

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE E DO EFEITO DA
LIPOFILIZAÇÃO EM PROTEÍNAS DE FARINHA TOTALMENTE
DESENGORDURADA DE AMENDOIM (*Arachis hypogaea* Lineau).

Julieta Clarisa Ferreyra

Florianópolis

2003

Julieta Clarisa Ferreyra

**AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE E DO EFEITO DA
LIPOFILIZAÇÃO EM PROTEÍNAS DE FARINHA TOTALMENTE
DESENGORDURADA DE AMENDOIM (*Arachis hypogaea* Lineau).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Ciências de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Roseane Fett

Florianópolis

2003

**AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE E DO EFEITO DA
LIPOFILIZAÇÃO EM PROTEÍNAS DE FARINHA TOTALMENTE
DESENGORDURADA DE AMENDOIM (*Arachis hypogaea* Lineau).**

Por

Julieta Clarisa Ferreyra

Dissertação aprovada como requisito final para a obtenção do título de Mestre no Curso de
Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, pela Comissão formada por:

Presidente: _____
Prof. Dra. Roseane Fett

Membro: _____
Prof. Dr. Daniel Barrera Arellano

Membro: _____
Prof. Dra. Marilde Terezinha Bordingnon Luiz

Membro: _____
Prof. Dra. Ana Carolina Maisonnave Arisi

Florianópolis, 11 de fevereiro de 2003

DEDICATÓRIA

Aos meus pais e irmão, que fizeram possível este meu sonho, que tanto me apoiaram para que ampliasse meus conhecimentos e vencesse esta batalha.

Ao meu noivo Willian, por me acompanhar neste processo com seu amor incondicional.

Aos meus amigos daqui e de lá, pela amizade sincera.

A Carlos Bernardo González Pecotche (Criador da Logosofia), pelos seus ensinamentos que tanto me orientam.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Roseane Fett, pela orientação e boa disposição.

Ao Professor Dr. Daniel Barrera Arellano, pela orientação e acolhida no seu laboratório.

À Maria Lamus Uvarova, pela ajuda e colaboração na pesquisa e pela hospedagem no seu lar em Campinas, SP.

Aos professores e alunos do Departamento de Ciências de Alimento, pelas contribuições.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AEm: Atividade emulsificante

AEs: Atividade espumante

EEmcalor: Estabilidade emulsificante ao calor

CE: Capacidade Emulsificante

CRA: Capacidade de Retenção de Água

CRO: Capacidade de Retenção de Óleo

EEm30': Estabilidade emulsificante ao tempo de 30 minutos

EEm120': Estabilidade emulsificante ao tempo de 120 minutos

EEs30': Estabilidade espumante ao tempo de 30 minutos

EEs120': Estabilidade espumante ao tempo de 120 minutos

FDA: Farelo Totalmente Desengordurado de Amendoim

L1:0,5: Farelo Totalmente Desengordurado de Amendoim Lipofilizado na relação proteína: ácidos graxos de 1:0,5

L1:1: Farelo Totalmente Desengordurado de Amendoim Lipofilizado na relação proteína : ácidos graxos de 1:1

L1:2: Farelo Totalmente Desengordurado de Amendoim Lipofilizado na relação proteína : ácidos graxos de 1:2

S%: Solubilidade protéica porcentual

SUMÁRIO

Resumo	9
1. Introdução	10
2. Revisão Bibliográfica	12
2.1 Proteínas de origem vegetal	12
2.2 Amendoim (<i>Arachis hypogaea</i> Lineau)	13
2.2.1 Classificação, produção e consumo	13
2.2.2 Composição Química	14
2.2.3 Óleo e torta de Amendoim	15
2.2.4 Farinha de amendoim	15
2.3 Propriedades Funcionais	17
2.3.1 Solubilidade	19
2.3.2 Hidrofobicidade	20
2.3.3 Propriedades de Emulsificação	21
2.3.4 Propriedades espumantes	23
2.3.5 Capacidade de retenção de água e óleo	24
2.3.6 Influência do pH nas propriedades funcionais das proteínas	24
2.4 Lipofilização de proteínas	25
2.4.1 Modificação das Propriedades Funcionais	26
3. Artigos para publicação	29
3.1 Artigo Nº 1: Caracterização da Funcionalidade das proteínas de farinha desengordurada de amendoim (<i>Arachis hypogaea</i> Lineau). Autores: Julieta Clarisa FERREYRA, Daniel BARRARA ARELLANO, Roseane FETT.	29
3.2. Artigo Nº 2: Lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim (<i>Arachis hypogaea</i> Lineau) e seu efeito sobre as propriedades	

espumantes. Autores: Julieta Clarisa FERREYRA, Maria LAMUS UVAROVA, Daniel BARRERA ARELLANO, Roseane FETT.	43
3.3. Artigo N° 3: Efeito da lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim (<i>Arachis hypogaea</i> Lineau) sobre as propriedades emulsificantes e capacidades de retenção de água e óleo. Autores: Julieta Clarisa FERREYRA, Maria LAMUS UVAROVA, Daniel BARRERA ARELLANO, Roseane FETT	55
4. Conclusões e sugestões	71
5. Referencias Bibliográficas	74

RESUMO

Foram lipofilizadas proteínas de farinha desengordurada de amendoim com Cloreto de ácido palmítico, em três razões de proteína:cloreto de ácido palmítico p/p (1:0,5; 1:1 e 1:2) e determinadas as propriedades funcionais da farinha e seus três lipofilizados a pH 7. Foi avaliada a influência do pH e da solubilidade protéica nas propriedades emulsificantes. O pHi destas proteínas se encontra no pH de 4,0; sendo a região isoelétrica entre os valores de pH de 3,0 e 5,0. Todas as propriedades de superfície diminuíram na região isoelétrica, porém, as correlações da solubilidade com as propriedades foram mais importantes para as propriedades emulsificantes do que para as espumantes. O rendimento protéico da lipofilização diminuiu com o grau de incorporação de ácidos graxos, que não ocorreu unicamente na lisina, mas também em outros aminoácidos com grupos reativos. As modificações das propriedades funcionais dos lipofilizados foram: um aumento significativo nas capacidades de retenção de água e óleo e nas estabilidades espumantes a 30 e 120 minutos dos lipofilizados de maior razão (1:1 e 1:2); houve uma diminuição significativa na solubilidade das proteínas de todos os lipofilizados aos valores de pH neutro e isoelétrico e nas propriedades emulsificantes dos lipofilizados de maior razão (1:1 e 1:2). Ficou demonstrado que a lipofilização da farinha desengordurada de amendoim modifica a funcionalidade das proteínas.

Palavras-chave: lipofilização, proteína, propriedades funcionais, amendoim.

1 INTRODUÇÃO

Os esforços em aumentar a disponibilidade protéica para alimentação humana levou ao emprego de novas fontes vegetais ricas em proteínas. O desafio da tecnologia esta em converter essas fontes vegetais em ingredientes protéicos aceitáveis e funcionais. As proteínas de origem vegetal, devido a sua ampla oferta e baixo custo, têm gerado um interesse particular, como isolados e concentrados, ingredientes necessários em muitos processos alimentícios, onde apresentam funções específicas (KINSELLA, 1976).

As aplicações industriais das proteínas de origem vegetal estão se expandido a uma variedade de utilizações incluindo padaria, laticínios, salgadinhos e carnes moídas, entre outros. A substituição parcial da carne, por proteínas vegetais representa uma área de expansão, principalmente devido aos benefícios de aumentar o rendimento do produto e diminuir os custos. Estas proteínas são também usadas como agentes arejadores em coberturas batidas, sobremesas congeladas, em doces, para substituir parcialmente às claras de ovo nas formulações de bolos, e para transmitir certas características desejáveis às crostas de bolos e bolachas (KAY e McWATTERS, 1977; KINSELLA, 1976).

A torta de amendoim, produto resultante da extração do óleo, é considerada como uma fonte potencial de proteínas, de alto valor biológico para a alimentação humana. Concentrados, isolados protéicos e farinhas de amendoim estão sendo utilizados para fortificar alimentos (CAMPOS LASCA, 2001).

O melhoramento nas propriedades funcionais das proteínas alimentícias deve ser muito enfatizado, pela importância que elas têm para a indústria de alimentos (KINSELLA, 1976).

A produção de proteínas modificadas está centrada principalmente em fornecer novos ingredientes à indústria de alimentos, que permitam melhorar as características organolépticas e/ou as condições de sua utilização (ROUSSEL, 1998).

Diversas tecnologias têm sido desenvolvidas e aplicadas na produção de proteínas ou produtos modificados, dentre as quais destaca-se a modificação química, que gera produtos novos compatíveis com as necessidades industriais atuais. Uma das formas de modificar quimicamente às proteínas é a lipofilização, que possibilita uma alteração das propriedades funcionais relacionadas com as características hidrofílicas/hidrofóbicas das proteínas, mediante a incorporação de grupamentos lipofílicos nas moléculas, gerando proteínas modificadas com melhores propriedades e afinidade com compostos ou sistemas hidrofóbicos (ROUSSEL, 1998).

O termo lipofilização tem sido usado por alguns autores num sentido amplo, para descrever o aumento na hidrofobicidade das proteínas (AOKI et al., 1981). Todavia, foi usado num sentido mais estrito por Haque e Kito (1983a) para descrever a ligação de ácidos graxos na caseína e por Akita e Nakai (1990a) para descrever a ligação de ácidos graxos à β -lactoglobulina.

O objetivo da nossa pesquisa foi avaliar a funcionalidade das proteínas de farinha desengordurada de amendoim e a modificação da mesma por lipofilização com ácidos graxos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Proteínas de origem vegetal

Desde o final do século XX há uma crescente preocupação com a produção mundial de proteínas devido à existência de um desequilíbrio no fornecimento de material protéico em vários países do mundo (WALKER et al., 1971; ALAIS e LINDEN, 1990). Portanto, mais proteínas alimentícias serão necessárias tanto de fontes convencionais como não convencionais, e particularmente destas últimas (KINSELLA, 1976).

As sementes de leguminosas constituem a fonte protéica básica nas dietas de vários países em desenvolvimento. Nos países desenvolvidos, são usadas principalmente como rações de importante valor protéico na alimentação de animais, mas são também importantes substitutos da carne ou agentes funcionais na indústria de alimentos, especialmente os produtos de soja. Outras leguminosas têm sido e estão sendo estudadas como fonte de proteínas vegetais (GUEGUEN, 1983), é o caso do amendoim, por ser este uma das principais leguminosas e oleaginosas cultivadas no mundo (PROSEA, 1997).

As proteínas de leguminosas e oleaginosas são uma alternativa importante para o problema da suplementação de proteínas na dieta humana, o desafio é convertê-las em ingredientes protéicos úteis (KINSELLA, 1976).

Com respeito às características nutricionais, as proteínas de origem vegetal, especialmente as proteínas de leguminosas e oleaginosas, são consideradas de alto valor biológico, contudo, pobres em propriedades funcionais. O *flavor* e a presença de carboidratos que produzem flatulência são problemas de algumas proteínas de origem vegetal, como é o caso da soja, que

tem sido a proteína vegetal de maior potencial em termos de baixo custo, versatilidade e funcionalidade (BIRD, 1975).

2.2 Amendoim (*Arachis hypogaea* Lineau)

2.2.1 Classificação, produção e consumo.

O amendoim é classificado dentro da família das leguminosas como subfamília *Papilionácea*, gênero *Arachis*. São cerca de 12 espécies desta oleaginosa, a mais importante é a *Arachis hypogaea* Lineau, amendoim comum. É uma planta domesticada na América do Sul e caracterizada pela produção subterrânea de sementes que contém teores elevados de óleo e proteínas (PEIXOTO, 1972).

A produção mundial de amendoim está aumentando; na safra 99/00, foi aproximadamente de 26,06 milhões de toneladas e aumentou 7,3% na safra 01/02. China e Índia somam mais do 64% da produção mundial, o Brasil participa quase com 1% do total (HUBNER, 2002).

O amendoim é um produto mundialmente consumido tanto como alimento ou como óleo. O consumo mundial como alimento é da ordem de 8 milhões de toneladas. No Brasil, o consumo de amendoim é da ordem de 100 mil toneladas de grãos, produzido no próprio país, sendo que, 90% da produção brasileira se concentra em São Paulo (GODOY, 1999).

Sua produção teve importância no abastecimento interno de óleos vegetais comestíveis na década de 60, porém, com a queda da área cultivada ao longo dos anos, a maior parte da sua produção está sendo destinada às fábricas de doces e ao comércio de grãos. Uma das causas da queda da produção é a contaminação com aflatoxina, já que a presença de elevados teores destas toxinas em amendoim cru e em farelos de amendoim sempre representou um sério problema para o Brasil (FONSECA, 1998). Os danos que a aflatoxina acarreta para a saúde

animal e humana limitam a demanda do farelo de amendoim e depreciam seu valor como fonte protéica, prejudicando a composição do preço pago ao produtor. Assim, a produção de óleo de amendoim no Brasil está muito diminuída pelo escasso aproveitamento que pode fazer-se da torta restante (CAMPOS LASCA, 2001).

A contaminação com aflatoxina, no Brasil, se deve às tradicionais práticas de colheita, secagem e armazenamento utilizadas pelos produtores (FONSECA, 1998). É assim que, devido ao preço elevado que restringe o consumo de amendoim, aliado à dificuldade de cultivo e problemas de armazenamento, principalmente por causa da aflatoxina, o amendoim perdeu espaço para outras oleaginosas, primordialmente com o advento da soja. Contudo, apesar da sua pequena participação no âmbito mundial, a área interna tende a crescer nos próximos anos, já que há uma maior demanda de grãos e óleos, tanto para a alimentação humana como para a industrialização de alimentos e cosméticos, e a procura tende a aumentar (HUBNER, 2002).

2.2.2 Composição Química

O fruto do amendoim é constituído pelo pericarpo ou casca (28-30%); o perisperma ou tegumento, que é a fina película que envolve o endosperma (1,45% a 3,22%); o embrião (1,8% a 2,6%); e a amêndoa (67,70% a 71,88%) (PEIXOTO, 1972), sendo que em 100g de amendoim comestível há em média 5,4 g de água, 30,4 g de proteína, 47,7 g de gordura, 11,7 g de carboidratos, 2,5 g de fibra e 23 g de cinzas. O conteúdo bruto de proteínas nas sementes inteiras secas é de 22 a 30% e varia com o tipo, cultivar, localidade, ano e maturidade fisiológica da semente. Dentre os aminoácidos limitantes das proteínas de amendoim figuram em diferentes pesquisas a cisteína, lisina, treonina, isoleucina e metionina. Porém, o amendoim é rico em arginina, fenilalanina e histidina e perto de 45% do total dos

aminoácidos está constituído pelo ácido aspártico, ácido glutâmico e a arginina. (NEUCERE et al., 1972b; CONKERTON e ORY, 1976; PROSEA, 1997).

No amendoim, mais de 75% das proteínas são consideradas globulinas cuja fração principal é a “araquinina”. Geralmente, na conformação nativa de proteínas globulares os aminoácidos polares estão expostos à fase aquosa, favorecendo a solubilidade protéica (NEUCERE, 1972a; KINSELLA, 1976).

2.2.3 Óleo e torta de Amendoim

O conteúdo de óleo em sementes inteiras secas encontra-se entre 44 e 56%, cuja média é de 50%. É rico em ácidos oléico e linoléico correspondendo juntos a 80% dos ácidos graxos. A torta da extração do óleo é um produto rico em proteínas que é utilizada para a fabricação de farinha de amendoim, usada principalmente adicionada a produtos alimentícios ou em ração (BELITZ e GROSCH, 1997; PROSEA, 1997).

Quanto à sua composição química, a torta de amendoim sem cutícula apresenta em média, 46,6% de proteína, cerca de 5,5% de fibras e fornece 84,5% de nutrientes digeríveis. Possui mais nutrientes digeríveis que a torta de soja, sua proteína é tão boa quanto à da soja, embora tenha um pouco menos de lisina. É um produto pobre em cálcio e contém metade do fósforo existente na torta de algodão. Não possui caroteno nem vitamina D, como outras tortas de sementes oleaginosas. É um dos melhores suplementos para os animais, por ser uma proteína de alto valor biológico (PEIXOTO, 1972).

2.2.4 Farinha de amendoim

A farinha de amendoim é um produto finamente triturado, processado a partir de torta de amendoim, amêndoas inteiras ou flocos desengordurados. São quatro os principais tipos de farinhas, com níveis de óleo residual entre 1% e 45%. A farinha desengordurada de

amendoim é produzida com flocos de amendoim desengordurados por extração com solvente e pode conter até 60% de proteínas. Geralmente, a extração por solvente é precedida de prensado mecânico devido ao alto conteúdo de óleo do amendoim. Este tipo de farinha contém menos de 1% de gorduras (NATARAJAN, 1980).

