

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Curso de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição

Área de Ciência de Alimentos

Gustavo Guadagnucci Fontanari

ISOLADO PROTÉICO DE FARINHA DE SEMENTE DE GOIABA

(*Psidium guajava*): CARACTERIZAÇÃO DE PROPRIEDADES

FUNCIONAIS E TÉRMICAS

Araraquara

2006

Gustavo Guadagnucci Fontanari

**ISOLADO PROTÉICO DE FARINHA DE SEMENTE DE GOIABA
(*Psidium guajava*): CARACTERIZAÇÃO DE PROPRIEDADES
FUNCIONAIS E TÉRMICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual paulista “Júlio de Mesquita Filho” para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição, Área de Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. José Paschoal Batistuti

Araraquara

2006

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

Fontanari, Gustavo Guadagnucci

F679i Isolado protéico de farinha de semente de goiaba (*Psidium guajava*):
caracterização de propriedades funcionais e térmicas / Gustavo Guadagnucci
Fontanari. – Araraquara, 2006.
117 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita
Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em
Alimentos e Nutrição.

Orientador: José Paschoal Batistuti

1. Proteínas – Propriedades funcionais e térmicas. 2. Semente de goiaba. 3.
Isolado protéico. 4. Calorimetria diferencial exploratória (DSC). I. Batistuti, José
Paschoal, orient. II. Título.

CDD: 664.0763

CAPES: 50700006

Gustavo Guadagnucci Fontanari

**ISOLADO PROTÉICO DE FARINHA DE SEMENTE DE GOIABA (*Psidium guajava*): CARACTERIZAÇÃO DE PROPRIEDADES FUNCIONAIS E
TÉRMICAS**

Dissertação de mestrado

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Alimentos e
Nutrição - UNESP- Campus Araraquara**

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Banca examinadora

Presidente: Prof. Dr. José Paschoal Batistuti (UNESP)

Membros

Pesquisadora Científica Dra. Maria Helena Martini (INST. ADOLFO LUTZ)

Prof. Dr. Valdir Augusto Neves (UNESP)

Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas (USP)

Prof. Dr. João Bosco Faria (UNESP)

AGRADECIMENTOS

O presente estudo é fruto de dedicação intensa e grande responsabilidade onde pessoas ao longo dessa trajetória foram importantes com o apoio, suporte técnico e financeiro e principalmente pela amizade: **Prof. Dr. José Paschoal Batistuti**, Prof. Dr. Fernando Fertoni, Prof. Dr. Valdir Augusto Neves, Prof. Dr. João Bosco Faria; às técnicas(o) Elizene Bonifácio, Maraiza Silva, Roseli, D. Albertina, Adriana, Osmar e todos do DAN; João Fontanari, Geraldo Fontanari e Cláudio Fontanari (tios); Fundação Siban, Capes, Gledison S., Mário A. Germano, Mônica Jacon, Camila M. Mariano e suas inseparáveis amigas Daniele Branta e Ana Luiza F., um agradecimento especial.

Também aproveito para dispensar meus agradecimentos a todos os porteiros e vigias: Olívia, Tianna, Chicão, Plínio, Sr. Mário, Lazaretto, Bispo, Ourival, Elclides, Everson, Silvio e Zé Luis, pelo carisma e comprometimento.

Um agradecimento ao apoio de informática e bibliotecário: Fernando, Tatiane, Célia, Joel, Marcão, Marcio, Renato, Chicão, Moacir, Max, Rafael, Pedro, Cris, Maria Irani e a simpática Rita.

E o principal agradecimento fica à minha família, em especial a minha mãe (Prof^a. Gislaine), que sempre apoiou e incentivou essa trajetória; ao meu pai (Sr. Napoleão); aos meus irmãos Ricardo, Otávio e Fernando, e carinhosamente aos meus avós: Oscar e Maura, por sempre acreditar. Agradeço também a Deus, por ter concedido muita força, paz e saúde, determinantes em mais um caminho percorrido da minha vida. Amém!

Resumo

A partir da farinha da semente de goiaba (*Psidium guajava*), cuja composição centesimal é de aproximadamente $6,17 \pm 0,04\%$ de umidade, $8,43 \pm 0,12\%$ de proteína e alto teor de fibras, $60,88 \pm 0,9\%$, obteve-se isolado protéico (IP) através da precipitação isoelétrica (pI 4,5), cuja fração majoritária pertence à classe das glutelinas. As condições para o preparo do IP foram definidas a partir da curva de solubilidade em água x pH e temperatura de 25 ± 3 °C. Tais condições permitiram obter isolados protéicos com rendimento de extração de $45,2 \pm 0,5\%$ (pH10,0) e $66,2 \pm 0,5\%$ (pH11,5) e elevado conteúdo protéico $96,4 \pm 0,5\%$ e $93,5 \pm 0,4\%$ respectivamente. A capacidade de absorção de água e óleo foram baixas, apresentando $1,05 \pm 0,07$ e $2,3 \pm 0,01$ mL/g proteína respectivamente para IP 10,0 e $1,65 \pm 0,07$ e $1,70 \pm 0,07$ mL/g proteína respectivamente para IP 11,5. A maior capacidade de emulsificação, foi observado para o IP 11,5, 140 ± 8 g óleo/g prot., comparado com o IP 10,0, 37 ± 2 g óleo/g prot. A formação de gel foi observada em pH neutro e ausência de sal, apresentando as concentrações de 8% para IP 10,0 e 10% para IP 11,5. A cromatografia revelou a presença de dois picos para ambos isolados com sete frações de proteínas de diferentes pesos moleculares. As curvas TG-DTG / DSC revelaram maior quantidade de água para o IP 10,0 e elevada temperatura de estabilidade térmica 200 °C para ambos isolados.

Palavras chave: semente de goiaba, isolado protéico, glutelina, DSC, propriedades funcionais

Abstract

From the guava seed flour (*Psidium guajava*), whose centesimal composition belongs to about $6,17 \pm 0,04\%$ of moisture, $8,43 \pm 0,12\%$ of protein and high content of fibers, $60,88 \pm 0,9\%$, the protein isolate (PI) was obtained through the isoelectric precipitation (Ip 4,5) whose majority belongs to glutelins class proteins. The conditions for the preparation of the PI was defined from the solubility curve in water x pH and temperature of $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Such conditions allowed to obtain protein isolated with extraction yield of $45,2 \pm 0,5\%$ (pH10,0) and $66,2 \pm 0,5\%$ (pH11,5) and high protein content of $96,4 \pm 0,5\%$ and $93,5 \pm 0,4\%$ respectively. The absorption capacity for water and oil were low, showing $1,05 \pm 0,07$ and $2,3 \pm 0,01$ mL/g protein, respectively, for PI 10,0 and $1,65 \pm 0,07$ and $1,70 \pm 0,07$ mL/g protein, respectively, for PI 11,5. The most emulsification capacity was observed for PI 11,5 (140 ± 8 g oil/g prot.), compared to PI 10,0 (37 ± 2 g oil/g prot.). The gel formation was observed in neutral pH and salt absence, showing the concentrations of 8% to PI 10,0 and 10% to PI 11,5. The chromatography shows the presence of two peaks for both protein isolated with seven fractions of proteins with different molecular weights. The curves of TG-DTG / DSC revealed high water quantity for PI 10,0 and high temperature for thermal stability 200°C for both isolates.

Key words: guava seed, protein isolate, glutelin, DSC, functional properties

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 – Comportamento das cargas dos resíduos de aminoácidos das proteínas.....	29
Figura 2 – Fluxograma da obtenção das frações protéicas da farinha da semente de goiaba.....	46
Figura 3 – Fluxograma da obtenção do Isolado Protéico da farinha da semente de goiaba.	48
Figura 4 – Curvas de solubilidade de proteína da farinha de semente de goiaba (<i>Psidium guajava</i>), obtidas para $1 \leq \text{pH} \leq 12$ e concentração de NaCl variando de 0 a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. $T = 25 \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$	61
Figura 5 – Curvas de solubilidade dos IP extraído em pH 10,0 e pH 11,5, em temperatura ambiente (25 ± 3) $^{\circ}\text{C}$, por 30 minutos.....	71
Figura 6 – Cromatografia do IP 10,0 em coluna de filtração em gel de Sepharose CL-6B (100 x 2,5 cm). A proteína foi eluída com tampão Tris/HCl, pH 8,6, contendo azida 0,01%, coletando-se frações de 5,6mL.....	84
Figura 7 – Cromatografia do IP 11,5 em coluna de filtração em gel de Sepharose CL-6B (100 x 2,5 cm). A proteína foi eluída com tampão Tris/HCl, pH 8,6, contendo azida 0,01%, coletando-se frações de 5,6mL.....	85
Figura 8 – Cromatografia da fração majoritária isolada em coluna de filtração em gel de Sepharose CL-6B (100 x 2,5 cm). A proteína foi eluída com tampão Tris/HCl, pH 8,6, contendo azida 0,01%, coletando-se frações de 5,6mL.....	86

Figura 9 – Eletroforese em gel de poliacrilamida dos IPs 10,0 e

11,5 e seus respectivos picos: (1) IP 10,0; (2) 1º pico IP 10,0;
(3) 2º pico IP 10,0; (4) IP 11,5; (5) 1º pico IP 11,5; (6) 2º pico IP 11,5.....87

Figura 10 – Eletroforese em gel de poliacrilamida 10% com SDS

dos IPs 10,0 e 11,5: (1) padrão; (2) IP 10,0; (3) 1º pico IP 10,0;
(4) 2º pico IP 10,0; (5) IP 11,5; (6) 1º pico IP 11,5;
(7) 2º pico IP 11,5.....88

Figura 11 – Curvas TG-DTA e DTG do IP preparado empregando

pH 11,5, ausência de adição de NaCl e de agentes branqueadores.

$m_i = 4 \text{ mg}$; $\beta = 20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; vazão de gás: 100 mL min^{-1} ;
cadinho de Pt.....90

Figura 12 – Curvas DSC obtidas dos IP extraídos em pH 10,0

e 11,5. $m_i = 2 \text{ mg}$; $\beta = 20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; vazão de gás: 100 mL min^{-1} ;
cadinho de Al tampado e perfurado ($\Phi = 1,0 \text{ mm}$).....91

Lista de Tabelas

Pág.

Tabela 1 – Principais grupos de propriedades funcionais de proteínas.....	24
Tabela 2 – Composição química da farinha da semente de goiaba (<i>Psidium guajava</i>).....	56
Tabela 3 – Relação da proporção massa e volume de extrator.....	59
Tabela 4 – Efeito da variação do tempo na extração da proteína de semente de goiaba (<i>Psidium guajava</i>).....	59
Tabela 5 – Efeito de sais na extração da proteína da farinha de semente de goiaba.....	65
Tabela 6 – Classificação das frações protéicas da farinha da semente de goiaba (<i>Psidium guajava</i>).....	68
Tabela 7 – Rendimento e conteúdo protéico do isolado protéico extraído em pH 10,0 e 11,5.....	69
Tabela 8 – Absorção de água e óleo para farinha de semente de goiaba (<i>Psidium guajava</i>), IP 10,0 e IP 11,5, respectivamente.....	72
Tabela 9 – Capacidade de emulsão dos Isolados Protéicos extraídos em pH 10,0 e pH 11,5, T= (25 ± 3 °C).....	75
Tabela 10 – Atividade e estabilidade da emulsão preparadas para Isolado Protéico 10,0 e 11,5.....	78
Tabela 11 – Capacidade e estabilidade de formação de espuma em amostras preparadas a partir de Isolados Protéicos 10,0 e 11,5.....	80

Tabela 12 – Efeito do pH na formação de gel dos isolados protéicos extraídos em pH 10,0 e 11,5.....	82
Tabela 13 – Efeito da concentração de NaCl na formação de gel dos isolados protéicos extraídos em pH 10,0 e 11,5.....	83

Lista de siglas e abreviações

AE – atividade de emulsão

Al – alumínio

CE – capacidade de emulsificação

COOH – grupo carboxílico

DSC – calorimetria exploratória diferencial

DTA – análise térmica diferencial

DTG – termogravimetria derivada

EE – estabilidade de emulsão

H – hidrogênio

HCl – ácido clorídrico

Ip – ponto isoelétrico

IP – isolado protéico

KCl – cloreto de potássio

m/v – relação massa volume

N – normalidade

N₂ – nitrogênio

NaCl – cloreto de sódio

NaOH – hidróxido de sódio

NH₂ – grupo amino

O/A – óleo em água

OH – hidroxila

pI – ponto isoelétrico

PI – protein isolate

prot. – proteína

Pt – platina

rpm – rotação por minuto

SDS – dodecilsulfato de sódio

TG – termogravimetria

Tris/HCl – tampão

Vol. – volume

Lista de símbolos

% - porcentagem

Φ - diâmetro

β - razão de aquecimento

Δm – perda de massa

$^{\circ}\text{C}$ – graus Celsius

cm – centímetros

H_2O – água

KDa – kilodaltons

L – litro

M – mol

mg – miligrama

m_i – massa inicial

mL – mililitro

mm – milímetro

nm – nanômetro

T – temperatura

V – volts

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE SÍMBOLOS

Pág.

1- INTRODUÇÃO.....	17
2 – OBJETIVOS.....	21
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
4 – MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1 – MATERIAL.....	41
4.2 – MÉTODOS.....	41
4.2.1 – Umidade.....	41
4.2.2 – Cinzas.....	41
4.2.3 – Fibras.....	42
4.2.4 – Proteína.....	42
4.2.5 – Lipídeos totais.....	42
4.2.6 – Otimização da extração da proteína da farinha da semente da goiaba.....	42
4.2.6.1 – Proporção massa de farinha – volume de extrator	42
4.2.6.2 – Variação do tempo na extração da proteína.....	43

4.2.7 – Influência do pH e concentração de sal na solubilização da proteína.....	43
4.2.8 – Influência do tipo de sal na extração da proteína.....	44
4.2.9 – Extração das frações protéicas da farinha albumina, globulina prolamina e glutelina.....	44
4.2.10 – Obtenção do isolado protéico (IP).....	47
4.2.11 – Efeito do pH na solubilidade do IP.....	48
4.2.12 – Capacidade de absorção de água e óleo.....	49
4.2.13 – Capacidade de emulsificação (CE).....	49
4.2.14 – Atividade (AE) e estabilidade de emulsão (EE).....	50
4.2.15 – Capacidade e estabilidade de formação de espuma.....	51
4.2.16 – Gelatinização.....	52
4.2.17 – Cromatografia em filtração em gel.....	53
4.2.18 – Eletroforese.....	53
4.2.18.1 – Eletroforese em gel de poliacrilamida.....	53
4.2.18.2 – Eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS.....	53
4.2.19 – Análise térmica, obtenção das curvas TG-DTA e DSC.....	55
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.1 – Determinação da composição centesimal.....	56
5.2 – Otimização da extração da proteína da farinha da semente da goiaba...	58
5.3 – Influência do pH e concentração de sal na extração da proteína.....	60
5.4 – Influência do tipo de sal na extração da proteína.....	63
5.5 – extração das proteínas da farinha da semente de goiaba obtenção das frações albumina, globulina, prolamina e glutelina.....	67
5.6 – Obtenção do isolado protéico.....	69

5.7 – Curvas de solubilidade para o IP 10,0 e IP 11,5.....	70
5.8 – Absorção de água e óleo.....	72
5.9 – Capacidade de emulsificação.....	75
5.10 – Atividade e estabilidade de emulsão.....	77
5.11 – Capacidade e estabilidade de formação de espuma.....	79
5.12 – Gelatinização.....	81
5.13 – Cromatografia dos isolados protéicos (IP) 10,0 e 11,5.....	83
5.14 – Cromatografia da fração protéica majoritária (Glutelina).....	85
5.15 – Eletroforese.....	86
5.15.1 – Eletroforese em gel de poliacrilamida.....	86
5.15.2 – Eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS.....	88
5.16 – Análise térmica, obtenção das curvas TG-DTA e DSC.....	89
6 – CONCLUSÃO.....	93
7 – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

1 - Introdução

A crescente tendência de mercado na fabricação e formulação de alimentos industrializados tem incentivado novas buscas de fontes protéicas, a fim de aumentar o valor nutritivo e as propriedades organolépticas dos alimentos. As proteínas, devido sua grande importância nutricional e suas características físico-químicas, são componentes importantes em muitos alimentos industrializados (DUARTE et al., 1998a; DUARTE et al., 1998b).

As indústrias brasileiras, buscando melhor rendimento e competitividade de mercado a nível nacional e internacional, vêm implantando e usando programas de controle e garantia de qualidade, visando alternativa eficaz para enfrentar a demanda e a concorrência, também buscam melhorar a situação econômica na produção do produto, evitando perdas durante o processamento, minimizando o tempo de processo e diminuindo os custos da empresa, elevando sua competitividade de mercado e reduzindo os preços para o consumidor final (WANG et al., 2000).

Uma alternativa encontrada por empresários e pesquisadores para suprir a demanda e viabilizar novos produtos tem sido o aproveitamento total da matéria prima e seus sub produtos, durante o processamento (BASTOS, 1989). Estudos realizados com alimentos de origem vegetal vêm enfocando o estudo da caracterização e perfil dos nutrientes presentes nas sementes dos vegetais como fonte de proteína alternativa na dieta humana. De acordo com Pollonio (1998), o estudo de novas fontes protéicas com o objetivo de utilizar suas propriedades funcionais no processamento de alimentos pode ser justificado

por razões de ordem econômica e tecnológica, uma dessas fontes com grande potencial de utilização é o resíduo do processamento industrial de empresas alimentícias como, por exemplo, semente de Tomate (LIADAKIS et al., 1995).

A utilização de novas fontes, de custos menores, que possam substituir ou simular alimentos protéicos tradicionais depende do conhecimento das propriedades funcionais das suas proteínas e do seu comportamento em determinado sistema alimentar.

As sementes utilizadas como alimento têm sido objeto de estudo devido à presença de alta concentração de proteína e principalmente pela falta de conhecimento na aplicabilidade e utilização na dieta humana. Alimentos preparados a partir de novos compostos ou fontes de proteínas como, concentrados e isolados protéicos, requerem estudos para obter melhor entendimento quanto ao seu comportamento em diversos tipos de sistemas alimentares. Algumas sementes, contendo alto teor de proteínas, têm sido alvo de pesquisas, como é o caso da lentilha (NEVES e LOURENÇO, 1995); do tremoço (LQARI et al., 2002); amaranto (ABUGOCH et al., 2003); tomate (LIADAKIS et al., 1995), entre outros. A caracterização de propriedades dessas proteínas é necessária para fundamentar os estudos básicos e aplicados sobre proteínas dessas sementes (NEVES, 1998).

