MELHORAMENTO DE PROTEÍNA DE AVEIA (*Avena sativa*) USANDO CO_2 SUPERCRÍTICO

Palavras-Chave: PROTEÍNA VEGETAL, TRATAMENTO SUPERCRÍTICO, COMPOSTOS VOLÁTEIS

Autores(as):

SAMUEL SENSOLO GOLDFLUS, FEA – UNICAMP

Prof(ª). Dr(ª). JULIAN MARTÍNEZ (orientador), FEA – UNICAMP

LUCIEDRY MATHEUS SOUZA CARVALHO, FEA – UNICAMP

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a deficiência nutricional tem se agravado como um problema global, impulsionado pelo crescimento populacional e às suas implicações na redução do consumo alimentar adequado e da sustentabilidade produtiva (Saith; Fachinello, 2018). Diante disso, cresce a busca por novas fontes nutricionais, com destaque para alimentos compostos exclusivamente por ingredientes vegetais (plant-based), que se apresentam como uma das principais alternativas (Liu; Pei; Heinonen, 2022). Com benefícios à saúde e ao meio ambiente, o desenvolvimento desses produtos ainda é desafiador, uma vez que muitas proteínas vegetais não possuem as mesmas propriedades tecnológicas das de origem animal. Isso evidencia a necessidade de mais estudos voltados à exploração dessas fontes, especialmente das matérias-primas provenientes da biodiversidade brasileira, como é o caso da proteína de aveia. (Kumar, et al, 2021).

A aveia (Avena sativa) é um cereal que vem ganhando espaço na alimentação dos brasileiros, destacando-se como uma fonte proteica acessível. Seu valor está associado tanto às qualidades tecnológicas e funcionais, quanto ao aspecto socioeconômico, apresentando valor nutricional com custo inferior às proteínas de origem animal. Entre os cereais, a aveia possui grande quantidade de proteínas (13,95 a 16,52%) (Pedó; Sgarbieri, 1997), distribuídas entre globulinas, prolaminas, albuminas e glutelinas (Kumar et al., 2021). Também é rica em fibras, vitaminas do complexo B e E, ferro, magnésio e carboidratos complexos (Pedó; Sgarbieri, 1997), além de conter compostos orgânicos benéficos, como ácidos fenólicos e avenantramidas (Nobrega, 2024).

Entre as propriedades tecnológicas das proteínas vegetais, especialmente aquelas que favorecem formulações plant based ao atenderem atributos sensoriais e funcionais, destacam-se a solubilidade, bem como a capacidade e a estabilidade na formação de espumas e emulsões. Essas propriedades podem ser aprimoradas por meio de tratamentos como o SFT (Supercritical Fluid Treatment – Tratamento com Fluido Supercrítico), utilizando CO_2 supercrítico (Li et al., 2021). O CO_2 é uma substância ambientalmente pouco agressiva, não inflamável, que possui baixa temperatura crítica (31 °C) e moderada pressão crítica (7,4 MPa), o que permite sua aplicação de forma prática e econômica. A interação entre as proteínas e o CO_2 supercrítico promove alterações estruturais e mudanças físico-químicas, resultando assim em melhorias significativas para o desenvolvimento de alimentos à base de proteínas vegetais (Ding, 2020).

Portanto, considerando o potencial do CO_2 supercrítico e sua contribuição direta para a segurança alimentar e nutricional, o objetivo deste trabalho foi aplicá-lo por meio do SFT a fim de melhorar propriedades tecnológicas da proteína de aveia, como a solubilidade, a capacidade e estabilidade na formação de espumas e emulsões para possível aplicação em alimentos. Além disso, avaliou-se o efeito de diferentes combinações de pressão e temperatura para, assim determinar a condição mais eficaz de SFT para essa proteína vegetal.

METODOLOGIA

Teor de proteína por método semimicro-Kjeldahl (AOAC, 2005)

O teor de proteínas da amostra de proteína de aveia da empresa SL Alimentos (PR) foi determinado pelo método semimicro-Kjeldahl (AOAC, 2005) e foi calculado com o fator 6,25, com base na massa da amostra.