Uma das vantagens da farinha de amendoim, em comparação com outras leguminosas, é que contém somente 0,14% de rafinose e 0,71% de estaquiose, açúcares considerados de difícil digestibilidade. A farinha de soja de produção comercial contém quase sete vezes esses níveis. Estes açúcares são parcialmente responsáveis por flatulência em seres humanos, sendo este um fator importante na preparação de fórmulas infantis e bebidas dietéticas (AYRES et al., 1974).

Outro problema apresentado pelas farinhas de algumas leguminosas se refere ao *flavor* que as mesmas conferem aos alimentos, o mesmo não acontecendo com a farinha de amendoim representando uma vantagem na fortificação de alimentos, apesar de conter menores níveis de lisina e leucina que a farinha de soja. Assim, produtos do tipo de *snacks* extrusados e cereais açucarados podem ser preparados facilmente usando farinha de amendoim na combinação com farinhas de milho e trigo aumentando o teor protéico dos mesmos, segundo as pesquisas de Ayres et al. (1974).

Da mesma forma, McWatters (1978) observou que as massas preparadas com vários níveis de farinha de amendoim resultavam muito similares às preparadas com 100% de farinha de trigo quanto à consistência e às características de manejo, e que o conteúdo protéico de bolachas pode ser influenciado significativamente pela adição de farinha de amendoim. Na qualidade sensorial só a aparência e a cor foram influenciadas significativamente pelo aumento na quantidade de farinha de amendoim; no caso da substituição parcial com farinha de soja, ainda que o conteúdo protéico aumenta significativamente, os atributos de manejo da massa, cozimento e qualidade sensorial são afetados negativamente.

Conkerton e Ory (1976) determinaram que o conteúdo protéico do pão pode ser aumentado com a substituição parcial de farinha de trigo por farinha de amendoim. Assim, as proteínas de amendoim são usadas na preparação de inúmeros produtos alimentícios tais como: doces, produtos de panificação, preparados de leite, comidas infantis, sorvetes e outros produtos especiais, sendo que em muitas destas formulações, altas propriedades emulsificantes são precisas (RAMANATHAM et al., 1978).

2.3 Propriedades Funcionais

A qualidade de um alimento é definida pela sua composição, suas propriedades nutricionais e suas propriedades funcionais. A composição é caracterizada pelas quantidades ou proporções de seus vários componentes; as propriedades nutricionais pela sua riqueza em nutrientes essenciais, pela biodisponibilidade de tais nutrientes e pela ausência de substâncias tóxicas e/ou antinutricionais. As propriedades funcionais das proteínas são definidas como todas aquelas propriedades não-nutricionais transferidas pelas proteínas aos alimentos (ROUSSEL-PHILIPPE et al., 2000) e referem-se às suas características físico-químicas e às interações entre a própria proteína e os outros componentes do alimento as quais influem notoriamente no processamento, estocagem e aceitação do produto final. O conhecimento das propriedades funcionais das matérias protéicas vegetais é importante para definir como estas proteínas podem ser adicionadas ao alimento e como elas podem substituir outras proteínas mais caras utilizadas tradicionalmente (KINSELLA, 1982).

As propriedades funcionais das proteínas dependem de suas propriedades físicas e químicas e são muito importantes para o preparo de determinados tipos de alimentos e para a sua

aceitação pelo consumidor, pois permitem conferir características desejadas a um alimento (CHEFTEL et al., 1989; SGARBIERI, 1996).

As propriedades funcionais podem ser divididas em diferentes grupos (Tabela 1):

Tabela 1: Classificação das propriedades funcionais das proteínas.

Propriedades Sensoriais, Organolépticas.		odor, cor, sabor, textura, <i>flavor</i> , sensação, forma, aspecto, etc.
Propriedades Hidrofilicas, Superficiais, Interfásicas	Interações proteínas-água	solubilidade, dispersibilidade, capacidade de retenção de água, sinerese, viscosidade, formação de massa, etc.
	Interações proteínas-óleo	Dispersibilidade, capacidade de absorção de óleo
	Interações proteínas-água-óleo, proteínas-água-ar	Emulsificação, formação de espuma, aeração, absorção de sabores, arenosidade, cremosidade, etc.
Estruturais, Intermoleculares		Elasticidade, coesão, adesão, mastigabilidade, etc.
Cinestéticas	Interações	Turbidez, maciez, arenosidade
Reológicas, Viscoelásticas Texturas	proteínas-proteínas	Agregação, geleificação, formação de filmes, de massa, de fibras, extrudabilidade, estabilidade, textura, etc.
Outras		Compatibilidade com aditivos, enzimática, modificação de propriedades inertes.

Fonte: Kinsella, 1976

A funcionalidade da proteína reflete as complexas interações entre a composição em aminoácidos, a configuração estrutural e propriedades da proteína (KINSELLA, 1976; 1987). Os fatores mais importantes na explicação da funcionalidade de proteínas são a solubilidade e as interações hidrofóbicas entre proteínas e a fase aquosa. Assim, a modificação na hidrofobicidade das proteínas pode levar a uma melhoria nas propriedades superficiais (AKITA e NAKAI, 1990a; ROUSSEL, 1998).

2.3.1 Solubilidade

A solubilidade de uma proteína é a manifestação termodinâmica do equilíbrio entre a interação proteína-proteína e proteína-solvente e está relacionada a seu balanço de hidrofobicidade/hidrofilicidade (DONADEL e PRUDÊNCIO-FERREIRA, 1999 apud DAMODARAN, 1997).

A solubilidade de uma proteína depende de vários fatores como: peso molecular e conformação das moléculas, densidade e distribuição das cargas elétricas, que por sua vez são influenciados pelo pH, natureza e concentração de íons ou força iônica e temperatura, sendo que há duas características estruturais que são os fatores mais importantes no controle da solubilidade protéica: a carga líquida e a hidrofobicidade. Nakai (1983) determinou que quanto maior seja a carga e menor a hidrofobicidade, maior será a solubilidade. Deve-se ter em conta que o efeito da carga líquida é geralmente visto como um efeito do pH, isto é, a solubilidade da proteína é mostrada como uma função do pH (HAYAKAWA e NAKAI, 1985).

Partes não protéicas como lipídios, carboidratos, fosfatos, também afetam a solubilidade das proteínas. Em geral, a solubilidade de uma proteína é influenciada pela maior ou menor afinidade das moléculas de proteínas pelo solvente, que no caso é a água. Mudanças,

particularmente na diminuição da solubilidade das proteínas, afetam de maneira desfavorável a sua funcionalidade (KINSELLA, 1976).

A solubilidade é a propriedade funcional mais importante das proteínas para a sua utilização em alimentos. Outras propriedades funcionais dependem da capacidade inicial de dispersão das proteínas em soluções aquosas, pois a sua solubilização é essencial para se avaliar outras propriedades funcionais, tais como propriedades emulsificantes e espumantes (KINSELLA, 1976).

2.3.2 Hidrofobicidade

A hidrofobicidade, não sendo considerada uma propriedade funcional, influencia consideravelmente em muitas das propriedades. Pesquisas buscam definir a hidrofobicidade das proteínas baseando-se na polaridade dos aminoácidos constituintes, isto parece não representar realmente a “hidrofobicidade efetiva” que depende da flexibilidade e da conformação das moléculas de proteína. Isto é particularmente importante na correlação das propriedades hidrofóbicas com as propriedades funcionais das proteínas (KESHAVARZ e NAKAI, 1979).

Quanto à "hidrofobicidade superficial" das proteínas, Kato e Nakai (1980) observaram que apesar de muitos resíduos hidrofóbicos estarem na parte interna da maioria das proteínas nativas, alguns grupos hidrofóbicos podem ficar expostos na superfície molecular ou em fendas, especialmente nas proteínas com ácidos graxos ligados produzidos por lipofilização. Em adição, muitos grupos hidrofóbicos poderiam ser expostos na superfície molecular por processos de desnaturação protéica.

Hayakawa e Nakai (1985) classificaram a hidrofobicidade das proteínas em hidrofobicidade alifática, devido aos resíduos de aminoácidos alifáticos, e hidrofobicidade aromática, devida aos resíduos de aminoácidos aromáticos. Assim, os aminoácidos aromáticos expostos podem

ter um papel importante na insolubilidade protéica, que pode relacionar-se parcialmente à alta hidrofobicidade dos aminoácidos aromáticos.

2.3.3 Propriedades de Emulsificação

As propriedades de emulsificação estão relacionadas com a solubilidade aquosa das proteínas. São requerimentos funcionais primários em muitas proteínas alimentícias por estarem relacionadas com a capacidade das proteínas de diminuir a tensão interfacial entre os componentes hidrofóbicos e hidrofílicos em alimentos. Estas propriedades são de muita importância, por exemplo, para a sua utilização em molhos para saladas e produtos cárneos (KINSELLA, 1976; CRENWELGE et al., 1974).

Existem três formas de medir estas propriedades: a capacidade emulsificante, a atividade emulsificante e a estabilidade emulsificante. A capacidade emulsificante é definida como o volume de óleo que pode ser emulsificado por grama de proteína, antes que ocorra a inversão ou colapso da emulsão (KINSELLA, 1976). A atividade emulsificante indica quando uma proteína tem habilidade emulsificante e qual é o grau de emulsificação dado para uma determinada quantidade de proteínas (HAQUE et al., 1982). A estabilidade da emulsão se refere à habilidade da proteína para formar uma emulsão que permaneça sem mudanças durante um tempo de duração determinado, sob condições específicas de tempo ou temperatura (KINSELLA, 1976).

Keshavarz e Nakai (1979) observaram que quanto mais hidrofóbica fosse a proteína, maior seria a depressão na tensão interfacial. Na emulsão, isto pode ser esperado conforme as proteínas hidrofóbicas são capazes de interagir facilmente com moléculas de água e de óleo simultaneamente, resultando na desnaturação da proteína na superfície do óleo e na diminuição da energia de superfície. Então, quanto mais hidrofóbica for a proteína, menor será a tensão interfacial e maior a atividade emulsificante. Isto significa que as proteínas

hidrofóbicas orientam de melhor forma os grupos polares em direção à fase aquosa e seus grupos hidrofóbicos em direção à fase não aquosa. Kato e Nakai (1980) confirmaram isto com a observação de que as proteínas hidrofóbicas interagem melhor com o óleo sendo que a hidrofobicidade efetiva das proteínas tem um papel importante na estabilização das interações proteína-lipídio.

Na formação da camada interfacial, Townsend e Nakai (1983) especificaram que para uma concentração rápida e uma subsequente desnaturação da superfície protéica, a proteína deve ser flexível, estruturalmente pouco ordenada e sobre tudo, hidrofóbica. As proteínas sofrem mudanças conformacionais à medida que o desdobramento expõe mais regiões hidrofóbicas, que facilitam a associação dos polipeptídios, aumentando assim a viscosidade da camada na interfase.

É sabido que durante a formação de emulsões e espumas ocorre o desdobramento de proteínas globulares (KINSELLA, 1976). Uma mudança na estrutura protéica é geralmente associada com mudanças nas propriedades físicas, químicas e funcionais (WU e INGLETT, 1974; CHEFTEL et al., 1989).

A flexibilidade molecular, isto é, habilidade para mudar de conformação sob certas condições, é importante para a funcionalidade protéica, especialmente numa interface, como agente emulsificante (KINSELLA, 1976; NAKAI, 1983). A flexibilidade encontra-se fortemente relacionada com a estrutura das proteínas (NEUCERE et al., 1972a). Assim, é provável que as proteínas flexíveis que podem despregar-se e estender-se quando estão em contato com a superfície lipídica, estabeleçam rapidamente interações hidrofóbicas com as gotas lipídicas, produzindo películas adsorvidas com as propriedades viscoelásticas desejadas e estabilizem eficazmente as emulsões (CHEFTEL et al., 1989).

2.3.4 Propriedades espumantes

A capacidade de uma proteína para formar espumas se refere à expansão de volume da dispersão protéica com a incorporação de ar por batimento, agitação ou aeração. É uma propriedade funcional de interfase que depende da natureza protéica, da solubilidade e do estado de desnaturação da proteína, da presença de sais e de outros aditivos utilizados no processamento dos alimentos. É importante que as moléculas de proteína sejam flexíveis o suficiente para estender-se na interface ar - água e estabilizar as novas células de ar, prevenindo assim o colapso da espuma (TOWNSEND e NAKAI, 1983; SGARBIERI, 1996).

As duas formas mais utilizadas para medir estas propriedades são: a atividade espumante e a estabilidade espumante. Atividade espumante indica quando uma proteína tem a capacidade de formar espuma e em que medida acontece o aumento do volume sobre o volume da solução (HAQUE e KITO, 1983b). A estabilidade de uma espuma se refere à habilidade que uma espuma formada tem para reter o máximo do volume após um tempo determinado de repouso (KINSELLA, 1976).

Para a formação de películas estáveis, têm que associar-se entre si, na interfase, várias capas de proteínas parcialmente desdobradas, mediante interações hidrofóbicas que podem ser tanto de hidrogênio quanto eletrostáticas. A proteína deve adsorver-se fortemente na interfase ar/água por intermédio de interações hidrofóbicas, para evitar a perda de líquido (CHEFTEL et al., 1989).

Pode ser esperada uma boa correlação entre a hidrofobicidade e a habilidade espumante das proteínas (TOWNSEND e NAKAI, 1983). Quanto à correlação com a solubilidade, parece ser que a solubilidade protéica tem uma influência maior no tipo de espuma que é formado do que no volume da espuma (McWATTERS e CHERRY, 1977).

2.3.5 Capacidade de retenção de água e óleo

A habilidade dos ingredientes alimentícios para ligar água é uma importante característica que está sendo cada vez mais explorada para a fabricação de novos produtos. A capacidade de retenção de água ou óleo é definida como a quantidade de líquido que é retido por uma proteína após a aplicação de uma força de centrifugação, pressão ou filtração (KINSELLA, 1976).

A capacidade de ligar água é uma função importante das proteínas em alimentos viscosos (sopas, pãezinhos de carne, queijos processados, massas, etc.). Assim, as proteínas que substituam às proteínas convencionais devem, em adição a outras propriedades requeridas, ter uma apropriada capacidade de ligar água (KINSELLA, 1976).

A capacidade de retenção de óleo é importante para as aplicações em produtos à base de carne, como substitutos ou extensores (NAKAI, 1983), e produtos de padaria onde a absorção de gordura é desejada (IDOURAINE et al., 1991).

As proteínas mais lipofílicas absorvem mais óleo. A presença de um grande número de cadeias não polares favorece a ligação das cadeias hidrocarbonadas do óleo (IDOURAINE et al., 1991).

2.3.6 Influência do pH nas propriedades funcionais das proteínas

O pH influi de diversas formas nas propriedades funcionais. Algumas proteínas, no seu ponto isoelétrico, são pouco solúveis e isto diminui a sua característica de favorecer a formação de emulsões. No pHi, as proteínas adotam estruturas compactas. Isto pode impedir o desdobramento e a adsorção na interfase. Algumas proteínas têm propriedades emulsificantes ótimas no seu pHi (gelatina, proteínas da clara do ovo) e outras tem melhor comportamento a um pH distante o pHi (proteínas de amendoim, de soja, caseínas, proteínas do soro de leite, albumina de soro bovina, proteínas miofibrilares) (CHEFTEL et al., 1989).

Ramanatham et al. (1978) observaram que a capacidade emulsificante das proteínas de amendoim é afetada marcadamente pelo pH. O perfil da capacidade emulsificante versus o pH se parece à típica curva de solubilidade protéica, sugerindo que a propriedade emulsificante se deve à proteína dissolvida. O perfil da capacidade emulsificante versus o pH da proteína de amendoim se parece ao obtido com proteína de soja, girassol ou leite em pó desengordurado.

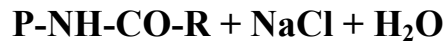
2.4 Lipofilização de proteínas

O termo lipofilização se refere ao fenômeno geral onde a hidrofobicidade da molécula de proteína aumenta por modificação química (AOKI et al., 1981), induzida por ligação de compostos hidrofóbicos com a finalidade de aumentar a afinidade das proteínas por moléculas relativamente apolares ou anfífilas (KITO, 1987).