No Brasil, são processadas cerca de 202 mil toneladas de goiaba por ano, onde 6% é semente, que corresponde aproximadamente 12 mil toneladas, atualmente descartada no campo (GOIABRAS, 2003). No Estado de São Paulo, os frutos são destinados aos mercados de frutas frescas e a

industrialização como produção de geléias, goiabadas, sorvetes, doce em pasta e até mesmo guatchup (condimento), sendo a goiaba para mesa, concentrada nas regiões próximas a capital: Valinhos, Vinhedo, Campinas, Atibaia e Mogi das Cruzes. O cultivo nas regiões de Mirandópolis, Pacaembu e Monte Alto é destinado à industrialização, e com a dupla finalidade são cultivadas principalmente nas regiões de Ribeirão Preto, São José do Rio Preto e São Carlos, com destaque aos municípios de Monte Alto, Taquaritinga, Itápolis, Urupês, Vista Alegre do Alto e São Carlos (PEREIRA, 2004).

Um estudo realizado por Nicanor et al. (2001), avaliando a composição química da farinha de semente de goiaba mostrou teor de 7,6% de proteína, 61,4% de fibras brutas e 16% de gordura. Do conteúdo total de gordura, 11,8% são ácidos graxos saturados e 87,3% ácidos graxos insaturados (destes 76,5% polinsaturados). Os ácidos graxos presentes são mirístico 0,1%, palmítico 6,6%, esteárico 4,6%, oléico 10,8%, linoléico 76,4%, aracdônico 0,3% e linolênico 0,1% (PRASAD e AZEEMODDIN, 1994). Observa-se na literatura ausência de dados a respeito das características das frações protéicas da semente de goiaba, um fator importante para sua possível utilização e caracterização.

Tais tipos de estudos visam à aplicabilidade do material em novos produtos para a indústria de alimentos ou até mesmo seu uso como um suplemento ou agente funcional de sistemas alimentares, como embutidos cárneos (FURTADO et al., 2001).

Considerando-se a importância do desenvolvimento de novos produtos para atender a demanda do mercado de ingredientes, com aplicação na formulação de alimentos e bebidas a partir de fontes alternativas de proteínas, e com a grande quantidade de semente descartada no Brasil, justifica-se a produção e caracterização das propriedades funcionais e estudo térmico da proteína, a partir dessas sementes, através da obtenção de isolados protéicos utilizando-os como possíveis elementos funcionais ou suplementos na alimentação humana.

2 - Objetivos

O objetivo principal desse estudo foi avaliar o potencial de utilização do isolado protéico de semente de goiaba caracterizando suas propriedades funcionais e térmicas, tendo como objetivos específicos:

2.1- Determinação das condições de extração da proteína da farinha obtida a partir da semente de goiaba;

2.2- Fracionamento das proteínas presentes na farinha;

2.3- Obtenção de isolados protéicos a partir da farinha;

2.4- Caracterização de algumas propriedades funcionais dos isolados protéicos obtidos;

2.5- Caracterização de algumas propriedades térmicas dos isolados protéicos obtidos.

3 - Revisão bibliográfica

A indústria de alimentos vem desenvolvendo novos produtos com ingredientes benéficos a saúde; o uso de alimentos de origem vegetal tem sido muito utilizado para substituir os de origem animal; o baixo custo e a presença crescente de doenças do tipo cardiovasculares, diabetes e digestivas são as principais causas dessa preocupação com a dieta humana (NUNES, 2003).

A caracterização de propriedades funcionais em sementes utilizadas como alimentos vêm sendo alvo de estudos a fim de avaliar seu potencial de aplicação e fundamentar o conhecimento básico e aplicado sobre as proteínas de sementes. Estudos realizados com a proteína da semente de gergelim demonstraram boa solubilidade em pH básico e ácido, apresentando boas propriedades emulsificantes, e capacidade de reter água e óleo, com potencial para utilização como ingrediente funcional para alimentos industrializados (KHALID et al., 2003).

Alimentos preparados a partir de novos compostos ou fontes de proteínas requerem estudo para obter melhor entendimento quanto ao seu comportamento em diversos tipos de sistemas alimentares. Algumas sementes contendo grandes quantidades de proteínas, tem sido alvo de pesquisas, como é o caso da Lentilha; a caracterização de propriedades físico-químicas das proteínas de leguminosas são necessárias para fundamentar os estudos básicos e aplicados sobre proteínas.

Estudo de caracterização de proteína são necessários para se obter resultados e informações para então se verificar o potencial de aplicabilidade

na indústria e na formulação de novos alimentos para o consumo humano ou animal, são esses estudos que apontam a funcionalidade dos nutrientes presentes no alimento para sua aplicação em novos produtos industrializados (BATISTUTI e FREITAS, 1995). Atualmente as proteínas de soja são utilizadas em alimentos, como ingredientes funcionais, com aplicação em produtos de panificação, fórmulas infantis, formulações para nutrição clínica, suplementos protéicos, produtos a base de peixe e como substituto em alimentos lácteos e cárneos (GEISE, 1994; LUSAS e RIAZ, 1995; TAKEITI et al., 2004).

Experimentos visando à utilização de resíduos das indústrias de alimentos como fonte alternativa de proteína, vem sendo conduzidos com freqüência na tentativa de suprir as necessidades nutricionais diárias com fontes de proteínas eficientes e economicamente viáveis à população em geral. A substituição de alimentos protéicos de origem animal por alimentos protéicos de origem vegetal vem sendo realizada na tentativa de utilização de novas fontes alimentares com boas propriedades funcionais e nutritivas (NUNES et al., 2003).

Nicanor et al. (2001), obtiveram isolados protéicos a partir de semente de goiaba com boas propriedades de digestibilidade, sendo mais hidrolisada que a da soja, demonstrando ser boa fonte de proteína, apresentando valores desejáveis de referencia diário pela FAO, apresentando deficiência em lisina porém boa fonte de triptofano e metionina, classificada como proteína de boa qualidade nutricional, podendo ser utilizada como ingrediente alimentício.

Propriedades Funcionais

Propriedades funcionais de proteínas são denominadas como propriedades químicas e físicas que afetam seu comportamento em sistemas alimentares durante o processamento, estocagem, preparo e consumo, onde se classificam como principais classes funcionais às propriedades organolépticas, de hidratação, de superfície, de ligação, de estrutura, reológicas, etc. (BASTOS, 1989; ZAYAS, 1997). Os principais grupos de propriedades funcionais encontram-se na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Principais grupos de propriedades funcionais de proteínas.

Propriedade Geral	Propriedades Funcionais Específicas
Sensorial	Cor, sabor, odor, textura, palatabilidade
Hidratação	Solubilidade, dispersibilidade, umidicidade, absorção de água, intumescimento-espessamento, gelatinização, capacidade de ligação de água.
Atividade de superfície e ligante	Emulsionantes, espumante, aeração, formação de filme, lipídeo-ligante, aroma-ligante.
Reológica e estrutural	Elasticidade, coesividade, viscosidade, adesividade, formação de gel, formação de massa, texturizabilidade, extrudabilidade.
Enzimática	Coagulação, proteólise limitada.

Fonte: Lourenço, (2000).

A funcionalidade está estritamente relacionada com a estrutura da proteína, e o conhecimento da relação estrutura/funcionalidade permite a modificação de proteínas de modo a torná-las funcionais e atraentes. As propriedades funcionais das proteínas são influenciadas por diversos parâmetros intrínsecos, além de fatores relacionados às metodologias utilizadas em seu estudo (DUARTE et al., 1998a; DUARTE et al., 1998b; KABIRULLAH e WILLS, 1982).

Assim, o conhecimento das propriedades intrínsecas das proteínas, como seqüência de aminoácidos, conformação, tamanho molecular, ligação intra e intermoleculares e o modo como são afetadas pelo meio, aliado a métodos padronizados de medidas de propriedades funcionais, irá resultar em um grande avanço na área de desenvolvimento de novas fontes protéicas (CANELLA, 1978; KINSELLA, 1982; KITABATAKE et al., 1988).

Solubilidade

A solubilidade de proteínas é a propriedade funcional que deriva da interação proteína-água, em geral é a primeira propriedade investigada na avaliação de suas propriedades funcionais, por isso, é um indicador do potencial de utilização funcional de proteínas, em especial na formação e estabilidade de emulsão e espuma, na formação de gel, na capacidade de absorção e ligação de água, e no aumento de viscosidade (LOURENÇO, 2000).

A solubilidade das proteínas é influenciada pela composição e seqüência de aminoácidos, peso molecular, conformação das moléculas, conteúdo de grupos de aminoácidos polares e apolares, que está diretamente ligado com a densidade e distribuição das cargas elétricas, que por sua vez são influenciadas pelo pH do meio, natureza e concentração de íons ou força iônica e temperatura (ZAYAS, 1997).

A solubilidade da proteína está diretamente relacionada com o balanço de hidrofiliidade/hidrofobicidade, determinado pelas cargas de resíduos laterais de aminoácidos, deste modo a composição de aminoácidos da proteína afeta suas características de solubilidade (DAMODARAN e PARAF, 1997).

A solubilidade é uma propriedade físico-química fundamental das proteínas pela importância que exerce sobre as demais propriedades das proteínas nos alimentos. Em geral, a solubilidade da proteína é influenciada pela maior, ou melhor, afinidade das moléculas de proteínas pelo solvente, no caso dos alimentos é a água, daí o fato da solubilidade ser classificada como propriedade hidrofílica (SGARBIERI, 1996).

As características de solubilidade em água determina condições apropriadas de extração e fracionamento de proteínas nos alimentos. Através do estudo de solubilidade verifica-se também o efeito do processamento de extração da proteína no perfil de solubilidade apresentado pela mesma (LOURENÇO, 2000; MORR et al., 1985).

A proteína, para se solubilizar, depende de fatores intrínsecos e extrínsecos, entre os fatores intrínsecos estão a composição e seqüência de

aminoácidos, tamanho e conformação das moléculas, relação hidrofiliicidade/hidrofobicidade de superfície (capacidade dos grupos hidrófilos carregados de cadeia lateral dos aminoácidos de solvatar água por meio de pontes de hidrogênio, da interação da proteína com sais presentes no meio aquoso e da repulsão eletrostática entre moléculas e agregados protéicos carregados, ou seja, é o resultado do balanço entre a atração intermolecular das proteínas e a atração proteína-solvente) (GUERRERO et al., 2002; ZAYAS, 1997).

Além dos fatores intrínsecos, a solubilidade protéica é muito influenciada por fatores extrínsecos, entre os quais são relevantes: tratamento térmico aplicado ao alimento ou à proteína, concentrações de sais, pH do meio, condições de processamento, concentração de proteína e interação com outros componentes do alimento ou do meio (LOURENÇO, 2000).

De acordo com Sgarbieri (1996), considerando a solubilidade, as proteínas classificam-se mediante a sua dispersão em diversos tipos de solventes em:

Albuminas – solúveis em água e coaguláveis pelo calor, representam um grande grupo em que a albumina do ovo e a albumina do soro sanguíneo constituem exemplos típicos.

Globulinas – insolúveis ou muito pouco solúveis em água, a solubilidade é aumentada com a adição de sais neutros como NaCl. São facilmente coaguláveis pelo calor e podem ser isoladas a partir de tecidos animais e

vegetais por serem facilmente extraídas com soluções salinas (2 a 10% de NaCl). Em geral são encontradas nas sementes.

Prolaminas – são normalmente encontradas em sementes de cereais sendo insolúveis em água e em soluções salinas e solúveis em soluções alcoólicas (70-80% de etanol).

Glutelinas – insolúveis em água, soluções salinas e alcoólicas sendo porém solúveis em soluções ácidas e alcalinas diluídas.

Escleroproteínas – insolúveis em água, soluções salinas, soluções alcoólicas, soluções ácidas e básicas, por fazerem parte das estruturas celulares e serem praticamente insolúveis. Normalmente são proteínas fibrilares como, por exemplo, o colágeno, as queratinas a fibroína, a elastina. A solubilização dessas proteínas requer comumente a ação de agentes de degradação das moléculas, como ácidos e bases, detergentes e dispersantes.

Histonas – são proteínas básicas solúveis em água e que liberam, pela hidrólise, grande quantidade de aminoácidos básicos. As histonas podem ser extraídas em grandes quantidades de certos tecidos glandulares como o timo e o pâncreas. A maioria das histonas aparece combinada com os ácidos nucléicos (nucleoproteína).

Protaminas – proteína fortemente básica, de baixo peso molecular, também aparece associada a ácidos nucléicos e são obtidas em grandes quantidades de células espermáticas de peixes. Essas proteínas não contêm enxofre, contém elevado teor de nitrogênio (25-30%) devido à presença na molécula de grande quantidade de arginina. Tirosina e triptofano também estão

ausentes nas protaminas, exemplos típicos são salmina (esperma de salmão), clupeína (esperma de arenque) e esturgina, extraída de esturção.

Um fator determinante para a solubilidade da proteína é o pH do meio. O fato das proteínas solubilizarem em meio aquoso é o resultado de interações eletrostáticas e hidrofóbicas entre as moléculas de proteínas (ZAYAS, 1997).

O pH de menor solubilidade é denominado pI (ponto isoelétrico), que possui igual número de cargas positivas e negativas nas moléculas. Por se compensarem intrinsecamente quanto às cargas de suas cadeias laterais, no pI as moléculas não se repelem, devido à falta das repulsões eletrostáticas, e com isso ocorre a formação de agregados havendo uma precipitação, acarretando a diminuição da solubilidade (LOURENÇO, 2000).

A **Figura 1** representa o comportamento das cargas dos resíduos de aminoácidos em pH de 1 a 12.

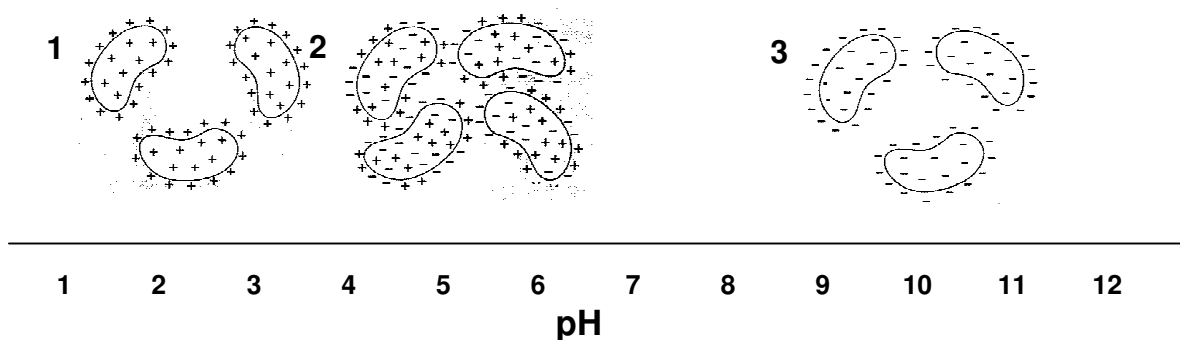


FIGURA 1 – Comportamento das cargas dos resíduos de aminoácidos das proteínas.

1- Proteína protonada (H⁺), meio ácido (pH entre 1 e 4), carga positiva.

2- Ponto isoelétrico, cargas iguais (pH 4,5 a 5,5), baixa ou nenhuma solubilidade.

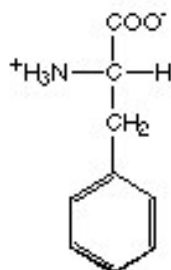
3- Proteína desprotonada (OH⁻), meio alcalino (pH entre 8 a 12), cargas negativas.

A solubilidade tende, em geral, ser maior em pH alcalino na faixa de pH 8,0 a 12,0 e em valores de pH ácido, pH 1,0 a 4,0, excesso de cargas de mesmo sinal produz repulsão das moléculas, que contribui para sua maior solubilidade (SGARBIERI, 1996). A solubilidade mínima ocorre na faixa de pH 4,5 a 5,5, que compreende a faixa do ponto isoelétrico (pI) das proteínas, onde as cargas são iguais e nulas, ocorrendo insolubilização das proteínas formando precipitados protéicos (LOURENÇO, 2000).

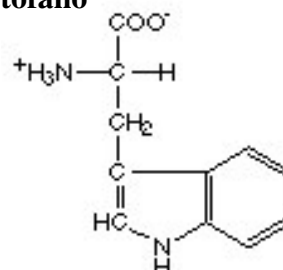
Damodaran e Paraf (1997), apontam que a solubilidade protéica é afetada sensivelmente pelo balanço entre repulsões e atrações de forças intermoleculares, que por sua vez são definidas pelos grupos de aminoácidos em sua cadeia lateral, cujas cargas são compreendidas e classificadas em tipos diferentes de aminoácidos, de acordo com sua polaridade e cadeia lateral em:

Cadeia lateral apolar (não possuem cargas em seus resíduos laterais, são considerados hidrofóbicos por não solubilizar em água).

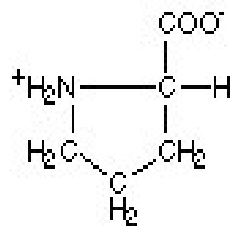
Fenilalanina



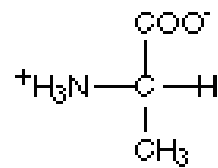
Triptofano



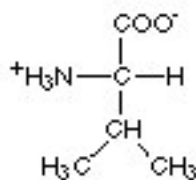
Prolina – Forma anel imina



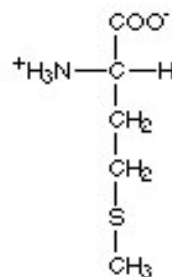
Alanina



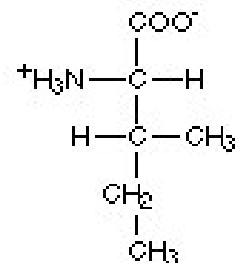
Valina



Metionina

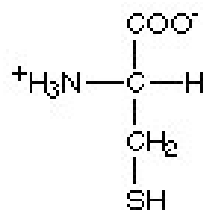


Isoleucina

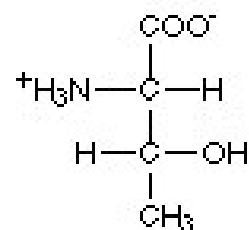


Cadeia lateral polar não carregada (não possuem cargas em seus resíduos laterais) são aminoácidos hidrofílicos, solubilizam com a água e contém grupos hidroxilas, sulfidrilas e grupamentos amidas.

