

Digestibilidade de géis de proteína de ervilha e glúten em sistemas *in vitro* de digestão estático e dinâmico

Palavras-Chave: Proteínas vegetais, ervilha, glúten, cold-set, sistema *in vitro* dinâmico, digestão, gel.

Autores(as):

ANA LAURA MENDONÇA NADER, FEA – UNICAMP

ANA ELISA RAMOS MAGALHÃES (co-orientadora), FEA – UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). ROSIANE LOPES DA CUNHA (orientadora), FEA – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

As proteínas são um macronutriente muito importante na dieta, já que são fontes de aminoácidos essenciais. Contudo, há uma preocupação mundial com o crescimento populacional e o consumo de proteínas, uma vez que são necessárias fontes sustentáveis, de baixo custo e que possam suprir toda a demanda necessária. A partir disso, há um grande interesse na busca por proteínas de origens alternativas, como as vegetais, em substituição às de origem animal (SÁ, 2020). As proteínas vegetais são uma alternativa interessante, principalmente por atenderem a questões socioambientais, além de suprirem à crescente demanda mundial de redução do consumo de carne (BOUKID, 2021).

Dentre as principais proteínas vegetais utilizadas em produtos *plant based* encontram-se as proteínas de ervilha e o glúten. A proteína da ervilha é de alta qualidade nutricional, sendo uma fonte de todos os aminoácidos essenciais. Possui funções antioxidantes, anti-hipertensivas e anti-inflamatórias, e geralmente também é hipoalergênica, além de possuir boas propriedades tecnológicas, como capacidade de formação de géis (SHANTHAKUMAR, 2022). O glúten é uma proteína proveniente exclusivamente do trigo. Uma das características mais importantes dessas proteínas é a capacidade de formar uma rede viscoelástica quando entra em contato com a água, contribuindo com a textura e a qualidade tecnológica de uma extensa gama de alimentos (WIESER, 2023).

Os hidrogéis proteicos podem ser preparados por processos *heat-set* ou *cold-set*, sendo o último formado com menor concentração de proteínas. A formação dos géis *cold-set* é feita a partir da aplicação de tratamento térmico, de maneira que ocorra desnaturação parcial das proteínas. Após o resfriamento, os géis *cold-set* podem ser preparados a partir de reticulação enzimática, adição de sais ou alteração do pH. Uma estratégia interessante é a acidificação com controle da redução de pH, utilizando gluconato- δ -lactona (GDL) (MESSION, 2015).

A estrutura complexa das proteínas animais, bem como suas propriedades funcionais e sensoriais, é difícil de serem simuladas por proteínas vegetais globulares. Nesse sentido, hidrogéis de proteínas vegetais em alimentos podem ser explorados em diferentes aspectos para produzir texturas, estruturas e propriedades tecno funcionais personalizadas. No entanto, como a estrutura dos alimentos tem um impacto crucial em muitas de suas propriedades sensoriais, nutricionais e funcionais, compreender o impacto de diferentes processos nas propriedades reológicas e mecânicas é muito relevante.

METODOLOGIA:

Fabricação dos géis

A fim de se obter géis com estruturas e características mecânicas interessantes, foram avaliadas diferentes concentrações e proporções entre as proteínas de ervilha e glúten, além de variações nas condições de processo. Primeiramente, foram feitos géis mistos com as proteínas de ervilha e glúten, na proporção de 1:1, sendo a concentração total de proteínas 15% (m/m). Depois de hidratadas *overnight*, foram tratadas termicamente um béquer encamisado a 90°C por 1 hora e então resfriadas em banho de gelo para atingir 25°C. Adicionou-se GDL em concentrações de 0 a 5% (m/m) e os géis foram mantidos por 4h a 25 °C e depois mantidos a 5 °C para as posteriores caracterizações. Também foram produzidos géis com as proteínas separadas, para que fosse possível observar seu comportamento isoladamente, em concentrações de 10 e 15% (m/m) de proteínas. Além disso, foram avaliadas outras proporções de proteína de ervilha e glúten (géis mistos na proporção 7:1 proteína de ervilha:glúten a 15% (m/m) de concentração total). Foram realizados ajustes de processo, quanto à forma de mistura inicial das proteínas (uso de uma batedeira com agitador do tipo gancho, para possibilitar o desenvolvimento da rede de glúten), quanto ao tempo de processo térmico (90 °C por 30 min) e utensílios para o envase dos géis (tubos falcon e tubos PVC com uma rolha para fechamento).

