

Obtenção de Proteína de Feijão Azuki (*Vigna angularis*) e Estudo da Adição de Proteínas Vegetais na Estruturação de Proteína Texturizada de Soja Utilizando Transglutaminase

Palavras-Chave: Proteínas vegetais, Feijão azuki, Transglutaminase

Autores:

Pedro Artur Zanotto

Mariane Daniele Munhoz

Profa. Dra. Helia Harumi Sato (Orientadora)

INTRODUÇÃO:

As proteínas de origem vegetal como soja e outras leguminosas, grãos, sementes, batata, algas marinhas, assim como proteínas de insetos, cogumelos e proteínas microbianas têm sido estudadas como alternativas para obtenção de análogos de carne e peixe (Nowacka et al., 2023). A proteína de soja é utilizada devido ao alto valor nutricional, baixo custo e disponibilidade comparada a outras fontes de proteína, além das propriedades de formação de gel e habilidade de formar fibras (Liu et al., 2021; Schreuders et al., 2019). Para melhorar as propriedades tecnológicas, as proteínas de vegetais podem ser tratadas com a enzima transglutaminase (TGase) que catalisa a formação de ligações covalentes cruzadas intra e intermoleculares entre resíduos de lisina e glutamina de proteínas.

LIU et al. (2021) verificaram que todas as frações (α' , α , β , AS e BS) da proteína isolada de soja formam ligações cruzadas com o tratamento com a TGase. As capacidades emulsificante, de formação de espuma, retenção de água, elasticidade e força do gel de proteínas vegetais aumentaram com o tratamento com a TGase. Essa enzima é um agente promissor para melhorar as características funcionais de proteínas de soja. O futuro de análogos de carne e peixe parece promissor, uma vez que opções de produtos à base de plantas têm ganho popularidade devido aos avanços na tecnologia de produção (Nowacka et al., 2023).

Uma proteína vegetal promissora quanto à aplicabilidade e propriedades tecnológicas é a obtida de feijão azuki (*Vigna angularis*) que contém grande quantidade de lisina, um dos substratos da TGase para a formação de ligação covalente (glutamil-lisina) entre polipeptídeos (Hwang et al., 2005; Kuraishi et al., 2005). O isolado de proteína de feijão azuki foi descrito como um substrato útil para melhorar a capacidade de ligação de água, textura e estabilidade da emulsão na preparação de géis de proteínas miofibrilares de carne suína, além de rendimento de cozimento e força do gel utilizando a TGase microbiana (Jang & Chin, 2011; Lee et al., 2017; Jang et al., 2017).

Este estudo visou estudar os efeitos do tratamento preliminar com ultrassom e combinação de ultrassom com as enzimas celulasas e/ou α -amilase, na obtenção de proteína de feijão azuki por tratamento alcalino e precipitação isoelétrica. Foram avaliadas as características funcionais das amostras de proteína de feijão azuki e de proteínas comerciais de arroz, ervilha, feijão fava e abóbora. Foi testada a estruturação de proteína texturizada de soja com proteínas vegetais utilizando a enzima transglutaminase.

METODOLOGIA:

Foi testada a obtenção de proteína de feijão azuki (*Vigna angularis*) com casca e sem casca. A casca de feijão foi removida manualmente após imersão em água por 24h e a amostra foi liofilizada como descrito por JANG *et al.*, 2017. As amostras de feijão com casca e sem casca foram moídas separadamente e peneiradas para a obtenção das farinhas. Para a obtenção de proteína a suspensão de farinha de feijão: água destilada (1:3, m/v) foi ajustada para pH 9 com solução 1 Mol/L de NaOH, agitada por 30 minutos e centrifugada a 3000 x g por 15 min a 10 °C. O sobrenadante foi ajustado para pH 4,5 pela adição de solução 1 Mol/L de HCL. A amostra foi centrifugada como descrito acima e o precipitado foi lavado com água destilada e ajustado para pH 7,0 como descrito por (JANG & CHI, 2011). As amostras foram congeladas, liofilizadas e armazenadas a 7 °C.