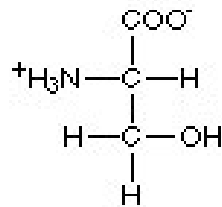
Cisteína



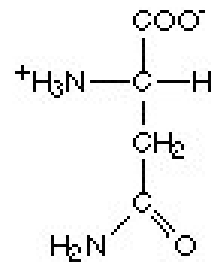
Treonina



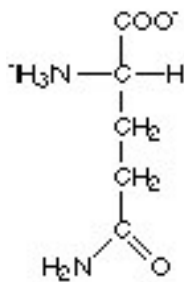
Serina



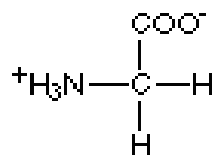
Asparagina



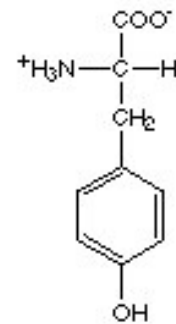
Glutamina



Glicina

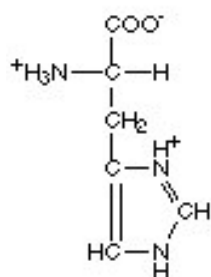


Tirosina

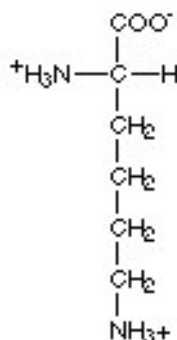


Cadeia lateral polar com cargas positivas (possuem cargas básicas em suas cadeias laterais, encontra-se na forma protonada em pHs ácidos) são aminoácidos diamínicos e monocarboxílicos, ou seja, possuem dois grupamentos básicos (NH₂) e um grupamento ácido (COOH).

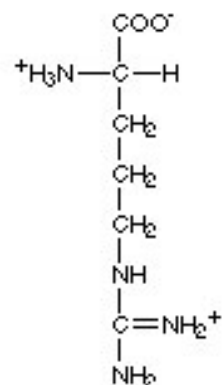
Histidina



Lisina

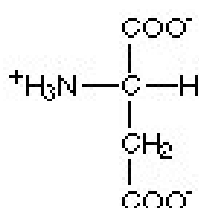


Arginina

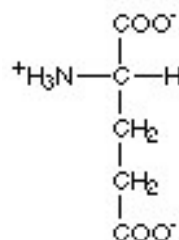


Cadeia lateral polar com cargas negativas (possuem cargas ácidas em suas cadeias laterais) são monoamínico e dicarboxílico, ou seja, possuem dois grupamentos ácidos (COOH) e um grupamento básico (NH₂).

Ácido aspártico



Ácido glutâmico



Capacidade de absorção de água e óleo

Em virtude do conteúdo e distribuição de seus resíduos de aminoácidos polares (hidrófilos) e apolares (hidrófobos) na estrutura primária e das características das estruturas secundárias e terciárias, as proteínas agem como agentes ativos de superfície. Os agentes ativos de superfície, por causa da afinidade de seus grupos polares pela água e aversão de seus grupos apolares por esse solvente, adsorvem e distribuem-se nas interfaces fluido-fluido e água-ar com seus grupos polares orientados para a fase aquosa e os

grupos apolares orientados para a fase óleo ou ar, para formar emulsões e espumas, respectivamente. As moléculas protéicas, além de reduzir a tensão interfacial, formam, na interface, filme contínuo em decorrência de interações intermoleculares complexas (KINSELLA, 1984; LOURENÇO, 2000).

As propriedades funcionais de interação proteína-água, intumescimento (inchamento), sorção, ligação e retenção de água (g de água ligada/ g de proteína) são importantes na formulação de alimentos, sobretudo de produtos derivados da carne – embutidos, salsichas, almôndegas, salgados- produtos de panificação e confeitaria – tortas, massas, doces, pudins, cremes de cobertura de sobremesas – nos quais as proteínas devem embeber e reter água sem dissolver e, simultaneamente, conferir corpo (espessamento). À medida que as proteínas absorvem água elas intumescem. A capacidade de intumescimento ou absorção e de retenção de água dependem de fatores extrínsecos, tipo e composição do material protéico, tempo em água, pH e força iônica do meio e temperatura do processamento, e de propriedades intrínsecas das proteínas, estrutura e organização espacial das proteínas do material. Os produtos protéicos de soja possuem boas propriedades de retenção de água: farinhas, concentrados protéicos e isolados protéicos de soja retém 2,6; 2,75 e 6,25 g de água/g de produto, respectivamente; a retenção de água do isolado protéico é máxima na faixa de pH 5,0 a 7,0 (HERMANSSON, 1973; LOURENÇO, 2000).

De acordo com Naczki et al. (1986), a propriedade de absorção de água de uma proteína determina seu grau de interação com a água; Sathe et al. (1982b) e Sosulski e Mccurdy (1987), sugerem que a composição das frações

protéicas e a seqüência de aminoácidos polares e apolares, são determinantes na resposta ao teste de capacidade de absorção de água e óleo.

Os resultados de capacidade de absorção de água e óleo são normalmente expressos em gramas de água e ou óleo absorvido por grama de proteína. Alguns trabalhos apresentam resultados expressos em mL de água e ou óleo por grama de proteína, para esses casos, Sathe et al. (1982a), consideram a densidade da água igual a 1 g/mL e o valor de densidade do óleo determinado como 0,93 g/mL, dessa forma pode-se transformar os resultados de capacidade de absorção de água e óleo por g água e ou óleo / g de amostra.

Propriedades de emulsão

As proteínas despertam grande interesse industrial na tecnologia de alimentos, especialmente para os produtos emulsionados, isto ocorre devido a suas propriedades funcionais e nutricionais, que contribuem para a firmeza das emulsões, aumentam sua estabilidade e conferem aos produtos maior valor nutritivo, por serem fontes de aminoácidos (HEKKEN e STRANGE, 1993; KINSELLA, 1984).

A emulsão compreende a dispersão de dois líquidos imiscíveis, tendo uma fase dispersante como fase contínua e uma fase dispersa na forma de gotículas. Em geral, as emulsões alimentares são do tipo óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O) onde o termo óleo, designa um líquido hidrófobo (PEARCE e KINSELLA, 1976; ORNELLAS et al., 2000).

As proteínas se adsorvem na interface entre as gotículas de óleo dispersas e a fase aquosa contínua, desempenhando propriedades de espessamento, viscosidade, elasticidade e rigidez, que determinam a resistência das gotículas à coalescência, tendo portanto funções de facilitar a formação da emulsão, diminuindo a tensão interfacial e contribuindo para a estabilidade da emulsão, formando uma barreira física na interfase. Segundo Cheftel et al. (1985), a formação de gotículas emulsificadas ocorre com a criação de superfície interfacial entre as duas fases líquidas imiscíveis, esta superfície interfacial aumenta na forma não exponencial, enquanto o diâmetro das gotículas diminui atingindo então a forma de emulsão. A formação da emulsão é facilitada com a redução da tensão interfacial entre água e óleo (ELIZALDE et al., 1988).

A propriedade emulsificante da proteína é importante para vários produtos alimentares, tais como creme de leite, glacês, manteiga, queijo fundido, maionese, carne finamente moída do tipo utilizada em salsichas e outros embutidos, além de que os constituintes protéicos exercem função importante na estabilização do sistema coloidal (CHEFTEL et al., 1985).

Gelatinização

A formação de gel ou gelatinização de proteínas é uma propriedade funcional térmica de ampla utilização em alimentos formulados. Na gelatinização a interação proteína-proteína, interação proteína-água e as forças de atração-repulsão cruzadas estabelecidas entre as cadeias polipeptídicas

desnaturadas, devem estar balanceadas de maneira a permitir a formação de rede ou matriz protéica tridimensional contínua, capaz de reter grande quantidade de água (LOURENÇO, 2000; ZAYAS, 1997).

O processo de formação da rede tridimensional dos géis protéicos envolve duas etapas, onde a primeira consiste o estado sol, solução que contenha quantidade de proteína suficiente para formar a rede protéica após desnaturação, provinda de aquecimento térmico formando o estado progel, segunda etapa do processo, ocorrendo um alinhamento das cadeias peptídicas e formando agregados constituído de rede protéica tridimensional cruzada, reter água no interior das cadeias e conseqüentemente formando o gel (LOURENÇO, 2000).

A reação inicial do processo de gelatinização, em geral, envolve o enfraquecimento e quebra das pontes de hidrogênio e dissulfídicas desestabilizando a estrutura conformacional das proteínas, posteriormente ocorre polimerização das moléculas de proteína produzindo uma estrutura tridimensional capaz de imobilizar fisicamente parte do solvente, através de ligações dissulfídicas intermoleculares, interações hidrofóbicas, iônicas e por pontes de hidrogênio (ANTUNES et al., 2003).

A integridade física do gel é mantida pelo contrabalanceamento das forças de atração e repulsão entre as moléculas de proteína e destas com o solvente circundante (ZIEGLER e FOEGEDING, 1990).

Análise térmica

A análise térmica constitui um grupo de técnicas de grande interesse na caracterização de alimentos, visto que proporcionam dados relevantes ao processamento industrial de substâncias alimentícias, em um tempo relativamente curto e com certa especificidade quando associada a outras técnicas (CARRASCO, 1993; KEATTCH et al., 1975).

A maioria dos alimentos sofre variações de temperatura durante sua produção, transporte, estocagem, preparação e consumo, essas mudanças de temperatura causam alterações nas propriedades físico-químicas dos alimentos, influenciando nas propriedades do produto final, tal como sabor, aparência, textura e estabilidade (RAEMY, 2003). As reações químicas como as hidrólises, oxidação ou redução, promovem mudanças físicas como evaporação, fusão, cristalização, agregação ou geleificação (RELKIN, 2005). A melhor compreensão da influencia da temperatura nas propriedades dos alimentos permite a otimização das condições de processos e melhoramento da qualidade do produto final (SILVA et al., 2001).

A maioria dos controles utilizados nas indústrias de alimentos incorpora processos de aquecimento e resfriamento, como por exemplo, pasteurização, esterilização, cozimento, secagem, resfriamento e congelamento. Um importante conjunto de técnicas empregadas para o controle de qualidade no processamento de alimentos é a análise térmica (AMORIM et al., 2004; MAGOSHI et al., 2002; RAEMY, 2003; ROOS, 2003; SCHIRALDI e FESSAS, 2003). As técnicas TG-DTG e DSC têm sido aplicadas ao estudo de isolados

protéicos (FONTANARI et al., 2006; MOHAMED, 2002; ORTIZ e WAGNER, 2002).

Magoshi et al. (2002), estudaram as propriedades térmicas (transição vítrea, cristalização, estabilidade térmica, etc.) de filmes preparados a partir de isolado protéico (prolamina) de sementes de arroz, trigo e soja empregando as técnicas TG e DSC e técnicas auxiliares (XRD e IR).

Roos (2003), estudou as propriedades térmicas de sistemas alimentares concentrados (baixo conteúdo de água e alimentos congelados) procurando entender as relações entre as propriedades dos alimentos e variações no parâmetro qualidade.

Recentemente Amorim et al. (2004), evidenciaram a dimensão anual de rejeito de cascas de arroz (2,8 milhões de ton / ano), produzidas pelo Brasil. Os autores empregaram as técnicas TG/DTG e DSC para estudar o processo de gelatinização, teores de água e de cinzas em arroz e o estudo cinético do processo de eliminação de água.

Fontanari et al. (2006), trabalhando com isolado protéico extraído da semente da goiaba, caracterizou a estabilidade e decomposição de cada condição de extração da proteína e também pôde observar que a técnica termogravimétrica obteve melhor repetitividade na determinação de água e cinzas.

As potencialidades analíticas da termogravimetria no controle de qualidade dos alimentos têm despertado o interesse dos pesquisadores, devido à diminuição do tempo das análises e quantidade de amostra requerida, além

de poder ser utilizada na obtenção de parâmetros cinéticos através de métodos de cálculo adequados (WENDLANDT, 1964). Os teores de umidade e cinzas, são parâmetros determinantes no controle de qualidade, o teor de umidade é utilizado para o controle microbiológico no armazenamento e a comercialização dos produtos e o teor de cinzas é utilizado para indicar a quantidade de minerais (ACCQUISTUCCI et al., 1991).

4 - Material e métodos

4.1 - Material

As sementes de goiaba foram obtidas das indústrias de alimentos Predileta. S. A. (São Lourenço do Turvo, SP), foram lavadas com água, para a remoção de fibras, secas a temperatura ambiente, trituradas previamente em moinho de facas por 10 minutos com malha de 1 mm e desengorduradas com éter etílico sob refluxo em aparelho de soxhlet. Após esta fase o produto foi exposto a temperatura ambiente para remoção do solvente; pulverizada em moinho de martelo com malha 0,4 mm e classificadas por tamis de 60 mesh (partículas de 0,250 mm) para a obtenção da farinha.

4.2 - Métodos

4.2.1 - Umidade

A determinação de umidade foi realizada por método gravimétrico em estufa regulada a 105°C, até peso constante, conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.2 - Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por método gravimétrico em forno tipo mufla, até peso constante, conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.3 - Fibras

A determinação de fibra foi realizada pelo método de fibra detergente ácido, conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.4 - Proteína

O teor de proteína total foi determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando-se do fator de conversão de 6,25, conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.5 - Lipídeos totais

O teor de lipídeos totais foi determinado pelo método de Bligh Deyer, conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.6 - Otimização da extração da proteína da farinha da semente da goiaba

4.2.6.1- Proporção massa de farinha – volume de extrator

Alíquotas de farinha da semente da goiaba, com teor de proteína conhecido foram dispersas em solução aquosa, e estabelecidas diferentes proporções entre massa e volume, sendo o pH de extração ajustado em pH 10,0 com NaOH. A dispersão foi mantida sob agitação mecânica por uma hora a velocidade constante e temperatura de 4°C. O material foi centrifugado a

8000 rpm/40min e, do sobrenadante foram colhidas alíquotas para a determinação do nitrogênio (N₂) solúvel pelo método de KJELDAHL (AOAC, 1995).

4.2.6.2 - Variação do tempo na extração da proteína

Alíquotas de farinha da semente da goiaba, com teor de proteína conhecido foram dispersas em solução aquosa na proporção m/v (1:10), nos intervalos de tempo entre; 10, 20, 30, 60 e 120 minutos, sendo o pH de extração ajustado em pH 10,0 com NaOH. A dispersão foi mantida sob agitação mecânica por uma hora a velocidade constante e temperatura de 4 °C. O material foi centrifugado a 8.000 rpm/40min e, do sobrenadante foram colhidas alíquotas para a determinação do nitrogênio solúvel pelo método de KJELDAHL (AOAC, 1995).

4.2.7 - Influência do pH e concentração de sal na solubilização da proteína

A solubilidade da farinha e do isolado protéico, foi determinado seguindo o método descrito por Wang e Kinsella (1976). Amostras de 1 g de farinha com teor de proteína conhecido foram dispersas em água destilada, na proporção massa-volume 1:30. O pH da suspensão foi ajustado ao valor desejado com HCl e/ou NaOH, o material foi agitado por 1 hora a velocidade constante e temperatura ambiente (25 ± 3 °C). Após esse tempo o material foi centrifugado a 8.000 rpm/60min; do sobrenadante foram colhidas alíquotas para a determinação do nitrogênio solúvel pelo método de KJELDAHL (AOAC, 1995).

Para a avaliação do efeito combinado da concentração de NaCl e da variação do pH na extração da proteína, as amostras foram dispersas em água destilada com a proporção de 0,2 e 0,5M de NaCl e o mesmo procedimento foi realizado.

4.2.8 - Influência do tipo de sal na extração da proteína

A influência de alguns sais na extração da proteína foi verificada pela dispersão de alíquotas de 1 grama de farinha, com teor de proteína conhecido, em água destilada, na proporção massa-volume de 1:100, seguido da adição do sal até atingir a concentração final desejada. A suspensão foi submetida à agitação mecânica por 1 hora à temperatura de 4°C, no pH da solução, e submetido à centrifugação a 8.000 rpm/40min. No sobrenadante recolhido, foi medido o pH e determinado o nitrogênio solúvel pelo método de KJELDAHL (AOAC, 1995).

4.2.9 - Extração das frações protéicas da farinha

Obtenção das frações albumina, globulina, prolamina e glutelina

A extração das frações foi realizada adotando-se o critério de solubilidade em diferentes sistemas extratores, baseado em procedimento de Osborne, com algumas modificações segundo Neves et al. (1996). Alíquotas de farinha desengordurada foram dispersas em água destilada na proporção massa-volume 1:30, submetidas à agitação mecânica durante 1 hora a 4°C e centrifugadas a 8000rpm/40 min. O resíduo obtido (R_1) separado e o

sobrenadante dialisado contra água destilada durante 72 horas a 4°C, com várias trocas de água. O precipitado protéico (P₁) foi coletado por centrifugação e separado. O sobrenadante pós-diálise foi liofilizado e representa a fração albumina total. O resíduo R₁ obtido na operação anterior foi disperso em solução de NaCl 0,5 M e submetido à agitação mecânica durante 1 hora a 4°C e centrifugado. O resíduo obtido (R₂) separado e o sobrenadante dialisado por 48 horas contra água destilada a 4°C, com várias trocas de água. O precipitado (P₂) foi separado por centrifugação e o sobrenadante descartado. Os precipitados P₁ e P₂ foram reunidos representando a fração globulina total da farinha. O resíduo R₂ foi disperso em solução alcoólica a 70%, submetido à agitação mecânica durante 1 hora a 4°C e centrifugado. As proteínas solubilizadas no álcool representam a fração prolamina. O resíduo decantado (R₃) foi disperso em solução de NaOH 0,1 N, submetido à agitação mecânica durante 1 hora a 4°C e centrifugado. A proteína do sobrenadante representa a fração glutelina. O resíduo final obtido por centrifugação, foi liofilizado e a proteína presente representando a proteína insolúvel nos solventes utilizados no processo de extração. Os percentuais de proteína extraídas em cada fase foram calculados tomando-se como base a proteína total da farinha. A fração quantitativamente majoritária foi separada e utilizada para os ensaios. A operação de extração foi repetida duas vezes. O procedimento geral para extração das diferentes frações protéicas está descrito na **Figura 2**.

