

Proteína de semente de uvaia (*Eugenia pyriformis*): Influência do ultrassom nas propriedades emulsificante e espumante

Palavras-Chave: proteína vegetal, funcionalidades proteicas, ultrassom

Autoras:

Ana Clara Salim Marques Ferreira, FEA - Unicamp

M^a. Isabela Simões Soares (coorientadora), FEA - Unicamp

Prof^a. Dr^a. Carolina Siqueira Franco Picone (orientadora), FEA - Unicamp

INTRODUÇÃO:

Proteínas são macronutrientes que têm diversas propriedades funcionais, como a capacidade surfactante. As proteínas conseguem reduzir a tensão superficial do meio e facilitar a estabilização de interfaces por conta das partes hidrofílicas e hidrofóbicas em sua estrutura (SILVA, 2018). Os extratos proteicos surgem como alternativas naturais aos surfactantes sintéticos, amplamente utilizados na indústria como estabilizadores de misturas instáveis, como emulsões e espumas.

A uvaia, ou *Eugenia pyriformis*, é uma fruta nativa do Brasil (Figura 1) que apresenta teores de proteína próximos a 12% na sua semente (FARIAS *et al.*, 2020). O uso desse resíduo vegetal tem grande potencial pensando na demanda crescente por proteínas para uso tecnológico e na necessidade de sustentabilidade que a indústria tem atualmente (OLIVEIRA, 2020).



Figura 1 - *Eugenia pyriformis*
Fonte: Maurício Mercadante, 2011.

Observando a necessidade da indústria em encontrar fontes alternativas de proteína e medidas sustentáveis de produção, o presente estudo encontra como solução a pesquisa sobre o resíduo da uvaia, sua semente, e suas funcionalidades tecnológicas interfaciais, utilizando do ultrassom como tecnologia sustentável para auxiliar na extração proteica e preparo de emulsões, observando os efeitos da sonicação na estabilidade da emulsão, espuma e na própria extração, já que a ciência vem estudando a forma que a aplicação de ultrassom afeta as estruturas da proteína e modifica esses processos.

METODOLOGIA:

As sementes de uvaia foram cedidas por pequenos produtores (São Brás – MG), liofilizadas e trituradas. A composição centesimal da farinha de semente foi determinada a partir dos métodos oficiais estabelecidos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2016).

Como pré-tratamento à extração, amostras foram submetidas à sonicação. Amostras de solução de farinha em água (1:10 m/v) receberam potências de 250W e 450W num processador ultrassônico (ECOsonic QR 850W - Ultronic, Brasil) acoplado com ponteira de titânio de 13 mm, com frequência de 20 kHz por 10 minutos. Para extração, foi realizado o método de extração alcalina (pH de maior solubilidade 12 e menor 3 - determinado por Bradford). Após o extrato recuperado, a solução teve pH ajustado para 7, foi congelada e liofilizada (SOARES, 2024). Foi usado um extrato sem tratamento de ultrassom como controle. O teor proteico foi determinado seguindo a AOAC (2016). O rendimento do processo foi calculado pelas equações 1 e 2.

$$\text{Eficiência de extração (\%)} = \frac{\text{massa de proteína no extrato}}{\text{massa de proteína na farinha}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Rendimento mássico (\%)} = \frac{\text{massa de extrato}}{\text{massa de farinha}} \times 100 \quad (2)$$

Com os extratos foram preparadas emulsões na proporção 30:70 (óleo de soja/água), com 1% (p/v) de dispersão de proteína em água, em pH 7. Como controle foi utilizado emulsão com o extrato de farinha não sonificado na mesma proporção. As emulsões foram homogeneizadas em um Ultra – Turrax (T-10 Ika, Alemanha) a 20.000 rpm por 3 min, estas foram as emulsões “grossas”. Emulsões de mesmas proporções foram submetidas a um processador ultrassônico (QR 850 W Ultronic, Brasil) com uma sonda de titânio de 3 mm de diâmetro sob potência e frequência em 300 W e 20 kHz, respectivamente, por 3 min (FURTADO et al., 2017) a fim de se obter emulsões "finas".

Foram avaliados os índices de atividade emulsificante (IAE) e estabilidade (IE) medindo absorvância das emulsões diluídas em SDS 0,1% (m/v) em um espectrofotômetro (Bel Engennier Photonic UV M-51, Itália) com luz UV visível em 500 nm. O índice de separação de fases (ISF) foi determinado por análise de imagens das emulsões em recipientes de vidro imediatamente após homogeneização e após 10 minutos em temperatura ambiente (SILVA et al., 2022).

