

FUNCIONALIDADES DE EXTRATOS PROTEICOS DE AMENDOIM OBTIDOS DE SÓLIDOS DESENGORDURADOS POR DIFERENTES SOLVENTES

MAGALHÃES, P. J. C.¹; STUMM, L. C. ¹; GONÇALVES, D. ²; RODRIGUES, C. E. C.¹

¹Laboratório de Engenharia de Separações (LES), Departamento de Engenharia de Alimentos (ZEA), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) – Pirassununga, SP, Brasil, palomajcmagalhaes@usp.br, luizacs@usp.br, chrisrodrigues@usp.br

²Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil, danielg@uenf.br

RESUMO

Sólidos desengordurados (SD) oriundos de extração de óleo de amendoim (*Arachis hypogaea*) apresentam potencial nutricional devido seu elevado valor proteico. O etanol absoluto (Et) tem ganhado notoriedade como solvente de extração de óleos vegetais, uma vez que o solvente tradicionalmente utilizado na indústria, n-hexano (Hx) apresenta alta capacidade poluente e toxicidade. A partir da torta de prensagem de amendoim desengordurada com Et e Hx foi avaliada a extração de proteínas nas temperaturas de 50 e 75 °C e suas funcionalidades: formação de espuma (CF) e emulsão (CE), assim como suas respectivas estabilidades (FS e ES). Os SDs apresentaram teor residual de lipídios (% bs) de $14,5 \pm 0,2\%$ (Et) e $9,9 \pm 0,6\%$ (Hx), a partir dos quais realizou-se a extração de proteínas com água, pH 9,0. Os rendimentos de extração das proteínas (% em massa) foram $81,4 \pm 0,4$ e 89 ± 3 para SDEt e, 91 ± 7 e 111 ± 4 para SDHx. A CE variou entre 36 ± 1 e 64 ± 3 com estabilidade entre 76 ± 9 e 92 ± 8 para ambos os extratos proteicos, enquanto que CF foi observada apenas nos extratos proteicos do SDEt com estabilidade entre 70 ± 14 e 90 ± 14 . O solvente Et resultou em um teor satisfatório de óleo residual no SDEt e proporcionou melhora nas funcionalidades das proteínas em relação ao SDHx.

INTRODUÇÃO

A crescente busca por alimentos naturais, saudáveis e que sejam capazes de desempenhar importantes funções no organismo tem feito com que a indústria alimentícia busque fontes alternativas para seu processamento, de modo a atender esse novo nicho de mercado. Em paralelo, a obtenção e consumo de fontes vegetais podem ser vistos como uma forma de atenuar danos ao meio ambiente, reduzindo o uso de terras e água e na emissão de gases do efeito estufa (1) e como um recurso para o combate à fome, visando alcançar o objetivo de desenvolvimento sustentável nº 2 da ONU (2). As fontes vegetais têm atraído a atenção de diversos pesquisadores, uma vez que uma mesma matéria-prima pode gerar diferentes produtos. Dentre eles, óleos vegetais que podem apresentar em sua composição ácidos graxos insaturados e proteínas que podem conter aminoácidos essenciais (3).

A soja é a fonte de proteína vegetal mais consumida no mundo, seguida pela canola. Porém, existem outras fontes vegetais que poderiam ser mais bem aproveitadas, como o amendoim. A leguminosa, pertencente à família das fabáceas, possui altos teores de lipídios (40 – 50% no grão cru) composto majoritariamente por ácido oleico (C18:1 ω -9). Após a extração dos lipídios, o sólido desengordurado (DPF, *defatted peanut flour*) pode apresentar de 45 a 55% de proteínas formadas por aminoácidos essenciais. No

entanto, esse coproduto é geralmente destinado à ração animal. As características dos lipídios e das proteínas obtidos a partir do material podem apresentar perfis químicos variáveis, uma vez que fatores como variabilidade genética, método e solvente de extração e processamentos aplicados ao amendoim cru podem afetar esses compostos, assim como as funcionalidades das proteínas (3).

As propriedades funcionais são informações cruciais para a utilização das proteínas no processamento de alimentos e no desenvolvimento de novas formulações. Dentre elas, a solubilidade é a mais relevante, uma vez que pode afetar as outras funcionalidades, como capacidades de formação de espuma e emulsão, que são desejáveis para aplicação em produtos de confeitaria, por exemplo (4,5).

