MICROPARTICULAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO GRÃO-DE-BICO: COMO O RESULTADO DO PROCESSO DE MICROPARTICULAÇÃO MODULA A NATUREZA DAS PROTEÍNAS ENVOLVIDAS?

Palavras-Chave: GRÃO DE BICO, MICROPARTICULAÇÃO TERMO-INDUZIDA, PROPRIEDADES TECNO-FUNCIONAIS

Autores:

Guilherme Augusto Cavalcante Brasil – FEA/UNICAMP

Leandro Vinícius Bernardes – FEA/UNICAMP

Prof. Dr. Guilherme M. Tavares – FEA/UNICAMP

INTRODUÇÃO

Até 2050, a população mundial pode atingir cerca de 10 bilhões de pessoas, o que torna urgente buscar soluções para enfrentar as limitações de recursos naturais como terra, água e alimentos. Nesse cenário, o desenvolvimento de proteínas emergentes e mais sustentáveis surge como alternativa para reduzir a dependência das proteínas animais convencionais. Grupos de pesquisa estão explorando o potencial de proteínas de diversas fontes, em particular de leguminosas como o grão-de-bico, que possui entre 20% e 29% de proteínas (Grasso et al., 2022), incluindo frações como globulinas (53-60%), glutelinas (19-25%), albuminas (8-12%) e prolaminas (3-7%).

Neste sentido, essa pesquisa buscou diversificar as propriedades tecno-funcionais das proteínas do grão-de-bico com a microparticulação termo-induzida, técnica que visa modular as características como gelificação e viscosidade de ingredientes proteicos. A microparticulação é uma estratégia relevante para controlar o comportamento das proteínas globulares durante o processamento. A utilização de proteínas microparticuladas em alimentos como bebidas proteicas pode controlar o desenvolvimento excessivo de viscosidade atrelado a intensos tratamentos térmicos (Kaur & Prasad, 2021).

A crescente demanda global por alimentos proteicos e o uso das proteínas vegetais está frequentemente ligado a um menor impacto ambiental comparativamente a proteínas de fontes tradicionais. Esta proposta de pesquisa traz como objetivo central diversificar o perfil tecno-funcional do concentrado proteico do grão de bico por meio de microparticulação termo-induzida para modulação de propriedades intermoleculares do material (gelificação e desenvolvimento de viscosidade).

METODOLOGIA

Obtenção do concentrado proteico de grão de bico

O grão-de-bico utilizado foi adquirido em Campinas, São Paulo, e processado em moinho de bancada (SOLAR™ modelo SL 35). O concentrado proteico foi obtido conforme

Wang et al. (2022), com modificações. A farinha foi dispersa em água (1:17) e o pH ajustado para 9 com NaOH 1M. Foi aquecida a 40°C por 2 horas, houve uma centrifugação a 6000 x g por 15 minutos, o pH do sobrenadante foi ajustado para 4,9 com HCl 1M. Uma nova centrifugação foi realizada, e o precipitado foi ressuspenso em água Milli Q e o pH ajustado para 7, e liofilizado.

Preparo das amostras

A partir de concentrado proteico de grão de bico contendo 74,4% (m/m) de proteína, foram preparadas dispersões na concentração de 4% (m/m), em diferentes valores de pH: 2; 4.5; 9. As dispersões foram submetidas a tratamento térmico, 90°C, por 30 min., a 12000 rpm com uso do ultra-turrax. Controles para cada um dos valores de pH foram obtidos, sem o tratamento térmico. Posteriormente as amostras foram resfriadas e o pH ajustado para 7. Na sequencia todas as amostras foram liofilizadas.

Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) e solubilidade

O SDS-PAGE foi utilizado para avaliar as frações proteicas solúveis e insolúveis das amostras. Dispersões proteicas foram preparadas a 20 mg/mL em concentração de proteína, seguindo o preparo para avaliação da solubilidade. As dispersões foram centrifugadas a 4000 rpm por 30 minutos e as frações foram separadas em sobrenadante e o precipitado foi ressuspenso em água em volume equivalente ao sobrenadante retirado. Em seguida as amostras foram misturadas tampão de amostra em condições redutoras, e aquecidas a 95°C. A migração foi realizada em géis de acrilamida 14%, utilizando o sistema Mini-PROTEAN, Bio-Rad, com coloração com Coomassie Brilliant Blue G-250. O padrão molecular de 10 kDa a 250 kDa foi utilizado para análise.

A solubilidade foi realizadas conforme metodologia de Boye et al (2010), com modificações. A solubilidade total foi aquela observada pela concentração de proteína no sobrenadante da dispersão feita em NaOH 0,1 mol/L, com a concentração de proteínas sendo verificada pelo método de Lowry. A solubilidade em água foi determinada pela concentração de proteína presente na porção solúvel após a centrifugação.