Dentre os métodos já avaliados para ligar grupos hidrofóbicos e mudar a hidrofobicidade das proteínas estão incluídos: ligação de ácidos graxos, alquilação redutora, reações enzimáticas ou químicas para ligar aminoácidos hidrofóbicos, tratamento com surfactantes, modificação alcóolica e desaminação do glúten. Todos eles produzem alguma melhoria nas propriedades emulsificantes e/ou espumantes das proteínas (NAKAI, 1983; AKITA e NAKAI, 1990a).

Existem estudos que utilizam o termo de lipofilização num sentido mais restrito para descrever exclusivamente a ligação de ácidos graxos, à caseína (HAQUE e KITO, 1983b) e à β -lactoglobulina (AKITA e NAKAI, 1990a). Foi comprovado, que a ligação dos ácidos graxos à proteína ocorre entre o grupo carboxila do ácido graxo e os grupos amino da proteína sendo os grupos ϵ -amino dos resíduos de lisina os que reagem predominantemente (HAQUE e KITO, 1983b; KITO, 1987; AKITA e NAKAI, 1990a), todavia, outros grupos livres como hidroxilos, sulfidrilo e tiol de outros aminoácidos podem reagir também (BEUCHAT, 1977; KITO, 1987; ROUSSEL-PHILIPPE et al., 2000).

A reação, chamada de “reação Schotten-Baumann” é a seguinte:



(ROUSSEL-PHILIPPE et al., 2000)

Várias proteínas vegetais tem sido modificadas através destes agentes de lipofilização com objetivo de melhorar suas propriedades funcionais: isolado de proteínas de soja (AOKI et al., 1981; HAQUE et al., 1982; ROUSSEL-PHILIPPE et al., 2000), de glúten de trigo (ROUSSEL-PHILIPPE et al., 2000), de girassol (KABIRULLAH e WILLS, 1982), e de proteínas de amendoim (BEUCHAT, 1977), entre outros.

2.4.1 Modificação das Propriedades Funcionais

Um modo simples de aumentar a hidrofobicidade é a modificação dos grupos aminos da proteína com derivados de ácidos graxos de cadeia longa (TORCHILIN et al., 1980).

Com a lipofilização, Akita e Nakai (1990a), observaram que a hidrofobicidade superficial alifática diminuía enquanto havia um aumento na hidrofobicidade superficial aromática. Hayakawa e Nakai (1985) expressaram na sua pesquisa que, apesar de que os aminoácidos aromáticos sejam naturalmente mais hidrofóbicos, não são tão comumente introduzidos na molécula devido a sua estrutura volumosa; da mesma forma, os aminoácidos alifáticos menos hidrofóbicos acham seu caminho dentro das proteínas por serem de menor tamanho e de elasticidade notável. Então, as mudanças nas hidrofobicidades podem implicar que mais aminoácidos aromáticos sejam expostos com a reorganização enquanto os aminoácidos alifáticos podem ser internalizados. Assim, a diminuição resultante na solubilidade poderia

explicar a diminuição da hidrofobicidade alifática observada na pesquisa de Akita e Nakai (1990a); e a hidrofobicidade aromática aumentada poderia ser em parte devida à presença de ligantes de ácidos graxos hidrofóbicos.

Um aumento na hidrofobicidade da molécula de proteína é geralmente considerado como uma das causas da diminuição da solubilidade nas proteínas. Quando a diminuição na solubilidade da proteína acontece principalmente pelo aumento da hidrofobicidade da molécula, é esperado que a diminuição da solubilidade se correlacione positivamente com as propriedades emulsificantes da proteína (AOKI et al., 1981).

Aoki et al. (1981) lipofilizaram a glicinina de soja e foram obtidas proteínas de atividade emulsificante significativamente maior que a da glicinina sem modificação e com propriedades elevadas de estabilidade das emulsões. Da mesma forma, Haque et al. (1982) ligaram resíduos palmitoil à glicinina ácida hidrofílica de soja e reportaram uma melhoria na atividade emulsificante, atividade espumante e estabilidade da espuma. Num estudo subsequente, eles ligaram resíduos palmitoil à proteína mais hidrofóbica do leite, α_{S1} -caseína, e reportaram uma grande melhoria nas propriedades funcionais de superfície da mesma (HAQUE e KITO, 1983b). A lipofilização da α_{S1} -caseína melhorou marcadamente a habilidade para formar e estabilizar emulsões. Eles viram que geralmente as proteínas menos incorporadas com ácidos graxos mostraram melhores atividades emulsificantes que as proteínas altamente incorporadas com ácidos graxos. Nestas pesquisas foi atribuído o aumento da funcionalidade a anfifilidade melhorada das proteínas. Os resultados parecem sugerir que inclusive para proteínas de relativa hidrofobicidade o balanço anfifílico pode ser melhorado por ligação de compostos hidrofóbicos (AOKI et al. 1981; HAQUE et al. 1982; HAQUE e KITO, 1983b).

No caso da proteína α_{S1} -caseína, Haque e Kito (1983b) reportaram que a natureza anfifílica melhorava dramaticamente com a incorporação covalente de resíduos palmitoil que era

primeiramente devida só à incorporação de ácidos graxos e não refletia uma mudança drástica conformacional. Mesmo assim, os autores manifestam que deve considerar-se a possibilidade de que a incorporação causasse uma mudança conformacional, expondo assim partes do centro hidrofóbico que podem agir como novos sítios de interação hidrofóbica e isto poderia contribuir para incrementar a anfifilidade da proteína além da ligação de ácidos graxos.

Akita e Nakai (1990a, 1990b) ligaram resíduos de ácido esteárico à β -lactoglobulina globular relativamente hidrofóbica e observaram uma melhoria na funcionalidade.

Tanto Haque e Kito (1983b) como Akita e Nakai (1990a), observaram que a lipofilização pode levar a um aumento da carga líquida negativa. Se a proteína for desdobrada, pode esperar-se uma estrutura de carga diferente, considerando que a ligação dos ácidos graxos acontece principalmente nos grupos amino de lisina o aumento da carga líquida negativa seria favorecido.

Na pesquisa de Akita e Nakai (1990a), o efeito da lipofilização nas várias propriedades da proteína foi dependente do grau de incorporação de ácidos graxos. As propriedades funcionais de superfície, propriedades emulsificantes e espumantes, foram geralmente melhoradas por ligação de níveis baixos e médios de ácidos graxos na proteína. Mas incorporações adicionais reduziram estas propriedades. Houve uma melhoria na anfifilidade das proteínas sem perda de solubilidade. A anfifilidade melhorada facilitou a incorporação da proteína na interface óleo-água, aumentando a habilidade da proteína para formar emulsões.

3. ARTIGOS PARA PUBLICAÇÃO

3.1 ARTIGO N°1

Caracterização da Funcionalidade das proteínas de farinha desengordurada de amendoim (*Arachis hypogaea* Lineau)

Julieta Clarisa FERREYRA, Daniel BARRERA ARELLANO, Roseane FETT.

A ser enviado para publicação em: **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**

Caracterização da Funcionalidade das proteínas de farinha desengordurada de amendoim (*Arachis hypogaea* Lineau)

Julieta Clarisa FERREYRA, Daniel BARRERA ARELLANO, Roseane FETT.

RESUMO

Foi avaliada a influência do pH e da solubilidade protéica nas propriedades emulsificantes e espumantes das proteínas de farinha desengordurada de amendoim (*Arachis hypogaea* Lineau). O pHi destas proteínas se encontra no pH de 4,0; sendo a região isoelétrica entre os valores de pH de 3,0 e 5,0. Todas as propriedades de superfície diminuíram na região isoelétrica, sendo que a atividade emulsificante e a estabilidade emulsificante ao tempo de 30 e 120 minutos diminuíram fortemente no pHi; as estabilidades emulsificantes ao calor (80°C) diminuiu em toda a região isoelétrica estendendo-se até o pH de 6,0. A atividade espumante diminuiu numa região que supera à isoelétrica, nos valores de pH de 3,0 a 7,0, aumentando consideravelmente ao pH de 2,0. As correlações da solubilidade protéica com as propriedades de superfície foram mais importantes para as propriedades emulsificantes do que para as espumantes.

Palavras-chave: amendoim, proteína, propriedades funcionais, solubilidade protéica.

SUMMARY

Characterization of Functionality of defatted peanut (*Arachis hypogaea* Lineau) flour proteins. It was evaluated the influence of the pH and solubility on emulsifying and foaming properties of totally defatted peanut (*Arachis hypogaea* Lineau) flour proteins. The pHi of these proteins is on pH 4.0; the isoelectric region is between 3.0 and 5.0 valores de pH. All the superficial properties decreased in the isoelectric region, where the emulsifying activity and stabilities (30 and 120 minutes) decreased along the region until pH 6,0. Foaming activity decreased along a larger reagon, between pH 3,0 and 7,0, increasing at pH 2,0. The correlations between solubility and those properties were more important for emulsifying properties than for foaming properties.

Keywords: peanut, protein, functional properties, protein solubility.

1 – INTRODUÇÃO

As propriedades funcionais das proteínas são definidas como todas aquelas propriedades não-nutricionais transferidas pelas proteínas aos alimentos (1), referem-se às suas características físico-químicas e às interações entre a própria proteína e os outros componentes do alimento (2), as quais influem notoriamente no processamento, estocagem e aceitação do produto final.

A solubilidade é a propriedade funcional mais importante das proteínas para a sua utilização em alimentos. Outras propriedades funcionais dependem da capacidade inicial de dispersão das proteínas em soluções aquosas, pois a sua solubilização é essencial para se avaliar outras propriedades funcionais, tais como propriedades emulsificantes e espumantes (2).

O amendoim é uma oleaginosa importante cultivada como fonte de óleo e proteínas. O interesse no componente protéico como um ingrediente funcional e nutritivo dos alimentos tem crescido desde que vários produtos comerciais de proteína de amendoim estão disponíveis para a indústria (3).

O objetivo do nosso trabalho foi caracterizar as propriedades funcionais de superfície das proteínas de farinha desengordurada de amendoim em diferentes valores de pH e suas relações com a solubilidade protéica.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 – Matéria prima:

Farinha desengordurada de amendoim (FDA), doada por Nutrin Corporation (Nutritional Ingredients); Cloreto de ácidos graxos: palmítico (AKSO); Reagentes qualidade P.A.

2.2 - Composição protéica e de aminoácidos da farinha desengordurada de amendoim:

O teor proteínas foi determinado de acordo com os métodos descritos pela AOAC (4).

A composição de aminoácidos foi determinada por LabTec, Campinas, através de análise de aminoácidos via hidrólise de proteínas (4).

2.3. – Propriedades Funcionais das proteínas da farinha desengordurada de amendoim na faixa de pH de 2,0 a 9,0.

2.3.1. - Solubilidade protéica (S%):

A solubilidade foi determinada de acordo com o método de SAEED e CHERYAN (5): soluções de 4% de proteínas foram ajustadas a diferentes valores de pH variando de 2,0 a 9,0 com soluções de NaOH e HCl, com agitação magnética durante 30 minutos e centrifugação a

2500 rpm durante meia hora. O teor protéico do sobrenadante foi determinado pelo método de Kjeldahl (4). As porcentagens de proteínas solúveis foram calculadas da seguinte maneira:

$$S(\%) = 100 * \text{teor de proteína do sobrenadante (g)} / \text{teor de proteína da amostra inicial (g)}$$

O perfil de solubilidade das proteínas foi dado pela equação de S(%) em função do pH.

2.3.2. - Atividade Emulsificante (AEm):

A atividade emulsificante (AEm) foi determinada segundo o método de YASUMATSU *et al.* (6) adaptado: soluções de 7 g de amostra e 100 mL de água destilada foram ajustadas aos valores de pH entre 2,0 e 9,0 com soluções de HCl e NaOH de qualidade P.A., agitadas por 10 segundos utilizando um mixer manual Frattina (Eletro Power) a 15000 rpm, e emulsificadas com 100 mL de óleo de soja comercial durante 120 segundos. As emulsões foram centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos. A atividade emulsificante foi calculada como segue:

$$AEm = \text{Volume final da emulsão} * 100 / \text{Volume inicial da emulsão}$$

2.3.3. - Estabilidade Emulsificante ao calor (EEmcalor):

A estabilidade emulsificante ao calor, foi determinada segundo método de YASUMATSU *et al.* (6) adaptado: foram formadas as mesmas emulsões feitas para determinar a atividade emulsificante e antes da centrifugação, foram aquecidas a 80°C por 30 minutos, foram resfriadas durante 15 minutos em água a temperatura ambiente. Depois as emulsões foram centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos. A estabilidade emulsificante foi calculada como segue:

$$EEmcalor = \text{Volume final da emulsão} * 100 / \text{volume inicial da emulsão}$$

2.3.4. - Estabilidade Emulsificante ao tempo de 30 e 120 minutos (EEm30' e EEm120'):

A mesma emulsão foi preparada para determinar a estabilidade emulsificante ao tempo, sendo que as medições foram feitas após 30 e 120 minutos de repouso, para a EEm30' e EEm120' respectivamente. Os cálculos foram feitos segundo a fórmula utilizada por HAQUE e KITO (7), como segue:

$$EEm = 100 * \text{volume da emulsão após 30 ou 120 minutos} / \text{volume da emulsão inicial}$$

2.3.5. - Atividade Espumante (AEs)

A atividade espumante (AEs) foi determinada segundo o método descrito por PUSKI (8) e KARIGULLAH e WILLS (9). Suspensões de 1% de proteínas foram ajustadas aos valores de pH entre 2,0 e 9,0 com soluções de NaOH 1N e HCl 1N, agitadas com um mixer manual Frattina (Eletro Power) a 10000 rpm durante 60 segundos em temperatura ambiente. Foi determinada então a atividade espumante segundo a fórmula utilizada por HAQUE e KITO (7) como segue:

$$AEs = (\text{volume total após agitação} + \text{volume da espuma} / \text{volume inicial} - 1) * 100$$

2.3.6. - Estabilidade Espumante ao tempo de 30 e 120 minutos (EEs30' e EEs120'):

Foi utilizado o método descrito por PUSKI (8) e KARIBULLAH e WILLS (9), seguindo o mesmo procedimento feito para determinar a atividade espumante, sendo que as medições foram feitas após 30 e 120 minutos de repouso, para a EEs30' e EEs120' respectivamente. Os cálculos foram feitos segundo a fórmula utilizada por HAQUE e KITO (7) como segue:

$$EEs = 100 * \text{volume da espuma após 30 e 120 minutos} / \text{volume inicial da espuma}$$

2.4. - Análise Estatística:

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, utilizando o programa "STATISTICA 6.0" (1998), por aplicação de análise de variância e teste de *Tukey*, aplicação de Análise de Regressão Múltipla, com nível de significância 5% ($p = 0,05$).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. - Composição química da farinha desengordurada de amendoim:

Na composição de aminoácidos da FDA (Tabela 1) pode ser observado que os aminoácidos ácidos da FDA conformam a metade dos aminoácidos totais, sendo que o Ácido Aspártico (13,5906%), o Ácido Glutâmico (22,8768%) e a Asparagina (13,5906) somam mais do 50% dos aminoácidos existentes na proteína de FDA.

TABELA 1. Composição de aminoácidos da farinha desengordurada de amendoim

Proteínas *		48,3 %
Aminoácido	% da FDA	% das Proteínas
Ala	2,2621	4,6834
Arg	7,0064	14,506
Asp	6,5643	13,5906
Gly	3,3913	7,0213
Ile	1,9366	4,0095
Leu	3,7093	7,6797
Gln	11,0495	22,8768
Lys	1,3355	2,765
Cys	0,6074	1,2575
Met	0,3263	0,6755
Phe	2,8433	5,8867
Tyr	1,6627	3,4424
Thr	1,49	3,0848
Try	0,5414	1,1209
Pro	2,4552	5,0832
Val	2,2119	4,5795
His	1,2334	2,5536
Ser	2,5556	5,291

* Fator de conversão do nitrogênio das proteínas de amendoim = 5,46 (10; 11).

3.2. - Solubilidade

O perfil da solubilidade das proteínas da FDA esta apresentado na Figura 1. A solubilidade protéica é menor para os valores de pH entre 3,0 e 5,0, representando a região isoelétrica; mínima a pH 4,0 e máxima a pH 2,0. Diferentes autores obtiveram resultados muito similares com proteínas de amendoim (10, 11, 12). McWATTERS *et al.* (11) também determinaram que a região isoelétrica se encontrava entre os valores de pH de 3,0 e 5,0.

