COMPARAÇÃO ESPECTRAL ENTRE PROTEÍNAS DE ORIGEM VEGETAL SUBMETIDAS A AQUECIMENTO

David Falkowski Junior[1], Gabriel Radael Bernaski[2], Juliane Cristina Ramos Goldoni[1], Patrícia Valderrama[1], Paulo Henrique Março[1,2]

[1] Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, UTFPR, Campo Mourão,
[2] Departamento Acadêmico de Alimentos e Engenharia Química, UTFPR, Campo Mourão
(davidjunior@alunos.utfpr.edu.br)

O número e a variedade de produtos enriquecidos com proteína aumentam a cada dia, sendo que alguns preparados alimentícios tais como pães e bolos demandam processamento térmico. Portanto, sabendo que as proteínas sofrem desnaturação, é importante conhecer os limites de aquecimento nos quais as proteínas permanecem inalteradas. Neste sentido, este estudo teve como objetivo comparar o efeito do aquecimento em proteínas extraídas de vegetais a partir de espectros obtidos na região do infravermelho próximo (900 a 1700 nm) com o auxílio do método quimiométrico de resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes. Para o experimento foram aquecidas proteínas de 3 vegetais diferentes (lentilha d'água, soja e girassol) em temperaturas de 35, 50, 100, 150, 160, 170 e 180 ºC. As amostras foram medidas em triplicata, sendo que cada porção permaneceu em cada uma das temperaturas por 20, 40 e 60 minutos. Os resultados indicam que as proteínas extraídas de lentilha d'água são menos influenciadas pelo aquecimento até 180 °C, enquanto as proteínas extraídas de girassol se mostraram menos resistentes ao calor. Assim, o uso destes compostos precisa ser escolhido a partir de critérios de estabilidade para que o enriquecimento seja eficiente.

Palavras-chave: Proteínas vegetais; Infravermelho próximo; Aquecimento; MCR-ALS

INTRODUÇÃO

A busca por uma alimentação saudável fez com que consumidores repensassem as escolhas sobre os produtos alimentícios na busca por uma melhor qualidade de vida. (MARTINELLI, 2019; QUESADA, 2019; DE LIMA OLIVEIRA, 2019). Este cenário tem aumentado a exigência dos consumidores em relação a escolha dos alimentos e colocado os suplementos alimentares em evidência (BAYÃO, 2020). Um dos suplementos mais amplamente difundidos neste meio é a proteína em pó, sendo as mais consumidas aquelas extraídas do soro do leite de vaca, popularmente conhecida como *whey protein*. (VIEIRA, 2017; DE MELO, 2009).

Desse modo, o uso de suplementos alimentares do tipo *whey* vem sendo cada vez maior (ALMEIDA, 2019), ao passo existe um crescente interesse pela substituição de alimentos e produtos de origem animal pelos de origem vegetal, já que ambos exercem diferentes impactos no uso da água e do solo, na biodiversidade, nas mudanças climáticas, saúde humana e bem-estar animal (ALVES, 2020). Esse interesse culminou nos estilos de vida conhecidos como vegetarianismo e veganismo e, ainda que diferentes entre si, tem como filosofia a diminuição ou retirada dos mecanismos de exploração e crueldade animal (SBV, 2019; THE VEGAN SOCIETY, 2020).

As proteínas em pó podem ser extraídas tanto de derivados de origem animal quanto de origem vegetal, e de acordo com as proteínas mais comumente disponíveis no mercado, sugere-se que os vegetais mais comuns utilizados na produção de proteínas sejam a soja, ervilha, girassol, lentilha, feijão, arroz, abobora, linhaça, grão de bico e oleaginosas como amêndoas, castanhas e nozes (BAGIO, 2016; LUZ, 2016; FIB, 2014, HARAGUCHI, 2006; VERÍSIMO, 2021).