A morfologia da emulsão foi avaliada por microscopia óptica usando um microscópio modelo JENAVAL 30-G0020 (Carl Zeiss, Göttingen, Alemanha), imediatamente após a preparação da emulsão e após desestabilização, equipado com lente óptica de 12x e 25x. E a distribuição de tamanho de gota foi analisada usando ferramentas de análise de tamanho de partículas a partir das imagens obtidas por microscopia óptica, com o software ImageJ.

A reologia das fases aquosas das emulsões foi analisada em reômetro de tensão controlada (AR1500ex, TA Instruments, Leatherhead, UK). As curvas de escoamento foram obtidas por programa do tipo *up-down-up* com taxa de cisalhamento variando entre 0 e 300 s⁻¹ a 25 °C. E a tensão interfacial entre óleo de soja e soluções aquosas com 1% de proteína foi avaliada pelo método de gota pendente em tensiômetro Tracker S (Teclis - França) ao longo do tempo até a estabilização, a 25 °C (LOPES et al., 2019).

A capacidade de formação de espuma (CE) e a estabilidade de espuma (EE) foram avaliadas preparando uma solução com 2,5% de amostra com pH 7, homogeneização em Ultra – Turrax (T-10 Ika, Alemanha) a 20.000 rpm por 2 min, e averiguação do volume ao longo do tempo (SILVA et al., 2022).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Composição	Valor (%)
Cinzas	1,65 ± 0,09
Proteínas	8,92 ± 0,03
Lipídeos	0,84 ± 0,02
Fibras	4,8 ± 0,2
Carboidratos	83,7 ± 0,3

Tabela 1 - Composição centesimal

A partir da caracterização centesimal (Tabela 1) verificou-se que a composição da farinha da semente de uvaia era diferente do esperado. Quanto à proteína, Farias (2020) obteve 12,1% e Soares (2024), uma pesquisa atrelada a essa, obteve 10,6%. Através da diferença, entendeu-se que a matéria-prima é suscetível a mudanças em sua composição devido à safra e estágio de maturação do fruto.

Com a extração, pode-se determinar o rendimento. Observou-se que houve aumento na eficiência de extração com os tratamentos de ultrassom mais intensos (0W = 17,4 ± 2,8; 250W = 19,6 ± 3,3; 450W = 22,8 ± 5,2), mesmo com o teor de proteína pura nesses extratos sendo menores que no controle (0W = 23,4 ± 0,5; 250W = 22,4 ± 1,7; 450W = 22,1 ± 0,7). Creditou-se isso ao impacto da tecnologia, que extraiu maior quantidade de matéria, porém com menor pureza de proteína.

Os resultados de IAE e IE (Tabela 2) indicaram que não houve grande aprimoramento da capacidade emulsificante do extrato de proteína ao serem aplicados os tratamentos de 250W e 450W com o ultrassom, e sim o contrário. Observou-se, no entanto, que, ao aplicar a sonicação durante a formação da emulsão (emulsões finas), houve melhora nos resultados.

Amostra	IAE (m ² /g)	IE (min)
0W grossa	27,4 ± 1,4	28,4 ± 6,3
250W grossa	26,8 ± 0,2	15,2 ± 2,0
450W grossa	27,0 ± 0,6	23,0 ± 1,1
0W fina	37,1 ± 3,9	252,4 ± 82,7
250W fina	39,2 ± 1,0	199,9 ± 56,6
450W fina	41,6 ± 0,2	199,3 ± 51,5

Tabela 2 - Dados de IAE e IE

Oliveira (2020) pontua tal acontecimento como previsível, visto que é esperado que o ultrassom cause mudanças na estrutura proteica e a consequente exposição dos grupos hidrofóbicos presentes nas proteínas – que aumentam sua afinidade com a interface da fase dispersa e aumentam a estabilidade da emulsão, além de contribuir para formação de emulsões com menor tamanho de gotas, melhor distribuição e homogeneidade das mesmas, como explica Furtado (2017).

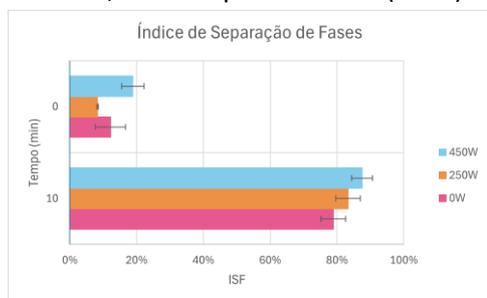


Figura 2 - Dados de ISF

Pela análise do gráfico de ISF (Figura 2), percebeu-se que a emulsão feita do extrato tratado com 450W apresentou maior separação, ou seja, teve menor estabilidade. Com mais medições de estabilidade poderiam ser entendidas as relações entre a separação de fases, a velocidade da separação e a estabilidade da amostra, tendo resultados mais completos.