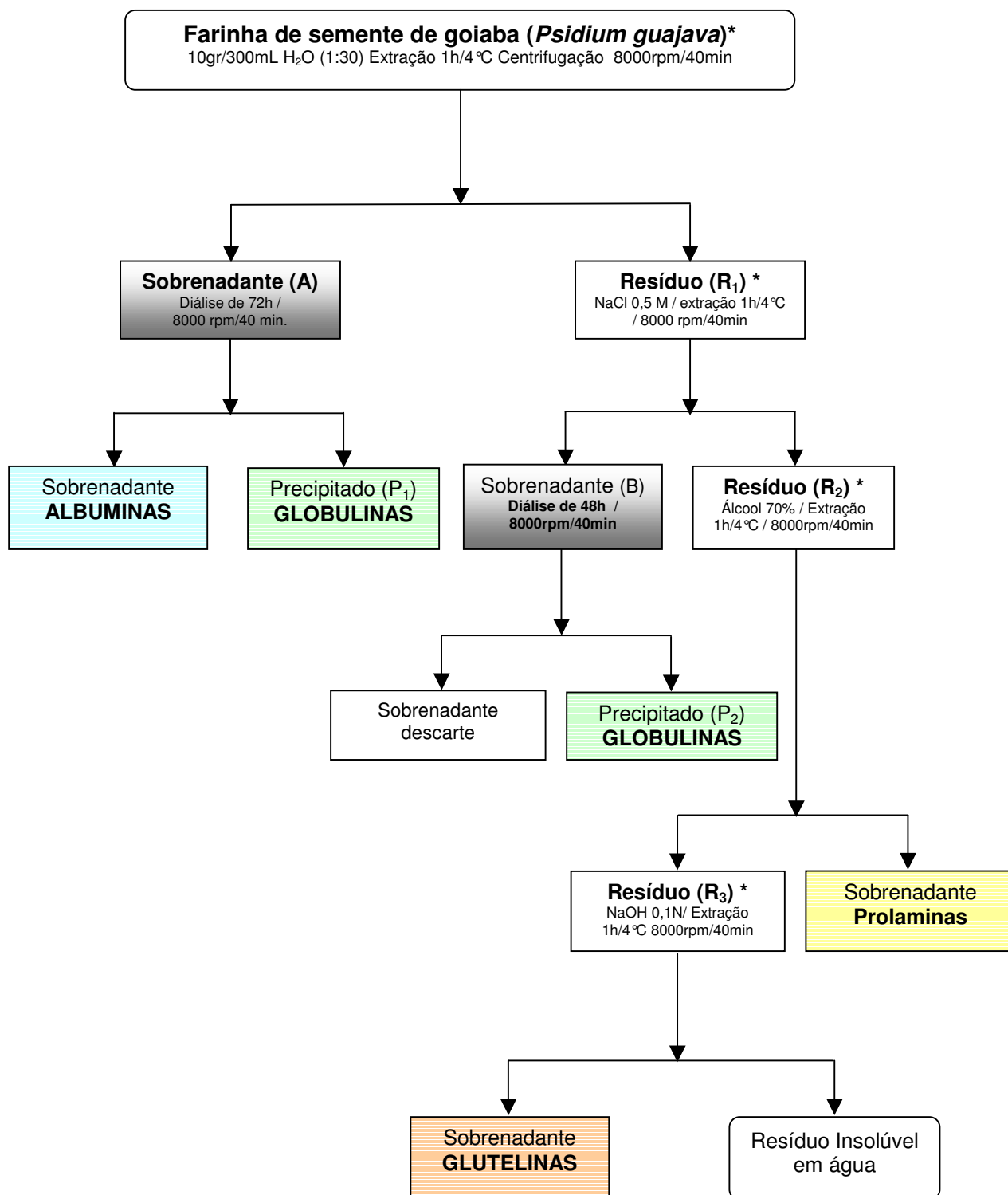


Figura 2 – Fluxograma da obtenção das frações protéicas da farinha da semente de goiaba. *Seguido de reextração.

4.2.10 - Obtenção do isolado protéico (IP)

O isolado protéico, liofilizado, foi obtido de acordo com metodologia descrita por Liadakis et al. (1995) modificado. A modificação foi referente à extração, realizada por agitação mecânica na proporção (1:30 m/v), com ajuste de pH em 10,0 e 11,5, empregando solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹, em temperatura ambiente (25 ± 3 °C), por 30 minutos. A suspensão foi centrifugada a 8000 rpm/30 min. O sobrenadante foi recolhido em béquer de 500 mL e a proteína precipitada em pH 4,5 (ponto isoeletrico) com a adição lenta de HCl 0,5 mol L⁻¹. A suspensão de proteína foi submetida à centrifugação a 8000 rpm/30 min. O precipitado foi separado do sobrenadante, tratado com água, o pH ajustado a 7,0 e, posteriormente, liofilizado e homogeneizado, tendo sido calculado o rendimento de extração e o conteúdo protéico, determinado pelo método de KJELDAHL (AOAC, 1995). O fluxograma está representado na **Figura 3**, ilustrando todas as etapas do método adotado para a obtenção do IP.

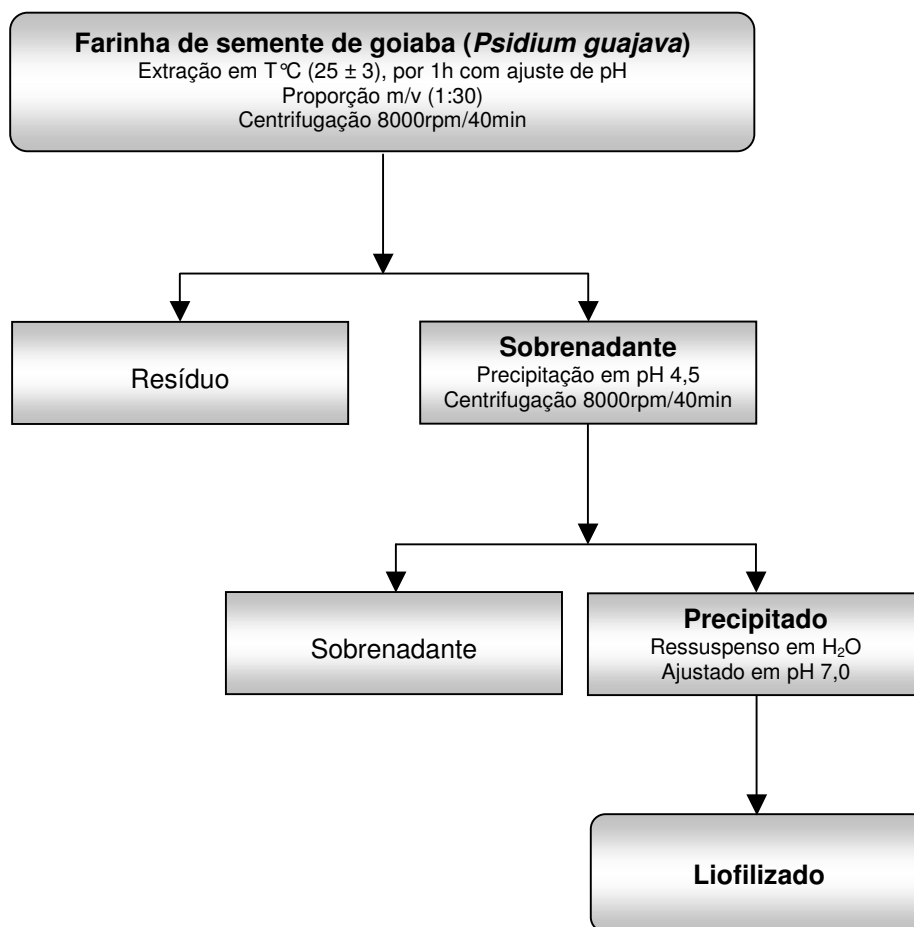


Figura 3 – Fluxograma da obtenção do Isolado Protéico (IP) da farinha da semente de goiaba, seguindo o procedimento de Liadakis et al. (1995).

4.2.11 - Efeito do pH na solubilidade do IP

A solubilidade do isolado protéico, foi determinado seguindo o método descrito por Wang e Kinsella (1976). Amostras de IP com teor de proteína conhecido foram dispersas em água destilada, na proporção massa-volume 1:30. O pH da suspensão foi ajustado ao valor desejado com HCl e/ou NaOH, o material foi agitado por 1 hora a velocidade constante e temperatura ambiente (25 ± 3 °C). Após esse tempo o material foi centrifugado a 8.000 rpm/60min; do

sobrenadante foram colhidas alíquotas para a determinação do nitrogênio solúvel pelo método de KJELDAHL (AOAC, 1995).

4.2.12 - Capacidade de absorção de água e óleo

A capacidade de absorção de água e óleo foi determinada usando o método de Lin et al. (1974 apud WANG e KINSELLA, 1976), modificado. O volume de 10mL de óleo de soja e/ou água destilada foram homogeneizados por 3 minutos, em tubos de centrífuga com capacidade de 35mL, com a quantidade de material (IP) equivalente a um (1) grama de proteína, e mantidos em repouso em temperatura ambiente ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$) por 30 minutos, posteriormente centrifugados a 7000 rpm/30 minutos. A capacidade de absorção, foi determinada pela diferença entre o volume total e o volume livre, os resultados foram expressos em mL água e/ou óleo absorvido por grama de proteína (mL/g prot.).

4.2.13 - Capacidade de Emulsificação (CE)

A capacidade de emulsificação foi determinada pelo método de Swift et al. (1961 apud WANG e KINSELLA, 1976). Alíquotas de pesos diferentes das amostras foram pesadas em béquer de 50 mL, com auxílio de balança analítica, e homogeneizados em 20mL de água destilada. A mistura foi mantida sob agitação magnética por 10 minutos e, em seguida transferida para copo de liquidificador, de tamanho pequeno, adaptado para este procedimento. O

béquero foi lavado com 5 mL de água, para retirada de possíveis resíduos. Em seguida, a mistura, foi homogeneizada na velocidade de aproximadamente 16.000 rpm, e a adição de óleo de soja, em fluxo constante (69mL/minuto) até o momento de quebra da emulsão, determinada pela mudança de viscosidade da mistura juntamente com a mudança de som. A quantidade de óleo emulsionado foi determinada pela diferença de peso do seu reservatório. Os resultados foram expressos em gramas de óleo emulsionado por grama de proteína.

4.2.14 - Atividade (AE) e estabilidade de emulsão (EE)

A atividade emulsificante e estabilidade de emulsão foram determinadas pelo método de Yasumatsu et al. (1972 apud WANG e KINSELLA, 1976), com modificações. Suspensões contendo volume de 20mL a 3,5% m/v (massa protéica) tiveram o pH ajustado em 3,0, 7,0 e 8,5, seguido de homogeneização em velocidade constante por 10 minutos com auxílio de agitador magnético, tendo seu conteúdo transferido ao copo adaptado de liquidificador, onde foi acionado à agitação de 16000rpm seguido da adição de 20mL de óleo de soja com fluxo contínuo de 1mL por segundo, no prazo de 1 minuto. A emulsão formada foi dividida em tubos de centrífuga e centrifugados à 6000 rpm por 5 minutos. A atividade de emulsão foi determinada como sendo o percentual do peso da camada que continuou emulsionada após a centrifugação, o cálculo foi feito de acordo com a equação abaixo:

$$(\%) \text{ AE} = \frac{\text{Peso da camada emulsionada do tubo}}{\text{Peso total do conteúdo do tubo}} \times 100$$

A estabilidade de emulsão foi determinada pelo aquecimento da emulsão a 80 °C por 30 minutos em banho Maria seguido de refrigeração à 15 °C e, centrifugação à 6000 rpm por 5 minutos. A estabilidade da emulsão foi calculada como sendo o percentual do peso da camada emulsificante que permaneceu emulsionada após sofrer tratamento térmico, o cálculo foi feito de acordo com a equação abaixo:

$$(\%) \text{ EE} = \frac{\text{Peso da camada emulsionada após aquecimento}}{\text{Peso total do conteúdo do tubo}} \times 100$$

4.2.15 - Capacidade e estabilidade de formação de espuma

A capacidade e estabilidade de formação de espuma foram determinadas pelo método de Coffman e Garcia (1977 apud LAVAL, 2004), com algumas modificações. Alíquotas de IP nas concentrações de 2% m/v (massa protéica) foram dispersos em 25mL de água destilada homogeneizadas em liquidificador na velocidade de 16000 rpm por 1 minuto. A mistura foi

imediatamente transferida para uma proveta graduada de 50mL e o volume foi anotado. O volume de espuma formado no final do período de (1 minuto) de homogeneização, representou a capacidade de formação de espuma, e foi expressa como sendo a percentagem do aumento do volume inicial da dispersão, calculada de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Volume (\%)} = \frac{\text{Vol. após homogeneização} - \text{Vol. Antes da homogeneização}}{\text{Volume antes da homogeneização}} \times 100$$

A estabilidade da espuma foi avaliada como sendo a diminuição do volume nos intervalos de tempo de 20, 40, 60 e 120 minutos. As determinações foram realizadas com ajustes em pH 3,0, 7,0 e 8,5.

4.2.16 - Gelatinização

As propriedades de geleificação foram realizadas utilizando o método descrito por Coffman e Garcia (1977 apud LAWAL, 2004) com algumas modificações. Suspensões nas proporções (m/v) (massa protéica) 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 e 20% foram homogeneizadas e transferidas em tubos de ensaio com água destilada. Os tubos foram aquecidos a 98°C em banho Maria por 60 minutos seguidos de refrigeração a 5°C em banho de gelo por 2 horas. A formação do gel foi observada para a concentração (m/v) que ao inverter o tubo nada foi escorrido.

4.2.17 - Cromatografia de filtração em gel

Alíquotas de 9,5mL de IP 10,0 e 11,5, contendo 55,57 mg/prot. e 52,72 mg/prot. respectivamente, foram levadas ao pH 8,6, com adição de NaOH e aplicada em coluna de Sepharose CL-6B (100 x 2,5cm), previamente equilibrada com tampão Tris-HCl, pH 8,6, contendo azida 0,01%. Na eluição, foram coletadas frações de 5,6 mL; o perfil de eluição acompanhado registrando-se a absorbância a 280 nm. Do material obtido, foram retiradas alíquotas para a determinação da proteína pelo método de Lowry et al. (1951) e para eletroforese em gel de poliacrilamida.

4.2.18 – Eletroforese

4.2.18.1 – Eletroforese em gel de poliacrilamida

A eletroforese em gel de poliacrilamida em condições não dissociantes foi realizada de acordo com a técnica de Davis (1964), em tubos verticais de 0,3 x 10 cm. O gel de separação, com altura de 7cm, continha 10% de acrilamida e o gel de concentração, com altura de 0,3cm, continha 3% de acrilamida. A polimerização foi realizada com exposição dos tubos à luz durante 20 minutos.

4.2.18.2 – Eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS

As determinações do número e dos pesos moleculares das subunidades foram feitas em eletroforese por gel de poliacrilamida-dodecilsulfato de sódio,

sistema de pH descontínuo, utilizando-se o procedimento descrito por Laemmli (1970) na presença do agente redutor 2-mercaptoetanol. O gel de separação continha 10,0% de acrilamida e o gel de concentração, 4,5% de acrilamida. As cavidades no gel de concentração foram formadas pela presença de um molde de PVC com 10 dentes durante o processo de polimerização do gel.

As amostras dos isolados protéicos liofilizados foram dispersas em solução de tampão Tris-HCl, pH 8,6 e juntamente com alíquotas dos picos, resultantes das frações cromatográficas (item 4.2.17), foram tratadas com solução contendo 62,5 mM de Tris, pH 6,8, 2% de SDS, 10% de glicerol, 1% de 2-mercaptoetanol, 0,02% de azul de bromoferol e submetidas a banho fervente por 2 minutos, resfriadas para então serem aplicadas no gel de concentração. A curva de calibração do gel foi feita utilizando-se mistura de proteínas de pesos moleculares conhecidos, contendo: fosforilase (97000 Daltons), soroalbumina bovina (66000 Daltons), ovoalbumina (45000 Daltons), anidrase carbônica (30000 Daltons), inibidor de tripsina (20500 Daltons) e β -Lactalbumina (14400 Daltons) e submetida ao tratamento descrito acima.

A corrida eletroforética foi realizada em cubas de acrílico e o tampão usado foi Tris/glicina 25 mM, pH 8,3, contendo 0,1% de SDS. A voltagem inicialmente foi de 100 V até que o corante atingisse o gel de separação e então foi alterada para 150 V. O gel permaneceu sob corrente constante até o final da corrida que durou aproximadamente 90 minutos. O gel foi corado por imersão em solução de commassie blue R-250 a 0,25% em ácido acético: metanol: água destilada durante 30 minutos. O gel foi descorado por imersão

em solução de ácido acético glacial, metanol e água destilada na proporção de 1,5:1:1,17,5, respectivamente, com várias trocas desta solução.

4.2.19 - Análise térmica, obtenção das curvas TG-DTA e DSC

As curvas TG-DTA foram obtidas em uma termobalança modelo SDT2960, TA Instrumensts, em atmosfera dinâmica de ar (100 mL min^{-1}), usando cadinho de platina sem tampa, massa da amostra de 4 mg e razão de aquecimento (β) de $20 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. As curvas DSC foram obtidas em um calorímetro DSC-25, acoplado ao processador TC-15, METTLER, em atmosfera dinâmica de ar (100 mL min^{-1}), usando cadinho de alumínio tampado e perfurado ($\Phi=1 \text{ mm}$), massa da amostra de 2 mg e razão de aquecimento de $20 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Determinação da composição centesimal

A avaliação físico química da farinha de semente de goiaba teve seu início pela composição química, cujos valores médios, estão apresentados na **Tabela 2**.

TABELA 2 - Composição química da farinha desengordurada da semente de goiaba (*Psidium guajava*)

COMPONENTE	g / 100g
Umidade	6,17 ± 0,04
Lipídeos totais	0,47 ± 0,01
Proteína**	8,43 ± 0,12
Fibras	60,88 ± 0,90
Resíduo mineral fixo (cinzas)	0,70 ± 0,08

* Metodologia de acordo com [AOAC, 1995]

** Fator de conversão 6,25

Para a farinha de semente de goiaba triturada em moinho de martelo, procedimento adotado nesse projeto, obteve-se um maior rendimento de farinha, porém, como mostra a tabela acima, observa-se menor teor de proteínas ($8,43 \pm 0,12$ %), e um valor maior de fibras ($60,88 \pm 0,9$ %), em relação ao obtido por Fontanari et al. (2006), $22,7 \pm 0,8\%$ e $50,7 \pm 1,5\%$ respectivamente, em estudos anteriores. Isso se deve ao fato de que o procedimento de trituração em martelo, pulverizou toda a semente, não restando cascas, o que não aconteceu no trabalho anterior do autor, onde as

sementes foram trituradas em faca e conseqüentemente foi pulverizado maior parte do cotilédone da semente resultando num maior conteúdo de sobras (cascas). Esse procedimento possibilitou maior conteúdo de proteínas e menor conteúdo de fibras, uma vez que o procedimento de facas pulveriza maior parte do cotilédone, que são separados por tamis. Os resíduos que sobram são parte da casca, onde há maior quantidade de fibras e possivelmente taninos e alcalóides.

Recentemente alguns trabalhos conduzidos com sementes de goiaba, demonstraram teores de proteína similares, como é o caso da farinha de semente de goiaba, (*Psidium guajava*), cultivada no México $7,60 \pm 0,20\%$ (NICANOR et al., 2001), no Egito $10,8\%$ (espécie não fornecida) (EL-DIN e YASSEN, 1997) e Índia, (*Psidium guajava* L.) $9,0\%$ (PRASAD e AZEEMODDIN, 1994). Entretanto, para farinhas de leguminosas, foram encontrados valores superiores, como por exemplo à farinha de tremçoço (*Lupinus angustifolius*) com $33,8 \pm 6,9\%$ (LQARI et al., 2002), *Brassica carinata*, com $38,9 \pm 2,3\%$ (PEDROCHE et al., 2004), sementes de gergelim $47,7\%$ (KHALID et al., 2003), grão-de-bico $26,7 \pm 0,84\%$ (KAUR e SINGH, 2005) e feijão caupi (*Vigna unguiculata*) $26,8\%$ (RAGAB et al., 2004).