Foi determinado em testes preliminares que o pHi das proteínas da FDA se encontrava no pH 4,0. Segundo RHEE *et al.* (10), o pHi, que seria o pH ótimo para a precipitação de proteínas de amendoim, é de $4,0 \pm 0,25$. A existência de um teor elevado de aminoácidos ácidos (Ácido aspártico, Ácido glutâmico e Asparagina) (ver Tabela 1) teria influenciado no baixo pHi da proteína de FDA.

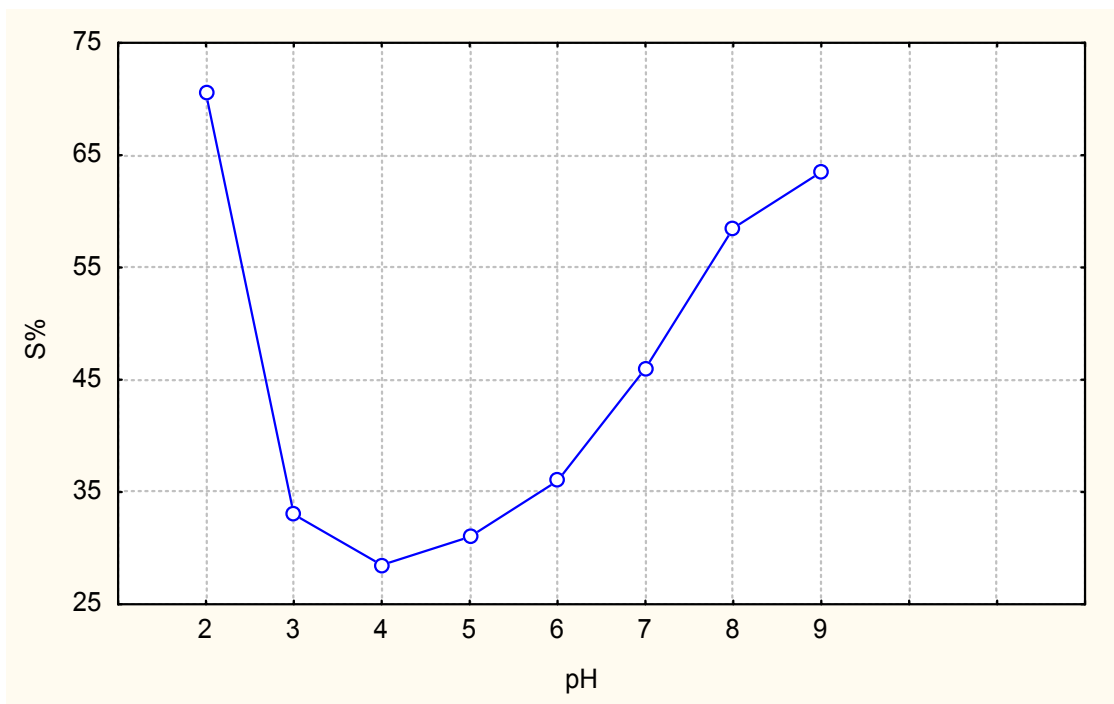


FIGURA 1. Perfil de solubilidade protéica da FDA aos valores de pH entre 2,0 e 9,0.

3.3 - Propriedades emulsificantes

As propriedades emulsificantes das proteínas da FDA foram fortemente afetadas pelo pH (Figura 2). A atividade emulsificante diminuiu na região isoelétrica. As estabilidades emulsificantes ao tempo (30 e 120 minutos) diminuíram no pHi (4,0); a estabilidade emulsificante ao calor (80°C) diminuiu em toda a região isoelétrica, estendendo-se até o pH 6,0 sem diferenças significativas. Foram encontrados resultados similares por McWATTERS e HOLMES (3), com propriedades emulsificantes pobres no pHi das proteínas de amendoim, que melhoravam a medida que se afastava da região isoelétrica devido a um aumento na carga elétrica que aumenta a solubilidade protéica.

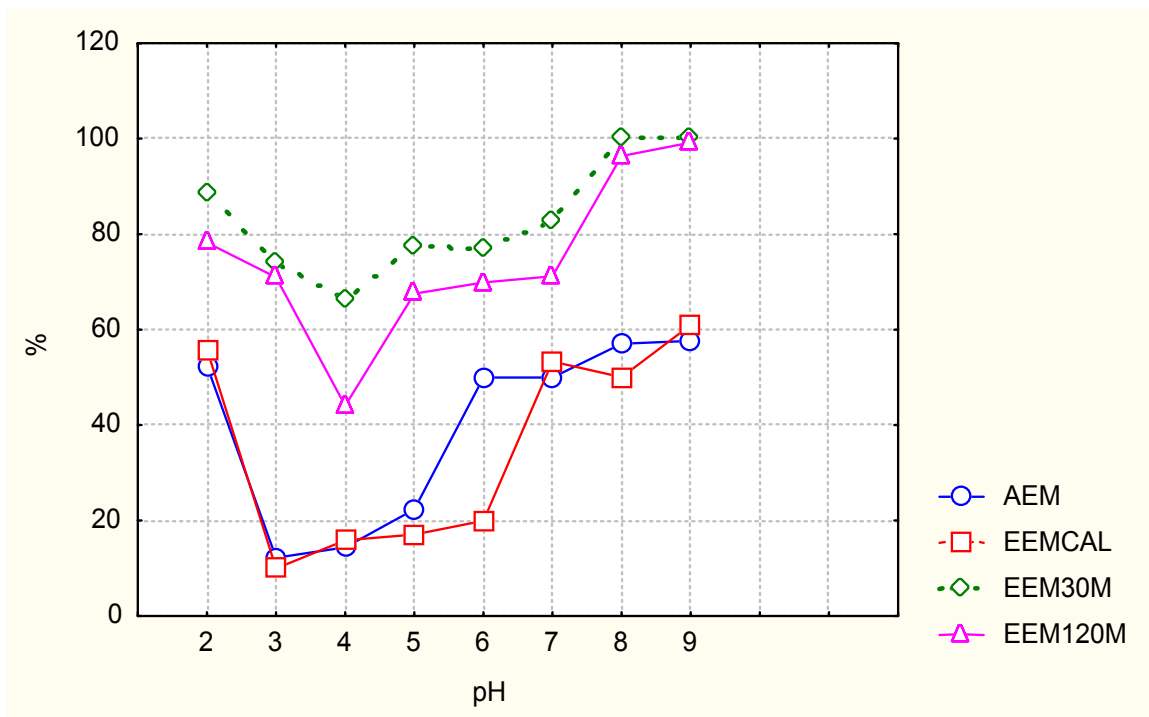


FIGURA 2. Perfil das propriedades emulsificantes da FDA aos valores de pH de 2,0 a 9,0.

AEM (atividade emulsificante); EEMCAL (estabilidade emulsificante ao calor, 80°C), EEM30M e EEM120M (estabilidade emulsificantes ao tempo de 30 e 120 minutos respectivamente). (n = 5).

As proteínas da FDA possuem uma boa estabilidade emulsificante ao calor; pode ser observado na Figura 2 que as curvas de atividade emulsificante e estabilidade emulsificante ao calor são similares, só se afastando no pH 6,0, indicando que os valores da atividade emulsificante não diminuem fortemente por causa da ação do calor (80°C).

As curvas de estabilidade emulsificante a 30 e 120 minutos mostram uma correlação entre o tempo transcorrido e a diminuição da estabilidade da emulsão. Todavia, se afastam mais no pHi, onde a estabilidade é mínima, e são praticamente iguais ao pH de 9,0, apresentando neste pH a maior estabilidade emulsificante.

As correlações entre as propriedades emulsificantes e a solubilidade protéica são positivas e estatisticamente significativas, havendo também correlações positivas nas propriedades emulsificantes entre si. A correlação com a solubilidade explica porque no pHi as propriedades emulsificantes são mínimas coincidindo com outros pesquisadores (3, 13). Mas existem controvérsias frente a esta correlação, já que alguns autores (7, 11) afirmam que não há uma boa correlação entre a solubilidade protéica e as propriedades emulsificantes das proteínas.

3.4. - Propriedades Espumantes

As propriedades espumantes diminuem na região dos valores de pH entre 3,0 e 7,0 (Figura 3) que é maior à região isoelétrica, ocorrendo um aumento não significativo a pH 5,0. A atividade espumante não apresenta diferenças significativas nos valores de pH de 3,0 a 7,0; aumenta consideravelmente nos extremos, sendo máxima ao pH ácido de 2,0, onde supera em mais de 475% os valores da região isoelétrica. Este fenômeno pode ser explicado com o aumento da viscosidade das espumas que ocorre a valores de pH ácidos e alcalinos (14). As

estabilidades espumantes (30 e 120 minutos) apresentam variações menos pronunciadas na curva dos valores de pH entre 2,0 e 9,0.

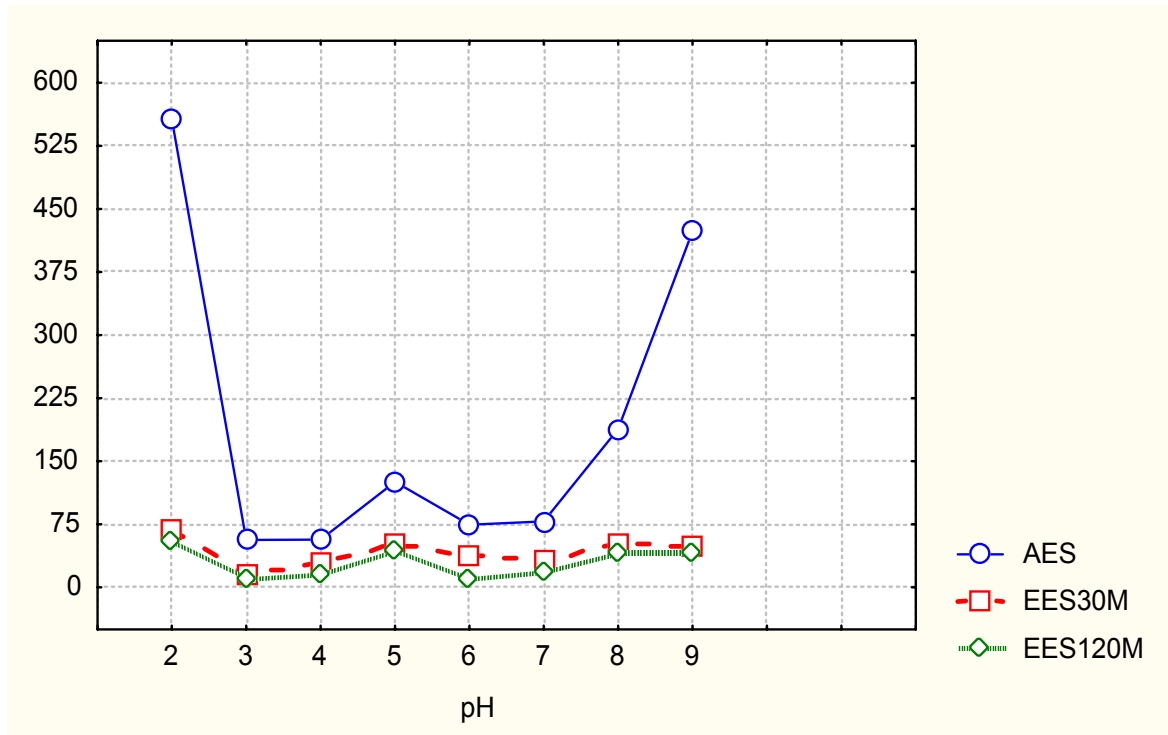


FIGURA 3. Perfil de propriedades espumantes das proteínas da FDA aos valores de pH entre 2,0 e 9,0.

AES (atividade espumante) EES30M e EES120M (estabilidades espumantes ao tempo de 30 e 120 minutos respectivamente). n = 5.

A solubilidade protéica influi na atividade espumante da FDA, sendo menor quando menor é a solubilidade, contudo, os valores encontrados no pHi e no pH neutro são semelhantes. Observações similares foram feitas por McWATTERS *et al.* (11) e McWATTERS e CHERRY (10). Houve uma boa correlação estatisticamente significativa entre a solubilidade protéica e a atividade espumante, que foi menor para a estabilidade espumante a 120 minutos, sendo não significativa para a estabilidade espumante a 30 minutos. As propriedades espumantes entre si apresentam boas correlações, sendo todas estatisticamente significativas.

4. – CONCLUSÃO

O pHi de estas proteínas se encontra no pH de 4,0, a região isoelétrica se encontra entre os valores de pH de 3,0 e 5,0. O alto teor de aminoácidos ácidos da FDA pode ter influenciado no pHi desta proteína.

As propriedades emulsificantes diminuíram na região isoelétrica, sendo que, a estabilidade emulsificante ao tempo diminuiu em toda a região isoelétrica, e a estabilidade emulsificante ao calor (80°C) diminuiu no pHi. As correlações destas propriedades com a solubilidade foram todas significativas.

A atividade espumante diminuiu numa região maior à isoelétrica, com um aumento não significativo ao pH 5,0; aumentando aos extremos das curvas. A estabilidades espumantes (30 e 120 minutos) apresentam variações pouco pronunciadas nos diferentes valores de pH. A solubilidade protéica apresentou uma boa correlação com a atividade espumante, não acontecendo o mesmo com as estabilidades espumantes.

Ainda que foram observadas correlações significativas nas propriedades emulsificantes entre si e espumantes entre si, não existe tal correlação entre propriedades emulsificantes e espumantes.

5. - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) ROUSSEL-PHILLIPPE C, PINA M, GRAILLE J. Chemical lipophilization of soy proteins isolates and wheat gluten. *Eu J Lipid Sci Tec*, 2000; 102(2):97-101.
- (2) KINSELLA JE. *Functional Properties of Proteins in Foods: a Suvey*. CRC-Critical Reviews in Food. *Sci Nutrition*, 1976; 7:219-80.

- (3) McWATTERS KH, HOLMES MR. Salt Concentration, pH, and Flour Concentration Effects on Nitrogen Solubility and Emulsifying Properties of Peanut Flour. *J Food Sci*, 1979a; 44(3):765-9.
- (4) AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. AOAC. 15th ed. Washington, DC, 1995.
- (5) SAEED M, CHERYAN M. Sunflower protein concentrates and isolates low in polyphenols and phytate. *J Food Sci*, 1988; 53(4):1127-43.
- (6) YASUMATSU K, SAWADA K, MORITAKA S, MISAKI M, TODA J, WADA T, ISHII K. *Agr Bio Chem*, 1972; 36(5):719-27.
- (7) HAQUE Z, KITO M. Lipofilization of α_{s1} -casein. 2. Conformational and functional effects. *J Agric Food Chem*, 1983b; 31(6):1231-7.
- (8) PUSKI G. Modification of functional properties of soy proteins by proteolytic enzyme treatment. *Cereal Chem*, 1975; 54:655-64.
- (9) KARIBULLAH M, WILLS RB. J. Functional properties of acetylated and succinilated sunflower protein isolate. *Food Tec*, 1982; 17(2):235-49.
- (10) McWATTERS KH, CHERRY JP. Emulsification, Foaming and Protein Solubility Properties of Deffated Soybean, Peanut, Field Pea and Pecan Flours. *J Food Sci*, 1977; 42(6):1444-7.
- (11) AYRES JL, BRANSCOMB LL, ROGERS GM. Processing of Endible Peanut Flour and Grits. *J Am Oil Chem Soc*, 1974; 51(4):133-6.
- (12) HAQUE Z, MATOBA T, KITO M. Incorporation of Fatty Acid into Food Protein Soybean Glycinin. *J Agric Food Chem*, 1982; 30:481-8.

(13) CONKERTON EJ, ORY RL. Peanut Proteins as Food Supplements: A Compositional Study of Selected Virginia and Spanish Peanuts. *J Am Oil Chem Soc*, **1976**; 53(12):754-6.

(14) CHEFTEL JC, CUQ JL, LORIENT D. Aminoácidos, Péptidos y Proteínas. In: FENNEMA OR, editors. *Química de los alimentos*. Zaragoza, Espana, Ed. Acribia S.A. 1993, Cap.5, p. 275-414,.

3.2 ARTIGO Nº 2

Lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim (*Arachis hypogaea* Lineau) e seu efeito sobre as propriedades espumantes

Julieta Clarisa FERREYRA, Maria LAMUS UVAROVA, Daniel BARRERA ARELLANO,
Roseane FETT.

A ser enviado para publicação em: **Journal of Agricultural and Food Chemistry**

**Lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim
(*Arachis hypogaea* Lineau) e seu efeito sobre as propriedades espumantes**

Julieta Clarisa FERREYRA, Maria LAMUS UVAROVA, Daniel BARRERA ARELLANO,
Roseane FETT.