Tratamento com CO_2 supercrítico

O tratamento da proteína de aveia com CO_2 supercrítico foi realizado no LAPEA (FEA/UNICAMP), em célula de aço inox de 50 mL contendo cerca de 10,0 g de amostra. Foram combinadas pressões (25, 30 e 35 MPa) e temperaturas (40,

50 e 60 °C), em duplicata, totalizando 18 ensaios com tempo estático de 60 minutos. As amostras tratadas foram armazenadas a -18 °C para análises de solubilidade, propriedades emulsificantes e formação de espumas.

Capacidade da formação e estabilidade de espuma

A capacidade de formação e a estabilidade de espumas foram avaliadas com base no guia da EMBRAPA (2022), com adaptações para a proteína de aveia. Os testes foram realizados em triplicata, tanto para amostras tratadas com SFT quanto para o controle, avaliando-as com o passar do tempo. Ao final, a capacidade de formação de espuma (FC) e a estabilidade de espuma (FS) foram obtidas através das Equações 1 e 2, onde V_0 é o volume inicial da solução da amostra proteica, V_1 é o volume da espuma após a homogeneização, no tempo zero, e V_2 é o volume da espuma após 10 min, 30 min e 60 min.

$$FC\ (\%) = \frac{V1-V0}{V0} \times 100 \quad (1)$$

$$FS(\%) = \frac{V2}{V1} \times 100 \quad (2)$$

Capacidade da formação e estabilidade de emulsão

A capacidade de formação e estabilidade de emulsões foi avaliada conforme o guia da EMBRAPA (2022), com adaptações para a proteína de aveia, em triplicata, com amostras tratadas por SFT e controle. O índice de atividade emulsificante (EAI) e a estabilidade da emulsão (ESI) foram calculados pelas Equações 3 e 4, usando a concentração da proteína (c), o caminho óptico (C_0), e as absorbâncias A_0 (tempo zero) e A_{10} (10 min).

$$EAI\left(\frac{m^2}{g}\right) = \frac{A_0 \,.\, 2 \,.\, 2{,}303 \,.\, 100}{c \,.\, 0{,}25 \,.\, 10000 \,.\, C_0} \quad (3)$$

$$ESI(min) = \frac{A_0}{A_0 - A_{10}} \times 10 \quad (4)$$

Análise estatística

Os resultados foram estatisticamente trabalhados pelo Teste de Tukey, em análises de variância (ANOVA), ao nível de 5% de significância pelo *software* Minitab (16.1.0, Minitab Inc.).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teor de proteínas

O teor de proteína nas amostras foi de 72,66%. De acordo com a RDC 243 de 2018 (ANVISA, 2018), a proteína de aveia trabalhada classifica-se como concentrado proteico, atendendo a essa especificação.

Capacidade e estabilidade da formação de espuma

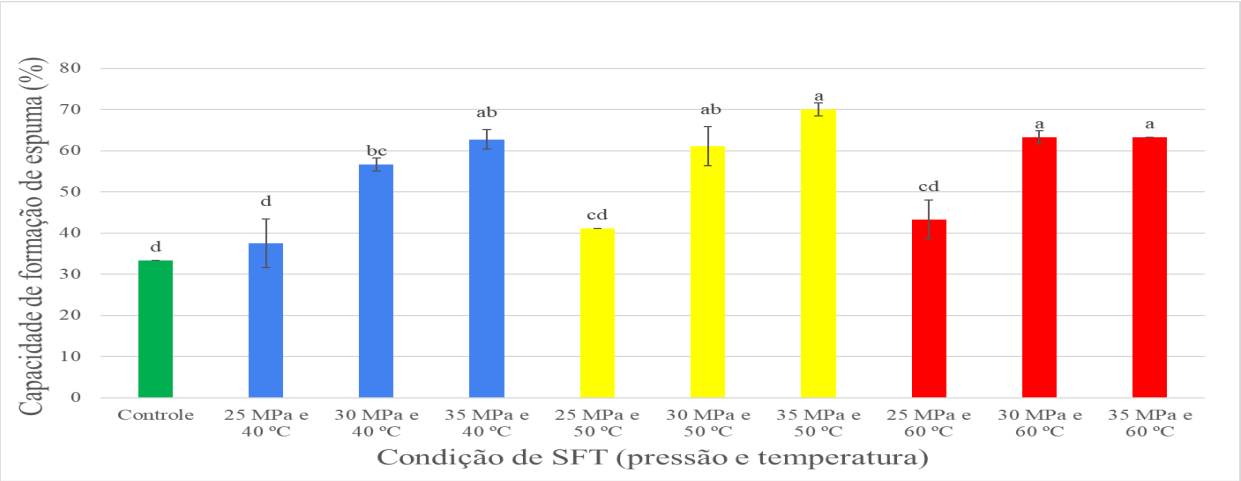
Os resultados de FC estão apresentados na Figura 1. Observa-se que o tratamento com SFT promove um aumento na capacidade de formação de espuma da proteína de aveia, o que pode favorecer seu desempenho em formulações de produtos *plant-based* em que essa característica é desejável (Liu; Pei; Heinonen, 2022).