O teor de cinzas ($0,70 \pm 0,08 \%$), está próximo aos teores observados na literatura para farinhas de sementes de goiaba, cujos valores variam entre $0,9\%$ (PRASAD e AZEEMODDIN, 1994), $0,98\%$ (EL-DIN e YASSEN, 1997) e $1,2 \pm 0,02 \%$ (NICANOR et al., 2001).

Para o teor de fibra bruta ($60,88 \pm 0,9\%$), observa-se uma pequena variação para a espécie cultivada no México $67,7 \pm 0,12\%$ (NICANOR et al., 2001), espécie cultivada na Índia $64,0\%$ (PRASAD e AZEEMODDIN, 1994) e estando em concordância com a espécie cultivada no Egito, $60,2\%$ (EL-DIN e YASSEN, 1997).

Analisando os resultados de teor protéico e fibras da tabela 2 e comparando com a literatura, pode-se observar que as farinhas que apresentaram maior quantidade de fibra bruta, independente da região de cultivo, o teor de proteína é relativamente menor.

5.2 - Otimização da extração da proteína da farinha da semente da goiaba

A **Tabela 3** indica as proporções massa e volume de extrator utilizado para extração da proteína da semente de goiaba.

A proporção massa/volume (farinha/solvente) é uma informação importante na realização das análises, pois mostra a condição ideal em que a proteína apresenta melhor performance de solubilidade, o que de acordo com a **Tabela 3**, a melhor condição foi de 1:30, apresentando $37 \pm 0,8\%$ de solubilidade, a mínima solubilização da proteína se deu em proporção de 1:100 apresentando um percentual de $14,84 \pm 2,4$ de proteína solubilizada.

TABELA 3 - Relação da proporção massa e volume de extrator. *

PROPORÇÃO	pH	% PROTEINA SOLUBILIZADA
1:10	10	22,07 $\pm$ 0,4
1:15	10	23,52 $\pm$ 0,5
1:20	10	28,00 $\pm$ 0,7
1:25	10	27,10 $\pm$ 0,5
1:30	10	37,00 $\pm$ 0,8
1:50	10	25,60 $\pm$ 1,0
1:100	10	14,84 $\pm$ 2,4

*Solvente utilizado: água destilada; tempo de extração: 60 min ; T= 4 °C

A solubilidade da proteína também foi moderadamente afetada pela variação do tempo de extração. A **Tabela 4** apresenta as variações de tempo de extração da proteína para a sua solubilização.

TABELA 4 - Efeito da variação do tempo na extração da proteína de semente de goiaba (*Psidium guajava*).*

PROPORÇÃO	Tempo (min)	pH	% PROTEINA SOLUBILIZADA
1:10	10	10	25,6 $\pm$ 1,15
1:10	20	10	28,2 $\pm$ 0,30
1:10	30	10	30,7 $\pm$ 0,30
1:10	60	10	27,7 $\pm$ 0,30
1:10	120	10	22,3 $\pm$ 0,02

*Solvente utilizado: água

De acordo com a **Tabela 4** o tempo máximo de extração (120min.) obteve o percentual mínimo de solubilidade ($22,3 \pm 0,02\%$), a tabela revela ainda que a melhor extração de proteína acontece no tempo de 30 minutos ($30,7 \pm 0,3\%$).

Os parâmetros iniciais para os experimentos foram adotados de acordo com as tabelas 3 e 4 como sendo proporção massa/volume 1:30 e tempo de extração da proteína da farinha da semente de goiaba de 30 minutos.

5.3 - Influencia do pH e concentração de sal na extração da proteína

A **Figura 4**, demonstra a influencia do pH e concentração de sal na solubilidade da proteína. Observa-se a partir da figura que: **1-** a solubilidade da proteína foi maior nas regiões ácida ($1,0 \leq \text{pH} \leq 2,0$) e alcalina ($9,0 \leq \text{pH} \leq 12,0$), estando esse valor em concordância com valores da literatura para proteínas vegetais, como a proteína da farinha de semente de tomate, (LIADAKIS et al., 1995), proteína da ervilha “beach” (*Lathyrus maritimus* L.), (CHAVAN et al., 2001), proteína da vagem, (JOHNSON e BREKKE, 1983), proteína do tremoço (*Lupinus mutabilis*), (SATHE et al., 1982a), proteína do grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), (VIOQUE et al., 1999), proteína da algaroba, (SILVA et al., 1997), proteína do feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp), (MIZUBUTI et al., 2000), proteína do amendoim, (MCWATTERS e HOLMES, 1979b), proteína do sorgo, (ELKHALIFA et al., 2005), proteína da batata, (KONINGSVELD et al., 2001), proteínas dos feijões jack (*Canavalia ensiformis*) e feijão mucuna (*Mucuna pruriens*), (ADEBOWALE

e LAWAL, 2004), proteína do caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.), (HORAX et al., 2004) e proteína do feijão locust (*Parkia biglobossa*), (LAWAL et al., 2005), onde a solubilidade é maior nas regiões de pH ácido e regiões de pH alcalino.

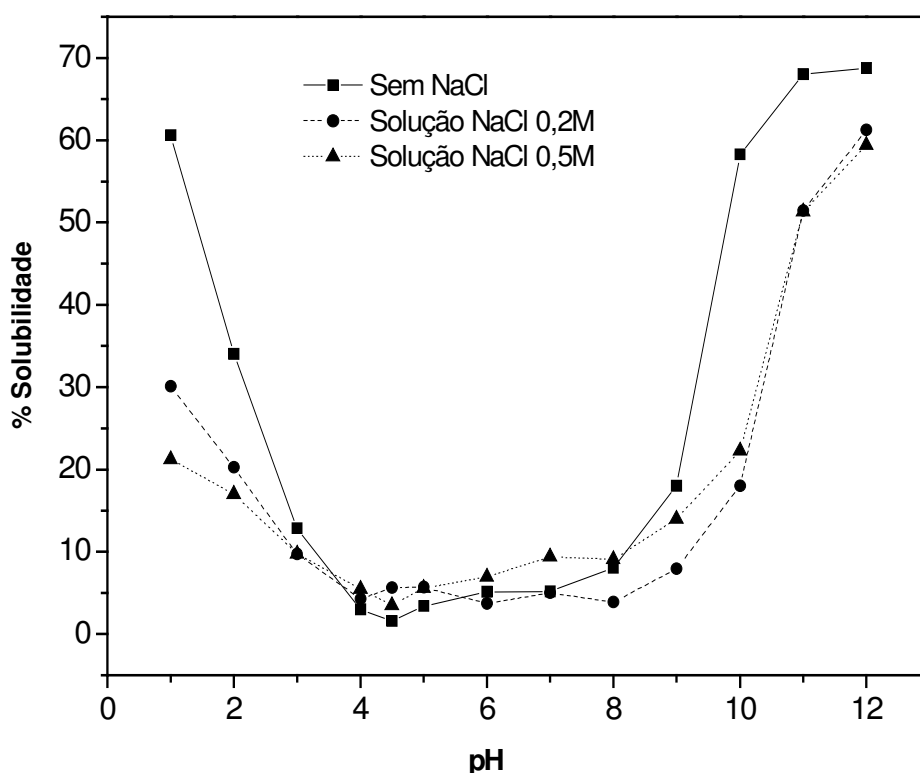


Figura 4 - Curvas de solubilidade da proteína da farinha de semente de goiaba (*Psidium guajava*), em função do pH (1,0 a 12,0) e concentração de NaCl variando entre 0 a 0,5 mol L⁻¹. T= 25 ± 3 °C.

O pH afeta a densidade de cargas e o balanço eletrostático intra e intermolecular, modificando a habilidade da proteína em participar das interações hidro e lipofílicas (DAMODARAN e PARAF, 1997). O aumento da densidade de cargas da proteína em pHs afastados da região do ponto

isoelétrico favorece as interações proteína-água, resultando num aumento das propriedades de hidratação (ELIZALDE et al., 1996).

2- a precipitação da proteína ocorre em pH 4,5, estando este valor em concordância com resultados obtidos na literatura para isolados protéicos de sementes de goiaba, pI 5,5 (NICANOR, 2001) e pI 4,5 (EL-AAL, 1992) e para precipitados de outras proteínas tais como: cártamo (safflower) pI 5,5 (PAREDES, 1986) e sementes de tomate pI 3,9 (LIADAKIS, 1995). Sabe-se que o pH tem um efeito sobre a carga líquida da proteína, influenciando dessa maneira a sua solubilidade, sendo que no pI esta propriedade atinge seu valor mínimo (CHEFTEL et al., 1989). A ocorrência de baixa solubilidade próxima a região do pI é devido principalmente à falta de repulsão eletrostática, que promoveu agregação e precipitação via interações eletrostáticas (DAMODARAN e PARAF, 1997).

3- a solubilidade da proteína é ligeiramente aumentada com a diminuição da concentração de NaCl, e sua maior solubilidade acontece na ausência total de sal, o que não é observado para a maioria das sementes de leguminosas, principalmente na região isoelétrica, onde a solubilidade é maior na presença de sal, como é na farinha de Lentilha (*Lens culinaris* MEDIK), (NEVES et al., 1998), farinhas de tremçoço doce e amargo (ADAWY et al., 2001), farinha de soja (MC WATTERS e HOLMES, 1979a), concentrados protéicos de gergelim (INYANG E IDUH, 1996) e glúten do trigo (MEJRI et al., 2005).

Esse fenômeno, que ocorre com as proteínas de leguminosas, geralmente acontece em baixas concentrações de sal, onde a solubilidade

protéica aumenta devido à interação dos íons salinos com os grupos iônicos da proteína, causando uma hidratação da molécula protéica e repulsão eletrostática entre as moléculas (BORA e RIBEIRO, 2004)

Os efeitos quantitativos diferem muito entre os sais e depende da força iônica, do tipo e carga de superfície protéica e da água. Em baixas concentrações de sais (baixa força iônica) a solubilidade em geral aumenta, por que os íons salinos em baixa concentração tendem a se associar às proteínas contribuindo para uma maior hidratação e/ou repulsão das moléculas de proteína, portanto, para uma maior solubilidade da proteína, provocando o efeito conhecido como “salting in”. Ao contrario, em elevadas concentrações de sais, os íons salinos, formam sua própria capa de hidratação e competem com a proteína pela água ocasionando perda de água de hidratação pelas moléculas protéicas, atração mutua entre as moléculas (forças eletrostáticas e não polares) e formação de precipitado, fenômeno conhecido como “salting out” (SGARBIERI,1996).

5.4 - Influência do tipo de sal na extração da proteína

Para cada sistema protéico-salino existe um máximo de solubilidade que a proteína pode atingir antes que o efeito “salting out” tenha início. Alguns sais neutros, entre eles o NaCl e o KCl, promovem o efeito “salting in”, isto é, o aumento da solubilidade, mesmo em concentrações molares elevadas. O efeito “salting in” se manifesta porque, em baixa concentração de sal, os íons interagem com os grupos carregados da proteína e aumenta progressivamente

sua eletronegatividade, o que intensifica a repulsão eletrostática intermolecular (AROGUNDADE et al., 2004). Devido a esses efeitos, os íons “salting in” alteram de modo notável o perfil de solubilidade de certas proteínas, em função do pH (LOURENÇO, 2000).

Estudos de caracterização do efeito de aditivos e sais, entre eles o NaCl e KCl, na solubilidade da proteína tem sido frequentemente realizados na justificativa de compreender os perfis de solubilidade para suas possíveis aplicações nas indústrias de alimentos (ABTAHI e AMINLARI, 1997). O NaCl, o principal ingrediente na formulação de alimentos devido a suas propriedades de flavor, conferindo sabor salgado aos alimentos, conservação e melhoria de solubilidade, recentemente tem sido substituído por outros sais, entre eles o KCl, na tentativa de reduzir o Sódio da dieta a fim de minimizar riscos de hipertensão (AROGUNDADE et al., 2004).

Os resultados do efeito da utilização de alguns tipos de sal, em diferentes concentrações, na solubilização da proteína da semente de goiaba, estão apresentados na **Tabela 5**.

Dos sais utilizados aqueles com pH final alcalino na suspensão apresentaram os melhores resultados, estando semelhantes com os resultados obtidos por Neves (1991), caracterizando a lentilha. As dispersões contendo os sais NaOH 0,02N, 0,04N e 0,10N solubilizaram 57%, 58,3% e 60,7% da proteína da farinha de semente de goiaba respectivamente, apresentando maior quantidade de proteína solubilizada na extração, por outro lado resulta num pH muito elevado na concentração final da dispersão.

TABELA 5 - Efeito de sais na extração da proteína da farinha de semente de goiaba

SAL	CONCENTRAÇÃO	pH	% SOLUBILIDADE
Na_2CO_3	0,5%	10,62	53,20
	1,0%	10,70	48,90
	2,0%	11,00	49,77
NaOH	0,02 N	12,84	57,00
	0,04 N	12,67	58,30
	0,10 N	12,58	60,70
$NaCl$	0,20 M	5,44	5,10
	0,50 M	5,44	4,66
	1,00 M	5,24	8,44
Pirofosfato de sódio	0,2%	5,19	1,40
	0,5%	4,92	1,40
	1,0%	4,68	1,80
Hexametáfosfato de sódio	0,5%	5,57	1,20
	1,0%	5,21	1,20
	0,5%	5,11	1,65
NaH_2PO_4	1,0%	5,00	2,41
	5,0%	4,46	6,14
	10,0%	4,29	7,60
Na_2SO_4	0,5%	5,67	1,94
	1,0%	5,60	2,80
	5,0%	5,45	6,50
K_2SO_4	10,0%	5,32	6,92
	0,5%	5,63	0,98
	1,0%	5,58	2,71
Acetato de sódio	5,0%	5,50	5,70
	10,0%	5,52	7,63
	0,5%	6,32	0,91
	1,0%	6,47	0,86
	5,0%	6,96	2,80

Além do NaOH, outro sal que obteve considerada solubilidade foi o Na_2CO_3 , solubilizando 53,2 – 48,9 e 49,77% de proteína nas concentrações de 0,5 – 1,0 e 2,0%, respectivamente.

O acetato de sódio, nas concentrações 0,5 e 1,0%, apresentou menor eficácia na solubilização da proteína com apenas 0,91 e 0,86%, respectivamente. Comparado ao NaOH tem a vantagem de apresentar pH final próximo da neutralidade ou levemente ácido. Os demais sais não apresentaram índices satisfatórios de solubilidade.

Já o principal sal utilizado (NaCl) para o aumento da solubilidade da maioria das proteínas de sementes de leguminosas, não apresentou índices satisfatórios, solubilizando apenas 5,1 – 4,66 e 8,44% de proteína nas respectivas concentrações (0,2 – 0,5 e 1M), porém a farinha do grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*), leguminosa que ocupa o quinto lugar na produção mundial de sementes de leguminosas, sendo precedido pela soja, amendoim, feijão e ervilha, tem sua solubilidade aumentada na presença de até 1,0M de NaCl (SILVA et al., 2001).

Outros tipos de proteínas, como feijão (*Phaseolus vulgaris*) cru (CARBONARO et al., 1993), ervilha beach “peã” (CHAVAN et al., 2001), proteína da farinha de tremçoço doce e amargo (ADAWY et al., 2001), proteína da batata (KONINGSVELD et al., 2001), glúten do trigo (MEJRI et al., 2005), farinha de lentilha (*Lens culinaris Medik*) (Neves et al., 1998), farinha de soja (MC WATTERS e HOLMES, 1979a) e concentrados protéicos de gergelim (INYANG e IDUH, 1996), também tiveram sua solubilidade aumentada na presença de NaCl, principalmente na região isoelétrica, apresentando características da proteína classificada como globulina, proteínas que aumentam sua solubilidade na presença de sal (SGARBIERI, 1996).

Apesar do NaCl não ter causado boa solubilidade para a farinha da semente de goiaba, é muito comum seu emprego pelas indústrias alimentícias, visando melhorar as propriedades funcionais através do aumento da solubilidade protéica, por isso é importante verificar o efeito desse sal nas propriedades funcionais das proteínas (DUARTE et al., 1998).

5.5 - Extração das proteínas da farinha da semente de goiaba

Obtenção das frações albumina, globulina, prolamina e glutelina

A extração fracionada e seqüencial do material, inicialmente com água destilada, seguida de solução de NaCl 0,5M, etanol 70% e finalmente com NaOH 0,1N, corresponde às frações albumina, globulina, prolamina e glutelina, respectivamente, como mostra o fluxograma da **Figura 1**. Essa prática é executada quando se deseja separar e classificar os tipos de frações quanto sua solubilidade.

A **Tabela 6** apresenta os resultados obtidos das frações protéicas da proteína. Pode-se observar que a glutelina é a fração presente em maior quantidade, sendo então a fração protéica majoritária da farinha da semente de goiaba, apresentando um conteúdo de 44,03% do total da proteína e $3,71 \pm 0,021\%$ do total da farinha.

As proteínas também são classificadas de acordo com sua solubilidade, desta forma, as características descritas no parágrafo anterior e o fato da ação do sal não ter modificado a solubilidade da proteína da farinha da semente de

goiaba, sugere-se, para a proteína em estudo, a classificação como sendo pertencente ao grupo das glutelinas; proteínas solúveis em meio ácido e alcalino (AKABORI, 2002).

Tabela 6 – Classificação das frações protéicas da farinha da semente de goiaba (*Psidium guajava*).

Frações	Proteína * (N ₂ x 6,25)	
	% Farinha	% Total
Farinha	8,43 ± 0,12	100
Albumina	0,19 ± 0,09	2,25
Globulina	0,51 ± 0,07	6,06
Prolamina	0,21 ± 0,02	2,49
Glutelina	3,71 ± 0,02	44,03
Resíduo	2,16 ± 0,04	25,62

* proteína determinada pelo método de Kjeldahl (AOAC,1995)

Agboola et al. (2005) executou o fracionamento, descrito por Osborne, para a obtenção das frações protéicas albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas para o arroz australiano e também constatou que a fração majoritária é a glutelina, representando mais de 50% da composição total da proteína do arroz.

Essa semelhança é observada para proteínas de cereais, onde as glutelinas e prolaminas são encontradas em abundância, porém, essa composição é diferente das sementes oleaginosas e de leguminosas, que possuem globulinas como fração protéica majoritária (FUKUSHIMA, 1991; JACKS, 1994; MELITO e TOVAR, 1995; NEVES e LOURENÇO, 1995).