Foram testados os efeitos do tratamento preliminar com ultrassom e combinação de ultrassom com as enzimas celulase e/ou α -amilase na extração da proteína de feijão azuki. As amostras de farinha de feijão foram suspensas em água e tratadas por ultrassom de alta potência com sonda de 13mm a 20kHz e 180 Watts, por 5 minutos. As suspensões de farinha de feijão: água destilada (1:3, m/v) foram ajustadas para pH 6; foi adicionado 0,5 % de celulase Celluclast® e/ou 0,5% de α -amilase Termamyl® e as amostras foram incubadas por 1h a 50 °C. Em seguida as suspensões foram ajustadas para pH 9,0 com solução 1 Mol/L de NaOH, deixadas em repouso por 30 minutos e as proteínas do sobrenadante foram obtidas por precipitação isoelétrica como descrito acima.

As características das preparações de proteínas de feijão azuki com e sem casca e das proteínas comerciais de arroz (*Oryza sativa*), ervilha (*Pisum sativum*), feijão fava (*Vicia faba*) e semente de abóbora (*Cucurbita L.*) foram analisadas de acordo com o Guia para Caracterização Tecnológica Funcional de Ingredientes Proteicos para o Mercado de Produtos de Origem Vegetal (EMBRAPA, 2022). Foram avaliadas as propriedades tecnológicas de solubilidade em água, capacidade de absorção de água e óleo, capacidade de formação de gel, capacidade de formação e estabilidade de espuma e capacidade emulsificante.

Para os estudos de estruturação das proteínas vegetais com TGase, a proteína de soja texturizada foi moída e hidratada em água destilada com proporção de 1:2,5 (m/v). Foi testada a estruturação de 48g de proteína texturizada de soja com incorporação de 5%, 10% e 20% (m/m) de proteínas de semente de abóbora, arroz, ervilha ou feijão azuki utilizando 1% (m/m) de TGase. As amostras foram transferidas para formas de alumínio (6,3 cm x 2,3 cm, diam. x alt.), e em seguida colocadas em sacos para vácuo (15 x 22 cm). Após selagem à vácuo as amostras foram incubadas em banho-maria a 50°C por 1 h e também 15h a 7°C. Foram preparadas amostras controle sem adição de TGase.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os concentrados proteicos apresentaram 60,88% e 65,33% de concentração proteica para as amostras de farinha de feijão com casca e sem casca, respectivamente. O rendimento de proteína total após tratamentos ultrassom e enzimático da farinha de feijão azuki com casca foi 54,67% e para amostra da farinha de feijão sem casca foi 55,10%. Foi observado diminuição da concentração de proteínas após os pré-tratamentos, entretanto, as preparações de proteínas de feijão apresentaram pequenas alterações nas características tecnológicas-funcionais, como descrito a seguir.

Os resultados obtidos a partir da caracterização das propriedades tecnológicas das proteínas vegetais encontram-se na Tabela 1. A formação de gel foi avaliada na faixa de concentração de 0,1 a 1,0 g em 5mL de água para verificar a massa mínima para formação de gel fraco e forte.

Tabela 1. Avaliação das características tecnológicas -funcionais das preparações de proteínas

