTEICOS DE FEIJÃO PRETO

JARINE AMARAL DO EVANGELHO<sup>1</sup>; NATHAN LEVIEN VANIER<sup>2</sup>; VÂNIA ZANELLA PINTO<sup>3</sup>; ALVARO RENATO GUERRA DIAS<sup>4</sup>; ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil – jarineamaral@hotmail.com

<sup>2</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil – nathanvanier@hotmail.com

<sup>3</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil – vania\_vzp@hotmail.com

<sup>4</sup> Professor adjunto do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil – argd@zipmail.com.br

<sup>5</sup> Professora adjunta do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil – elessandrad@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

As proteínas apresentam papel importante na melhoria das propriedades emulsificantes de diversos alimentos industrializados, como maioneses, patês, iogurtes, embutidos, chocolates e sorvetes. Uma das principais características que permitem que as proteínas sejam capazes de melhorar as propriedades funcionais dos alimentos é a presença de regiões hidrofóbicas e hidrofílicas. A presença dessas regiões é responsável pela propriedade emulsificante das proteínas, visto que as zonas hidrofóbicas e hidrofílicas, na mesma molécula, são capazes de reduzir a tensão superficial e interagirem na interface da emulsão (FOEGEDING; DAVIS, 2011).

Recentemente, pesquisadores têm investigado os efeitos da hidrólise enzimática sobre as propriedades funcionais e nutricionais de proteínas vegetais (JAMDAR et al., 2010). Supostamente, esses efeitos estão relacionados à modificação da conformação e estrutura nativa da proteína, sendo associados à diminuição do peso molecular, aumento dos grupamentos ionizáveis e à exposição de grupos hidrofóbicos, até então ocultos na estrutura enovelada das proteínas (ZHAO et al., 2011). AVRAMENKO et al. (2013) avaliaram as propriedades emulsificantes de hidrolisados proteicos de lentilha obtidos pela ação da enzima tripsina. Segundo esses autores, os hidrolisados proteicos obtiveram melhor capacidade emulsificante e maior estabilidade de emulsão do que o tratamento controle (isolado proteico de lentilha).

Estudos relacionados à funcionalidade dos hidrolisados proteicos são importantes para a efetiva utilização dos mesmos como ingredientes alimentares. O estudo dos efeitos da hidrólise enzimática sobre fontes proteicas abundantes no Brasil ainda é pouco explorado, como em feijão, que é importante para o desenvolvimento de ingredientes com características aprimoradas e para agregar valor aos subprodutos da indústria de feijão (feijão quebrado e feijão velho). Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar efeitos da hidrólise enzimática, realizada com as enzimas comerciais alcalase e pepsina, sobre a fluorescência relativa e a estabilidade de emulsão de hidrolisados proteicos de feijão preto.

## 2. METODOLOGIA

Foram utilizados grãos de feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.), obtidos no comércio local da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. Os concentrados proteicos foram preparados conforme descrito por CARRASCO-CASTILLA et al. (2012), bem como as hidrólises enzimáticas. Inicialmente, o concentrado proteico foi suspenso em tampão fosfato de sódio 35 mM para obter uma solução 5% (p/v). O material permaneceu sob agitação overnight a 4 °C. O processo de hidrólise foi realizado sob condições controladas (temperatura, pH e agitação) com proporção enzima/substrato de 1/20. A hidrólise com a enzima pepsina foi realizada a 37 °C e pH 2,0, enquanto para a enzima alcalase a hidrólise foi conduzida a 50 °C e pH 7,0. Após 120 minutos de reação, as amostras foram imediatamente aquecidas a 90 °C por 10 min para a inativação enzimática. O pH do sobrenadante foi ajustado para 7,0 e o material centrifugado a 13000 rpm por 15 min. O sobrenadante foi coletado e liofilizado. A fluorescência relativa do concentrado proteico de feijão preto (denominado CPFPP) e dos hidrolisados obtidos pela ação das enzimas pepsina (HPFP Pepsina) e alcalase (HPFP Alcalase) foi determinada usando o reagente 1,8-anilino-naftaleno-sulfonato (ANS), conforme método descrito por YIN et al. (2008). Utilizou-se espectrofluorômetro (Shimadzu corp., Kyoto, Japão) e a intensidade de fluorescência foi medida entre 400 e 600 nm, com excitação programada a 390 nm. As emulsões foram preparadas com o concentrado proteico e com os hidrolisados. Dispersões de 15 mL contendo 1% de concentrado ou hidrolisado foram homogeneizadas com 5 mL de óleo de milho a 12000 rpm durante 2 minutos (Ultra turrax PT 3100 Polytron, Suíça). A estabilidade das emulsões foi monitorada visualmente durante o período de 30 dias.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão apresentados os espectros de fluorescência relativa do do concentrado proteico de feijão preto (CPFPP) e dos hidrolisados obtidos pela ação das enzimas pepsina (HPFP Pepsina) e alcalase (HPFP Alcalase).