Concentração crítica de gelificação (CCG)

Para determinar a CCG, as amostras foram dispersas em água Milli-Q (pH 7) em diferentes concentrações (6 a 14 % m/m) e transferidas para seringas. Em seguida, as dispersões serão tratadas termicamente a 95 °C por 15 min em banho termostático (Marconi, Piracicaba, Brasil). Após o resfriamento em banho de gelo, as amostras foram colocadas em placas de petri e avaliadas em função da estruturação do gel formado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A solubilidade das amostras (Figura 1) variaram entre 49,9 e 92%. Pode-se observar que a maior solubilidade foi encontrada para o concentrado proteico que não diferiu da amostra em controle obtida pH 9 (9c). Esse resultado sugere que o elevado cisalhamento em pH alcalino ocasiona uma mudança na estrutura das proteínas, deixando-as mais susceptíveis a interação com o solvente. As amostras controle obtidas em pH 2 (2c), microparticulada em pH 2 (2m) e controle obtido em pH 4,5 (4.5c) não apresentaram diferença significativa entre si. A amostra microparticulada em pH 4,5 (4.5m) obteve o menor valor para solubilidade, o que pode ser explicado pela proximidade do valor de pH com o ponto isoelétrico das proteínas em questão. Zhang et al., (2022) reportaram resultados semelhantes para a solubilidade das proteínas do grão de bico em pH 9, em torno de 90%.

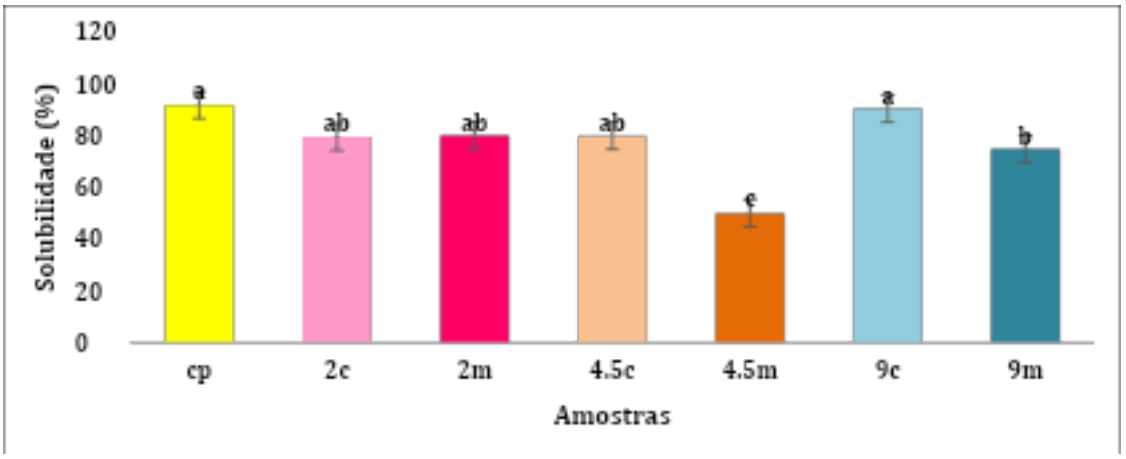

Figura 1. Solubilidade das amostras: concentrado proteico (cp); pH 2 controle (2c); pH 2 microparticulado (2m); pH 4,5 controle (4,5c); pH 4,5 microparticulado (4,5m); pH 9 controle (9c); pH 9 microparticulado (9m).

A análise em SDS-PAGE (Figura 2) confirme que as amostras com maior solubilidade apresentaram intensa presença das subunidades da proteína 7S (33-35 kDa, 18-20 kDa) e da proteína 11S (cadeia ácida 35-40 kDa e 20 kDa) no sobrenadante. Ainda avaliando o gel obtido a partir dos sobrenadantes (fração solúvel), foi possível notar menos proteína solúvel na amostra 4,5m, confirmando o impacto do tratamento aplicado nas proteínas do grão de bico. Bandas presentes no sobrenadante do pH 9 microparticulado sugerem uma menor solubilidade do que em seu respectivo controle, efeito que não foi observado para no tratamento em pH 2. Wang et al. (2022) também observaram diferenças nos perfis de bandas por SDS-PAGE ao aplicar tratamento térmico nas proteínas de grão de bico, com diminuição das bandas de 20-35 kDa e entre 48-52 kDa.