Amostra	Absorção de água (mg/mg)	Absorção de óleo (mg/mg)	Capacidade Emulsificante (%)	Capacidade de Formação de Espuma (%)	Limiar Formação Gel fraco-forte(g)
FS	1,72±0,38 ^{bc}	2,60±0,08 ^{bcde}	98,59±0,17 ^{bc}	28,13±4,42 ^{gh}	0,5-1,0
FC	1,79±0,33 ^{bc}	2,99±0,19 ^{abc}	99,71±0,07 ^{ab}	21,88±4,42 ^{gh}	0,5-0,9
PA	2,45±0,34 ^b	2,03±0,16 ^{ef}	97,77±0,26 ^{cd}	34,38±4,42 ^g	0,5-0,9
PE	3,79±0,48 ^a	2,04±0,14 ^{ef}	99,67±0,00 ^{ab}	53,13±4,42 ^{ef}	0,4-0,9
FF	1,22±0,37 ^c	2,10±0,37 ^{ef}	99,86±0,07 ^{ab}	140,63±4,42 ^a	0,5
SA	2,57±0,09 ^{ab}	1,67±0,22 ^f	95,84±0,57 ^f	15,63±4,42 ^h	0,3-0,7
FS-PI	1,91±0,15 ^{bc}	3,14±0,14 ^{ab}	96,13±0,43 ^f	36,66±4,72 ^{fg}	0,2-0,6
FS-AMI	1,95±0,15 ^{bc}	2,85±0,35 ^{abcd}	96,48±0,59 ^{ef}	26,67±0,00 ^{gh}	0,3-0,6
FS-CEL	2,60±0,60 ^{ab}	2,60±0,08 ^a	99,92±0,06 ^a	63,34±4,72 ^{de}	0,4
FS-A+C	2,59±0,58 ^{ab}	2,53±0,09 ^{cde}	99,99±0,01 ^a	63,34±4,72 ^{de}	0,3-0,8
FC-PI	2,21±0,50 ^{bc}	2,29±0,20 ^{de}	94,42±0,50 ^g	63,34±4,72 ^{de}	0,4-1,0
FC-AMI	2,94±0,56 ^{ab}	2,19±0,19 ^{ef}	97,71±0,43 ^{cd}	83,34±4,72 ^{bc}	0,4-0,7
FC-CEL	2,23±0,47 ^{bc}	2,45±0,07 ^{cde}	96,95±0,18 ^{def}	96,66±4,72 ^b	0,4-0,6
FC-A+C	1,97±0,17 ^{bc}	2,22±0,06 ^{ef}	97,27±0,45 ^{de}	76,66±4,72 ^{cd}	0,5-1,0

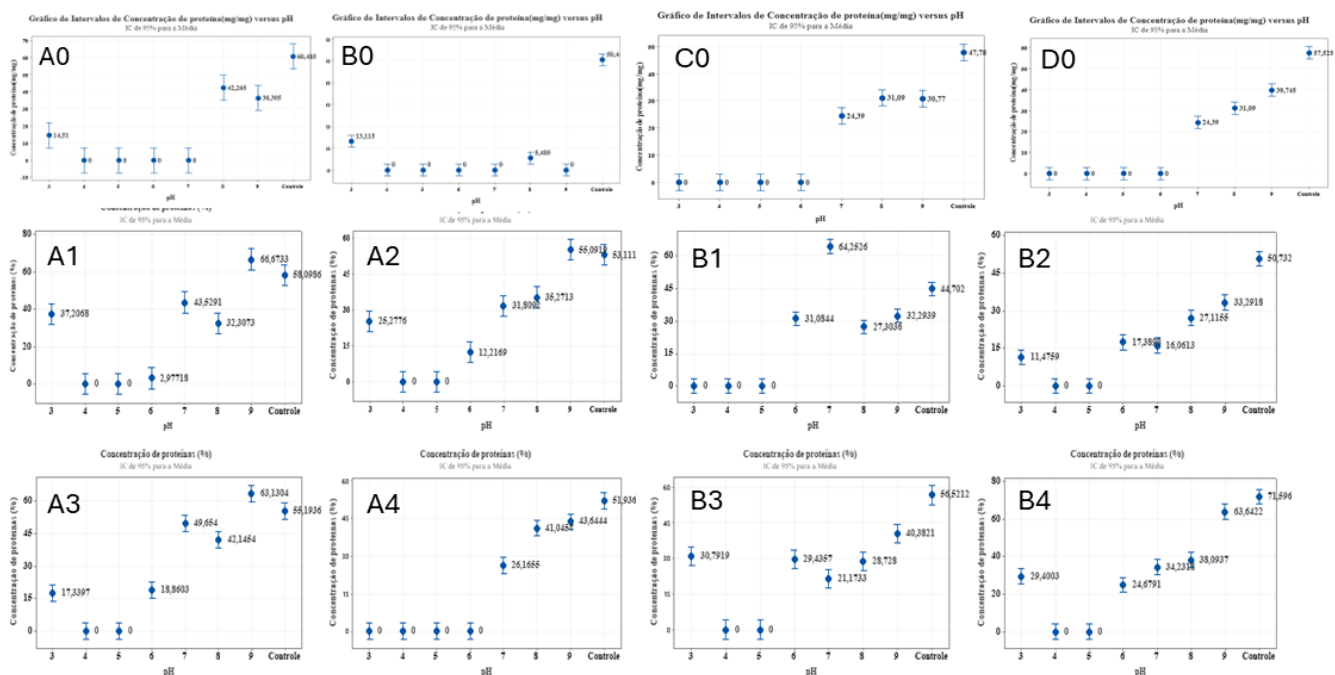
FS: Proteína de feijão azuki sem casca; FC: Proteína de feijão azuki com casca; PA: Proteína de arroz; PE: Proteína de ervilha; FF: Proteína de feijão fava; SA: Proteína de semente de abóbora. PI: Ultrassom; AMI: Ultrassom + Amilase; CEL: Ultrassom + Celulase; A+C: Ultrassom + Celulase + α -Amilase. Médias na mesma coluna seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey a 95% de significância