A estabilidade de emulsões está relacionada a outros fatores intrínsecos das misturas, dentre eles o tamanho das gotículas da fase dispersa (DE CARVALHO; PICONE; SATO, 2024). A Figura 3 mostra como foi a distribuição do tamanho das gotas de óleo nas emulsões, e analisando as microscopias é possível discutir.

Nas gotículas das emulsões grossas, houve redução de tamanho através de tratamento com maior intensidade. Isso indica que as proteínas podem ter sofrido mudanças estruturais, favorecendo a interação com a interface. Furtado (2017) descreveu que o ultrassom altera a conformação estrutural e favorece a exposição de grupos funcionais em proteínas. Ademais, ocorreu o esperado nas emulsões finas: maior número de gotículas com tamanho reduzido, e também maior homogeneidade nos tamanhos.

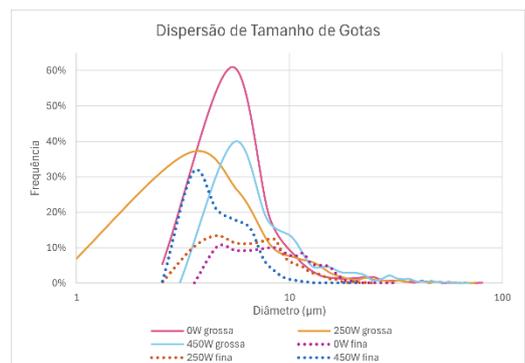


Figura 3 - Dispersão de tamanho de gotas

Observou-se no experimento que o tratamento menos intenso implicou na coalescência mais rápida das gotículas. Oliveira (2020) explica que quando as proteínas estão adsorvidas na superfície do óleo com os grupos hidrofílicos expostos para interagir com a fase aquosa, há atuação como barreira contra coalescência e floculação. Isso sugere que o tratamento ultrassônico feito propiciou esse efeito, provavelmente pelo desnovelamento parcial das proteínas. Essa hipótese está relacionada com a reologia do material.

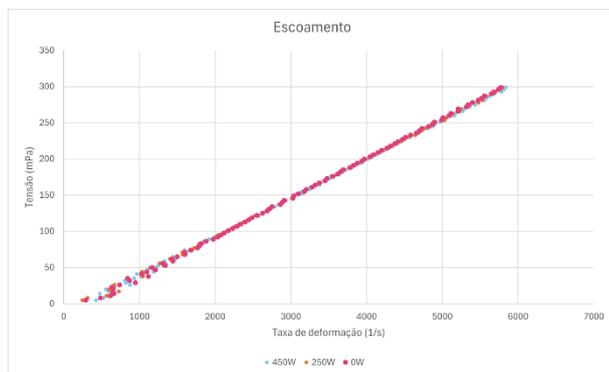


Figura 4 - Escoamento

A viscosidade – calculada pela lei da viscosidade de Newton – pode influenciar na forma de estabilização da emulsão. Pela curva de escoamento (Figura 4), todas as amostras se classificam como Fluido Newtoniano, com valores de viscosidade em torno de 20 mPa·s (ZHOU, 2021). Como o comportamento demonstrou ser semelhante independente da sonicação, entendeu-se que este não foi o motivo das diferenças nas emulsões. Colaborando com a

hipótese de que a manipulação da proteína foi eficaz para alterar positivamente sua interação com a interface.

A tensão interfacial é reduzida drasticamente quando a proteína está adsorvida na superfície da gotícula de óleo e interagindo com a fase aquosa (LOPES, 2019). Analisando a Figura 5, viu-se que houve a atuação das proteínas como agente emulsificante na mistura e que tratamentos de ultrassom mais intensos provocaram tensões menores, indicando adsorção mais eficaz à superfície e, como consequência, melhor estabilização do meio.