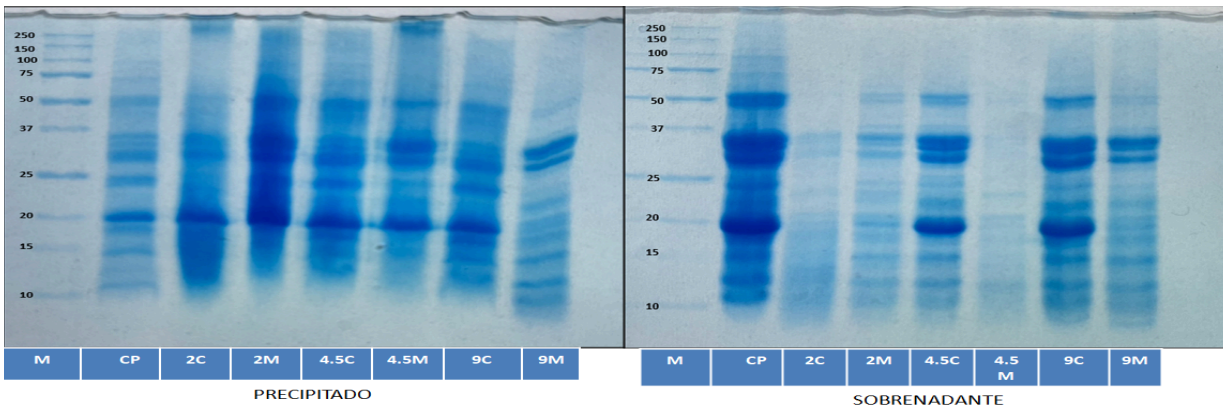

Figura 2. SDS-PAGE em condições redutoras das porções solúveis e insolúveis das diferentes amostras. Poço: marcador de tamanho (M); Concentrado proteico (CP); pH 2 controle (2C); pH 2 microparticulado (2M); pH 4,5 controle (4,5C); pH 4,5 microparticulado (4,5M); pH 9 controle (9C); pH 9 microparticulado (9M).

A Figura 3 apresenta os resultados da análise da concentração crítica de gelificação (CCG). O concentrado proteico apresentou CCG de 9,5%. De maneira global todas as amostras tiveram a sua CCG modificada em relação ao material de partida. No comparativo entre as amostras controle e as amostras submetidas ao processo de microparticulação, a

amostra obtidas em pH 2 e a amostra obtida em pH 4,5, tiveram CCG maiores quando microparticuladas do que em relação ao controle, de 8% para 10% e de 9% para 10%, respectivamente. Esse comportamento sugere menor reatividade das proteínas quando submetidas a um segundo tratamento térmico. No pH 9 ocorreu o contrário, houve uma redução da CCG após o processo de microparticulação, em relação ao controle.

Utilizando determinada variedade de grão de bico, Papalamprou et al. (2009) encontrou valores entre 4,5%-11,5% para CCG, outros estudos relatam concentrações diferentes, variando tanto a cultivar do grão de bico, quanto a técnica de extração proteica.