Foi observado aumento da capacidade de absorção de água nas amostras de proteína de feijão azuki com e sem casca após os tratamentos preliminares. As proteínas de feijão sem casca tratadas com ultrassom + celulase (FS-CEL) e tratadas com ultrassom + celulase + α -amilase (FS-A+C), além da proteína de feijão com casca tratada com ultrassom + α -amilase (FC-AMI) não diferiram significativamente quanto à absorção de água das proteínas comerciais de semente de abóbora (SA) e ervilha (PE) ($p<0,05$) (Tabela 1). As proteínas de feijão sem casca tratadas com ultrassom + celulase (FS-CEL) e com ultrassom+ celulase+ α -amilase (FS-A+C) apresentaram a maior capacidade emulsificante ($p<0,05$). A capacidade emulsificante foi em geral satisfatória, uma vez que todas as proteínas apresentaram valores acima de 94%.

Todas as proteínas obtidas de feijão com casca após tratamento com ultrassom com ou sem adição de enzimas (FC-PI, FC-AMI, FC-CEL e FC-A+C), apresentaram menor absorção de óleo, em relação à extração inicial (FC) ($p<0,05$). Contrariamente, a capacidade de formação de espuma foi significativamente maior para proteínas de feijão com casca após os tratamentos com ultrassom com ou

sem adição de enzimas, quando comparados à extração convencional (FC) ($p < 0,05$). A proteína de feijão sem casca apresentou maior formação de espuma somente nos tratamentos com ultrassom + celulase (FS-CEL) e combinação de ultrassom+ celulase+ α -amilase (FS-A+C) ($p < 0,05$). A formação de gel também apresentou melhor performance, uma vez que a concentração mínima de gelificação se tornou menor em todos os tratamentos.

Figura 1. Solubilidade de proteínas vegetais comerciais e obtidas no estudo



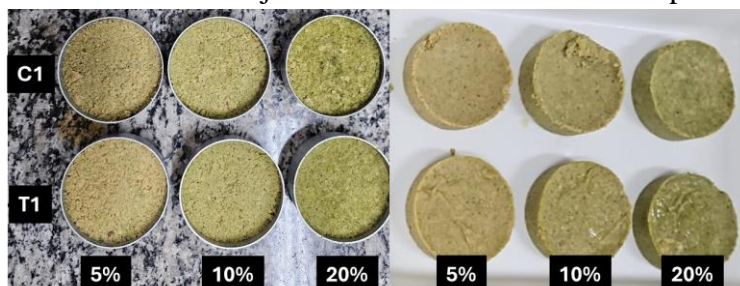
Onde A: Solubilidade da proteína de feijão azuki com casca; Figura B: Solubilidade da proteína de feijão azuki sem casca. Figura C: Proteína de feijão fava; Figura D: Proteína de semente de abóbora. Tratamentos de 0 a 4, respectivamente: 0: Sem tratamento, 1: Ultrassom; 2: Ultrassom + Amilase; 3: Ultrassom + Celulase; 4: Ultrassom + Celulase + Amilase

Foi observado aumento da solubilidade das preparações de proteína de feijão azuki com casca (A) e sem casca (B) (Figura 1) obtidas com os tratamentos de 1 a 4. Desse modo, há formação da curva característica da solubilidade de proteína, com maiores valores em pH 3 e acima de pH 7.