A eficácia do tratamento por SFT na melhora da formação de espuma é evidenciada pelo desempenho superior ao controle (33,33%), mesmo sem uso de condições extremas. A maior FC (70% ± 1,57) foi obtida a 35 MPa e 50 °C, sem diferença significativa ($p \leq 0{,}05$) em relação às demais condições a 35 MPa (40 °C e 60 °C) e a 30 MPa (60 °C), indicando que essas configurações são eficientes e tecnologicamente viáveis.

Observa-se que, em todas as temperaturas, o aumento da pressão de 25 a 30 MPa resultou em incremento significativo na formação de espuma. Contudo, esse efeito não se manteve a partir de 30 MPa, pois o aumento para 35 MPa, independentemente da temperatura, não promoveu elevação significativa de FC ($p \leq 0{,}05$). Para pressões fixas, o aumento de temperatura elevou a FC significativamente apenas em 30 MPa, entre 40 °C e 60 °C. Os resultados de FC encontram-se expressos na tabela 1.

De forma geral, observa-se que os aumentos da pressão e da temperatura favorecem a capacidade de formação de espumas da proteína de aveia. Isso ocorre porque essas variáveis influenciam a formação de vapor do CO_2 supercrítico e, consequentemente, provocam alterações estruturais nas proteínas (Ding et al., 2020). O SFT pode induzir o desdobramento proteico e a reorganização conformacional, como a transição de ligações α-hélice para folha-β e a conversão de ligações β-intramoleculares em β-intermoleculares (Joyce et al., 2024). Tais modificações aumentam a afinidade das proteínas com o CO_2, favorecem a adsorção na interface e o acúmulo de bolhas de ar, resultando na maior formação de espumas durante a agitação.

Figura 1. Capacidade de formação de espuma da proteína de aveia tratada com CO_2 supercrítico



* Pelo teste de Tukey, letras iguais indicam que não há diferença significativa a 5% ($p \leq 0,05$) de significância para FC.

Fonte: Autor, 2024.

Tabela 1. Estabilidade da espuma de proteína de aveia tratada com CO_2 supercrítico

		Estabilidade da espuma (%)		
		Tempo (min)		
P (MPa)	T (°C)	10	30	60
25	40 ºC	95,67 ± 6,13 ABa	92,84 ± 4,23 Aa	77,77 ± 7,87 Aa
	50 ºC	99,29 ± 1,00 ABa	89,74 ± 3,12 Ab	80,89 ± 1,20 Ac
	60 ºC	96,46 ± 0,81 ABa	90,13 ± 0,25 Ab	80,07 ± 0,60 Ac
30	40 ºC	90,10 ± 2,81 Ba	87,63 ± 0,37 Aa	84,09 ± 0,30 Aa
	50 ºC	93,11 ± 1,22 ABa	85,45 ± 5,33 Aa	76,79 ± 7,05 Aa
	60 ºC	94,59 ± 2,80 ABa	88,47 ± 3,72 Aab	81,97 ± 0,32 Ab
35	40 ºC	94,18 ± 1,37 ABa	88,67 ± 0,30 Ab	82,56 ± 1,17 Ac
	50 ºC	97,72 ± 0,46 ABa	91,19 ± 2,36 Ab	86,26 ± 1,03 Ab
	60 ºC	97,26 ± 1,98 ABa	88,80 ± 2,38 Aab	82,29 ± 1,93 Ab
Controle		100,00 ± 0,00 Aa	95,83 ± 7,22 Ab	91,67 ± 7,22 Ac

*Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as condições de SFT e letras minúsculas na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre os tempos ao nível de 5% ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autor, 2024.

No entanto, quando se avalia a estabilidade dessas espumas ao longo do tempo (10, 30 e 60 minutos), o comportamento não é uniforme. Isso se deve ao fato de que a estabilidade da espuma depende do equilíbrio entre o desdobramento proteico e a preservação de sua integridade estrutural, evitando desnaturações irreversíveis (Tang, 2008). A formação de filmes coesos na interface, favorecida por essas alterações, é essencial para manter a espuma estável, e as interações do tipo folha-β desempenham papel central nesse processo, conferindo maior resistência estrutural (Sharafuddin & Soltanizadeh, 2022). Portanto, controlar adequadamente as condições de pressão e temperatura no tratamento com CO_2 supercrítico é fundamental para otimizar tanto a formação quanto a estabilidade das espumas em produtos *plant-based*.

Além disso, com base na Tabela 1, infere-se que certas condições exercem maior influência sobre a estabilidade das espumas. As amostras tratadas em 25 MPa/40 °C, 30 MPa/40 °C e 30 MPa/50 °C apresentaram maior estabilidade, enquanto aquelas submetidas a 35 MPa/40 °C e 25 MPa/60 °C foram as menos estáveis. Esse comportamento está diretamente relacionado à química de alimentos. Até determinado limite de pressão, o estresse tensional induzido nas células resulta em deformações elásticas e reversíveis, favorecendo a formação e a estabilidade da espuma. No entanto, ao se atingir o ponto de colapso,conhecido como região de platô, as pressões aplicadas causam deformações irreversíveis, que aumentam de forma desproporcional. A combinação de pressão excessiva e agitação pode danificar permanentemente a estrutura celular, comprometendo progressivamente a estabilidade da espuma. Isso justifica o evidenciado nas amostras de 30 MPa, em geral

mais estáveis que 25 MPa, porém passando a decair com o aumento a 35 MPa (Mulinari et al., 2009).

Dessa forma, diferentemente de outros estudos, como o de Espinosa-Pardo et al. (2020), que observaram variação apenas na capacidade de formação de espuma, sem diferenças significativas na estabilidade da espuma para proteínas do gérmen de milho, o presente trabalho com proteína de aveia revelou-se promissor. O tratamento por SFT demonstrou-se eficaz na melhoria da estabilidade da espuma, além de aumentar a capacidade de formação de espuma em comparação à proteína não tratada, mostrando-se altamente viável.

Capacidade da formação e estabilidade de emulsão

Como apresentado na Tabela 2, SFT promoveu aumento nos valores de EAI e ESI da proteína de aveia em comparação ao controle (3,60 m²/g), exceto na condição 25 MPa/60 °C. As maiores EAI foram observadas a 35 MPa/50 °C (8,46 m²/g) e 35 MPa/60 °C (9,12 m²/g), sem diferença significativa entre si ($p \leq 0,05$). Essas mesmas condições também se destacaram nos testes de espuma, indicando boa eficiência e viabilidade tecnológica.

Nas demais condições, as variações de temperatura e pressão não causaram diferenças significativas na EAI. Apenas os valores mais elevados desses parâmetros resultaram em melhorias significativas na formação e estabilidade das emulsões, comportamento também observado na ESI. Esses resultados, expressos na tabela 2, quando comparados às análises de espuma e solubilidade, permitem identificar padrões que favoreçam uma compreensão mais integrada da funcionalidade da proteína de aveia, expresso a seguir.