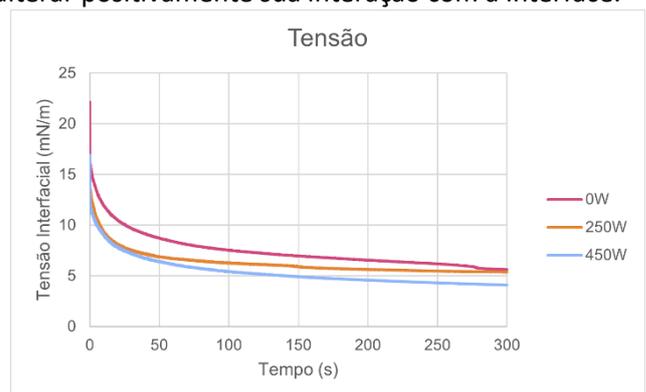


Figura 5 - Tensão Interfacial

Entende-se que a aplicação da sonicação foi causadora do desnovelamento parcial das proteínas, expondo os grupos hidrofóbicos e aprimorando a eficácia da acomodação dos mesmos à superfície das gotículas, facilitando a atuação das proteínas como emulsificantes e gerando emulsões com tendência a serem mais estáveis.

Com dados de CE (0W = 0; 250W = $1,6 \pm 0,8$; 450W = $1,8 \pm 0,4$) e EE (Figura 6), verificou-se que os extratos sonificados tiveram melhor desempenho na estabilização da espuma do que os que não foram. Esperava-se isso, visto que para a estabilização de espumas a proteína deve ter características de surfactante, reduzindo a tensão do meio e estabilizando a interface (KUMAR *et al.*, 2022).

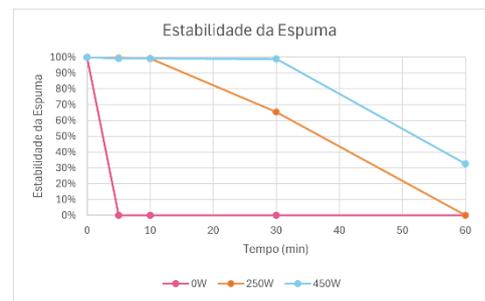


Figura 6 - Dados de EE

CONCLUSÕES:

A semente de uvaia mostrou-se uma promissora fonte de extração de proteína vegetal com propriedades tecnológicas relevantes quando combinada ao tratamento por ultrassom. Esse tratamento, sobretudo na potência de 450W, promoveu alterações estruturais nas proteínas, expondo grupos funcionais com atividade surfactante, indicado pela redução da tensão interfacial e pelo aumento do índice de estabilidade das emulsões. Além disso, o ultrassom reduziu o tamanho das gotículas de óleo, o que deve favorecer a estabilidade das emulsões, e melhorou significativamente a capacidade e estabilidade de formação de espumas, evidenciando seu papel na melhoria das propriedades interfaciais. Com isso, destaca-se também o ultrassom como uma tecnologia eficiente na extração e otimização de proteínas vegetais.

BIBLIOGRAFIA:

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis of AOAC International** - 20th Edition, 2016 20th ed. Gaithersburg: AOAC., 2016.

DE CARVALHO, M. D.; PICONE, C. S. F.; SATO, A. C. K. Sorghum proteins: Effect of extraction pH on physicochemical properties and emulsion formation. **Journal of Cereal Science**, v. 116, p. 103860, 2024.

FARIAS, D. DE P. *et al.* Distribution of nutrients and functional potential in fractions of *Eugenia pyriformis*: An underutilized native Brazilian fruit. **Food Research International**, v. 137, p. 109522, 1 nov. 2020

FURTADO, G. F. *et al.* Structural and emulsifying properties of sodium caseinate and lactoferrin influenced by ultrasound process. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 178-188, 2017.

KUMAR, M. *et al.* Functional characterization of plant-based protein to determine its quality for food applications. **Food Hydrocolloids**, v 123, February 2022.

LOPES, I. S. *et al.* Effect of chitosan structure modification and complexation to whey protein isolate on oil/water interface stabilization. **Chemical Engineering Science**, v. 230, p. 116124, 2 fev. 2019.

OLIVEIRA, A. P. H. **Efeitos de processamento por ultrassom sobre técnico- funcionalidades de concentrados proteicos de ervilha**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2020.

SILVA, P. S. *Bioquímica dos alimentos*. Grupo A, 2018. E-book. ISBN 9788595026605.

SILVA, C. M. *et al.* **Guia para Caracterização Tecnológica-Funcional de Ingredientes Proteicos para o Mercado de Produtos de Origem Vegetal**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2022.

SOARES, I. S. **Proteína de semente de uvaia (*Eugenia pyriformis*): impacto do ultrassom de alta intensidade nas propriedades funcionais do extrato**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2024.

ZHOU, L. *et al.* Applications and effects of ultrasound assisted emulsification in the production of food emulsions: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 110, p. 493-512, 2021.