Em comparação com proteínas comerciais de feijão fava (C) e de semente de abóbora (D), as proteínas comerciais com maior solubilidade, observou-se que as proteínas de feijão azuki com casca (A) e sem casca (B) nos tratamentos de 1 a 4, demonstraram maior solubilidade em pH 3 e pH 6.

As amostras de proteína texturizada de soja adicionadas de proteínas vegetais estudadas apresentaram reestruturação e melhor textura quando comparada com as amostras controles sem adição de TGase. A Figura 2 ilustra a estruturação de proteína de soja texturizada com 5, 10 e 20% de proteína de semente de abóbora.

Figura 2. Proteína de soja texturizada estruturadas com proteínas vegetais



CONCLUSÕES:

Os tratamentos de ultrassom e enzimáticos prévios à extração, resultaram em menor rendimento total de proteína no feijão azuki com e sem casca, de 54,67% e 55,10%. No entanto as preparações apresentaram melhores características quanto à formação de espuma, capacidade de absorção de água, concentração mínima de gelificação, solubilidade em água e capacidade emulsionante dos concentrados proteicos de feijão azuki (*Vigna angularis*) com e sem casca. A enzima transglutaminase mostrou-se eficiente para a estruturação da proteína de soja texturizada adicionadas de 5, 10 e 20% de proteínas de feijão azuki, arroz, ervilha e sementes de abóbora.

BIBLIOGRAFIA

EMBRAPA. **Guia para Caracterização Tecnológica-Funcional de Ingredientes Proteicos para o Mercado de Produtos de Origem Vegetal**. “Documento 145”. 27p, Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2022.

HWANG, C.S.; JEONG, D.Y.; KIM, Y.S., NA, J.M.; SHIN, D.H. Effects of enzyme treatment on physicochemical characteristics of small red bean percolate. **Korean Journal of Food Science and Technology**. v.37, p.189-193, 2005

JANG, H.S.; CHIN, K.B. Effect of red bean protein and microbial transglutaminase on gelling properties of myofibrillar protein. **Korean J. Food Science and Animal Resources**. Vol. 31, No. 5, pp. 782~790, 2011; DOI <http://dx.do.org/10.5851/kosfa.2011.31.5.782>

JANG, H.S.; LEE, H.C.; CHIN, K.B. Effect of red bean protein isolate and salt levels on pork myofibrillar protein gels mediated by microbial transglutaminase **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 95-100, 2017; <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.039>

LEE, H.C.; JANG, H.S.; KANG, I.; CHIN, K. B. Effect of red bean protein isolate and salt levels on pork myofibrillar protein gels mediated by microbial transglutaminase. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 95-100, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.039>

LIU, Y., ZHANG, Y., GUO, Z., WANG, C., KANG, H., LI, J., et al. Enhancing the functional characteristics of soy protein isolate via cross-linking catalyzed by *Bacillus subtilis* transglutaminase. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.101, n.10, p. 4154–4160, 2021. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11052>

NOWACKA, M.; TRUSINSKA, M.; CHRANIUK, P.; DRUDI, F.; LUKASIEWICZ, J.; NGUYEN, N.P.; PRZYBYSZEWSKA, A.; POBIEGA, K.; TAPPI, S.; TYLEWICZ, U.; RYBAK, K.; WIKTOR, A. Developments in plant proteins production for meat and fish analogues. **Molecules** 2023, 28, 2966. <https://doi.org/10.3390/molecules28072966>

SCHREUDERS, F. K. G.; DEKKERS, B. L.; BODN´AR, I.; ERNI, P.; BOOM, R. M.; & VAN DER GOOT, A. J. Comparing structuring potential of pea and soy protein with gluten for meat analogue preparation. **Journal of Food Engineering**, v.261, p.32–39, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.04.022>