Tabela 2. EAI e ESI da proteína de aveia tratada com CO_2 supercrítico

P (MPa)	T (°C)	EAI (m²/g)	ESI (min)
25	40	$5,87 \pm 0,10^{b}$	$21,06 \pm 2,81^{c}$
	50	$5,37 \pm 0,15^{bc}$	$31,45 \pm 2,35^{bc}$
	60	$3,29 \pm 0,02^{d}$	$27,03 \pm 4,20^{bc}$
30	40	$4,60 \pm 0,00^{bcd}$	$31,75 \pm 5,61^{bc}$
	50	$4,58 \pm 0,59^{bcd}$	$36,55 \pm 3,26^{ab}$
	60	$5,15 \pm 0,21^{bcd}$	$44,48 \pm 1,20^{a}$
35	40	$5,08 \pm 0,36^{bcd}$	$35,97 \pm 3,62^{ab}$
	50	$8,46 \pm 0,94^{a}$	$38,60 \pm 1,98^{ab}$
	60	$9,12 \pm 0,92^{a}$	$33,82 \pm 0,21^{ab}$
Controle		$3,60 \pm 0,05^{cd}$	$21,54 \pm 0,65^{c}$

*letras minúsculas iguais indicam que não há diferença significativa entre os tempos ao nível de 5% ($p \leq 0,05$).

Fonte: Autor, 2024.

Estudos com isolados proteicos de caroço de ameixa, tratados com CO_2 supercrítico, apresentaram resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho com a proteína de aveia. Nas mesmas faixas de temperatura, os melhores resultados foram registrados a 60 °C, com EAI de $59,12 \pm 0,21$ e ESI de $52,30 \pm 0,18$ (Sheikh et al., 2023). Embora ambos os materiais tenham mostrado melhora com o aumento da temperatura, os valores do isolado proteico de caroço de ameixa foram significativamente superiores, reflexo das diferenças na composição e no teor proteico entre as matérias-primas. Segundo Boye et al. (2010), a proporção de albuminas e globulinas afeta diretamente a solubilidade da proteína e, por consequência, sua capacidade emulsificante. Assim, apesar das diferenças estruturais, ambas as proteínas foram beneficiadas pelo tratamento com CO_2 supercrítico.

Esse aprimoramento pode ser explicado pelas mudanças estruturais promovidas pelo aumento da pressão e da temperatura durante o tratamento. O CO_2 supercrítico é capaz de aumentar a carga superficial e modificar as estruturas secundárias das proteínas (Vatansever et al., 2022), reduzindo o tamanho das partículas e expondo grupos hidrofóbicos antes

ocultos. Esses grupos favorecem a adsorção na interface óleo-água, contribuindo para a estabilidade da emulsão e justificando os melhores desempenhos observados nas condições ideais de SFT, 35 MPa/50 °C e 35 MPa/60 °C (Sheikh et al., 2023).

O CO_2 supercrítico pode modificar a polaridade do microambiente proteico, influenciando a solubilidade e favorecendo a formação e estabilidade de emulsões (Sheikh et al., 2023). Contudo, sob certas condições, pode causar desnaturação excessiva ou agregação, prejudicando a cobertura das gotículas de óleo (Shen et al., 2017). Como a capacidade emulsificante depende de fatores como estrutura molecular, hidrofobicidade, pH e estabilidade conformacional (Mir et al., 2020), variações nos resultados entre as condições avaliadas, como 25 MPa/60 °C e 25 MPa/40 °C, refletem a complexidade do efeito do SFT sobre a funcionalidade proteica.

Dessa forma, os resultados evidenciam que o tratamento com CO_2 supercrítico pode melhorar significativamente as propriedades emulsificantes das proteínas, embora sua eficácia dependa da composição proteica e das condições aplicadas.