O uso do etanol absoluto (Et) como solvente na extração de óleos vegetais vem sendo empregado como substituto do solvente tradicionalmente usado, o n-hexano (Hx). Este apresenta alta capacidade poluente e toxicidade, além de ser de origem fóssil (6). Neste sentido, este estudo focou na avaliação do desempenho do etanol como solvente substituto do Hx na etapa de desengorduramento da torta de amendoim, bem como o efeito de sua aplicação na composição do sólido desengordurado (SD), na solubilidade proteica, assim como na capacidade formação de espuma e emulsão, e suas respectivas estabilidades.

OBJETIVO

Obter extratos proteicos a 50 e 70 °C a partir dos sólidos desengordurados de amendoim (SDEt e SDHx), buscando avaliar a influência do solvente utilizado na extração de óleo sobre a solubilidade das proteínas e suas funcionalidades em termos de capacidade de formação de espuma e emulsão, e suas respectivas estabilidades.

RESULTADO E DISCUSSÃO

O amendoim cru foi submetido à prensagem a frio originando a torta de amendoim semidesengordurada, matéria-prima utilizada neste estudo. A torta prensada foi adquirida da empresa Sr. Ouro Verde (Almirante Tamandaré, PR) e caracterizada quanto ao teor de lipídios, umidade e proteína bruta (7), dados apresentados na Tabela 1.

Os sólidos desengordurados (SDs) foram obtidos a partir da extração de óleo utilizando como solventes etanol absoluto (Et, extração sequencial de três estágios de 1 h, a 75 °C) e hexano (Hx, extração sequencial de dois estágios de 1 h, a 55 °C) em extrator de aço inoxidável (6). A razão mássica sólido/solvente utilizada foi de 1/5 (Et) e 1/4 (Hx), com agitação de 180 rpm. Ao final das extrações foram obtidos os sólidos desengordurados com etanol (SDEt) e com hexano (SDHx). Os SDs foram caracterizados quanto aos teores de lipídios residuais e proteínas (7) e índice de solubilidade de nitrogênio (ISN, em %) (8), revelando os dados apresentados na Tabela 1.

O uso do etanol absoluto como solvente na extração de óleo proporcionou um SDEt com menor ISN, o que se deve à desnaturação proteica causada pelo etanol, uma vez que este afeta a solubilidade das proteínas causando um desdobramento nas moléculas, aumentando a hidrofobicidade da sua superfície (4). Da mesma forma, a temperatura utilizada na extração de óleo também é responsável por causar desnaturação proteica, visto que a temperatura para o etanol (75 °C) foi maior que para o hexano (55 °C).

Tabela 1: Caracterização da torta prensada e sólidos desengordurados obtidos com etanol (SDEt) e hexano (SDHx).

	Torta	SDEt	SDHx
Lipídios ¹	49,5 ± 0,3 ^a	14,5 ± 0,2 ^b	9,9 ± 0,6 ^c
Proteínas ^{1,2}	27,9 ± 0,7 ^c	45,2 ± 0,3 ^b	47,5 ± 0,4 ^a
Umidade ¹	4,4 ± 0,1 ^a	4,9 ± 0,3 ^a	2,8 ± 0,1 ^b
ISN (%)	-	86 ± 6 ^b	98 ± 1 ^a

¹ Valores expressos como % em base seca. ² Teor de nitrogênio x 5,46. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma linha não diferem entre si ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Em relação ao uso do hexano como solvente, o mesmo proporcionou a obtenção de SDHx com menor valor de óleo residual, uma vez que este solvente possui alta capacidade de solubilização dos lipídios. Apesar da diferença observada no teor de óleo residual do SDEt e SDHx, em magnitude, estes valores foram próximos. Quanto ao teor de proteínas, o uso do Hx propiciou maior valor no SD, possivelmente pelo fato do SDHx apresentar menor lipídio residual. Os SDs foram dessolventizados em estufa de convecção forçada (Nova Orgânica, modelo N035/3, Piracicaba/SP, Brasil) a 60 °C por 24 h e, em seguida, em estufa sob vácuo (Tecnal, modelo TE395, Piracicaba/SP, Brasil) com o auxílio de uma bomba de vácuo (Tecnal, modelo TE0581, Piracicaba/SP, Brasil) a 50 °C, 160 mm Hg de vácuo por 4 h, de forma a garantir que todo solvente fosse evaporado.