Cinética de pH

A cinética do pH foi feita para analisar a mudança do pH das amostras no decorrer do tempo, uma vez que o GDL possui capacidade acidificante. Tal cinética foi avaliada medindo o pH dos géis em diferentes momentos até que fosse estabilizado.

Potencial zeta

O potencial zeta foi feito no aparelho Zetasizer (Malvern, Reino Unido). O ensaio foi realizado entre os pHs 10 e 2. O pH ácido e básico foi ajustado com HCl e NaOH, respectivamente. Foram feitas duas replicatas para cada uma das proteínas.

Textura

Os ensaios de textura foram feitos no texturômetro TAXTplus Texture Analyser (Stable Micro Systems, Godalming, Inglaterra), com 5 replicatas de cada condição. O ensaio consiste no esmagamento do gel, onde são analisados: deformação, tensão aplicada e módulo de Young. As amostras foram comprimidas a 80% da sua altura, utilizando geometria cilíndrica plana de 80 mm e velocidade de teste de 1 mm/s. As propriedades de ruptura serão obtidas no ponto máximo da curva tensão-deformação.

Capacidade de retenção de água

O ensaio de capacidade de retenção de água foi realizado submetendo as amostras, com massa conhecida, à centrifugação por 30 minutos a 14000 rpm, em temperatura de 25 e 5°C. Foram feitas 3 replicatas de cada amostra para cada temperatura. Os eppendorfs foram abertos e virados sobre papel filtro por mais 30 minutos. A massa final é obtida e então é calculada a capacidade de retenção de água a partir da equação 1.

$$CRA = 1 - \left(\frac{\text{massa inicial} - (\text{massa final} - \text{massa eppendorf})}{\text{massa inicial}} \right)$$

(Equação1)

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Inicialmente, as proteínas de ervilha (PP) e glúten (PG) foram misturadas com o objetivo da rede do glúten estruturar o gel, juntamente com a proteína de ervilha. No entanto, nos géis mistos na proporção de 1:1, o gel foi formado, mas não atingiu a firmeza e estruturação esperada. A partir disso, foram realizados testes utilizando as proteínas separadamente para a formação de géis de ervilha e glúten, isoladamente. Nos ensaios preliminares utilizando somente a proteína de ervilha o gel obtido ficou estruturado. Embora em menores concentrações de proteína (10% m/m) o gel não tenha ficado autossustentável, foi possível observar a formação de uma estrutura homogênea. Já com a proteína do glúten, não houve formação de gel em qualquer condição estudada, mostrando uma aparência totalmente líquida.

A proteína do glúten não conseguiu formar um gel. Isso ocorreu pelo fato de as proteínas do glúten serem pouco solúveis em água. A glutenina e a gliadina são classificadas como prolaminas, que se solubilizam em etanol de 60 a 70% (Shewry, 2019). Ou seja, como a superfície das proteínas do glúten é bastante hidrofóbica, isto impacta na estruturação de um hidrogel (Welc-Stanowska, 2023). Como 75% da composição do gel era água, o glúten não se solubilizou adequadamente e, portanto, não houve formação de gel.

Sendo assim, foi decidido fazer adaptações no método, diminuindo o tempo de tratamento térmico e agitando mecanicamente o glúten, assim como modificar a proporção das proteínas, para 7:1 (PE:PG). Além disso, os géis na concentração de 15% (m/m) de proteína eram mais estruturados e, assim decidiu-se por manter esta concentração total de proteínas. Foram testados dois recipientes para a formação dos géis. Os géis passaram a ser feitos em tubo PVC e fechados por rolha, o que facilitou a retirada, sem danos à estrutura autossustentável.