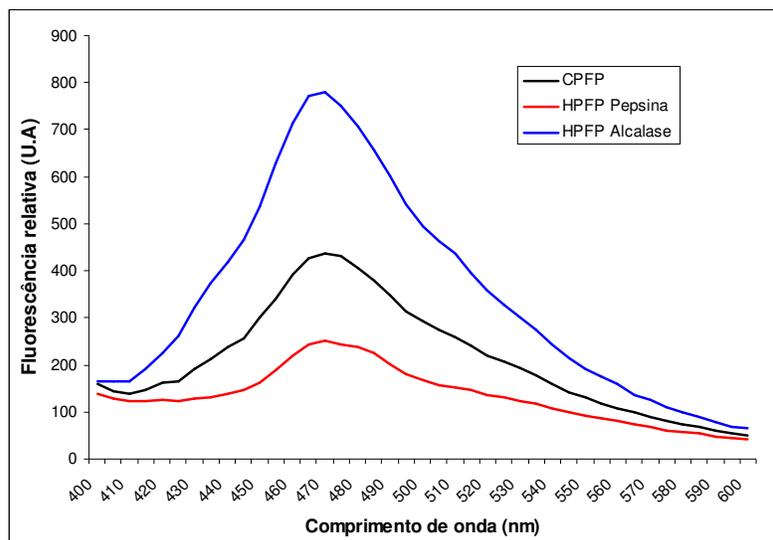


Figura 1. Alterações conformacionais do CPFPP monitoradas pela emissão de fluorescência do reagente ANS.

O HPFP Alcalase apresentou maior emissão de fluorescência relativa do que os tratamentos CPFP e HPFP Pepsina. A intensidade de fluorescência está relacionada a interação do reagente fluorescente ANS com os aminoácidos hidrofóbicos expostos na proteína. No equipamento, as moléculas absorvem energia atingindo seu estado excitado, quando retornam ao estado basal emitem luz. Sendo assim, quanto maior a fluorescência relativa, maior será a exposição dos aminoácidos hidrofóbicos na superfície dos hidrolisados (PALLARES`S et al., 2004). A menor intensidade de fluorescência do HPFP Pepsina deve-se, provavelmente, a agregação das proteínas através de interações hidrofóbicas ocultando esses resíduos e expondo mais grupos hidrofílicos. Um declínio similar na intensidade de fluorescência no mesmo tempo de reação foi observado em hidrolisados proteicos de lentilha utilizando a enzima tripsina (AVRAMENKO et al., 2013).

Na Figura 2 está apresentada a estabilidade das emulsões preparadas com CPFP, HPFP Pepsina e HPFP Alcalase. No 15° dia foi claramente observada separação de fases nas emulsões preparadas com CPFP e HPFP Pepsina, enquanto a emulsão preparada com o HPFP Alcalase continuou semelhante ao 1° dia. Apesar de ser notória a separação de fases nas emulsões preparadas com CPFP e HPFP Pepsina no 15° dia, ambos os tratamentos ainda apresentavam turbidez na fase aquosa. Além disso, o HPFP Pepsina apresentava uma fina camada de precipitado. No 30° dia, a emulsão preparada com HPFP Alcalase continuou apresentando maior estabilidade. Este resultado pode ser associado à maior fluorescência relativa verificada para o HPFP Alcalase (Figura 1). A hidrólise com a enzima alcalase expôs mais grupos hidrofóbicos, tornando-os mais disponíveis para interagir com os lipídeos durante a formação da emulsão. Dessa maneira, houve uma maior adesão das proteínas na interface entre as gotículas de óleo dispersas e a fase aquosa da emulsão, o que determinou a maior resistência das gotículas à coalescência. No 30° dia, o CPFP apresentava completa separação de fases e uma camada espessa de precipitado, enquanto a emulsão preparada com o HPFP Pepsina manteve comportamento semelhante ao 15° dia. As emulsões são sistemas termodinamicamente inerentemente instáveis, onde ao longo do tempo as duas fases tendem a se mover em direção a uma maior estabilidade. Com o passar do tempo de armazenamento, as proteínas formam ligações não-covalentes (ligações hidrofóbicas e ligações ponte de hidrogênio) e modificam sua estrutura conformacional ligando-se a outras proteínas adjacentes (KIM et al., 2005; TCHOLAKOVA et al., 2006). Este fenômeno provoca a redução da estabilidade de emulsão.