O uso destas proteínas em preparados alimentícios tem sido cada vez mais comum. No entanto, muitos produtos alimentícios, tais como pães e bolos, se utilizam de processos de cozimento ou de alguma variação de temperatura, seja por aquecimento em forno ou cozimento em panela. Além das temperaturas geralmente acima de 100 °C geradas nos sistemas de aquecimento (forno/forgão), cada preparado alimentício demanda um tempo de preparo diferente, o que torna pertinente conhecer e pesquisar a resistência singular das proteínas que se pretende

utilizar no preparo. No entanto, este tema é pouco abordado cientificamente (FIB, 2014; PELEGRINE, 2003).

Uma forma viável de se acompanhar efeito de aquecimento sem que haja necessidade de preparo de amostra é a partir da espectroscopia por infravermelho próximo (NIR, do inglês *Near Infrared*). Este tipo de estudo tem sido utilizado, por exemplo, no estudo de degradação de óleo de arroz (ROSA, 2019), óleo de soja (ROSA, 2020), o que poderia ser aplicado para o estudo de aquecimento de proteínas. Assim, seria facilitada uma triagem de comportamento cinético das amostras (BLEYE, 2012; HEIL, 2012; WILES, 1998; DELWICHE, 1998; A.O.A.C, 1980).

Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da temperatura a partir de espectroscopia NIR no comportamento de proteínas extraídas de 3 tipos de vegetais, empregando a ferramenta de resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes (MARÇO, 2014; VARELLA, 2008; HONGYU,2016).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram adquiridas amostras de três proteínas de origem vegetal, comercializadas em forma de suplemento alimentar em pó, com sabor natural e livres de flavorizantes, compostas por soja, girassol e lentilha aquática. Os materiais e vidrarias utilizados foram previamente limpos com água destilada e acetona grau P.A. para eliminar possíveis contaminantes. A massa de amostra utilizada, aferida em balança analítica de precisão, foi de aproximadamente um grama (1g), medidas diretamente em placas de petri. Todas as amostras foram pesadas em triplicatas e passaram por um tratamento preliminar, permanecendo em estufa à 35 ºC durante uma hora. O aquecimento foi realizado em estufa de secagem com controlador de temperatura e circulação de ar.

Cada tréplica de 1g de amostra permaneceu pelo período de 20, 40 e 60 minutos em 35º C, 50º, 100º C, 150º C, 160º C, 170º C e 180º C. Após o aquecimento as amostras foram transferidas para frascos âmbar e armazenadas por 24 horas em dessecadores contendo sílica gel, para evitar interferências relacionadas a umidade na aquisição dos dados espectrais.

O equipamento utilizado foi um MicroNIR® (VIAVI-JDSU) para medidas de 900 a 1700 nm. Utilizou-se cubetas de vidro, e o branco foi calibrado a partir do padrão de 99% de refletância (SpectralonTM). A leitura/aquisição dos espectros ocorreu em triplicata, originando 189 espectros para cada amostra, sendo 27 para cada temperatura. Os dados adquiridos foram examinados utilizando-se o algoritmo de MCR-ALS em software MATLAB R2021b.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros dos dados brutos foram organizados na forma de matrizes, as quais foram processadas para correção de espalhamento multiplicativo e alisamento pelo algoritmo de Savitzki-Golay. Em seguida, as matrizes pré-processadas foram submetidas a avaliação por resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes (MCR-ALS). Em todas as Figuras com referência as concentrações relativas os intervalos entre as temperaturas apresentadas estão divididos em 60 minutos. Assim, é possível observar o comportamento das amostras durante este intervalo de aquecimento.

Os resultados obtidos para proteínas extraídas da Lentilha aquática estão apresentados na Figura 1 – (A) para os espectros recuperados e (B) respectivas concentrações relativas.