Cinética de pH e potencial zeta

Foi feito o potencial zeta de ambas as proteínas em replicatas. A média final pode ser vista nas figuras 1 e 2. A partir dos gráficos formados, podemos observar que o ponto isoelétrico da proteína de ervilha é próximo ao pH 4 e da proteína do glúten é de cerca de 4,5. Esses dados foram importantes pois, estudos mostram que quando a solução proteica está em seu ponto isoelétrico (quando a carga é nula) as ligações proteicas são mais fortes, o que favorece a estruturação do gel (Pelegrine, 2003).

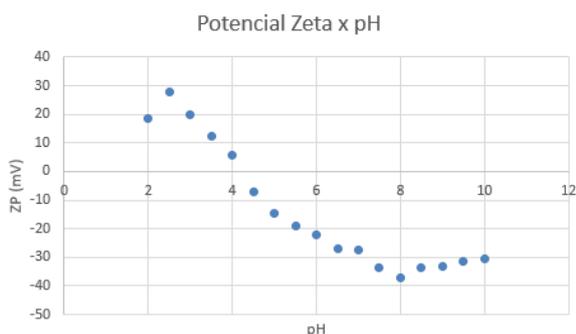


Figura 1. Potencial zeta da proteína de ervilha

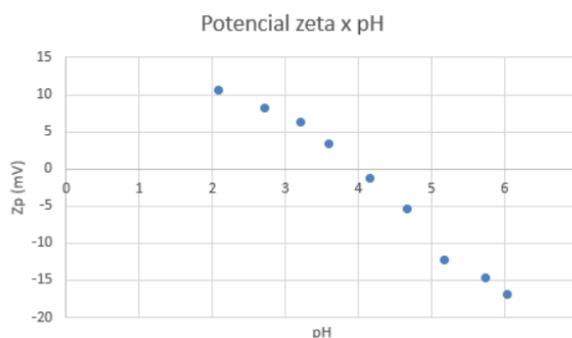


Figura 2. Potencial zeta proteína do glúten

O pH dos géis foi medido ao longo de 48h (Figura 3), sendo os dados mostrados na Tabela 1 os valores de pH finais após 48h de formação. Observa-se que a amostra de GDL 2% foi a que mais se aproximou do ponto isoelétrico da proteína de ervilha, que está presente majoritariamente.

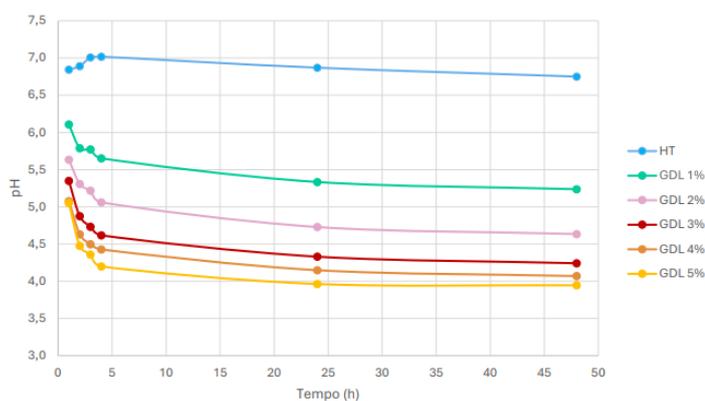


Figura 3. Cinética de pH dos géis formados com adição de GDL

Tabela 1. pH das amostras depois de 48h de fabricação.

Amostra	pH
HT	6,75
GDL 1%	5,24
GDL 2%	4,64
GDL 3%	4,24
GDL 4%	4,07
GDL 5%	3,40

Testes de textura

Módulo de Young

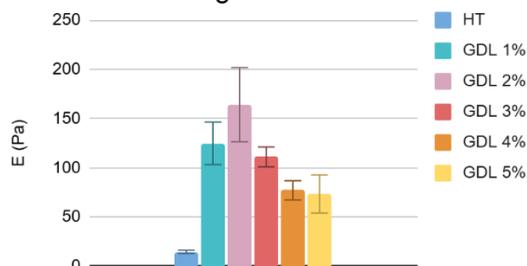


Figura 4. Modulo de Young dos géis PP:PG (7:1)

Na figura 4 é mostrado o modulo de Young de cada um dos géis. A partir dos gráficos, podemos ver que a maior diferença foi entre os que tiveram adição de GDL e o HT, uma vez que o HT possuiu valor inferior. Isso mostra que os géis com adição de GDL possuem maior elasticidade.