ABSTRACT

Lipofilization of peanut (*Arachis hypogaea* Lineau) defatted flour proteins and its effect on foaming properties. Peanut (*Arachis hypogaea* Lineau) totally defatted flour protein was lipophilized with palmitic acid chloride in three ratios of protein:chloride of palmitic acid (1:0,5; 1:1; 1:2). The total yield of lipophilization was similar for all the ratios. The yield of proteins decreased with the incorporation of fatty acids. The incorporation of fatty acids was not only on free amino group of lysine residues, but other free groups of aminoacids also reacted with fatty acids. The foaming estabilities (30 and 120 minutes) significantly increased in more incorporated with fatty acids lipophylized flours (1:1 and 1:2), with a not significant increased in less incorporated lipophylized flour (1:0,5). The foaming activity significantly decreased in the three lipophilized flours without significantly differences among them for this propertie.

Keywords: lipophilization, peanut, protein, fatty acid chloride, foaming properties.

RESUMO

Foram lipofilizadas proteínas de farinha desengordurada de amendoim com Cloreto de ácido palmítico, em três razões de proteína:cloreto de ácido palmítico p/p (1:0,5; 1:1 e 1:2) e avaliados o rendimento protéico e da matéria seca, assim como as propriedades espumantes

das proteínas lipofilizadas e sem lipofilizar. O rendimento da matéria seca da lipofilização foi similar para as três razões. O rendimento protéico diminuiu com o grau de incorporação de ácidos graxos. A incorporação dos ácidos graxos não ocorreu unicamente na lisina, mas também em outros aminoácidos com grupos reativos. As estabilidades espumantes (30 e 120 minutos) aumentaram significativamente nos lipofilizados mais incorporados com ácidos graxos (1:1 e 1:2), com um aumento não significativo no lipofilizado menos incorporado (1:0,5). A atividade espumante diminuiu significativamente nos três lipofilizados sem apresentar diferenças significativas entre eles para esta propriedade.

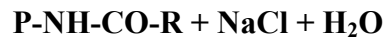
Palavras-chave: lipofilização, amendoim, proteína, cloreto de ácido graxo, propriedades espumantes.

1 - INTRODUÇÃO

É possível modificar química ou enzimaticamente as proteínas alimentícias para alterar a carga líquida, a hidrofobicidade e a estrutura, modificando assim a funcionalidade das proteínas (1); no caso da modificação da hidrofobicidade, existem vários métodos, é o que se denomina em forma geral como lipofilização. O aumento da hidrofobicidade é induzido por ligação de compostos hidrofóbicos, com a finalidade de aumentar a afinidade das proteínas por moléculas relativamente apolares ou anfífilas (2).

Dentre os métodos já avaliados para ligar grupos hidrofóbicos e mudar a hidrofobicidade das proteínas estão incluídos: ligação de ácidos graxos, alquilação redutora, reações enzimáticas ou químicas para ligar aminoácidos hidrofóbicos, tratamento com surfactantes, modificação alcóolica e desaminação do glúten (1; 3). Em este como em outros estudos (3; 4), ácidos graxos são utilizados como ligantes, cuja vantagem é que estes existem naturalmente nos alimentos e no corpo humano (3). A lipofilização é um tipo de acilação onde reagem cloretos

de ácidos graxos com os grupos amina livre em meio alcalino, resultando na inclusão ou enlaçamento de ácidos graxos na molécula protéica. A reação chamada de “reação Schotten-Baumann” é:



(5).

Os grupos ϵ -amino dos resíduos de lisina são os que reagem predominantemente (2; 3; 4), todavia, outros grupos livres como hidroxilos, tiol (2; 5) e sulfidrilo (6) de outros aminoácidos podem reagir também.

O objetivo do nosso trabalho foi avaliar a lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim em três razões de proteínas: cloreto de ácido palmítico e o seu efeito nas propriedades espumantes destas proteínas.

2 . MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Farinha desengordurada de amendoim (FDA) (*Arachis hypogaea* Lineau), doada por Nutrin Corporation (Nutritional Ingredients). Foi empregado um mesmo lote para todo o experimento. Cloreto de ácido palmítico: Nippon Fine Chemicals Co. Ltda, Osaka. Reagentes qualidade P.A.

2.2- Métodos

2.2.1- Lipofilização

A Lipofilização da FDA foi feita pela metodologia apresentada por ROUSSEL-PHILIPPE et al. (5), da seguinte forma: foi preparada uma solução aquosa com a FDA em uma relação farinha: água de 1:7,5, ajustado o pH a 9,0 com solução NaOH 6N e mantida sob agitação

durante 15 minutos. Foi adicionado o cloreto de ácido palmítico gota a gota, mantendo o pH a 9,0 e sob agitação constante. As razões de proteína da FDA: cloreto de ácido palmítico utilizadas foram p/p 1:0,5 (L1:0,5); 1:1 (L1:1) e 1:2 (L1:2), independentemente do teor de lisina e outros grupos reativos da proteína. Foram feitas três lavagens, para retirar os ácidos graxos livres ou em forma de sabão e o NaCl formado na reação, com adição de água destilada ajustada no pH (4,0), agitação e posterior centrifugação a 10000 rpm por 25 minutos. Os precipitados obtidos foram secados e posteriormente moídos com um triturador Knifec 1095 Sample Mill Foss Tecator (refrigerado com água circulante).

2.2.2 Porcentagem de ácidos graxos totais, covalentes e iônicos.

A quantidade de ácidos graxos ligados de forma covalente à proteína foi calculada seguindo a metodologia de ROUSSEL (7), pela diferença entre a quantidade de ácidos graxos totais e aqueles ácidos graxos ligados de forma iônica à proteína, determinados de acordo com os métodos descritos pela AOAC (8).

Cálculo da taxa de incorporação de ácidos graxos covalentes: Ac. Graxos ligados

Covalentemente = Ac. Graxos Totais – Ac. Graxos iônicos.

2.2.3 - Ácidos graxos incorporados à Lisina

Foram calculados os micromoles de lisina e os micromoles de ácidos graxos ligados covalentemente (AGC) por grama de proteína seguindo a metodologia de ROUSSEL (7).

$\mu\text{moles de AGC/gr de proteína} = \text{gr de AGC por gr de proteína} / \text{PM do cloreto de ácido palmítico} * 1000000$

$\mu\text{moles de Lys/gr de proteína} = \text{gr de Lys por gr de proteína} / \text{PM da Lys} * 1000000$

2.2.4 - Rendimento da matéria seca (RMS)

O rendimento da matéria seca foi calculado para cada razão de proteína da FDA : cloreto de ácido palmítico 1:0,5 (L1:0,5), 1:1 (L1:1) e 1:2 (L1:2) da seguinte forma seguindo a metodologia de ROUSSEL (7):

$$\text{RMS} = (\text{peso da Matéria seca do Lipofilizado obtido (g)} * 100) / (\text{quantidade utilizada de Farinha (g)} + \text{quantidade utilizada dos Cloretos de ácido palmítico (g)})$$

2.2.5 - Rendimento protéico (RP)

O rendimento protéico foi calculado segundo a metodologia de ROUSSEL-PHILIPPE et al. (5) para cada razão de proteína da FDA: cloreto de ácido palmítico 1:0,5 (L1:0,5), 1:1 (L1:1) e 1:2 (L1:2) através da determinação do teor de proteínas (8).

$$\text{RP} = \text{Teor de proteínas do lipofilizado final} * 100 / \text{teor de proteínas da FDA}$$

2.3 Avaliação das propriedades espumantes a pH 7,0.

A atividade espumante (AEs) foi determinada segundo o método descrito por PUSKI (9) e KARIBULLAH e WILLS (10). Suspensões de 1% de proteínas foram ajustadas a pH 7 com uma solução de NaOH 1N e agitadas com um mixer manual Frattina (Eletro Power) a 10000 rpm durante 60 segundos em temperatura ambiente. Foi determinada então a Atividade espumante segundo a fórmula utilizada por HAQUE e KITO (4) como segue:

$$\text{AEs} = (\text{volume total após agitação} + \text{volume da espuma} / \text{volume inicial} - 1) * 100$$

Para a determinação das estabilidades espumantes ao tempo de 30 e 120 minutos (EEs30' e EEs120') foi utilizado o método descrito por PUSKI (1975) e KARIBULLAH e WILLS (10), seguindo o mesmo procedimento feito para determinar a atividade espumante, sendo que as medições foram feitas após 30 e 120 minutos de repouso, para a EEs30' e EEs120'

respectivamente. Os cálculos foram feitos segundo a fórmula utilizada por HAQUE e KITO (4) como segue:

$$EEs = 100 * \text{volume da espuma após 30 e 120 minutos} / \text{volume inicial da espuma}$$

2.4 Análise estatística dos resultados

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, utilizando o programa "STATISTICA 6.0" (1998), por aplicação de análise de variância e teste de *Tukey*, com nível de significância 5% ($p = 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 - Incorporação de ácidos graxos à proteína.

Os resultados apresentados na Tabela 1 representam o teor de ácidos graxos totais, iônicos e covalentes. Com o aumento da relação proteína:cloreto de ácido palmítico, os ácidos graxos ligados covalente e iônicamente aumentaram quase duplicando do L1:0,5 para o L1:1, porém, do L1:1 para o L1:2 o aumento não foi da mesma magnitude devido à menor quantidade de grupos livres de aminoácidos disponíveis para a reação.

TABELA 1. Porcentagem de ácidos graxos totais (AGT), iônicos (AGI) e covalentes (AGC) dos lipofilizados da FDA

Amostra	AGT%	AGI%	AGC%
L1:0,5	15,7	11,23	4,47
L1:1	30,98	22,35	8,63
L1:2	33,78	24,05	9,73

Os micromoles de ácidos graxos covalentes das razões L1:1 e L1:2 excederam, em 1,66 e 1,87 vezes respectivamente, os micromoles de lisina presentes nas proteínas da FDA (Tabela 2), portanto, a lisina não é o único aminoácido que pode ligar ácidos graxos no seu grupo amino, outros grupos livres devem ter reagido, como hidroxilos, tioéster e sulfidrilo. Dados

similares foram encontrados por outros pesquisadores; HAQUE e KITO (4) observaram que os grupos ϵ -amino da lisina são os que reagem predominantemente, mas que a ligação também ocorre com a tirosina e possivelmente com a treonina; ROUSSEL-PHILIPPE et al. (5) também deduziram que outros aminoácidos reagem além da lisina, sendo que o número de micromoles de ácidos graxos covalentes foi de 2 a 3 vezes maior que o número de micromoles de lisina de proteínas de isolado protéico de soja e de glútem de trigo. Eles observaram que só de 70 a 95% dos grupos amino de lisina reagiam segundo o grau de incorporação de ácidos graxos.

TABELA 2. Ácidos graxos incorporados covalentemente à proteína.

Amostra	AGC* / gr de proteína	AGC (μ mol) / gr de proteína**	μ moles de Lys / gr de proteína***
L1:0,5	0,0447	162,62	189,137
L1:1	0,0863	313,96	189,137
L1:2	0,0973	353,98	189,137

* Ácidos graxos covalentes

** Peso molecular do Cloreto de ácido palmítico = 274,87.

*** Lys: 2,765 gr/100 gr de FDA. Peso molecular da Lys = 146,19.

3.2 Rendimento da Lipofilização

3.2.1 Rendimento da matéria seca

O rendimento da matéria seca em relação à massa total utilizada na lipofilização da FDA (Tabela 3) foi muito similar para os três lipofilizados, sendo maior para o L1:1 (80,46%).

Resultados similares foram encontrados por HAQUE et al. (11), quando a glicinina de soja de menor grau de incorporação de ácidos graxos apresentou um rendimento de 77%, porém, a glicinina com maior grau de incorporação só rendeu em 54%.

TABELA 3. Rendimento da matéria seca em relação à massa total da lipofilização de FDA.

Amostra	Massa Total*	Matéria Seca**	Rendimento %
L1:0,5	165	127	76,97
L1:1	215	173	80,46
L1:2	270	210	77,77

* Soma das gramas de FDA e cloreto de ácido palmítico utilizado para cada razão de lipofilização

** Gramas de matéria seca obtidas após a lipofilização

3.2.3 Rendimento protéico da lipofilização

O rendimento protéico diminuiu assim que aumentou o grau de incorporação de ácidos graxos (Tabela 4). Na pesquisa feita por ROUSSEL-PHILIPPE et al. (5), o rendimento protéico foi de 93 a 97%. No caso da FDA, o maior rendimento foi para o L1:0,5 (92,44%). Sendo que as lavagens foram feitas no pH_i durante a lipofilização, a perda real de proteínas é mínima, mas no produto final lipofilizado a porcentagem de proteínas é menor dado o aumento do teor de ácidos graxos.

TABELA 4. Rendimento protéico da lipofilização de FDA.

Amostra	Proteínas (%)*	Rendimento protéico %
FDA	48,3	-
L1:0,5	44,65	92,44
L1:1	34,36	71,13
L1:2	28,07	58,11

* Fator de conversão do nitrogênio das proteínas de amendoim = 5,46 (12; 13).

3.3 Propriedades Espumantes a pH7

A pesar de que as atividades espumantes dos três lipofilizados foram significativamente menores que a da FDA (Figura 1), as estabilidades espumantes a 30 e 120 minutos dos lipofilizados L1:1 e L1:2 mostraram um aumento muito significativo em comparação com a FDA, sendo que no lipofilizado L1:0,5 também aumentaram. Resultados similares foram encontrados por HAQUE e KITO (4) quando a estabilidade espumante a 30 minutos foi

excelente para a α_{s1} -caseína mais incorporada com ácidos graxos. No caso das proteínas de FDA, a estabilidade espumante não chega a 40%, superando os 90% no L1:1 e chegando a 100% no caso do L1:2.

É provável que a incorporação de ácidos graxos tenha sido excessiva para aumentar a atividade espumante, efeito que foi observado por AKITA e NAKAI (3), quando um pequeno aumento na capacidade espumante ocorreu nas proteínas modificadas com uma incorporação baixa e média de ácidos graxos, sendo que a proteína de incorporação alta deu uma capacidade espumante muito pobre.

O aumento ocorrido nas estabilidades espumantes dos lipofilizados pode ter ocorrido pela junção de dois fatores que favorecem o aumento desta propriedade: a desnaturação protéica e o aumento da hidrofobicidade. A desnaturação protéica dá uma maior estabilidade à espuma por formar uma estrutura mais coesiva no redor das células de ar, acentuando também as interações proteína-proteína, sendo este um fator não só necessário para a estabilidade protéica (14), senão o que mais contribui para aumentá-la (15). Por outro lado, ao aumentar a hidrofobicidade, diminui a tensão interfacial das espumas, favorecendo a estabilidade das mesmas, devido a que a região hidrofóbica das proteínas aumenta a resistência à migração para a fase aquosa (1; 4; 16).

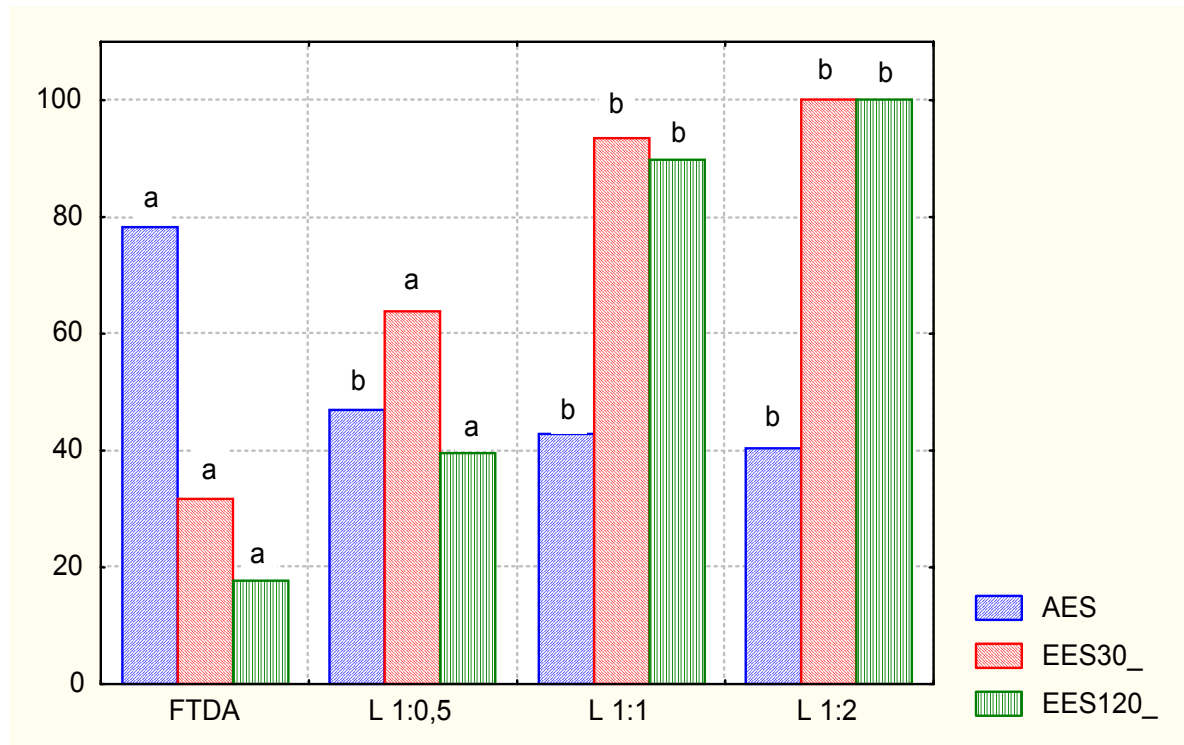


FIGURA 1. Propriedades espumantes da FDA e seus lipofilizados L1:0,5, L1:1 e L1:2, a pH7.