A extração das proteínas contidas nos SDs foi realizada em células de vidro encamisadas em diferentes temperaturas (50 e 75 °C), razão mássica sólido/água de 1/15 em pH 9,0. O teor de nitrogênio elementar dos extratos proteicos foi determinado pelo método de combustão de Dumas (Leco, modelo FP-528, EUA), multiplicando o valor da análise pelo fator de conversão 5,46 (9) para obtenção do teor de proteínas totais (% mássica). Os valores de rendimento de extração de proteínas (%) estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Rendimento de extração de proteínas dos sólidos desengordurados com etanol e hexano (SDEt e SDHx) em função da temperatura.

Temperatura (°C)	Teor de proteínas no extrato proteico (% mássica)	
	SDEt*	SDHx*
50	81,4 ± 0,4 ^b	91 ± 7 ^b
75	89 ± 3 ^b	111 ± 4 ^a

* Valores expressos em % proteínas no extrato proteico. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma linha não diferem entre si ao nível de 95% de confiança pelo Teste T.

Nota-se que, devido à possível desnaturação causada pelo etanol absoluto e pela temperatura na etapa de extração de óleo, os conteúdos de proteínas obtidos nos extratos a partir de SDEt foram menores do que os obtidos a partir dos SDHx. O valor obtido a 75 °C com o SDHx pode ser decorrente de uma possível hidrólise das proteínas causada pela temperatura elevada. Nesses casos ocorre maior liberação de aminoácidos livres resultando na diminuição do pH devido à liberação de H⁺ e, conseqüentemente, maior quantidade de álcali é utilizada para a manutenção do pH, fato que foi observado durante o processo. Para as extrações a 75 °C utilizou-se 57% a mais de NaOH para manter a extração em pH 9,0 do que foi utilizado para as extrações a 50 °C. Os dados obtidos

corroboram com os dados da literatura (10), onde a hidrólise proporciona um aumento na solubilidade das proteínas concomitante à diminuição das ligações de dissulfeto.

A capacidade emulsificante (CE) e estabilidade (ES) (11) foi realizada padronizando os concentrados proteicos através de diluição para obtenção de 0,1% de concentração proteica e, posteriormente, adicionando 1 mL de óleo de soja. A mistura foi agitada em Ultraturrax (IKA, modelo T25, Staufen, Alemanha) por 1 min. Uma alíquota de 200 μ L da emulsão foi adicionada a 12,5 mL do SDS 0,1% e a absorbância foi medida em espectrofotômetro (UV-1650PC, Shimadzu, Japão) a 500 nm, determinando assim a CE. A cubeta de leitura permaneceu dentro do espectro para que a leitura fosse repetida após 10 min, a fim de determinar ES. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

A capacidade de formação de espuma (CF) foi determinada através da diluição dos extratos proteicos em concentração de 1%, e as amostras foram agitadas por 5 min em Ultra Turrax em tubos de centrífuga (50 mL). A altura da espuma somada à suspensão foi medida antes e após a agitação, sendo a CF calculada pela diferença entre os valores. A estabilidade da espuma foi determinada pela medida da espuma somada à suspensão após 10, 30, 45 e 60 min da sua formação, sendo os resultados mostrados na Tabela 4.

Tabela 3: Capacidade emulsificante e estabilidade dos extratos proteicos obtidos a partir de SDEt e SDHx, a 50 e 75 °C.

Temperatura (°C)	Emulsão	
	CE	ES*
SDEt – 50	36 \pm 1 ^c	88 \pm 4 ^b
SDEt – 75	64 \pm 3 ^a	76 \pm 9 ^a
SDHx – 50	36 \pm 2 ^c	92 \pm 8 ^a
SDHx – 75	41 \pm 1 ^b	84 \pm 15 ^a

* Valores expressos em %. Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Tabela 4: Capacidade de formação de espuma e estabilidade dos extratos proteicos obtidos a partir de SDEt e SDHx, a 50 e 75 °C.