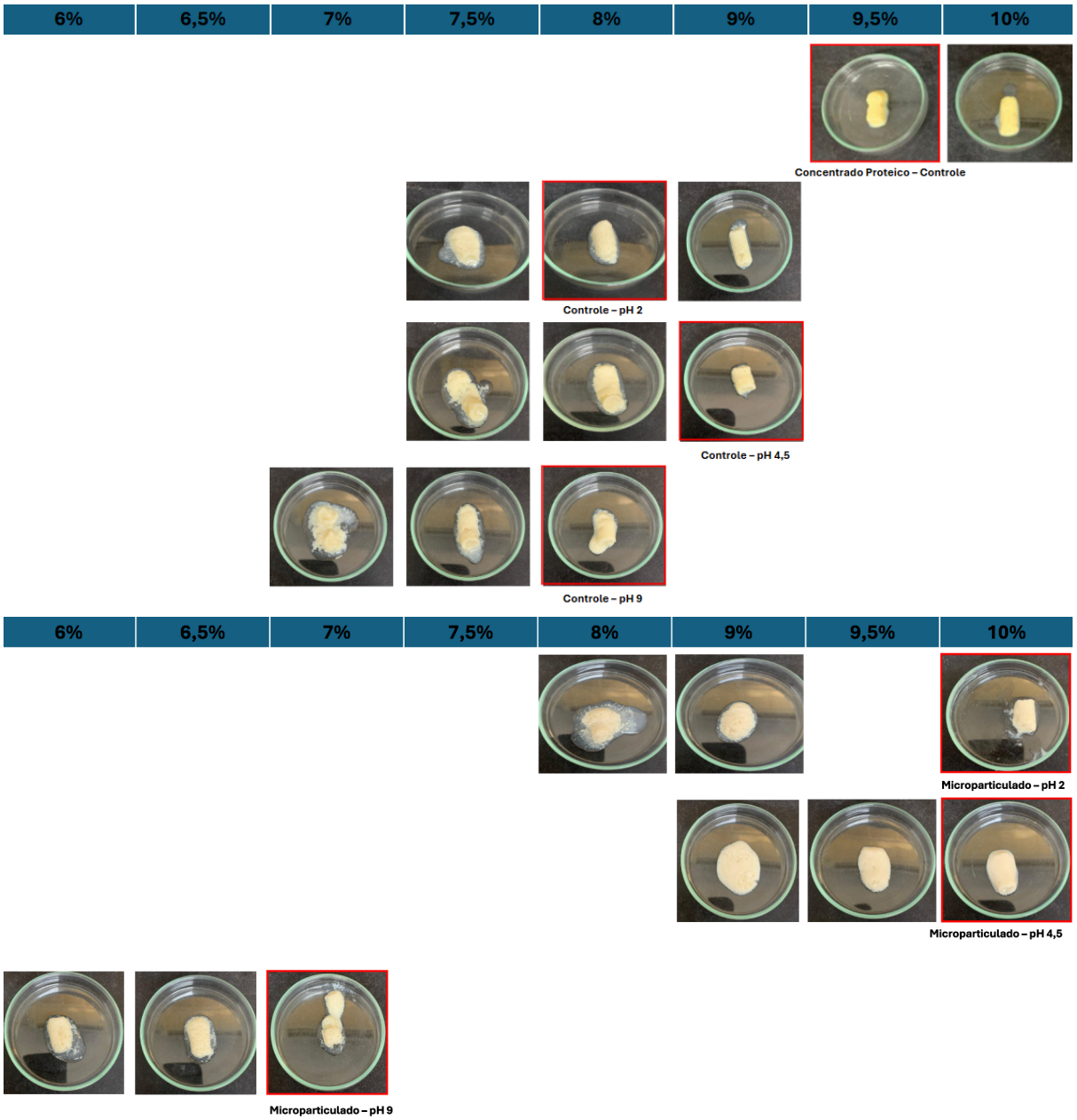

Figura 3. Concentração crítica de gelificação das diferentes amostras.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciaram que o processo de microparticulação modulou, de maneira significativa, as propriedades tecno-funcionais das proteínas do grão

de bico. A solubilidade proteica e a CCG foram influenciadas pelo pH no qual o processo de microparticulação foi realizado.

O concentrado proteico apresentou CCG de 9,5%. Com a microparticulação realizada nos valores de pH de 2 e 4,5 houve um aumento para 10%. No entanto, quando o processo de microparticulação foi realizado em pH 9, a CCG caiu para 8%. Esses resultados sugerem que controlando as condições de microparticulação aplicadas às proteínas do grão de bico é possível obter ingredientes proteicos com propriedades customizadas.

BIBLIOGRAFIA

BOUKID, F. Chickpea (Cicer arietinum L.) protein as a prospective plant‐based ingredient: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 56, n. 11, p. 5435–5444, 5 nov. 2021.

CHANG, Y.-W. *et al.* Isolation and Characterization of Chickpea (Cicer arietinum L.) Seed Protein Fractions. ***Food and Bioprocess Technology***, v. 5, n. 2, p. 618–625, 22 fev. 2012.

GRASSO, N. et al. Chickpea protein ingredients: A review of composition, functionality, and applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 21, n. 1, p. 435–452, 17 jan. 2022.

KAUR, R.; PRASAD, K. Technological, processing and nutritional aspects of chickpea (Cicer arietinum) - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 109, p. 448–463, mar. 2021.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680–685, ago. 1970.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1 mar. 1951.

PAPALAMPROU, E. M.; DOXASTAKIS, G. I.; KIOSSEOGLOU, V. Chickpea protein isolates obtained by wet extraction as emulsifying agents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, n. 2, p. 304–313, 18 nov. 2009.

SANTIAGO, L. A.; FADEL, O. M.; TAVARES, G. M. How does the thermal-aggregation behavior of black cricket protein isolate affect its foaming and gelling properties? **Food Hydrocolloids**, v. 110, p. 106169, 1 jan. 2021.

WANG, Y. et al. Unraveling the effect of combined heat and high-pressure homogenization treatment on the improvement of chickpea protein solubility from the perspectives of colloidal state change and structural characteristic modification. **Food Chemistry**, v. 442, p. 138470, 20 jan. 2024.

ZHANG, Y. et al. Preparation, functional properties, and nutritional evaluation of chickpea protein concentrate. **Cereal Chemistry**, 26 set. 2022.