5.6 - Obtenção do isolado protéico

Para a preparação do isolado protéico empregou-se o método de Liadakis et al (1995), conforme mostra o fluxograma da **Figura 3**, variando-se as condições de pH durante o processo de extração. As condições de extração para os IP foram selecionadas a partir da curva de solubilidade (**figura 4**), padronizando condições de pH alcalino em: **1-** IP 10, extraído em pH 10,0 e, **2-** IP 11,5, extraído em pH 11,5.

A **Tabela 7** apresenta os resultados de rendimento e conteúdo protéico dos isolados de semente de goiaba extraídos em pH 10 e 11,5.

Tabela 7 – Rendimento e conteúdo protéico do isolado protéico extraído em pH 10,0 e 11,5.

pH	Rendimento (%)	Conteúdo Protéico (%)
10,0	45,19 ± 0,6	96,4 ± 0,5
11,5	66,23 ± 0,4	93,5 ± 0,4

* As determinações de rendimento e conteúdo protéico foram realizados em triplicata.

Os dados da tabela revelam que o IP extraído em pH 11,5 apresentou um índice de rendimento maior que o IP extraído em pH 10,0 (66,23 ± 0,45 e 45,19 ± 0,6%) respectivamente. De acordo com a **Figura 4**, onde está apresentada a curva de solubilidade em diferentes níveis de pH, em pH 11,5, a solubilidade é maior que em pH 10,0, esse comportamento refletiu no

rendimento da proteína durante sua precipitação isoelétrica, favorecendo maior quantidade de IP para a extração em pH 11,5

Nicanor et al. (2001), encontraram valores superiores de rendimento para isolado protéico da farinha da semente de goiaba ($78,25 \pm 0,07\%$), porém as condições de extrações foram diferentes, realizadas nas proporções de massa/volume (1:20), temperatura de 40°C e pH de precipitação ($pI=5,0$). Fontanari et al. (2005), em pH 11,5, obtiveram $77,0 \pm 0,4\%$ de rendimento para a mesma amostra, quando utilizaram metodologia diferente para a obtenção da farinha. As sementes foram trituradas em moinho de facas sendo separadas apenas o cotilédone das sementes em tamis de 60 mesh.

Rendimentos inferiores foram relatados por El-Aal (1992), com apenas 9,73%, porém durante a extração foi utilizado pH 10,0. A **Tabela 7**, ainda revela que os conteúdos protéicos dos IP tiveram pouca diferença, apresentando $96,4 \pm 0,5$ e $93,5 \pm 0,4\%$ para os IP 10,0 e 11,5, respectivamente.

Fontanari et al. (2006) e Nicanor et al. (2001), relataram conteúdos protéicos para IP de semente de goiaba extraídos em pH 11,5, de $94,2 \pm 0,3$ e $96,78 \pm 0,07\%$ respectivamente, estando em concordância com o conteúdo protéico do IP 11,5 neste estudo.

5.7 - Curvas de solubilidade para o IP 10,0 e IP 11,5.

A **Figura 5**, apresenta os dados de solubilidade dos isolados protéicos extraídos da farinha da semente de goiaba em pH 10,0 e 11,5.

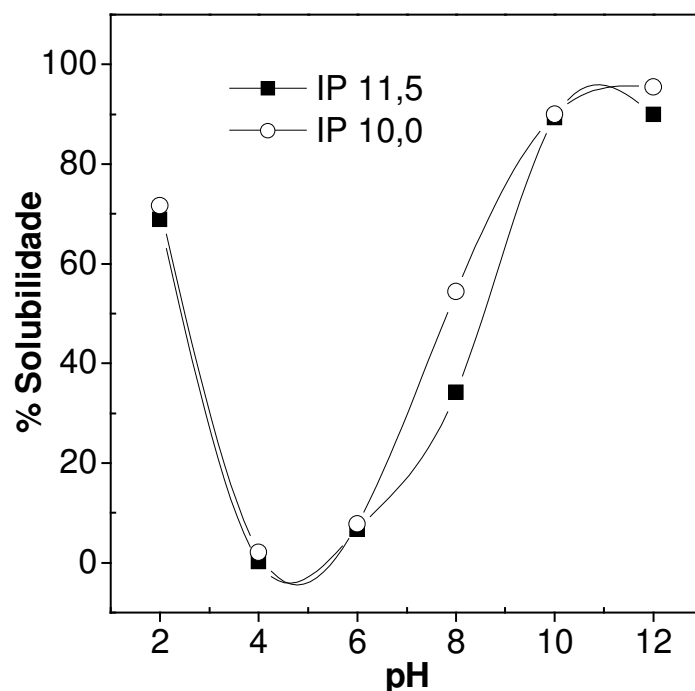


Figura 5 – Curvas de solubilidade dos IP extraídos em pH 10,0 e pH 11,5, em temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$), por 30 minutos.

A **Figura 5** revela um perfil de solubilidade para os isolados protéicos, nas regiões ácidas e alcalinas, semelhante ao próprio perfil apresentado pela proteína da farinha, com um detalhe: a proteína da farinha apresentou solubilidade mínima entre o pH 4,0 até o pH 8,0, onde a partir desse ponto passou a ter um aumento em sua solubilidade. Já os isolados protéicos, tiveram boa solubilidade na região ácida até o pH 4,0, e começaram a ter aumento de solubilidade a partir do pH 6,0 sendo que em pH acima de 6,0 e abaixo de 10,0, o IP 10,0 apresentou solubilidade superior em relação ao IP 11,5. Puppo et al. (2004), também relataram perfis de solubilidade diferentes para o mesmo material, obtidos em condições distintas, observando menor

solubilidade para IP de soja extraído em pH 3,0 em relação ao IP extraído em pH 8,0.

A solubilidade de uma proteína é a manifestação termodinâmica do equilíbrio, com a interação proteína-proteína e proteína-solvente e está relacionada a seu balanço de hidrofiliicidade/hidrofobicidade. Assim, sua composição de aminoácidos afeta sua solubilidade, porém as características de hidrofobicidade e hidrofiliicidade de superfície da proteína são os fatores mais importantes que afetam sua característica de solubilidade (DONADEL e FERREIRA, 1999).

5.8 - Absorção de água e óleo

A **Tabela 8** apresenta os valores obtidos para análises de capacidade de absorção de água e óleo para o isolado protéico da farinha da semente de Goiaba.

Tabela 8 – Absorção de água e óleo para IPs obtidos da farinha de semente de goiaba (*Psidium guajava*), IP 10,0 e IP 11,5, respectivamente.

Material	Absorção de água	Absorção de óleo
	(mL água / g proteína)	(mL óleo / g proteína)
IP 10,0	1,05 ± 0,07	2,3 ± 0,01
IP 11,5	1,65 ± 0,07	1,70 ± 0,07

* As determinações de absorção de água e óleo foram realizadas em triplicata.

A capacidade de absorção de água, de ambos os isolados, foram inferiores em comparação com a literatura para IP de soja (ELIZALDE et al., 1988) e proteína da algaroba, (SILVA et al., 1997), porém o mesmo autor revela uma capacidade de absorção de óleo inferior à encontrada no IP 10,0 e 11,5.

Khalid et al. (2003), relatou absorção de água e óleo (2,10 e 1,50 mL água / g proteína), respectivamente para a proteína de gergelim, estando esses valores próximos ao obtidos para o IP de semente de goiaba.

A absorção de água do IP 10,0 foi menor que a encontrada no IP 11,5, porém o valor de capacidade de absorção de água foi menor que a encontrada para IP 10 de farinha de goiaba do Egito (EL-AAL, 1992) e para isolado protéico de aveia (MA e KHANZADA, 1987), por outro lado à capacidade de absorção de água do IP 11,5, foi similar para o IP produzido a partir das sementes de goiaba do México relatadas por Nicanor et al. (2001), nas mesmas condições de pH de extração desse estudo. Outro aspecto importante revelado na tabela foi a maior capacidade de retenção de água para o IP 11,5. Mwasaru (1999), também encontrou dados diferentes para IP de mesma amostra em diferentes pH de extração, como por exemplo “pigeonpea” (1,26 e 2,10 mL água / g proteína) para IP extraído em pH 10,5 e 11,5, respectivamente.

A absorção de óleo para IP 11,5 foi idêntica a Nicanor et al. (2001), porém o IP 10,0 apresentou uma capacidade maior de reter óleo, apresentando

valores superiores, inclusive aos relatados para isolado protéico de semente de goiaba do Egito (EL-AAL, 1992).

A tabela ainda revela que houve maior capacidade de absorção de óleo do que a água, principalmente do IP 10,0. Essa afinidade por óleo é resultante da interação da proteína com o óleo através dos grupos de aminoácidos apolares, expondo mais áreas de microdomínios hidrofóbicos e, conseqüentemente, retendo mais óleo.

De acordo com Dench et al. (1981), a absorção de óleo varia em função do número de grupos hidrófobos expostos da proteína, Lin et al. (1974), sugerem que as cadeias laterais não polares das proteínas tenham afinidade com as cadeias hidrofóbicas da molécula do óleo e contribuam para a absorção.

Toda proteína, ou qualquer ingrediente alimentar, para ser funcional, deve ser capaz de movimentar-se no meio em que se encontra e apresentar um conjunto de reações físico-químicas, tais como hidratação, alteração conformacional, dispersão, rearranjo molecular, difusão, adsorção, formação de complexo protéico e de ligação de moléculas. Uma proteína, ou produto protéico é capaz de exercer, simultaneamente, várias propriedades funcionais interdependentes nas formulações às quais é adicionada. Tal versatilidade é principalmente, resultado da conjugação de fatores intrínsecos e extrínsecos, por isso, proteínas e produtos protéicos são agentes funcionais com demanda crescente pela indústria de alimentos (KINSELLA, 1976).

De acordo com Cheftel et al. (1985), a absorção e a retenção de água pelas proteínas exercem importante papel na qualidade da textura de diversos alimentos, notadamente produtos derivados da carne e produtos de panificação, onde conferem propriedades adequadas de consistência, viscosidade e adesão. Da mesma forma, a capacidade de absorção de óleo, também são requeridas nas formulações de carne, substitutos de carne e análogos, além de produtos de padaria e sopas (ABBEY e IBEH, 1988).

5.9 - Capacidade de emulsificação

A **Tabela 9** revela os dados obtidos com a capacidade de emulsificação apresentada pelo IP 10,0 e 11,5.

Tabela 9 – Capacidade de emulsão* dos IP extraídos em pH 10,0 e pH 11,5, T= 25 ± 3 °C.

Solução	pH	Gramas de óleo emulsionado por grama de proteína	
		IP 10,0	IP 11,5
H ₂ O	3,0	387 ± 6	343 ± 5
	6,6	37 ± 2	140 ± 8
	8,5	363 ± 6	388 ± 6
NaCl 2%	3,0	57 ± 3	67 ± 7
	6,6	32 ± 3	39 ± 4
	8,5	66 ± 7	53 ± 3

* Metodologia: [Wang e Kinsella, 1976]

Os resultados da tabela revelam que as emulsões preparadas a partir dos isolados protéicos liofilizados e suspensos em água na ausência de

NaCl: 1- a pH 3,0 e 8,5, apresentam elevada capacidade de emulsificação ($343 \leq CE \leq 388$) g óleo / g proteína, independente das condições originais de preparo do isolado (pH 10,0 ou 11,5), indicando que a capacidade de emulsificação aumenta nas regiões ácidas e alcalinas, perfil semelhante de comportamento foi encontrado para a proteína da algaroba (SILVA et al., 1997), proteína da semente de gergelim (KHALID et al., 2003) e proteína do feijão locust (LAWAL, 2004) onde o pH influenciou a capacidade de emulsificação.

2- em pH 6,6 (próximo à neutralidade) a formação de emulsão foi ligeiramente maior para o IP 11,5, $CE = 140 \pm 8$ g óleo / g proteína, comparado com o IP 10,0, $CE = 37 \pm 2$ g óleo / g proteína, o que mostra diferenças na estrutura da proteína, revelando uma maior exposição de microdomínios hidrofóbicos para o IP 11,5. A elevada capacidade de emulsificação do IP observado em pH 3,0 e 8,5 (região ácida e alcalina) está associado à formação de microdomínios hidrofóbicos induzidos pelo ajuste do pH do meio, o que favorece o processo, conforme também observado por Donadel e Ferreira, (1999).

A capacidade de emulsão foi dependente do pH, observado na região ácida e principalmente na região de pH alcalino, onde a capacidade foi maior devido a influencia do pH no balanço hidrofílico/lipofílico, favorecendo o processo e aumentando a capacidade de emulsificação (RAGAB et al., 2004)

Segundo alguns autores, Tornberg e Hermansson (1977); Mulvihill (1991); Mangino (1994), esta influência do pH na solubilidade pode interferir na

quantidade da proteína adsorvida na interface óleo/água (O/A) e dessa maneira modificar as propriedades emulsificantes da proteína. A solubilidade de proteína em água contribui para a diminuição da tensão interfacial entre os componentes hidrofóbicos e hidrofílicos, aumentando as propriedades emulsificantes (BORDERÍAS e MONTERO, 1988; CHEFTEL et al., 1989; WANG et al., 2000).

3- as suspensões de isolados protéicos preparados na presença de NaCl, em pH 3,0, 6,6 e 8,5 apresentam baixa capacidade de emulsificação e perfil de emulsificação semelhante ao observado para as emulsões preparadas na ausência do NaCl.

Esta baixa capacidade pode estar associada ao efeito salino que promove a interação de íons com as cargas das proteínas, favorecendo a agregação e a precipitação da proteína, minimizando a solubilização e conseqüentemente promovendo uma diminuição da exposição dos microdomínios hidrofóbicos, diminuindo assim a capacidade de emulsificação (DUARTE et al., 1998).

5.10 – Atividade e estabilidade da emulsão

A **Tabela 10** apresenta os dados obtidos para ensaio da atividade e estabilidade da emulsão.

A atividade e estabilidade da emulsão de ambos isolados protéicos apresentaram boas performances em pH 3,0 (próximo ao pI), estando de acordo com Mangino (1994). As análises revelam que para atividade de

emulsão, os resultados são similares entre os IPs 10,0 e 11,5, apresentando na região de pH 8,5 ($73 \pm 1\%$) e na região de pH 3,0, próxima ao pl, (76 ± 1). Esses valores de atividade de emulsão são maiores que os encontrados para IP de feijão locust (*Parkia biglobossa*) (Lawal, 2004) e proteína da alfafa (WANG e KINSELLA, 1976).

Tabela 10 – Atividade e estabilidade da emulsão preparadas para IP 10,0 e 11,5.

Material	pH	Atividade de emulsão (%)	Estabilidade da Emulsão (%)
		(AE)	(EA)
IP 10,0	3,0	$76,57 \pm 0,70$	$78,98 \pm 0,50$
	7,0	$74,30 \pm 0,10$	$75,45 \pm 0,40$
	8,5	$73,50 \pm 0,50$	$75,84 \pm 0,70$
IP 11,5	3,0	$75,85 \pm 0,50$	$76,14 \pm 0,50$
	7,0	$74,60 \pm 0,70$	$74,85 \pm 0,60$
	8,5	$73,76 \pm 0,80$	$74,97 \pm 0,50$

*Determinações realizadas em triplicata.

Por outro lado, a estabilidade da emulsão, em pH 3,0, foi ligeiramente maior para o IP 10,0, com uma diferença de aproximadamente 3% em relação ao IP 11,5. O efeito do pH na estabilidade das emulsões, apresenta certa variação, assim de acordo com Mangino (1994), em valores próximos ao pl, as proteínas são capazes de formar filmes interfaciais mais coesos e mais

viscosos, o que é benéfico para a estabilidade da emulsão, entretanto em alguns casos essa estabilidade pode ser mais elevada em uma faixa de pH distante do pl. De acordo com o mesmo autor isso depende do equipamento utilizado para formar a emulsão, uma vez que maior fornecimento de energia, pode levar à adsorção de moléculas mais carregadas, aumentando-se assim, a repulsão de cargas e, portanto, a estabilidade de emulsão.

Os resultados apontam que a atividade e estabilidade de emulsão foram influenciadas pelo pH do meio, apresentando leve aumento de capacidade na região ácida. O mesmo comportamento foi relatado para IP de feijão locust (*Parkia biglobossa*) (LAWAL, 2004), sementes de gergelim (KHALID et al., 2003), concentrados protéicos de gergelim (INYANG e IDUH, 1996), concentrado protéico de tremço (SATHE et al., 1982a) e proteína do feijão “caupi” (RAGAB et al., 2004).

5.11 – Capacidade e estabilidade de formação de espuma

A **Tabela 11** apresenta os dados obtidos para a capacidade e estabilidade de formação de espumas.

De acordo com a **Tabela 11**, observa-se que: **1-** a formação de espuma foi maior na região de pH 7,0 a 8,5, apresentando expansão de 76 a 92% do volume inicial para IP 11,5 e 10,0, respectivamente. A capacidade espumante do isolado, sofreu influencia do pH, apresentando baixas capacidades na região de pH próximos ao “pl” das proteínas, e altas capacidades em regiões de pH alcalino. O mesmo comportamento foi relatado

para IP de semente de algaroba (SILVA et al., 1997), sementes de gergelim (KHALID et al., 2003), concentrados protéicos de gergelim (INYANG e IDUH, 1996), proteína do feijão locust (*Parkia biglobossa*) (Lawal, 2004), proteína do feijão “caupi” (RAGAB et al., 2004) e concentrado protéico de tremço (SATHE et al., 1982a);

Tabela 11 – Capacidade e estabilidade de formação de espuma em amostras preparadas a partir de IP 10,0 e 11,5.

Amostra	pH	Volume após agitação (mL)	Capacidade de formação de espuma (%)	Estabilidade da espuma [vol (mL) em intervalos (min)]			
				30	60	90	120
IP 10,0	3	42	68	42	42	42	42
	7	48	92	46	46	45	44
	8,5	48	92	45	45	44	43
IP 11,5	3	40	60	40	40	40	40
	7	44	76	42	42	42	42
	8,5	44	76	43	42	41	41

2- a expansão foi maior para o IP 10,0 apresentado cerca de 16% de diferença para o IP 11,5. A alta capacidade de formação de espuma do IP 10,0 é provavelmente atribuída ao aumento da carga da rede das moléculas protéicas, que enfraquecem as interações hidrofóbicas e aumenta a flexibilidade da proteína (LIN et al., 1974);

3- a estabilidade da espuma foi praticamente a mesma para ambos IPs na região de pH 3,0, próximo à região do pI, onde nesse ponto a interação repulsiva é diminuída, favorecendo a interação proteína-proteína, retendo por mais tempo a camada de ar na camada protéica (LAWAL, 2004).