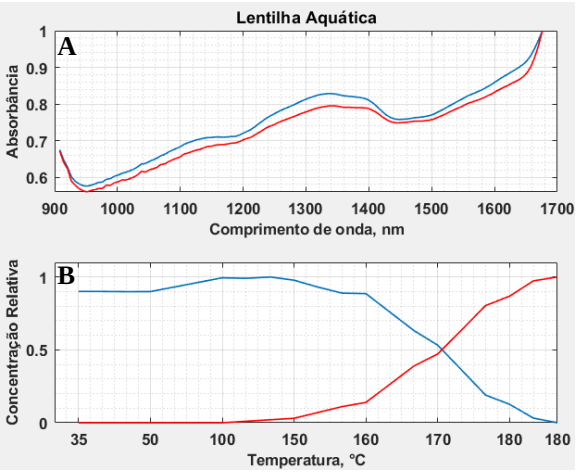

Figura 1. Aplicação de MCR-ALS em dados de Lentilha aquática: **(A)** espectros recuperados e **(B)** respectivas concentrações relativas.

Observa-se pela Figura 1 que a proteína extraída da Lentilha aquática é resistente ao aquecimento nas temperaturas estudadas, de modo que mesmo em aquecimento na temperatura de 180 °C após 60 minutos, as alterações espectrais são praticamente imperceptíveis.

No caso da proteína de soja, os resultados estão apresentados na Figura 2 (A) para os perfis espectrais e (B) respectivas concentrações relativas. Observa-se pela Figura 2 (A) que as alterações espectrais acontecem principalmente 1100 – 1200 nm, que é uma região geralmente atribuída a vibrações de 4º sobreton de C=O de aldeídos e N-H de amidas secundárias (WORKMAN JR.; WEYER, 2012). Neste caso, a atribuição mais provável seria atribuída a vibrações do tipo N-H, contando que estas vibrações estão presentes nas proteínas. Observa-se ainda, na Figura 2 (B), que as alterações tiveram início quando a amostra foi aquecida a 150 °C. Porém, pode-se considerar que a amostra apresentou variações mais pronunciadas a

partir do aquecimento em 160 °C, temperatura na qual a amostra se mostrou bastante instável de acordo com o tempo de aquecimento. A temperatura de 170 °C se apresenta como limitante, uma vez que mesmo ficando após o menor tempo avaliado (20 minutos), a amostra sofre as mesmas alterações vistas após 60 minutos na temperatura de 160 °C.

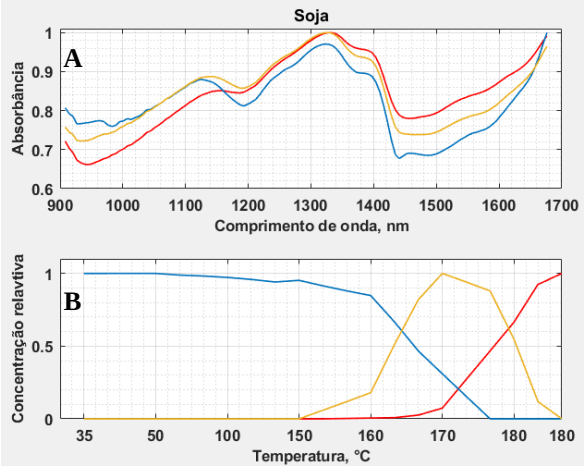

Figura 2. Aplicação de MCR-ALS em dados de Soja: **(A)** espectros recuperados e **(B)** respectivas concentrações relativas.

Os resultados da aplicação de MCR-ALS nos dados espectrais da proteína de girassol estão apresentados na Figura 3. Neste caso, a proteína se mostrou menos resistente que as extraídas de Lentilha aquática e de Soja.

Observando-se a Figura 3 (A), as alterações foram verificadas nas mesmas regiões que as sofridas pela amostra de proteína de Soja. Porém, como mostra a Figura 3 (B), as alterações ocorreram a partir de 50 ºC logo nos primeiros 20 minutos de exposição.