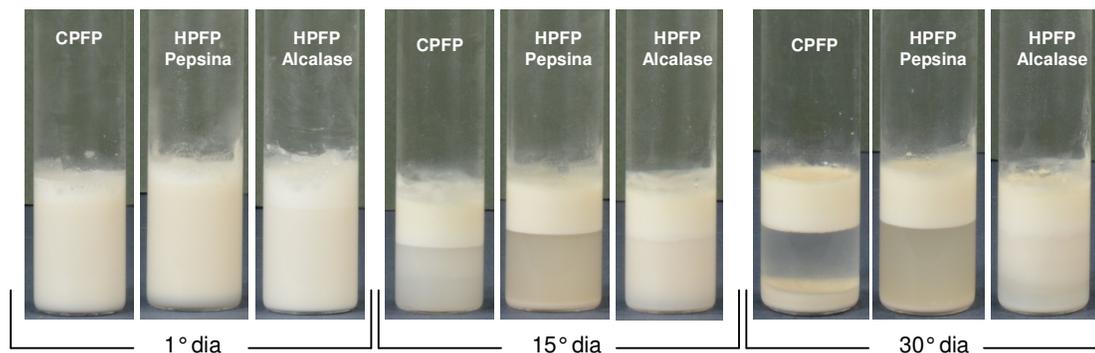


Figura 2. Estabilidade das emulsões preparadas com concentrado proteico de feijão preto (CPFP) e com os hidrolisados obtidos pela ação das enzimas pepsina (HPFP Pepsina) e alcalase (HPFP Alcalase).

## 4. CONCLUSÕES

A hidrólise enzimática com a enzima alcalase melhorou a estabilidade de emulsão do CPFP. Esta melhora se deve à maior hidrofobicidade do HPFP Alcalase comparado ao CPFP e ao HPFP Pepsina. Este resultado fomenta estudos futuros visando a aplicação do HPFP Alcalase em produtos alimentares. Os efeitos do tempo de reação enzimática sobre as propriedades físico-químicas, funcionais e nutricionais do CPFP compreendem a continuação deste trabalho.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVRAMENKO, N. A., LOW, N. H., NICKERSON, M. T. T. The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate. **Food Research International**, v. 52, p. 162-169, 2013.

CARRASCO-CASTILLA, J., HERNANDEZ-ALVAREZ, A. J., JIMENEZ-MARTINEZ, C., JACINTO-HERNADEZ, C., ALAIZ, M. GIRON-GALLE, J., VIOQUE, J., DAVILA-ORTIZ, G. Antioxidant and metal chelating activities of *Phaseolus vulgaris* L. var. Jamapa protein isolates, phaseolin and lectin hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1157-1164, 2012.

FOEGEDING, E. A., DAVIS, J. P. Food protein functionality: A comprehensive approach. **Food Hydrocolloids**, v.25, p. 1853–1864, 2011.

JAMDAR, S. N., RAJALAKSHMI, V., PEDNEKAR, M. D., JUAN, F., YARD, V., SHARMA, A. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. **Food Chemistry**, v.121, p. 178-184, 2010.

KIM, H. J., DECKER, E. A., MCCLEMENTS, D. J. Influence of protein concentration and order of addition on the thermal stability of betalactoglobulin stabilized n-hexadecane oil-in-water emulsions at neutral pH. **Langmuir**, v.21, p.134–139, 2005.

PALLARES`S, I., VENFRELL, J., AVILES`S, F. X., VENTURA, S. Amyloid fibril formation by a partially structured intermediate state of chymotrypsin. **Journal of Molecular Biology**, v.342, p. 321-331, 2004.

TCHOLAKOVA, S., DENKOV, N. D., IVANOV, I. B., CAMPBELL, B. Coalescence stability of emulsions containing globular milk proteins. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.123–126, p.259–293, 2006.

YIN, S., TANG, C., WEN, Q., YANG, X., LI. Functional properties and in vitro trypsin digestibility of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolate: Effect of high-pressure treatment. **Food Chemistry**, v.110, p.938-945, 2008.

ZHAO, G., LIU, Y., ZHAO, M., REN, J., YANG, B. Enzymatic hydrolysis and their effects on conformational and functional properties of peanut protein isolate. **Food Chemistry**, v.127, p.1438-1443, 2011.