5.12 - Gelatinização

Os resultados dos ensaios de gelatinização com os isolados protéicos extraídos das sementes de goiaba em função do pH estão apresentados na **Tabela 12**. Observa-se, a partir da tabela que: **1-** a gelatinização sofreu influência do pH independentemente das condições de extração dos IP, as regiões ácida e básica necessitaram de uma concentração maior de proteína para a formação do gel, mesmo fenômeno apresentado para farinhas de feijão locust (LAWAL, 2004; LAWAL et al., 2005) e de feijão Jack (ADEBOWALE e LAWAL, 2004);

2- o IP 10, em pH neutro, apresentou formação de gel com uma concentração de 8% (m/v). A mesma concentração foi relatada para isolado protéico de feijão pigeonpea (MWASARU et al., 1999). O IP 11,5, em pH neutro, formou gel na concentração de 10% (m/v), a mesma concentração foi observada para isolado protéico de tremçoço (IP_B) (LQARI et al., 2002) e isolado protéico de feijão Cowpea e pigeonpea (MWASARU et al., 1999).

De acordo com Clark et al. (2001), o pH afeta a natureza das cargas dos aminoácidos da proteína, alterando sua solubilidade e afetando diretamente a capacidade de formação de gel. Pode-se observar ainda, que não só o pH do

meio alterou os resultados de formação de gel, mas também o pH de extração, onde em pH 10,0 forma-se gel com menor concentração do que em pH 11,5.

Tabela 12 – Efeito do pH na formação de gel dos isolados protéicos extraídos em pH 10,0 e 11,5.

material	pH da solução		
	3	7	8,5
IP 10,0	10%	8%	12%
IP 11,5	12%	10%	12%

* Os resultados foram expressos em %.

Diferenças na capacidade de geleificação em diferentes valores de pH são resultantes das prevalências de cargas de superfície das proteínas (LAWAL, 2004). De acordo com Lourenço, (2000); Zayas, (1997) e Damodaran e Paraf (1997), a solubilidade de proteínas é a propriedade funcional que deriva da interação proteína-água, por isso, é um indicador do potencial de utilização funcional de proteínas, em especial na formação de gel. Essa afirmação está em concordância com os resultados obtidos acima, uma vez que o IP 10,0 apresenta maior solubilidade, conforme **Figura 5**.

A **Tabela 13**, apresenta o efeito da concentração de NaCl na formação de gel para IP 10,0 e 11,5 em solução de pH natural (7,0).

De acordo com os dados da tabela nota-se que com o aumento gradativo da concentração do sal até 1M, há um aumento da concentração de material requerido para formar o gel, o mesmo fenômeno foi relatado por Adebowale e Lawal (2004), Lawal (2004) e Lawal et al. (2005). De acordo com

Alvarez e Guillén, (2005), elevadas concentrações de sal provocam efeito “salt out”, diminuindo a solubilidade, causada pela precipitação da proteína.

Tabela 13 – Efeito da concentração de NaCl na formação de gel dos isolados protéicos extraídos em pH 10,0 e 11,5.

material	Concentração de NaCl		
	0,2M	0,5M	1M
IP 10,0	8%	8%	16%
IP 11,5	10%	12%	14%

* Os resultados foram expressos em %.

O pH, assim como a força iônica, pode alterar a distribuição das cargas entre as cadeias laterais das proteínas causando aumento ou diminuição das interações proteína-proteína (GOSSET et al., 1984).

A **Tabela 13** também mostra a formação de gel na mesma proporção para o IP 10,0, na concentração de 0,2 e 0,5M de NaCl, porém na concentração de 1M a concentração de % m/v do IP é o dobro, revelando assim que a presença de NaCl, interfere na proporção de material requerido para a formação do gel.

5.13 - Cromatografia dos isolados protéicos (IP) 10,0 e 11,5

Foram aplicadas na coluna de Sepharose CL-6B (100 x 2,5 cm), alíquotas de 9,0 mL de cada um dos isolados (com 5,85 e 5,55 mg de proteína/mL dos isolados 10,0 e 11,5, respectivamente), ressuspensos em tampão Tris/HCl com ajuste de pH em 8,6.

O perfil de eluição do IP 10,0 em coluna de Sepharose CL-6B (100 x 2,5 cm) está representado na **Figura 6**, onde se observa a presença de dois picos. A determinação de proteína pelo método de Lowry et al. (1951), revela para o primeiro pico 1,38mg de proteína/mL com alta absorbância em 280 nm, o segundo pico, com menor absorbância, apresentou 0,66mg de proteína/mL.

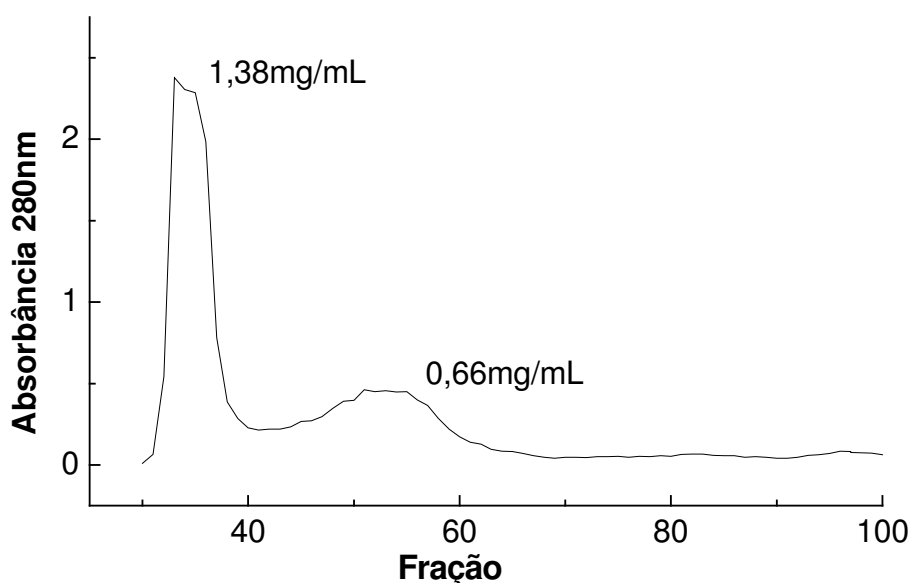


Figura 6 - Cromatografia do IP 10,0 em coluna de filtração em gel de Sepharose CL-6B (100 x 2,5 cm). A proteína foi eluída com tampão Tris/HCl, pH 8,6, contendo azida 0,01%, coletando-se frações de 5,6mL.

O IP 11,5 teve o perfil cromatográfico semelhante ao IP 10,0, representado na **Figura 7**, onde se observa também a presença de dois picos; o primeiro com maior absorbância apresentando 1,05 mg proteína/mL e o segundo com menor absorbância apresentando 0,32 mg proteína/mL.

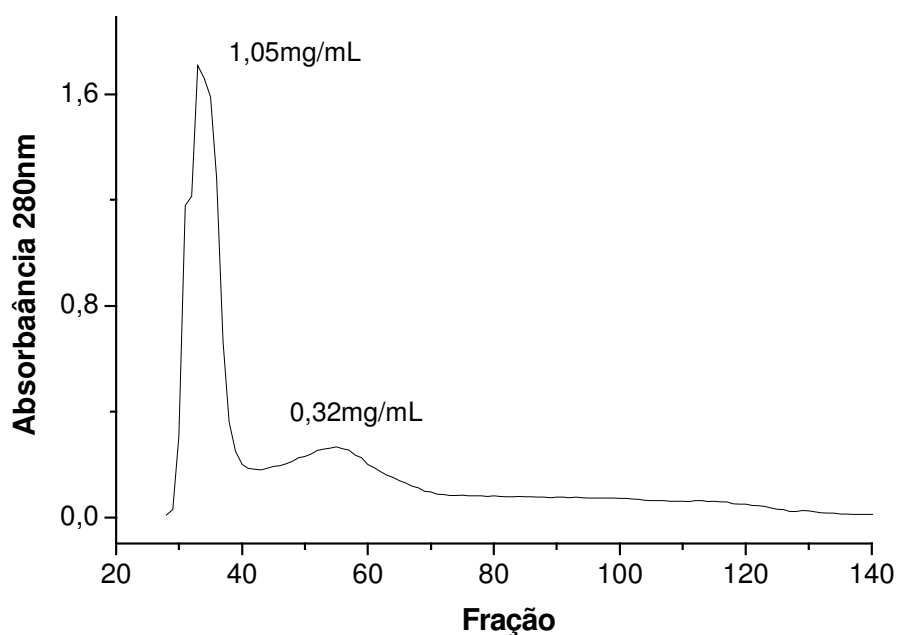


Figura 7 - Cromatografia do IP 11,5 em coluna de filtração em gel de Sepharose CL-6B (100 x 2,5 cm). A proteína foi eluída com tampão Tris/HCl, pH 8,6, contendo azida 0,01%, coletando-se frações de 5,6mL.

A caracterização do perfil cromatográfico da proteína isolada de semente de goiaba pode ser observada nas **Figuras 6 e 7**, onde apresentam dois picos característicos: o primeiro com maior absorvância e maior conteúdo protéico seguido de um segundo pico com menor absorvância e menor conteúdo protéico. Perfil diferente foi relatado para a proteína do tremoço (*Lupinus angustifolius*) apresentando sete picos (LQARI et al., 2002).

5.14 - Cromatografia da fração protéica majoritária (Glutelina)

O perfil de eluição da fração majoritária isolada em coluna Sepharose CL-6B está representado na **Figura 8**, onde se observa a presença de quatro

picos crescentes na absorção, no comprimento de onda de 280nm, sendo o pico final o mais elevado. Foi aplicada uma alíquota de 10 mL da fração protéica majoritária (glutelina) com o total de 4,32 mg de proteína/mL, obtida do fracionamento das proteínas da semente de goiaba descrito no item **4.2.9**.

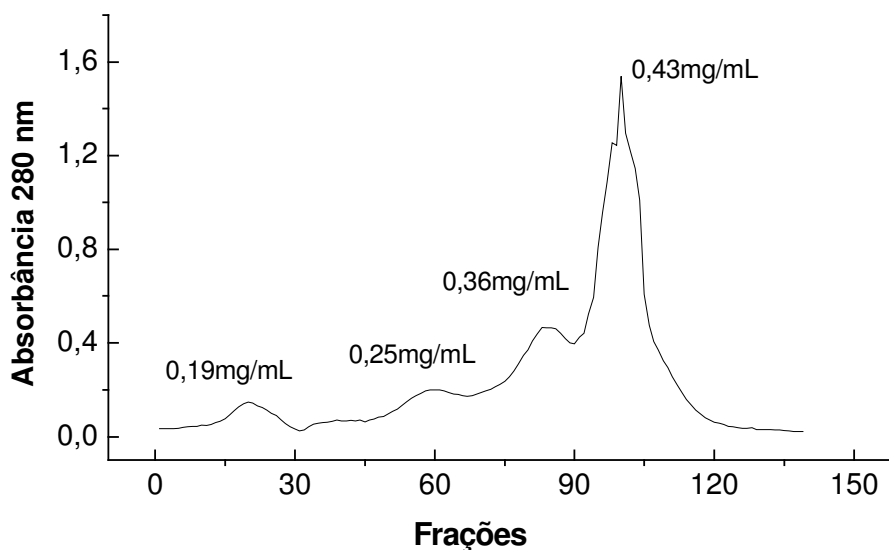


Figura 8 - Cromatografia da fração majoritária isolada em coluna de filtração em gel de Sepharose CL-6B (100 x 2,5 cm). A proteína foi eluída com tampão Tris/HCl, pH 8,6, contendo azida 0,01%, coletando-se frações de 5,6mL.

O primeiro pico eluído apresentou 0,19mg de proteína/mL; o segundo 0,25mg de proteína/mL; seguido pelo terceiro pico com 0,36mg de proteína/mL e o último o de maior absorbância, apresentou 0,43mg de proteína/mL.

5.15 - Eletroforese

5.15.1 - Eletroforese em gel de poliacrilamida

A **Figura 9** apresenta os resultados obtidos para eletroforese em gel em condições não dissociantes para os isolados protéicos extraídos em pH 10,0 e 11,5 e seus respectivos picos, conforme apresentados na figura 6 e 7.

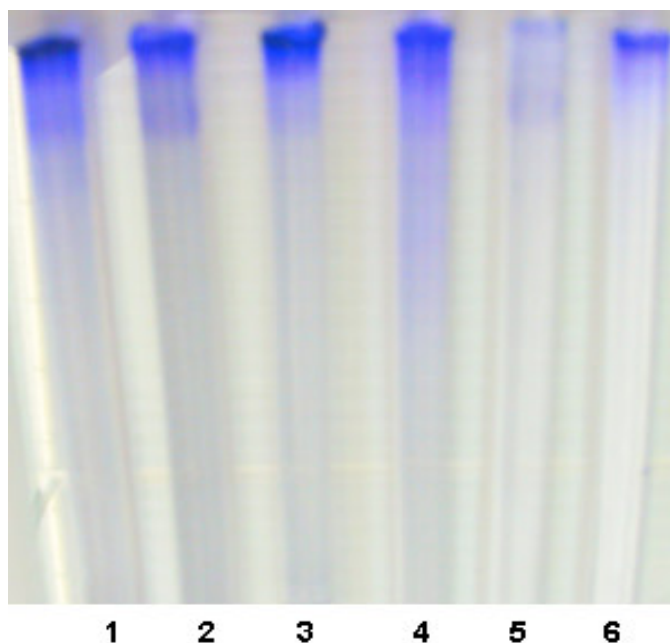


Figura 9 – Eletroforese em gel de poliacrilamida dos IPs 10,0 e 11,5 e seus respectivos picos: (1) IP 10,0; (2) 1º pico IP 10,0; (3) 2º pico IP 10,0; (4) IP 11,5; (5) 1º pico IP 11,5; (6) 2º pico IP 11,5.

Para os isolados protéicos, extraído em pH 10,0 **fig. 9(1)** e pH 11,5 **fig. 9(4)**, a eletroforese revela a presença de 2 bandas, mostrando que independente das condições de preparo, não apresentaram diferenças, já para os picos das frações protéicas dos isolados protéicos, a eletroforese revela apenas 1 banda, com mesma mobilidade, para ambas condições de preparo.

5.15.2 - Eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS

A **Figura 10** apresenta o resultado da eletroforese em gel de poliacrilamida em condições dissociantes e revela a presença de 9 bandas correspondentes para a proteína da semente de goiaba obtida através de isolados protéicos extraídos em pH 10,0 e 11,5.

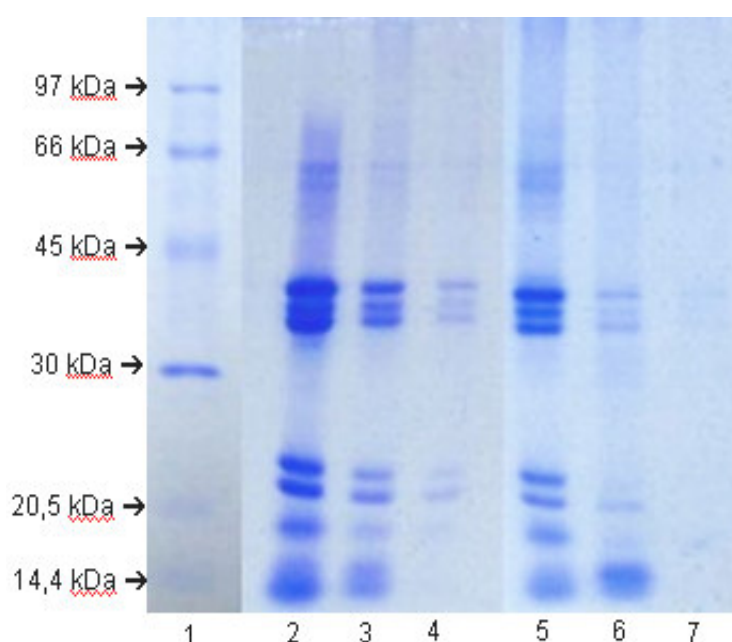


Figura 10 – Eletroforese em gel de poliacrilamida 10% com SDS dos IPs 10 e 11,5: (1) padrão; (2) IP 10,0; (3) 1º pico IP 10,0; (4) 2º pico IP 10,0; (5) IP 11,5; (6) 1º pico IP 11,5; (7) 2º pico IP 11,5.

A primeira e segunda banda com peso molecular entre 45-66kDa; a terceira, quarta e quinta banda apresentaram peso molecular entre 30-45 kDa; sexta e sétima banda apresentaram peso molecular entre 20,5-30kDa; oitava e nona banda apresentaram peso molecular entre 14,4-20,5kDa.

Dos picos das cromatografias todos apresentaram similaridades na quantidade e mobilidade de bandas porém, os picos do IP 11,5 tiveram menor intensidade devido à quantidade reduzida de proteína presente na amostra, revelando que independentemente da quantidade de proteína, as frações protéicas estão presentes em ambas condições de extrações.

Ambriz et al. (2005), apontaram a presença de três bandas para o isolado protéico de tremçoço (*Campestris L.*), revelando ainda que em condições de precipitação salina e isoelétrica ocorrem mobilidades diferentes das bandas eletroforéticas.

5.16 - Análise térmica, obtenção das curvas TG-DTA e DSC

A curva TG-DTA do IP 11,5 representada pela **Figura 11** revela a presença de três etapas no processo de decomposição térmica do isolado, sendo todas de cinética rápida. A primeira etapa, ocorre para $30 \leq T \leq 180$ °C, com um $\Delta m = 5,10 \pm 0,02$ %, tendo sido atribuído a um processo endotérmico, em concordância com a curva DSC da **Fig. 12** (curva **a**), pH 11,5. Esta etapa foi atribuída à remoção da água presente no isolado liofilizado.

A segunda e terceira etapas são consecutivas e ocorrem no intervalo de temperaturas de $205 \leq T \leq 405$ °C, $\Delta m = 41,17 \pm 0,03$ %, e $450 \leq T \leq 680$ °C, $\Delta m = 53,23 \pm 0,02$ %, respectivamente. A temperatura de início da segunda etapa sugere uma elevada temperatura de estabilidade térmica do IP ($T = 200$ °C). Temperatura desta ordem é importante para a

indústria alimentícia, permitindo o manuseio do isolado protéico em temperaturas mais elevadas do que a convencional.