Tensão aplicada

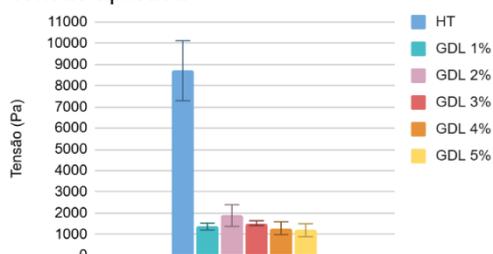


Figura 5. Tensão de ruptura aplicada nos géis PP:PG (7:1)

Observando a figura 5, nota-se que a tensão foi maior no gel que passou apenas pelo tratamento térmico. Contudo, vale-se ressaltar que os géis que possuem adição de GDL sofrem uma primeira ruptura antes do ponto de tensão máxima, enquanto que os géis térmicos escoam de forma contínua.

A partir dessas análises, foi observado que, entre os géis que tiveram a adição de GDL, o que mais se diferenciou foi o de 2%. Isso pode ser relacionado ao fato de que esta é a concentração que mais se aproxima ao ponto isoelétrico da proteína de ervilha.

Capacidade de retenção de água



Figura 6. Capacidade de retenção de água dos géis PP:PG (7:1)

A capacidade de retenção de água foi medida na temperatura de 25 e 5°C, e na Figura 5 é possível observar qual foi o CRA de cada uma das amostras em diferentes temperaturas. Pode-se observar que não houve grande mudança entre as amostras e temperaturas, mostrando que a adição do GDL não impactou a capacidade de retenção de água das amostras.

CONCLUSÕES:

É possível concluir que a proteína do glúten dificultou a formação do gel, o que foi atribuído à sua elevada hidrofobicidade e baixa solubilidade, dificultando sua interação com a água para que haja formação do gel. Além disso, observou-se que os géis que passaram apenas pelo tratamento térmico são bem diferentes dos acidificados por GDL. Os resultados de propriedades mecânicas e estabilidade visual mostram que o gel térmico não é autossustentável, escoando quando é desenformado. Entre os géis que tiveram adição de GDL, o que mais se diferenciou foi com adição de 2% (m/m) de GDL. Nesta condição, o ponto isoelétrico das proteínas é alcançado, formando um gel mais estruturado, porém com menor capacidade de retenção de água. Estes resultados preliminares permitem que selecionemos condições mais adequadas para a formação de géis mistos com propriedades tecnofuncionais aprimoradas.

BIBLIOGRAFIA

BOUKID, F. Plant-based meat analogues: From niche to mainstream. *European food research and technology*, v. 247, n. 2, p. 297-308, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03630-9>.

MISSION, J. L. et al. Effect of globular pea proteins fractionation on their heat-induced aggregation and acid cold-set gelation. *Food Hydrocolloids*, v. 46, p. 233-243, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.025>

PELEGRINE, D. H.; GASPARETTO, C. A.. Estudo da solubilidade das proteínas presentes no soro de leite e na clara de ovo. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v. 5, n. 1, p. 57-65, 2003.

SÁ, A. G. A.; MORENO, Y. M. F.; CARCIOFI, B. A. M. Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, v. 97, p. 170- 184, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.011>

SHANTHAKUMAR, P. et al. The current situation of pea protein and its application in the food industry. *Molecules*, v. 27, n. 16, p. 5354, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27165354>.

SHEWRY, Peter. What is gluten—why is it special?. *Frontiers in nutrition*, v. 6, p. 101, 2019.

WELC-STANOWSKA, Renata; KŁOSOK, Konrad; NAWROCKA, Agnieszka. Effects of gluten-phenolic acids interaction on the gluten structure and functional properties of gluten and phenolic acids. *Journal of Cereal Science*, v. 111, p. 103682, 2023.

WIESER, H.; KOEHLER, P.; SCHERF, K. A. Chemistry of wheat gluten proteins: 17 Qualitative composition. *Cereal Chemistry*, v. 100, n. 1, p. 23-35, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cche.10572>