AES (atividade espumante) EES30- e EES120- (estabilidades espumantes ao tempo de 30 e 120 minutos respectivamente). Colunas da mesma propriedade acompanhadas pela mesma letra, não apresentam diferenças significativas ($n = 5$; $p = 0,05$).

4. CONCLUSÃO

Foi comprovado que pode ser feita a lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim. A ligação de ácidos graxos não ocorre somente nos grupos amino de lisina, mas também em outros grupos livres dos aminoácidos desta proteína. O rendimento da matéria seca da lipofilização foi similar para os três lipofilizados (L1:0,5, L1:1 e L1:2). O rendimento protéico diminuiu com o aumento do grau de incorporação de ácidos graxos. A ligação de ácidos graxos covalentes no L1:1 dobrou ao L1:0,5, não acontecendo o mesmo do L1:2 para o L1:1, devido à saturação dos grupos livres para ligação de ácidos graxos.

A atividade espumante diminuiu significativamente nos três lipofilizados de FDA, sem diferenças significativas entre eles. As estabilidades espumantes (30 e 120 minutos) aumentaram significativamente nos lipofilizados mais incorporados com ácidos graxos (1:1 e 1:2), no lipofilizado menos incorporado com ácidos graxos (1:0,5) este aumento não foi estatisticamente significativo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) NAKAI, S. Structure-Function Relationships of Food Proteins with an Emphasis on the Importance of Protein Hydrophobicity. *J Agric Food Chem*, **1983**, 31(4):676-683.
- (2) KITO, M. Chemical and physical lipophilization of proteins. Papers from the symposium on Chemical modification of proteins. *J Am Oil Chem Soc*, **1987**, 64(12):1676-1681.
- (3) AKITA, E. M., NAKAI, S. Lipophilization of β -lactoflobulin: Effect on Hydrophobicity, Conformation and Surface Funcional Properties. *J Food Sci*, **1990a**, 55(3):711-717.
- (4) HAQUE Z.; KITO M. Lipofilization of α_{s1} -casein. 2. Conformational and functional effects. *J Agric Food Chem*, **1983b**, 31(6):1231-1237.
- (5) ROUSSEL-PHILLIPPE, C.; PINA, M.; GRAILLE, J. Chemical lipophilization of soy proteins isolates and wheat gluten. *Eu J Lip Sci Tec*, **2000**, n(2):97-101.
- (6) BEUCHAT, L. R. Functional and electroforetic characteristics of succinylated peanut flour proteins. *J Agric Food Chem*, **1977**, 25(2)258.
- (7) ROUSSEL, C. Etude de differents procedes de liphphilisation des proteines: Application aux protéines de soja et au glúten de blé. 1998. 217 f. These (Docteur Sciences des Agrossources) L'Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 1998.
- (8) AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. *AOAC*, **1995**, 15th ed. Washington, DC.

- (9) PUSKI G. Modification of functional properties of soy proteins by proteolytic enzyme treatment. *Cereal Chem*, **1975**, 54:655-664.
- (10) KARIBULLAH M.; WILLS R.B. J. Functional properties of acetylated and succinylated sunflower protein isolate. *Food Tec*, **1982**, 17(2):235-249.
- (11) HAQUE, Z.; MATOBA, T.; KITO, M. Incorporation of Fatty Acid into Food Protein Soybean Glycinin. *J Agric Food Chem*, **1982**, 30:481-488.
- (12) RHEE, K. C.; CARTER, C. M.; MATTIL, F. Effects of Processing pH on de Properties of Peanut Protein Isolates and Oil. *Cereal Chem*, **1973**, 50(4):395-404.
- (13) McWATTERS, H. K.; CHERRY, J. P.; HOLMES, M. R. Influence of Suspension Medium and pH on Functional and Protein Properties of Defatted Peanut Meal. *J Agric Food Chem*, **1976**, 24(3):517-523.
- (14) KINSELLA, J. E. Functional Properties of Proteins in Foods: a Suvey. CRC-Critical Reviews in Food. *Sci Nutrition*, **1976**, 7:219-280.
- (15) YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S.; MISAKI, M.; TODA, J.; WADA, T.; ISHII, K. *Agric Biol Chem*, **1972**, 36(5):719-727.
- (16) KESHAVARZ, E.; NAKAI, S. The Relationship between Hydrofobicity and Interfacial Tension of Proteins. *Biochem Biophi Acta*, **1979**, 576(2):269-279.

3.3 ARTIGO N° 3

Efeito da lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim (*Arachis hypogaea* Lineau) sobre as propriedades emulsificantes e capacidades de retenção de água e óleo

Julieta Clarisa FERREYRA, Maria LAMUS UVAROVA, Daniel BARRERA ARELLANO,
Roseane FETT.

A ser enviado para publicação em: **Grasas y Aceites**

Efeito da lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim (*Arachis hypogaea* Lineau) sobre as propriedades emulsificantes e capacidades de retenção de água e óleo

Julieta Clarisa FERREYRA, Maria LAMUS UVAROVA, Daniel BARRERA ARELLANO,
Roseane FETT.

ABSTRACT

Effect of Lipophilization of peanut (*Arachis hypogaea* Lineau) defatted flour proteins on its emulsifying properties and water and oil binding capacities. Peanut (*Arachis hypogaea* Lineau) totally defatted flour protein was lipophilized with palmitic acid chloride in three ratios of protein:chloride of palmitic acid (1:0,5; 1:1; 1:2). Emulsifying properties and oil and water binding capacities of the flour with and without lipophilization were evaluated at pH 7. The properties's modifications in lipophilized flours were: a significantly increased in water binding capacity on the three lipophilized flours, a significantly increased in oil binding capacity on the lipophilized flour of more ratio (1:1 and 1:2) with a not significant increased for the smallest ratio (1:0,5). Emulsifying capacities of all lipophilized flours and emulsifying stabilities of lipophilized of more ratio (1:1 and 1:2) significantly decreased. Protein solubility significantly decreased at pH of 4,0 and 7,0, what could have denaturated proteins fo lipophilized flour with more ratio, influying other evaluated properties. It was demonstrated tha lipophilization of defatted peanut flour changes protein's functionality.

Keywords: emulsifying properties, fatty acid chloride, lipophilization, oil binding capacity, peanut, water binding capacity.

RESUMO

Foram lipofilizadas proteínas de farinha desengordurada de amendoim (*Arachis hypogaea* Lineau) com cloreto de ácido palmítico, em três razões de proteína:cloreto de ácido palmítico (1:0,5; 1:1 e 1:2). Foram determinadas as propriedades emulsificantes e capacidade de retenção de água e óleo da farinha e seus três lipofilizados a pH 7. As modificações nestas propriedades funcionais dos lipofilizados foram: um aumento significativo nas capacidades de retenção de água para os três lipofilizados, um aumento da capacidade de retenção de óleo dos lipofilizados de maior razão (1:1 e 1:2) com um aumento não estatisticamente significativo na menor razão (1:0,5). Houve uma diminuição na capacidade emulsificante de todos os lipofilizados e na estabilidade emulsificante ao tempo (30 e 120 minutos) nos lipofilizados de maior razão (1:1 e 1:2). A solubilidade das proteínas diminuiu significativamente em todos os lipofilizados aos valores de pH neutro e isoelétrico, o que pode ter desnaturado as proteínas dos lipofilizados com maior incorporação de ácidos graxos, influenciando no resto das propriedades avaliadas. Ficou demonstrado que a lipofilização da farinha desengordurada de amendoim modifica a funcionalidade das proteínas.

Palavras-chave: amendoim, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de óleo, cloreto de ácido graxo, lipofilização, propriedades emulsificantes.

1. INTRODUÇÃO

A produção de proteínas modificadas está centrada principalmente em fornecer novos ingredientes à indústria de alimentos, que permitam melhorar as características organolépticas e/ou as condições de sua utilização (Roussel-Philippe et al., 2000).

A maior proporção do amendoim produzido é destinada à extração do óleo. A torta de amendoim, produto resultante da extração do óleo, é considerada como uma fonte potencial

de proteínas, de alto valor biológico para a alimentação humana. Concentrados, isolados protéicos e farinhas de amendoim estão sendo utilizados para fortificar alimentos (Campos Lasca, 2001).

As propriedades funcionais podem ser modificadas através da lipofilização, como foi comprovado em vários estudos com diversas matérias primas, onde as propriedades emulsificantes e/ou espumantes foram aumentadas: com proteínas de soja, Aoki et al. (1981); com proteínas glicínicas de soja, Haque et al. (1982); com α 1-caseína do leite, Haque e Kito (1983a, 1983b e 1984); com β -lactoglobulina do leite, Akita e Nakai (1990a); com proteínas de soja e de glútem de trigo (Roussel-Philippe et al.; 2000); entre outros.

O termo lipofilização se refere ao fenômeno geral onde a hidrofobicidade da molécula de proteína aumenta por modificação química (Aoki et al., 1981), induzida por ligação de compostos hidrófobos com a finalidade de aumentar a afinidade das proteínas por moléculas relativamente apolares ou anfífilicas (Kito, 1987).

O objetivo desta pesquisa foi avaliar as mudanças causadas por lipofilização com ácidos graxos nas propriedades emulsificantes e de retenção de água e óleo das proteínas de farinha desengordurada de amendoim.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Farinha desengordurada de amendoim (FDA) (*Arachis hypogaea* Lineau), doada por Nutrin Corporation (Nutritional Ingredients). Foi empregado um mesmo lote para todo o experimento. Cloreto de ácido palmítico: Nippon Fine Chemicals Co. Ltda, Osaka. Reagentes qualidade P.A.

2.2 Lipofilização

A lipofilização da FDA foi realizada utilizando-se a metodologia apresentada por Roussel-Philippe et al. (2000), da seguinte forma: foi preparada uma solução aquosa com a FDA em uma relação farinha: água de 1: 7,5, ajustado o pH a 9,0 com solução NaOH 6N e mantida sob agitação durante 15 minutos. Foi adicionado o cloreto de ácido palmítico gota a gota, mantendo o pH a 9,0 e sob agitação constante. As razões de proteína da FDA: cloreto de ácido palmítico utilizadas foram p/p 1:0,5; 1:1 e 1:2, independentemente do teor de lisina e outros grupos reativos da proteína. Foram feitas três lavagens, para retirar os ácidos graxos livres ou em forma de sabão e o NaCl formado na reação, com adição de água destilada ajustada no pH (4,0), agitação e posterior centrifugação a 10000 rpm por 25 minutos. Os precipitados obtidos foram então secados e posteriormente moídos com um triturador Knifec 1095 Sample Mill Foss Tecator (refrigerado com água circulante).

2.3 Avaliação de propriedades funcionais

2.3.1 Solubilidade protéica (S%) a pH 4,0 e 7,0

A solubilidade foi determinada de acordo com o método de Saeed e Cheryan (1988): soluções de 4% de proteína foram ajustadas aos valores de pH de 4,0 e 7,0 com soluções de NaOH ou de HCl, agitadas durante 30 minutos e centrifugadas a 2500 rpm durante meia hora. O nitrogênio do sobrenadante foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995). A porcentagem de proteína solúvel foi dada pela equação:

$$S (\%) = 100 * \text{teor de proteína do sobrenadante (g)} / \text{teor de proteína da amostra inicial (g)}$$

A análise foi feita em triplicata para cada amostra em cada pH.

2.3.2 Capacidade Emulsificante (CE) a pH 7,0

A capacidade emulsificante foi medida segundo o método de Beuchat (1977) modificado. Soluções de 1% de proteínas, ajustadas a pH 7,0 com uma solução NaOH 1N, foram agitadas com um agitador Ultraturrax (IKA-WERK) a 15000 rpm. Após 10 segundos de agitação, adicionou-se, a velocidade constante, óleo de soja comercial. O ponto de inversão de fase foi registrado através de um aumento na resistência elétrica da emulsão, utilizando-se um amperímetro Goldstar DM 6335, considerando que quando a resistência chega ao infinito ocorre a inversão de uma emulsão de óleo em água para uma emulsão de água em óleo (Idouraine et al., 1991). A capacidade emulsificante foi calculada como a quantidade de óleo emulsificada por grama de proteína.

2.3.3 Atividade Emulsificante (AEm) a pH 7,0

Foi utilizado o método de Yasumatsu et al. (1972) adaptado: soluções de 7 g de amostra e 100 mL de água destilada foram ajustadas a pH 7,0 com uma solução de NaOH 1N e agitadas por 10 segundos utilizando um mixer manual Frattina (Eletro Power) a 15000 rpm. Foram emulsificadas com 100 mL de óleo de soja comercial durante 120 segundos. As emulsões foram centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos. A atividade emulsificante foi calculada como segue:

$$AEm = \text{Volume final da emulsão} * 100 / \text{Volume inicial da emulsão}$$

2.3.4 Estabilidade Emulsificante ao calor (EE_mcalor) a pH 7,0

A estabilidade emulsificante ao calor, foi determinada segundo método de Yasumatsu et al. (1972) adaptado: foram formadas as mesmas emulsões feitas para determinar a atividade emulsificante. Antes da centrifugação foram aquecidas a 80°C por 30 minutos, foram então resfriadas em água, durante 15 minutos a temperatura ambiente. Depois as emulsões foram

centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos. A estabilidade emulsificante foi calculada como segue:

$$EE_{\text{mcalor}} = \text{Volume final da emulsão} * 100 / \text{volume inicial da emulsão}$$

2.3.5 Estabilidade Emulsificante ao tempo de 30 e 120 minutos (EE_{m30'} e EE_{m120'}) a pH 7,0

A mesma emulsão foi preparada para determinar a estabilidade emulsificante ao tempo, sendo que as medições foram feitas após 30 e 120 minutos de repouso, para a EE_{m30'} e EE_{m120'} respectivamente. Os cálculos foram feitos segundo a fórmula utilizada por Haque e Kito (1983b), como segue:

$$EE_m = 100 * \text{volume da emulsão após 30 ou 120 minutos} / \text{volume da emulsão inicial}$$

2.3.8 Capacidade de retenção de água (CRA) e óleo (CRO) a pH 7,0

Foi utilizado o método de Karibullah e Wills, (1982) adaptado como segue: quantidades de água ou óleo de soja comercial (40 mL) com a amostra de proteínas (4 g), foram agitadas durante 1 minuto, a 10000 rpm com um mixer manual Frattina (Eletro Power), deixando-as em repouso durante meia hora, centrifugado-as a 2000 rpm durante 30 minutos. A diminuição do volume do líquido livre indica a quantidade do líquido retido pela proteína, que é expressa como mL de líquido retido por grama de proteína.

2.4 Análise estatística dos resultados

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, utilizando o programa "STATISTICA 6.0" (1998), por aplicação de análise de variância e teste de *Tukey*, com nível de significância 5% ($p = 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Solubilidade protéica a pH 7 e pH 4

Na Figura 1 pode ser observado como a solubilidade das proteínas diminuiu fortemente assim que a incorporação de ácidos graxos aumentou, tanto ao pH neutro (7,0) quanto no pH_i (4,0) das proteínas da FDA. As diferenças apresentadas foram muito significativas para todos os lipofilizados em relação a FDA e entre si. Este fenômeno demonstra que a solubilidade diminui com a incorporação dos ácidos graxos, resultado do aumento das interações hidrofóbicas, que provoca a precipitação das proteínas. Numa pesquisa realizada por Akita e Nakai (1990a) com β -lactoglobulina do leite, também houve um decréscimo da solubilidade indicativo de desnaturação protéica e uma boa correlação entre a diminuição da solubilidade e a quantidade de ácidos graxos incorporados à proteína.