Temperatura (°C)	CFE*	Estabilidade da Espuma*			
		T=10	T=30	T=45	T=60
SDEt - 50	50 \pm 1 ^a	90 \pm 14 ^a	80 \pm 1 ^a	70 \pm 14 ^a	70 \pm 14 ^a
SDEt - 75	50 \pm 1 ^a	90 \pm 14 ^a	90 \pm 14 ^a	90 \pm 14 ^a	80 \pm 28 ^a
SDHx – 50	n.f.e.	n.f.e.	n.f.e.	n.f.e.	n.f.e.
SDHx - 75	40 \pm 1 ^b	n.f.e.	n.f.e.	n.f.e.	n.f.e.

* Valores expressos em % Médias seguidas pela mesma letra minúsculas na mesma coluna não diferem entre si ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan. n.f.e. = não formou espuma.

As proteínas possuem uma extremidade polar e uma extremidade apolar, o que as torna bons agentes espumantes e emulsificantes, uma vez que essa característica as permite atuar na interface ar-água ou água-óleo, de forma a evitar a coalescência das bolhas, no caso da espuma ou, separação de fases, no caso da emulsão. Para as emulsões, ambos extratos proteicos apresentaram alta estabilidade da emulsão, sugerindo que as proteínas de amendoim podem ser bons agentes emulsificantes para utilização na indústria alimentícia. No caso da espuma, as desnaturações que ocorreram na etapa de extração de

óleo podem ter provocado mudanças nas conformações das proteínas de tal forma a influenciar seu comportamento hidrofóbico visto que, no caso do SDHx, não houve formação de espuma (12). Dessa forma, o Et na etapa de extração de óleo possibilita a utilização da proteína como agente emulsificante melhorando tal funcionalidade.

CONCLUSÃO

O uso do etanol absoluto como solvente na extração de óleo de amendoim apresentou resultados satisfatórios. O solvente proporcionou SD com alto teor de lipídios e ISN elevado, assim como extração de proteínas maior que 80%. Avaliando o efeito da temperatura na extração de proteínas do SDEt, a 75 °C foi possível obter proteína com capacidade emulsificante de 64%, maior valor obtido entre todas as amostras, com estabilidade de 76%. Quanto à formação de espuma, os valores obtidos para SDEt a 50 e 75 °C foram iguais, porém a estabilidade a 75 °C foi maior, indicando que a proteína obtida do SDEt tem potencial para ser empregada na indústria alimentícia como agente emulsificante para produção de bolos, sorvetes e confeitos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (2014/21252-0, 2018/13207-6), CAPES e CNPq (302225/2019-6).

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. ALEKSANDROWICZ, L.; GREEN, R.; JOY, E. J. M.; SMITH, P.; HAINES, A. The Impacts of Dietary Change on Greenhouse Gas Emissions, Land Use, Water Use and Health: A Systematic Review. **PLoS ONE**, v. 11, n. 11, 2016.
2. Nações Unidas - Brasil. **Sobre o nosso trabalho para alcançar os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável no Brasil**. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs>. Acesso em: 20 out. 2022.
3. ARYA, S. S.; SALVE, A. R.; CHAUHAN, S. Peanuts as functional food: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 31–41, 2016.
4. WU, H.; WANG, Q.; MA, T.; REN, J. Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. **Food Research International**, v. 42, n. 3, p. 343–348, abr. 2009.
5. YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. **Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing**. *Food Chemistry*, v. 103, n. 1, p. 121–129, 2007.
6. CAPELLINI, M. C.; GIACOMINI, V.; CUEVAS, M. S.; RODRIGUES, C. E. C. **Rice bran oil extraction using alcoholic solvents: Physicochemical characterization of oil and protein fraction functionality**. *Industrial Crops and Products*, v. 104, p. 133 – 143, 2017.
7. AOCS. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society*. Press, 3rd ed., Champaign, v. 1-2, 1998.
8. MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGENSTEINS, J. M.; VAN BUREN, J. M.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n.6, p.1715-1718, 1985.
9. JONES, D. B. Factors for Converting Percentages of Nitrogen in Foods and Feeds into Percentages of Proteins. **United States Department of Agriculture**, v. 183, p. 16–21, 1931.
10. ZHANG, L.; SONG, C.; CHANG, J.; WANG, Z.; MENG, X. **Optimization of protein hydrolysates production from defatted peanut meal based on physicochemical characteristics and sensory analysis**. *LWT*, v. 163, p. 113572 – 113587, 2022.
11. PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. **Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 26, n. 3, p. 716-723, 1978.
12. YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. **Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing**. *Food Chemistry*, v. 103, n. 1, p. 121–129, 2007.