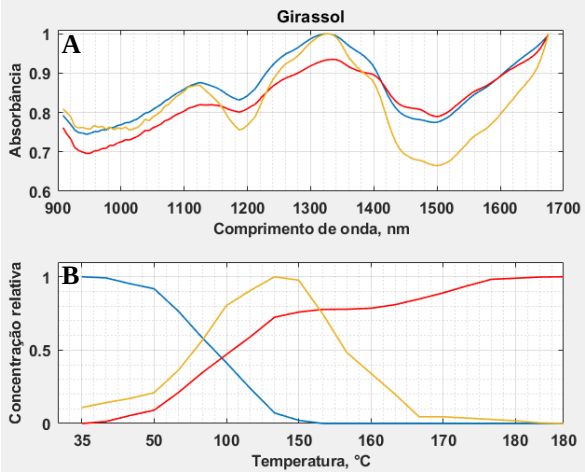

Figura 3. Aplicação de MCR-ALS em dados de Girassol: **(A)** espectros recuperados e **(B)** respectivas concentrações relativas.

CONCLUSÃO

A proteína de Lentilha aquática apresentou melhor resistência ao aquecimento, se mostrando praticamente inalterada espectralmente mesmo após aquecimento por 60 minutos a 180 °C. A proteína de Soja se mostrou resistente até aproximadamente 150 °C, de modo que seu uso em preparados alimentícios aquecidos demanda atenção com relação ao tempo de exposição e a temperatura utilizada no processo. No caso da proteína de Girassol, a aplicação parece ser restrita a preparados alimentícios que não demandam aquecimento pois se apresenta como sensível espectralmente a influência da temperatura.

AGRADECIMENTOS

A universidade Tecnológica Federal do Paraná e a Central Analítica Multiusuário da UTFPR – Campo Mourão.

REFERÊNCIAS

A.O.A.C. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the. Washington D.C. US Government Printing Office, ed. 13. p. 15-048, 1980.

ALMEIDA, S. G. DE ALMEIDA; A. G. DOS SANTOS, A. L. & SILVA, M. L. A Influência de uma Rede Social nos Padrões de Alimentação de Usuários e Profissionais de Saúde Seguidores de Perfis Fitness. Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde. 2019, v. 22, n. 3. pp. 194-200.

ALVES, da Silva, ELOIZE et al. Proteínas vegetais como alimentos funcionais-revisão. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 2, p. 5869-5879, 2020.

BAYÃO, B; DAMOUS, I. Ortorexia: problematizando a busca pela alimentação saudável na contemporaneidade. ECOS - Estudos Contemporâneos da Subjetividade. 2020, v. 10, n. 10. Disponível em: < http://www.periodicoshumanas.uff.br/ecos/article/view/3015/1687>. Acesso em: 01 mar. 2022.

BLEYE, C. de; CHAVEZ, P. –F.; MARINI, R.; HUBERT, Ph.; ROZET, E.; ZIEMONS, E. Critical review or near-infrared spectroscopic methods validations in pharmaceutical applications. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v.60, p. 125 – 132, 2012.

BRASIL, F. I. Dossiê Proteínas. FOOD INGREDIENTS BRASIL, v. 28, p. 30–58, 2014.

DE LIMA OLIVEIRA, Amanda et al. O papel da dieta hiperproteica como estratégia dietética no emagrecimento e na qualidade de vida. RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, v. 13, n. 83, p. 1066-1077, 2019.

DE MELO, F. F., & BORDONAL, V. C. Relação do uso da whey protein isolada e como coadjuvante na atividade física. Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, v. 3 n. 17, p. 478-487, 2009.

DELWICHE, S.R.; PIERCE, R.O.; CHUNG, O.K.; SEABOURN, W. Protein content of wheat by nearinfrared spectroscopy of whole grain: Collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int., v. 81, p. 587-603, 1998.

HARAGUCHI, F. K., ABREU, W. C. D., & PAULA, H. D. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. Revista de nutrição, v. 19, p. 479-488, 2006.