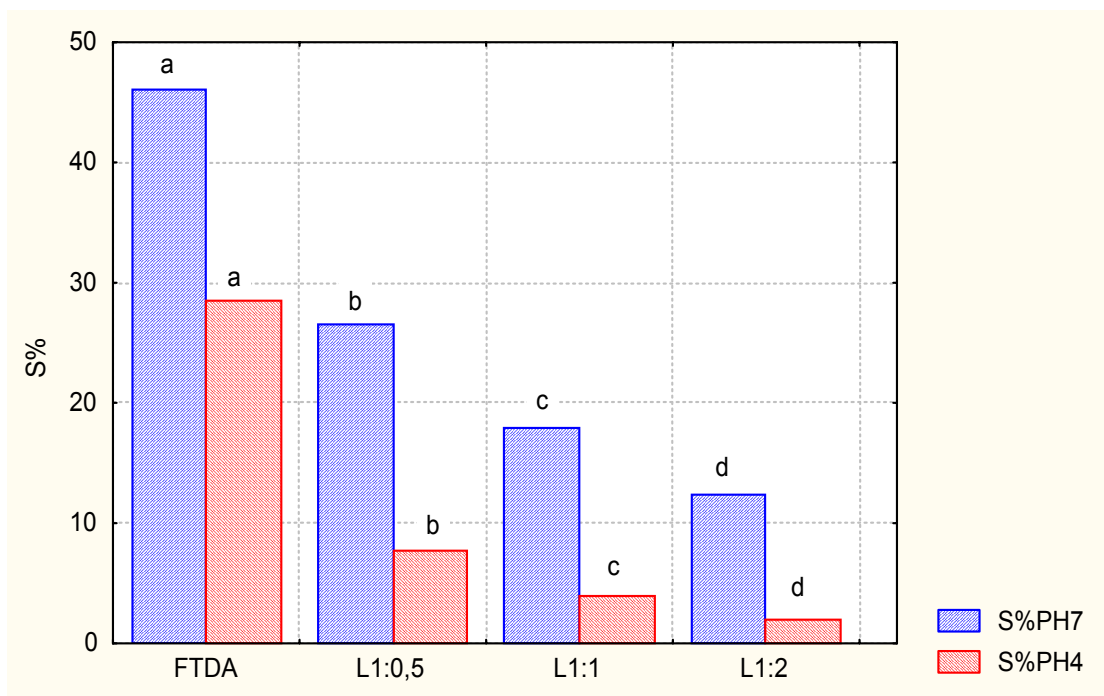


FIGURA 1. Solubilidade protéica da FDA e seus lipofilizados L1:0,5, L1:1 e L1:2, aos valores de pH de 4 e 7.

S%PH7 e S%PH4 (Solubilidades Protéicas a pH 7 e 4 respectivamente). Colunas acompanhadas por letras diferentes, no mesmo pH, apresentam diferenças significativas ($p = 0,05$).

3.2 Capacidade Emulsificante a pH 7

Houve uma diminuição significativa na capacidade emulsificante (Figura 2) das proteínas de todos os lipofilizados, porém, quanto maior a lipofilização maior foi a capacidade emulsificante, sendo que a diminuição para os L1:0,5 e L1:1 foi significativamente maior que a do lipofilizado L1:2.

Em uma pesquisa feita por Beuchat (1977) com proteínas de amendoim succiniladas, sendo este outro tipo de modificação de proteínas que consiste na acilação das proteínas com um anidrido succínico, ocorreu uma diminuição da capacidade emulsificante, sendo explicada como um efeito da presença de cargas iônicas e compostos não protéicos, que podem influenciar negativamente as propriedades emulsificantes.

Keshavarz e Nakai (1979) observaram que quanto mais hidrofóbica fosse a proteína, maior seria a depressão na tensão interfacial; isto explicaria porque no L1:2 a capacidade emulsificante é maior em comparação com os outros dois lipofilizados, pois a hidrofobicidade é maior também, dado o maior número de ácidos graxos ligados.

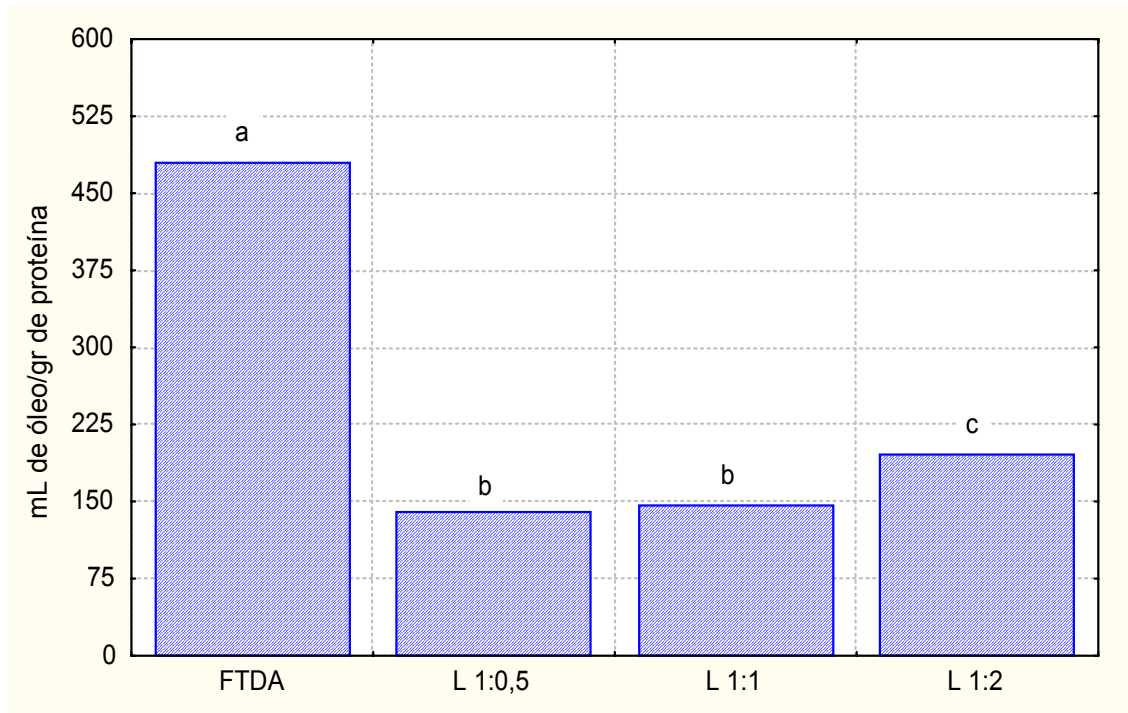


FIGURA 2. Capacidade emulsificante da FDA e seus lipofilizados L1:0,5, L1:1 e L1:2, a pH7. Colunas acompanhadas pela mesma letra não apresentam diferenças significativas ($n = 5$; $p = 0,05$).

3.3 Atividade e Estabilidades Emulsificantes a pH7

As maiores mudanças nas propriedades emulsificantes (Figura 3) aconteceram no lipofilizado mais incorporado com ácidos graxos (L1:2), sendo que o menos incorporado (L1:0,5) não mostrou diferenças significativas com a FDA.

No L1:0,5, a atividade emulsificante, estabilidade emulsificante a 120 minutos e estabilidade emulsificante ao calor mostraram um leve aumento em comparação com a FDA, sendo que as estabilidades emulsificantes a 30 e 120 minutos se mostraram significativamente maiores que a do lipofilizados L1:2. Em uma pesquisa feita por Yasumatsu et al. (1972) foi comprovado que as propriedades emulsificantes se correlacionam bem com o conteúdo protéico das amostras, o que poderia explicar claramente o leve aumento ocorrido nas propriedades emulsificantes do L1:0,5, dado que a diminuição protéica do L1:0,5 é pequena e não provocou uma diminuição nas propriedades funcionais deste lipofilizado, enquanto nos lipofilizados

L1:1 e L1:2 estas diminuições acontecem conjuntamente a uma diminuição no teor de proteínas (Tabela I).

TABELA I. Teor protéico da FDA e seus lipofilizados

Amostra	Proteínas (%)*
FDA	48,3
L1:0,5	44,65
L1:1	34,36
L1:2	28,07

* Determinação por método de Kjeldahl (AOAC, 1995), fator de conversão do nitrogênio das proteínas de amendoim = 5,46 (Rhee et al, 1973 apud Jones, 1931; McWatters et al., 1976).

No lipofilizados L1:1 só diminuiu estatisticamente a estabilidade emulsificante a 120 minutos. O aumento na atividade emulsificante, mesmo sendo não significativo, foi o maior dos três lipofilizados. Haque et al. (1982) também observaram um leve aumento das atividades emulsificantes em glicinina de soja lipofilizada.

Quanto à estabilidade emulsificante a 120 minutos dos L1:1 e L1:2, houve uma diminuição significativa quando comparados com a FDA e o L1:0,5, sendo que em estes dois lipofilizados, a estabilidade emulsificante ao calor mostrou uma diminuição não estatisticamente significativa. Observações similares foram feitas por Akita e Nakai (1990a) com β -lactoglobulina do leite, quando a estabilidade emulsificante diminuiu nas proteínas mais incorporadas com ácidos graxos.

Considerando a extrema diminuição na solubilidade das proteínas é provável que tenha acontecido uma desnaturação protéica no L1:2, onde houve uma diminuição significativa tanto da estabilidade emulsificante a 30 minutos quanto a 120 minutos; sendo assim confirmada a explicação dada por Aoki et al. (1981) de que uma desnaturação excessiva das proteínas pode resultar numa diminuição da estabilidade emulsificante.

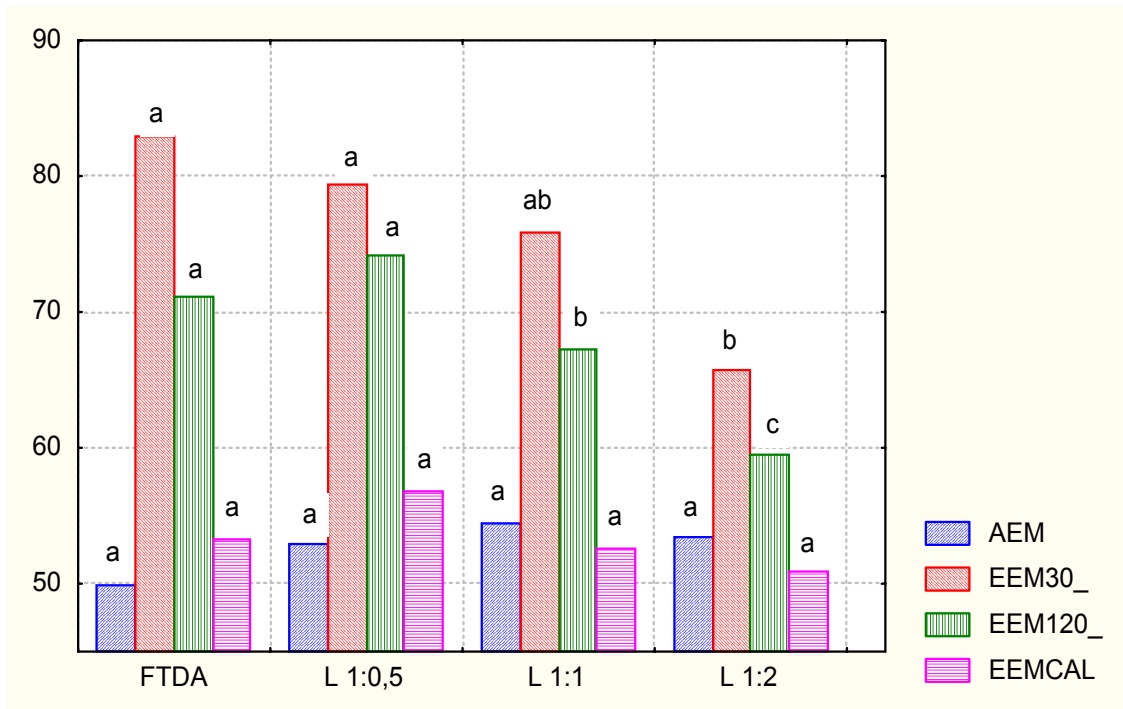


FIGURA 3. Atividade e estabilidades emulsificantes da FDA e seus lipofilizados L1:0,5, L1:1 e L1:2, a pH7.

AEM (atividade emulsificante); EEM30- e EEM120- (estabilidade emulsificantes ao tempo de 30 e 120 minutos respectivamente); EEMCAL (estabilidade emulsificante ao calor). Colunas da mesma propriedade, acompanhadas pela mesma letra, não apresentam diferenças significativas ($n = 5$; $p = 0,05$).

3.5 Capacidades de Retenção de Água e Óleo (pH7)

A capacidade de retenção de água aumentou significativamente nos três lipofilizados de FDA (Figura 5), havendo correlação entre o aumento da capacidade de retenção de água e o aumento da incorporação de ácidos graxos à proteína, com diferenças estatisticamente significativas em todas as amostras. O aumento na capacidade de retenção de óleo também aconteceu nas amostras L1:1 e L1:2, não sendo estatisticamente significativo para a amostra L1:0,5.

Observações similares foram feitas por Beuchat (1977) com proteínas de amendoim succiniladas. Ele observou que assim que aumentava o nível de succinilação aumentava a capacidade de retenção de água, e explicou este fenômeno como consequência das modificações físicas e químicas ocorridas nas proteínas succiniladas, onde o desdobramento

das moléculas protéicas pode levar a um aumento na captação de água enquanto a dissociação da proteína em subunidades pode teoricamente aumentar o número de sítios onde a água pode ser ligada.

Quanto ao aumento da capacidade de retenção de óleo, as proteínas contidas nos lipofilizados L1:1 e L1:2 são menos solúveis, mais hidrofóbicas e lipofílicas que as proteínas nativas. Estes fatores seriam os responsáveis pelo aumento significativo da capacidade de retenção de óleo, considerando o exposto por Cheftel et al. (1993), de que as proteínas mais insolúveis e hidrofóbicas são as que fixam maiores quantidades de óleo; as amostras que absorvem mais óleo seriam mais lipofílicas e a presença de um número grande de cadeias não polares pode ligar as cadeias hidrocarbonadas de óleo como expuseram Idouraine et al. (1991).

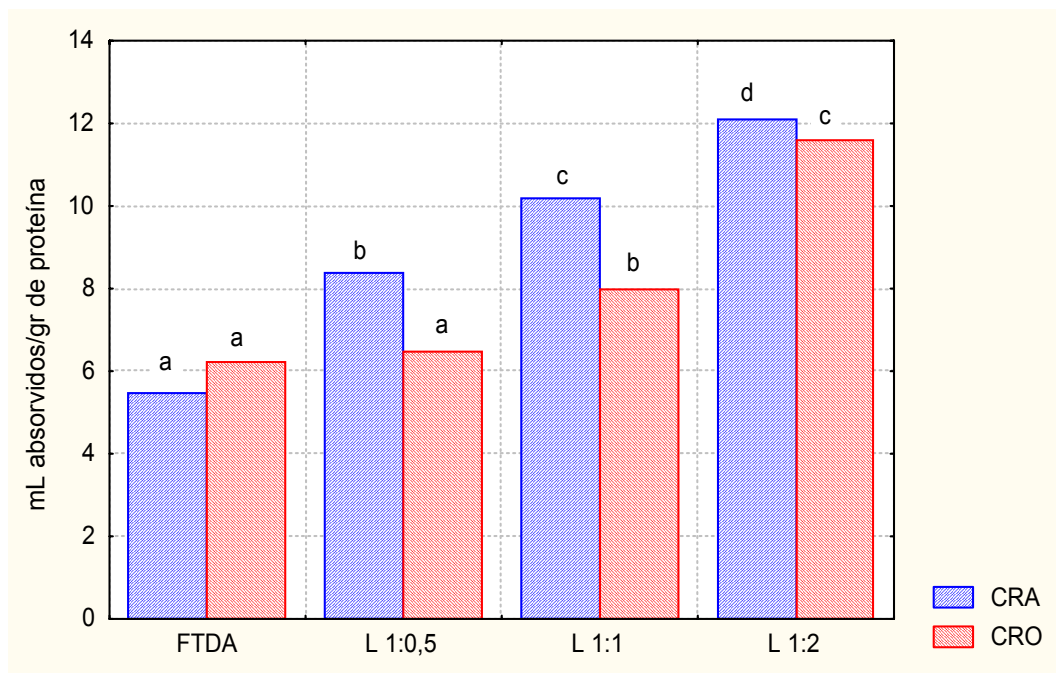


FIGURA 4. Capacidades de retenção de água e óleo da FDA e seus lipofilizados L1:0,5, L1:1 e L1:2, a pH7. CRA e CRO (capacidade de retenção de água e óleo, respectivamente). Colunas da mesma propriedade acompanhadas pela mesma letra, não apresentam diferenças significativas ($n = 5$; $p = 0,05$).