CONCLUSÕES

O uso do CO_2 supercrítico mostrou-se promissor no tratamento por SFT para aprimorar as propriedades tecnológicas da proteína de aveia, especialmente na capacidade e estabilidade de espumas e emulsões. As condições de 35 MPa/50 °C e 35 MPa/60 °C apresentaram os melhores resultados funcionais. A análise de solubilidade fornecerá informações complementares, confirmando essas condições por combinar bom desempenho e viabilidade operacional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA (2018). Resolução da diretoria colegiada - RDC Nº243 de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares.

AOAC. (2005). Official methods of the Association of Official Analytical Chemists. 16. ed.Arlington: Association of Official Analytical Chemists.

BOYE, J. I. et al. Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil proteinconcentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. FoodResearch International v. 43, p. 46-537. 2010.

DING, L. *et al.* Mechanism of enhacing foaming properties of egg white by super critical carbon dioxide treatment. Food Chemistry, Vol 317, 2020.

ESPINOSA-PARDO, F. A. *et al*. Oil and protein recovery from corn germ: Extraction yield, composition and protein functionality. Food and Bioproducts Processing, vol. 120, p. 131-142. 2020.

FENNEMA, O. R, DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. Química de Alimentos de Fennema. Editora Artmed, 4ª Edição, 2010.

NOBREGA, B. Extrato hidrossolúvel da aveia: um estudo de revisão do processo de produção. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

WANG, B. *et al*. Insights into formation, detection and removal of the beany flavor in soybean protein. Trends in Food Science & Technology, 2021, vol. 112, p. 336-347.

KUMAR, L. *et al.* Proteínas de Aveia: uma perspectiva sobre propriedades funcionais. Food Science and Technology, vol. 152. 2021

SAATH, K. C. de O.; FACHINELLO, A. L.. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. Revista De Economia E Sociologia Rural, vol. 56, p. 195–212. 2018. https://doi.org/10.1590/1234-56781806-9479056020

PEDÓ, I.; SGARBIERI, V. C.. Caracterização química de cultivares de aveia (Avena sativa l). Food Science and Technology. Vol. 17. p. 78–83. 1997. https://doi.org/10.1590/S0101-20611997000200002

LI, X. *et al*. Effects of pretreatments on physicochemical and structural properties of proteins isolated from canola seeds after oil extraction by supercritical-CO2 process. LWT – Food Science and Technology, 2021, p. 137, p. 110415.

LIU, C.; PEI, R.; HEINONEN, M. Faba bean protein: A promising plant-based emulsifier for improving physical and oxidative stabilities of oil-in-water emulsions. Food Chemistry, vol. 369, 130879, ISSN 0308-8146. 2022.

MULINARI, D. R. Comportamento térmico, mecânico e morfológico dos compósitos de polietileno de alta densidade reforçados com fibras de celulose do bagaço de cana de açúcar. UNESP, Guaratinguetá, 2009.

MIR, N. A. *et al.* Structural modification in album (Chenopodium album) protein isolates due to controlled thermal modification and its relationship with protein digestibility and functionality. Food Hydrocolloids. v. 103, 2020.

SHARAFODIN, H.; SOLTANIZADEH, N. Potential application of DBD Plasma Technique for modifying structural and physicochemical properties of Soy Protein Isolate. Food Hydrocolloids, vol. 122. 2022.

SHEIKH, M. A. *et al.* Supercritical carbon dioxide treatment of plum (Prunus domestica L) kernel protein isolate: Impact on structural, thermal, physical, and functional properties. Sustainable Chemistry and Pharmacy, vol. 32. 2023.

SHEN, L. *et al*. Effects of ultrasound treatment on physicochemical and emulsifying properties of whey proteins pre-and post-thermal aggregation. Food Hydrocolloids, vol. 63. p. 668-676, 2017

TANG, C. H. Thermal denaturation and gelation of vicilin-rich protein isolates from three Phaseolus legumes: A comparative study. LWT - Food Science and Technology, vol. 41, p. 1380-1388. 2008.

VATANSEVER, S. et al. A novel approach: Supercritical carbon dioxide + ethanol extraction to improve techno-functionalities of pea protein isolate. Cereal Chemistry, v. 99, p. 130–143.2022.