HEIL, C Rapid, multi-component analysis of soybeans by FT-NIR Spectroscopy. Madison: Thermo Fisher Scientific, 2010. 3 p. (Application note: 51954). Disponível em: http://www.nicoletcz.cz/userfiles/file/vjecy/soybeans.pdf. Acesso em: 04 mar. 2022.

HONGYU, K., SANDANIELO, V. L. M., & DE OLIVEIRA JUNIOR, G. J. Análise de componentes principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. Análise de componentes principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. E&S Engineering and science, v. 5, n. 1, p. 83-90, 2016.

LUZ, G. B. Processo de extração das proteínas de soro de leite para produção de concentrado proteico. Revista E-Tech: Tecnologias para Competitividade Industrial-ISSN-1983-1838, v. 9, n. 2, p. 137-150, 2016. https://doi.org/10.18624/e-tech.v9i2.507.

MARÇO, P. H., VALDERRAMA, P., ALEXANDRINO, G. L., POPPI, R. J., & TAULER, R. Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: descrição, funcionamento e aplicações. Química Nova, v. 37, n. 9, p. 1525-1532, 2014.

MARTINELLI, S. S; CAVALLI, S. B. Alimentação saudável e sustentável: uma revisão narrativa sobre desafios e perspectivas. Ciência & Saúde Coletiva [online]. 2019, v. 24, n. 11, pp. 4251-4262. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-812320182411.30572017>. Epub 28 Out 2019. ISSN 1678-4561. https://doi.org/10.1590/1413-812320182411.30572017. Acesso em: 01 mar. 2022.

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.

QUESADA, D. GÓMEZ, G. ¿ Proteínas de origen vegetal o de origen animal?: Una mirada a su impacto sobre la salud y el medio ambiente. Revista de nutricion clinica y metabolismo, v. 2, n. 1, p. 79-86, 2019.

ROSA, L. N., COQUEIRO, A., MARÇO, P. H., & VALDERRAMA, P. Thermal rice oil degradation evaluated by UV–Vis-NIR and PARAFAC. Food chemistry, v. 273, p. 52-56, 2019.

ROSA, L. N., GONÇALVES, T. R., GOMES, S., MATSUSHITA, M., GONÇALVES, R. P., MARÇO, P. H., & VALDERRAMA, P. N-Way NIR data treatment through PARAFAC in the evaluation of protective effect of antioxidants in soybean oil. Molecules, v. 25, n. 19, p. 4366, 2020.

SVB – Sociedade Vegetariana Brasileira. Mudança no padrão alimentar consolida nova fronteira mundial para o veganismo, 2019. URL: Disponível em:https://www.svb.org.br/2524-mudanca-nopadrao-alimentar-consolida-nova-fronteira-mundial-para-o-veganismo. Acesso em: 06 mar. 2022.

The Vegan Society. Definition of veganism, 2020. URL:<https://www.vegansociety.com/govegan/definition-veganism>.

VARELLA, C. A. A. Análise de Componentes Principais. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, p. 38, 2008.

VERÍSIMO, Ana Paula et al. A utilização de suplementos a base de proteína vegetal e animal no treinamento de força. Research, Society and Development, v. 10, n. 13, p. e117101321225-e117101321225, 2021.

VIEIRA, V. B. R.; ZANUZZO, C. M.; SANDRINI, H. M. Perfil do uso de suplemento proteico do tipo whey protein por praticantes de musculação. Revista Científica, v. 1, n. 1, 2017.

WILES, P.G.; GRAY, I.K.; KISSLING, R.C. Routine analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas methods: Review and interlaboratory study using dairy products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int., v. 81, p. 620-632, 1998.

WORKMAN JR., J.; WEYER, L. Practical Guide and Spectral Atlas For Interpretive Near-infrared Spectroscopy. In: Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy, Sercond Edition Spectroscopy, Second Edition. [s.l.] CRC Press, 2012. p. i–xvi.