4. CONCLUSÃO

A lipofilização provocou mudanças na funcionalidade das proteínas de farinha desengordurada de amendoim. A solubilidade diminuiu com a incorporação dos ácidos graxos aos valores de pH neutro (7,0) e isoelétrico (4,0), diminuindo mais quanto maior a incorporação de ácidos graxos. A diminuição na solubilidade se deve ao aumento das interações hidrofóbicas que provocou uma desnaturação protéica nos lipofilizados mais incorporados com ácidos graxos. Houve modificações nas propriedades funcionais avaliadas: a capacidade emulsificante diminuiu significativamente nos três lipofilizados de FDA (1:0,5; 1:1 e 1:2); a estabilidade emulsificante ao tempo (30 e 120 minutos) diminuiu significativamente nos lipofilizados de maior razão (1:1 e 1:2); a atividade emulsificante e estabilidade emulsificante ao calor (80°C) não apresentaram mudanças significativas; a capacidade de retenção de água aumentou significativamente nos três lipofilizados, com maior aumento quanto maior a razão de lipofilização; a capacidade de retenção de óleo aumentou significativamente nos lipofilizados de maior razão (1:1 e 1:2), com diferenças significativas entre eles.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKITA, E. M., NAKAI, S. (1990a) Lipophilization of β -lactoflobulin: Effect on Hydrophobicity, Conformation and Surface Functional Properties. *Journal of Food Science*, **55**(3):711-717.
- AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. (1995) *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 15th ed. Washington, DC.
- AOKI, H., TANEYAMA, O., ORIMO, N., KITAGAWA I. (1981) Effect of Lipophilization of Soy Protein on its Emulsion Stabilizing Properties. *Journal of Food Science*, **46**(4):1192-1195.

- BEUCHAT, L. R. (1977) Functional and electroforetic characteristics of succinylated peanut flour proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **25**(2):258.
- CAMPOS LASCA, D. H. Amendoim (*Arachis hypogaea* L.). (2001) CATI Cultura do Amendoim. UFRGS, Universidade Federal de Rio Grande do Sul, 2001. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/icta/agronom/legum/amendoim.html>>. Acesso em: 28 set. 2001.
- CHEFTEL, J.C., CUQ, J.L., LORIENT, D. (1993) Aminoácidos, Péptidos y Proteínas. In: FENNEMA O. R. (Ed) *Química de los alimentos*, p.275-414, Zaragoza, Espana: Acribia S.A.
- HAQUE, Z., MATOBA, T., KITO, M. (1982) Incorporation of Fatty Acid into Food Protein Soybean Glycinin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **30**:481-488.
- HAQUE Z., KITO M. (1983a) Lipofilization of α_{s1} -casein. 1. Covalent attachment of palmitoyl residue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **31**(6): 1225-1230.
- HAQUE Z., KITO M. (1983b) Lipofilization of α_{s1} -casein. 2. Conformational and functional effects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **31**(6):1231-1237.
- HAQUE Z., KITO M. (1984) Lipofilization of α_{s1} -casein. 3. Purification and Physicochemical Properties of Novel Amphipathic Fatty Acyl Peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **32**(6):1392-1397.
- IDOURAINE, A., YENSEN, S.B., WEBER, C.W. (1991) Terapy Bean Flour, Albuin and Globulin Fractions Functional Properties Compared with Soy Protein Isolate. *Journal of Food Science*, **56**(5):1316-1318.
- KARIBULLAH M., WILLS R.B.J. (1982) Functional properties of acetylated and succinilated sunflower protein isolate. *Food Technology*, **17**(2):235-249.
- KESHAVARZ, E., NAKAI, S. (1979) The Relationship between Hydrofobicity and Interfacial Tension of Proteins. *Biochemical Biophysic Acta*, **576**(2):269-279.
- KITO, M. (1998) Chemical and physical lipophilization of proteins. Papers from the symposium on Chemical modification of proteins. *Journal of American Oil Chemistry Society*, **64**(12):676-1681.

ROUSSEL-PHILLIPPE, C., PINA, M., GRAILLE, J. (2000) Chemical lipophilization of soy proteins isolates and wheat gluten. *European Journal of Lipid Science Techcology*, **102**(2):97-101.

SAEED, M., CHERYAN, M. (1988) Sunflower protein concentrates and isolates low in polyphenols and phytate. *Journal of Food Science*, **53**(4):1127-1143.

YASUMATSU, K., SAWADA, K., MORITAKA, S., MISAKI, M., TODA, J., WADA, T., ISHII, K. (1972) *Agricultural Biology and Chemistry*, **36**(5):719-727.

4. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Conclusões:

- O pHi das proteínas da FDA se encontra no pH de 4,0, sendo a região isoelétrica entre os valores de pH de 3,0 e 5,0.
- O alto teor de aminoácidos ácidos da FDA pode influenciar no pHi desta proteína.

Propriedades Emulsificantes das proteínas da FDA:

- A atividade emulsificante diminui na região isoelétrica.
- A estabilidade emulsificante ao tempo diminui em toda a região isoelétrica.
- A estabilidade emulsificante ao calor (80°C) diminui no pHi.
- As correlações destas propriedades com a solubilidade são significativas.

Propriedades Espumantes das proteínas da FDA:

- A atividade espumante diminui numa região maior à isoelétrica, com um aumento não significativo ao pH 5,0; aumentando aos extremos das curvas.
- A estabilidades espumantes (30 e 120 minutos) apresentam variações pouco pronunciadas nos diferentes valores de pH.
- A solubilidade protéica apresenta uma boa correlação com a atividade espumante, não acontecendo o mesmo com as estabilidades espumantes.
- Foram observadas correlações significativas nas propriedades emulsificantes entre si e espumantes entre si, mas não existe tal correlação entre propriedades emulsificantes e espumantes.

Lipofilização da FDA:

- Fica comprovado que pode ser feita a lipofilização de proteínas de farinha desengordurada de amendoim.
- A ligação de ácidos graxos não ocorre somente nos grupos amino de lisina, mas também em outros grupos livres dos aminoácidos desta proteína.
- O rendimento da matéria seca da lipofilização é similar para os três lipofilizados (L1:0,5, L1:1 e L1:2).
- O rendimento protéico diminuiu com o aumento do grau de incorporação de ácidos graxos.
- A ligação de ácidos graxos covalentes no L1:1 dobra ao L1:0,5, não acontecendo o mesmo do L1:2 para o L1:1, devido à saturação dos grupos livres para ligação de ácidos graxos.

Efeito da Lipofilização sobre a solubilidade protéica:

- A solubilidade diminui com a incorporação dos ácidos graxos aos valores de pH neutro (7,0) e isoeletrico (4,0), diminuindo mais quanto maior a incorporação de ácidos graxos.
- A diminuição na solubilidade se deve ao aumento das interações hidrofóbicas que provoca uma desnaturação protéica nos lipofilizados mais incorporados com ácidos graxos.

Efeito da Lipofilização sobre as propriedades espumantes:

- A atividade espumante diminui significativamente nos três lipofilizados de FDA, sem diferenças significativas entre eles.
- As estabilidades espumantes (30 e 120 minutos) aumentam significativamente nos lipofilizados mais incorporados com ácidos graxos (1:1 e 1:2), no lipofilizado menos

incorporado com ácidos graxos (1:0,5) este aumento não é estatisticamente significativo.

Efeito da Lipofilização sobre as propriedades emulsificantes:

- A capacidade emulsificante diminui significativamente nos três lipofilizados de FDA (1:0,5; 1:1 e 1:2).
- A estabilidade emulsificante ao tempo (30 e 120 minutos) diminui significativamente nos lipofilizados de maior razão (1:1 e 1:2).
- A atividade emulsificante e estabilidade emulsificante ao calor (80°C) não apresentam mudanças significativas.

Efeito da Lipofilização sobre as capacidades de retenção de água e óleo:

- A capacidade de retenção de água aumenta significativamente nos três lipofilizados, com maior aumento quanto maior a razão de lipofilização.
- A capacidade de retenção de óleo aumenta significativamente nos lipofilizados de maior razão (1:1 e 1:2), com diferenças significativas entre eles.

Sugestões:

Avaliar a incorporação de um lipofilizado em um produto e seu efeito nas propriedades do mesmo.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKITA, E. M.; NAKAI, S. Lipophilization of β -lactoflobulin: Effect on Hydrophobicity, Conformation and Surface Funcional Properties. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 3, p. 711-717, 1990a.
- ALAIS, C.; LINDEN, G. **Bioquímica de los alimentos**. España, ed. Masson, 1990.
- AOKI, H.; TANEYAMA, O.; ORIMO, N.; KITAGAWA I. Effect of Lipophilization of Soy Protein on its Emulsion Stabilizing Properties. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 4, p. 1192-1195, 1981.
- AYRES, J. L.; BRANSCOMB, L. L.; ROGERS, G. M. Processing of Edible Peanut Flour and Grits. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 51, n. 4, p. 133-136, 1974.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2nda Edição. Zaragoza, Espanha, ed. Acribia S.A., 1997.
- BEUCHAT, L. R. Functional and electroforetic characteristics of succinylated peanut flour proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v 25, n. 2, p. 258, 1977.
- BIRD, K. M. Plant Proteins: Their Role in the Future. **Journal of Ameircan Oil Chemistry Society**, v. 54, n. 4, p. 240A-241A, 1975.
- CAMPOS LASCA, D. H. Amendoim (*Arachis hypogaea* L.). CATI Cultura do Amendoim. UFRGS, Universidade Federal de Rio Grande do Sul, 2001. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/icta/agronom/legum/amendoim.html>>. Acesso em: 28 set. 2001.
- CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza, España, ed. Acribia S.A., 1989.
- CONKERTON, E. J.; ORY, R. L. Peanut Proteins as Food Supplements: A Compositional Study of Selected Virginia and Spanish Peanuts. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 53, n. 12, p. 754-756, 1976.

CRENWELGE, D. D.; DILL, C. W., TYBOR, P. T.; LANDMANN, W. A. A Comparison of the Emulsification Capacities of some Protein Concentrates. **Journal of Food Science**, v. 39, p. 175-177, 1974.

DONADEL, M. E.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, 1999.

FONSECA, H. Prevenção e controle de micotoxinas em produtos agrícolas. Boletim Técnico No.7, 1998. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br/Boletim7.htm>>. Acesso em: 22 set. 2001.

GUEGUEN, J. Legume Seed Protein Extraction, Processin, and end Product Characteristics. **Quality of Plant Foods Human Nutrition**, v. 32, n. 3/4, p. 267-303, 1983.

GODOY, I. J. A Qualidade do Amendoim: o que também precisa ser dito. **IAC**, Instituto Agrônômico, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, 1999.

HAYAKAWA, S.; NAKAI, S. Relationships of Hydrofobicity and Net Charge to the Solubility of Milk and Soy Proteins. **Journal of Food Science**, v. 50, n. 2, p. 486-491, 1985.

HAQUE, Z.; MATOBA, T.; KITO, M. Incorporation of Fatty Acid into Food Protein Soybean Glycinin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 30, p. 481-488, 1982.

HAQUE Z.; KITO M. Lipofilization of α_{s1} -casein. 1. Covalent attachment of palmitoyl residue. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 1225-1230, 1983a.

HAQUE Z.; KITO M. Lipofilization of α_{s1} -casein. 2. Conformational and functional effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 1231-1237, 1983b.

HUBNER, O. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, 2002. Disponível em: <www.pr.gov.br/scab/deral/rev011001.rtf>. Acesso em: 28 out. 2002.

IDOURAINE, A.; YENSEN, S.B.; WEBER, C.W. Terapy Bean Flour, Albuin and Globulin Fractions Functional Properties Compared with Soy Protein Isolate. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 5, p. 1316-1318, 1991.

KARIBULLAH M.; WILLS R. B. J. Functional properties of acetylated and succinylated sunflower protein isolate. **Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 235-249, 1982.

KATO, A.; NAKAI, S. Hydrophobicity Determined by a Fluorescence Probe Method and its Correlation with Surface Properties of Proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 624, n. 1., p. 13-20, 1980.

KAY, H.; McWATTERS, H. Performance of Defatted Peanut, Soybean and Field Pea Meals as Extenders in Ground Beef Patties. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 6, p. 1492-1495, 1977.

KESHAVARZ, E.; NAKAI, S. The Relationship between Hydrophobicity and Interfacial Tension of Proteins. **Biochemical Biophysic, Acta**. 576, n. 2, p. 269-279, 1979.

KINSELLA, J. E. Functional Properties of Proteins in Foods: a Suvey. CRC-Critical Reviews in Food. **Science and Nutrition**, v. 7, p. 219-280, 1976.

KITO, M. Chemical and physical lipophilization of proteins. Papers from the symposium on Chemical modification of proteins. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v.64, n.12, p.1676-1681, 1987.

McWATTERS, K. H.; CHERRY, J. P. Emulsification, Foaming and Protein Solubility Properties of Deffated Soybean, Peanut, Field Pea and Pecan Flours. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 6, p. 1444-1447, 1977.

McWATTERS, K. H. Cookie Baking Properties of Defatted Peanut, Soybean, and Field Pea Flours. **Cereal Chemistry**, v. 55, n. 6, p. 853-863, 1978.

NAKAI, S. Structure-Function Relationships of Food Proteins with an Emphasis on the Importance of Protein Hydrophobicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 676-683, 1983.

NATARAJAN, K. R. Peanut ingredients: preparation, properties, and food uses. **Advances in Food Research**, v. 26, p. 215-273, 1980.

NEUCERE, N. J. Effect of Heat on Peanut Protein. I. Solubility Properties and Immunochemical-Electrophoretic Modifications. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 252-255, 1972a.

NEUCERE, N. J.; CONKERTON, E. J.; BOOTH, A. N. Effect of Heat on Peanut Proteins. II. Variations in Nutritional Quality of the Meals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 256-259, 1972b.

PEIXOTO, A. R. **Plantas Oleaginosas Herbáceas**. Brasil, 1972.

PROSEA. *Arachis hypogaea* L. CD-ROM on line, 11 nov. 1997. Disponível em: <http://www.bib.wau.nl/prosrom/arachis.html> Acesso em: 22 set. 2001.

RAMANATHAM, G.; RAN, L. H.; URS, L. N. Emulsification Properties of Groundnut Protein. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 4, p. 1270-1273, 1978.

ROUSSEL, C. **Etude de differents procedes de liphphilisation des proteines**: Application aux protéines de soja et au glúten de blé. 1998. 217 f. These (Docteur Sciences des Agrossources) L'Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 1998.

ROUSSEL-PHILLIPPE, C.; PINA, M.; GRAILLE, J. Chemical lipophilization of soy proteins isolates and wheat gluten. **European Journal of Lipid Science Techcology**, v. 102, n. 2, p. 97-101, 2000.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em Alimentos Protéicos. Propriedades - Degradações - Modificações**. 1. Ed. São Paulo: Livraria Varela, 1996, 517 p.

TORCHILIN, V. P.; OMEL'YANENKO, V. G.; KLIBANOV, A. L.; MIKHAILOV, A. I.; GOL'DANSIKII, V. I.; SMIRNOV, V. N. Incorporation of Hydrophilic Protein Modified with Hydrophobic Agent into Liposome Membrane. **Biochemical Biophysic Acta**, v. 602, n. 3, p. 511-521, 1980.

TOWNSEND, A. A.; NAKAI, S. Relationships Between Hydrophobicity and Foaming Characteristics of Food Proteins. **Journal of Food Science**, v. 48, n. 2, p. 588-594, 1983.

WALKER, D. B.; HORAN, F. E.; BURKET, R. E. Engineered Foods – the Place for Oilseeds Proteins. **Food Technology**, v. 25, n. 8, p. 55-60, 1971.

WU, Y. V.; INGLETT, G. E. Denaturation of Plant Proteins Related to Functionality and Food Applications. A Review. **Journal of Food Science**, v. 39, n. 2, p. 218-225, 1974