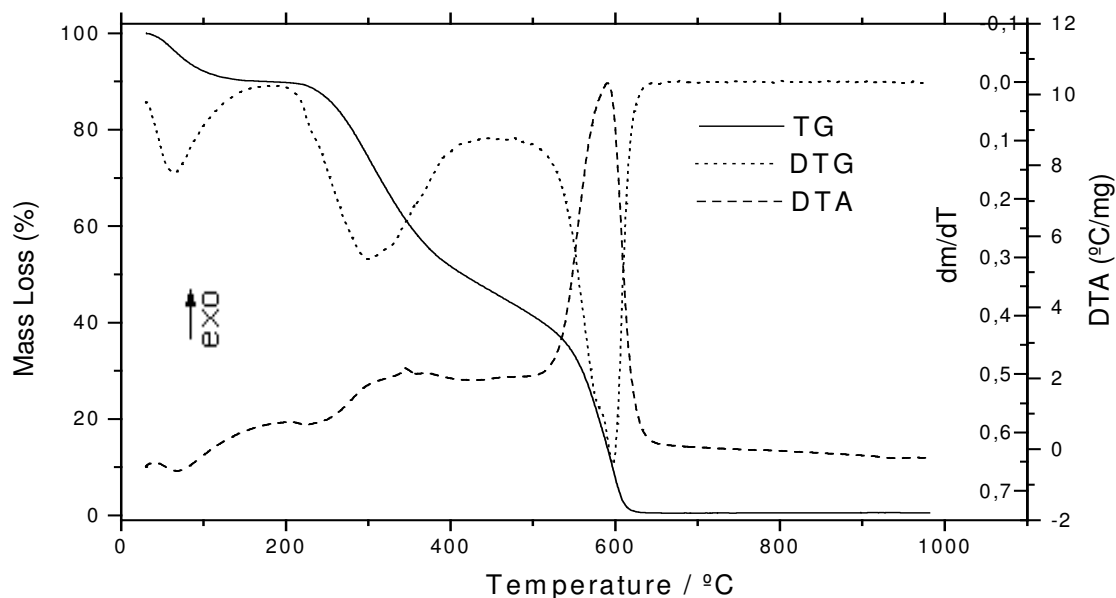


Figura 11 - Curvas TG-DTA e DTG do IP preparado empregando pH 11,5, ausência de adição de NaCl e de agentes branqueadores. $m_i = 4$ mg; $\beta = 20$ °C min⁻¹; vazão de gás: 100 mL min⁻¹; cadinho de Pt.

A terceira etapa corresponde à decomposição térmica do isolado protéico. A curva DTA revela que a segunda etapa ocorre através de processos térmicos simultâneos, iniciando com um pico endotérmico ($T_{\text{pico}} = 220$ °C), possivelmente associado à remoção de água fortemente ligada ou da eliminação de água de constituição do isolado seguido de uma sequência de picos consecutivos, exotérmicos e endotérmicos, levando a carbonização do isolado. A terceira etapa ocorre com a liberação intensa de calor ($T_{\text{pico}} = 595$ °C). Esta etapa foi atribuída à queima do material carbonizado. O

resíduo gerado foi de $0,50 \pm 0,05$ %, constituindo-se de óxidos de metais alcalinos e alcalinos terrosos.

As curvas DSC obtidas para pH 3,0, 10,0 e 11,5, na ausência de agentes branqueadores, estão apresentados na **Figura 12**. A variação no teor de água fica aparente para as curvas **a** (pH 11,5) e **b** (pH 3,0), em comparação à curva **c** (pH 10,0).

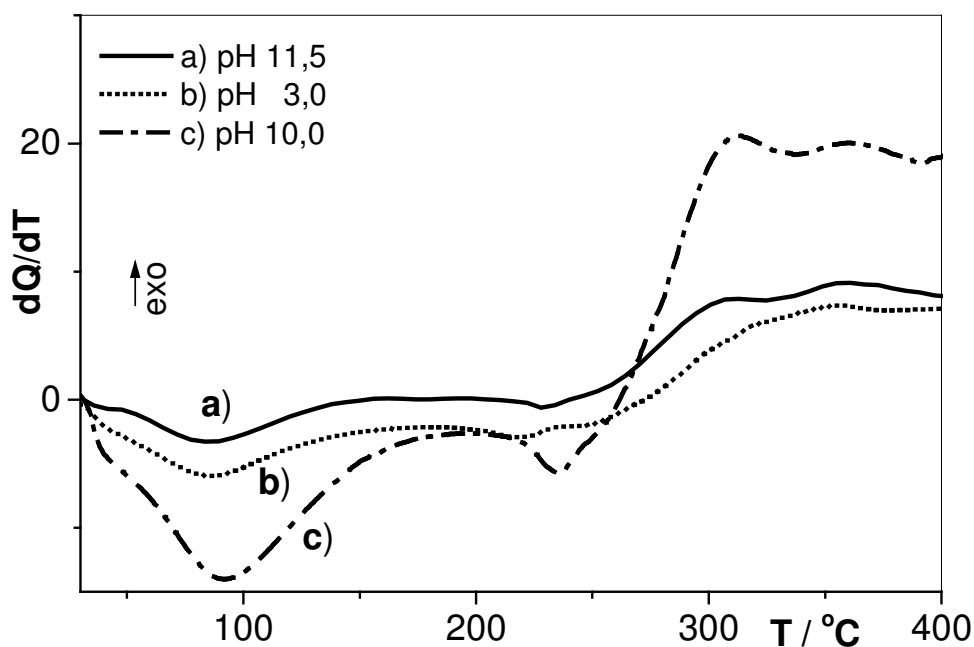


Figura 12 – Curvas DSC obtidas dos IP extraídos em pH 10,0 e 11,5. $m_i = 2$ mg; $\beta = 20$ °C min^{-1} ; vazão de gás: 100 mL min^{-1} ; cadinho de Al tampado e perfurado ($\Phi = 1,0$ mm).

Estas diferenças no teor de água permitem sugerir que a proteína, obtida para os isolados a pH 3,0 e 11,5, encontra-se com estrutura (random coil), apresentando baixo teor de umidade, revelando a presença de microdomínios

hidrofóbicos e, portanto, arrastando uma menor quantidade de sais, o que reflete nos teores de cinzas (FONTANARI et al., 2006)

Outro aspecto importante é a presença do pico endotérmico na região de temperaturas de 220 - 250 °C, em concordância com a curva TG-DTA. Na curva TG-DTA, este pico está associado ao início da decomposição térmica do IP, com a eliminação, possivelmente, de água fortemente ligada ou água de constituição. A literatura atribui a presença de picos endotérmicos nesta região à desnaturação da proteína. Porém, os autores não fazem menção ao processo de perda de massa (MOHAMED, 2002). Para temperaturas superiores a 220 °C observa-se um conjunto de picos exo e endotérmicos, levando a carbonização do material, como descrito anteriormente a partir da curva DTA.

6 - CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos podemos concluir que:

1 - A partir da farinha da semente de goiaba (*Psidium guajava*), cuja composição centesimal é de aproximadamente $6,17 \pm 0,04\%$ de umidade, $8,43 \pm 0,12\%$ de proteína e alto teor de fibras, $60,88 \pm 0,9\%$, pode-se obter isolado protéico (IP) através da precipitação isoelétrica (pI 4,5) cuja fração majoritária pertence à classe das glutelinas.

2 - As melhores condições de otimização de extração para a proteína foram na proporção massa:volume 1:30 (m/v), com o tempo de 30 minutos de extração, apresentando solubilidade mínima em pH 4,5, e solubilidade elevada em pH ácido e alcalino, sendo esse o perfil de sua fração majoritária, a glutelina apresentando aproximadamente 44% do total de proteína.

3 - A proteína foi precipitada em seu ponto isoelétrico, as condições para o preparo dos isolados protéicos puderam ser definidas a partir da curva de solubilidade como sendo: pH 10,0 e 11,5, ausência de NaCl e temperatura 25 ± 3 °C, tais condições permitiram obter um IP com rendimento de extração de $45,19 \pm 0,6\%$ e $66,23 \pm 0,45\%$ e elevado conteúdo protéico $96,4 \pm 0,5\%$ e $93,5 \pm 0,4\%$, respectivamente. A solubilidade protéica de ambos IPs apresentaram similaridades, porém o IP 10,0 apresentou maior solubilidade na região de pH 6,0 a 10,0.

4 - A capacidade de absorção de água e óleo foram baixas, apresentando $1,05 \pm 0,07$ e $2,3 \pm 0,01$ mL / g proteína, respectivamente para IP

10,0, e $1,65 \pm 0,07$ e $1,70 \pm 0,007$ mL / g proteína, respectivamente para IP 11,5.

5 - A formação e o efeito de microdomínios hidrofóbicos sobre a capacidade de emulsificação dos IP liofilizados puderam ser sugeridos a partir das curvas TG-DTA e DSC e constatados pelos resultados dos ensaios de emulsificação obtidos em pH 6,60, na ausência de NaCl. Assim, foi possível sugerir para o IP preparado em pH 11,5 a presença de microdomínios hidrofóbicos mais ecentuada, (atribuindo a proteína uma conformação random coil) o que aumentou a capacidade de emulsificação do isolado preparado em pH 11,5 (140 ± 8 g óleo/g prot.), em comparação com o isolado preparado em pH 10,0, (37 ± 2 g óleo/g prot.), apontando que o pH de extração influencia na conformação da proteína.

6 - Os estudos de capacidade de emulsificação realizados na presença de NaCl (2,0%) revelaram que o efeito do sal minimizou a capacidade de emulsificação, independente do pH empregado para o preparo da emulsão (pH 3,0, 6,6 e 8,5) e da forma original de preparo do isolado protéico (pH 10,0 ou 11,5).

7 - A atividade e estabilidade da emulsão, bem como a capacidade e estabilidade de formação de espuma, apresentaram valores satisfatórios e similares a outras proteínas utilizadas como ingrediente alimentício.

8 - A formação de gel foi de 8% e 10% para IP 10,0 e 11,5, respectivamente, em suspensão de pH neutro (7,0). O pH e a concentração de

NaCl influenciaram na formação de gel, tendo variação em função do pH e concentração de sal.

9 - As cromatografias para o IP de semente de goiaba revelaram presença de dois picos; o primeiro com maior absorbância e conteúdo protéico, seguido de um segundo pico com menor absorbância e conteúdo protéico, apresentando frações de pesos moleculares semelhantes para o IP e seus respectivos picos.

10 - As curvas TG - DSC revelaram quantidade superior de água para o IP 10,0 e elevada temperatura de estabilidade térmica 200 °C, para ambos isolados protéicos. Os parâmetros água e estabilidade térmica permitem o controle do processo de deterioração durante o período de estocagem e o manuseio do isolado a temperaturas mais elevadas do que o convencional.

11 - Os isolados protéicos obtidos a partir da semente de goiaba apresentaram algumas propriedades funcionais similares a outras sementes que vem sendo utilizadas como ingrediente alimentar, demonstrando que este produto, em se tratando de um resíduo, pode ser uma fonte alternativa para desempenhar funcionalidade em alimentos processados.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBEY, B. W.; IBEH, G. O. Functional properties of raw and heat processed cowpea (*Viagna unguiculata*) flour. **J. Food Sci.**, v. 53, n. 6, p. 1775 –1777, 1791, 1988.

ABTAHI, S.; AMINLARI, M. Effect of sodium sulfite, sodium bisulfite, cysteine, and pH on protein solubility and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel eletrophoresis of soybean milk base. **J. Agric. Food Chem.**, v 45, p. 4768 -4772, 1997.

ABUGOCH, E. L.; MARTINEZ, E. N.; AÑÓN, M. C. Influence of the Extracting Solvent upon the Structural Properties of Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) Glutelin. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 4060 - 4065, 2003.

ACQUISTUCCI, R.; BUCCI, R.; MAGRI, A. D.; MAGRI, A. L. Evaluation of the moisture and ash contents in wheat mills by multistep programmed thermogravimetry. **Thermochim. Acta.**, v. 188, n. 1, p. 51 - 62, 1991.

ADAWY, T. A. E.; RAHMA, E. H.; BEDAWAY, A. A. E.; GAFAR, A. F. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. **Food Chem.**, v. 74, p. 455 - 462, 2001.

ADEBOWALE, K. O.; LAWAL, O. S. Comparative study of the functional properties of bambarra groundnut (*Voanzeia subterranean*), jack bean (*Canavalia ensiformis*) and mucuna bean (*Mucuna pruriens*) flours. **Food Res. Int.**, v. 37, p. 355 - 365, 2004.

AGBOOLA, S.; DARREN, N. G.; MILLS, D. Characterisation and functional properties of Australian rice protein isolates. **J. Cereal Sci.**, v. 20, p. 1 - 8, 2005.

AKABORI, S.; KAGAKU T.; SHUPPAN, K. APUD MAGOSHI, J.; BECKER, M. A.; HAN, Z.; NAKAMURA, S. Thermal properties of seed proteins. **J. Therm. Anal. Cal.**, v.70, n. 3, p. 833 – 839, 2002.

ALVAREZ, O. M.; GUILÉN, M. C. G. The effect of brine composition and pH on the yield and nature of water-soluble proteins extractable from brined muscle of cod (*Gadus morhua*). **Food Chem.**, v. 92, p. 71 - 77, 2005.

AMBRIZ, S. L. R.; AYALA, A. L. M.; MILLÁN, F.; ORTÍZ, G. D. Composition and Functional Properties of *Lupinus campestris* Protein Isolates ¹. **Plant Foods Human Nutr.**, v. 60, p. 99 – 107, 2005.

AMORIM, J. A.; ELIZIÁRIO, S. A.; GOUVEIA, D. S.; SIMÕES, A. S. M.; SANTOS, J. C. O.; CONCEIÇÃO, M. M.; SOUZA, A. G.; TRINDADE, M. F. S. Thermal analysis of de rice and by-products. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 75, n. 2, p. 393 – 399, 2004.

ANTUNES, A. E. C.; MOTTA, E. M. P.; ANTUNES, A. J. Perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrados protéicos de soro de Leite ¹. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 23, p. 183 – 189, 2003.

AROGUNDADE, L. A.; AKINFENWA, M. O.; SALAWU, A. A. Effect of NaCl and its partial or complete replacement with KCl on some functional properties of defatted *Colocynthis citrullus* L. seed flour. **Food Chem.**, v. 84, p. 187 - 193, 2004.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16th. Arlington, 1995.

BASTOS, D. H. M. Extrusão termoplástica de pulmão bovino. 1989. 112p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

BATISTUTI, J. P.; FREITAS, S. D. Propriedades de emulsão da farinha e do concentrado protéico de feijão-guandu (*Cajanus flavus* DC.) cultivar fava larga. **Alim. Nutr.**, São Paulo, v. 6, p. 55 - 67, 1995.

BORA, P. S.; RIBEIRO, D. Note: Influence of pH on the Extraction Yield and Functional Properties of Macadamia (*Macadamia integrofolia*) Protein Isolates. **J. Food Sci. Technol. Int.**, v.10, n. 4, p. 263 - 267, 2004.

BORDERÍAS, A. J.; MONTERO, P. Fundamentos de la funcionalidad de las proteínas en alimentos. **Rev. Agroquím. Technol. Alim.**, Valencia, v. 28, n. 2, p. 159 -169, 1988.

CANELLA, M. Whipping properties of sunflower protein dispersions. **Food Sci. Technol.**, v. 12, p. 95 -101, 1978.

CARBONARO, M.; VECCHINI, P.; CARNOVALE, E. Protein solubility of raw and cooked beans (*Phaseolus vulgaris*): role of the basic residues. **J. Agric. Food Chem.**, v. 41, n. 8, p. 1169 -1175, 1993.

CARRASCO, F. The evaluation of kinetic parameters from thermo gravimetric data: comparasion between established methods and the general analytical equation. **Thermochim. Acta**, v. 213, p. 115 -134, 1993.

CHAVAN, U. D.; McKENZIE, D. B.; SHAHIDI, F. Functional properties of protein isolates from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.). **Food Chem.**, v. 74, p. 177 - 187, 2001.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteines alimentaires. Technique et documentation**. Paris: Lavoisier: 1985. 309 p.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteinas alimentarias**. Zaragoza: Acribia, 1989. p 179 - 220; 291-335.

CLARK, A. H.; KAVANAGH, S. B.; MURPHY, S. B. R. Globular protein gelation: theory and experiment. **Food Hydrocolloid.**, v. 15, p. 383 - 400, 2001.

COFFMAN e GARCIA, 1977 apud LAWAL, O. S. Functionality of African locust bean (*Parkia biglobossa*) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrations. **Food Chem.**, v. 86, p. 345 - 355, 2004.

DAMODARAN, S.; PARAF, A. **Food proteins and their applications**. New York: Marcel Dekker, 1997.

DAVIS, B. J. Disc electrophoresis II – Method and application to human serum proteins. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 121, p. 404 - 27, 1964.

DENCH, J. E.; RIVAS, R. N.; CAYGIL, J. C. Selected functional properties of sesame (*Sesame indicum* L) flour and two protein isolates. **J. Sci. Food Agric.**, v. 32, p. 557, 1981.

DONADEL, M. E.; FERREIRA, S. H. P. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 19, n. 3, p. 380 – 386, 1999.

DUARTE, A. J.; CARREIRA, R. L.; JUNQUEIRA, R. G.; COELHO, J. V.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades emulsionantes e solubilidade da caseína bovina: 1. Efeito do pH e do tempo de hidrólise. **Cienc. Tecnol. Alim.** v. 18, n. 3, p. 295 – 302, 1998a.

DUARTE, A. J.; CARREIRA, R. L.; JUNQUEIRA, R. G.; COELHO, J. V.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades emulsionantes e solubilidade da caseína bovina: 2. Efeito da adição de NaCl. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 18, n. 3, p. 303 – 308, 1998b.

ELIZALDE, B. E.; BARTHOLOMAI, G. B.; PILOSOF, A. M. R. The effect of pH on the relationship between hydrophilic/lipophilic characteristics and emulsification properties of soy proteins. **Food Sci. Technol.**, v. 29, p. 334 - 339, 1996.

ELIZALDE, B. E.; KANTEREWICS, R. J.; PILOSOF, A. M. R.; BARTHOLOMAI, G. B. Physicochemical properties of food proteins related to their ability to stabilize oil-in-water emulsions. **J. Food Sci.**, v. 53, n. 3, p. 845 - 848, 1988.

EL-AAL, M. H. Production of guava seed protein isolates: Yield, composition and protein quality. **Nahrung**, v. 36, n. 1, p. 50 – 55, 1992.

EL-DIN, M. H. A.; YASSEN, A. A. E. Evaluation and utilization of guava seed meal (*Psidium guajava* L.) in cookies preparation as wheat flour substitute. **Nahrung**, v. 41, n. 6, p. 344 - 348, 1997.

ELKHALIFA, A. E. O.; SCHIFFLER, B.; BERNHARDT, R. Effect of fermentation on the functional properties of sorghum flour. **Food Chem.**, v. 92, p. 1 - 5, 2005.

FONTANARI, G. G.; BATISTUTI, J. P.; BANNACH, G.; PASTRE, I. A.; IONASHIRO, E. Y.; FERTONANI, F. L. Thermal study and physico-chemical characterization of some functional properties of guava seeds protein isolate (*Psidium guajava*). **J. Therm. Anal. Cal.**, 2005. In Press. (DOI: 10.1007/s10973-005-6802-9).

FUKUSHIMA, D. Recent progress of soybean protein foods: chemistry, technology and nutrition. **Food Rev. Int.**, v. 7, p. 323 - 351, 1991.

FURTADO, M. A. M.; GOMES, J. C.; SILVA, C. A. S.; ORNELLAS, C. B. D.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades funcionais de hidrolisados de proteína Láctea co-precipitada. **Cienc. Agrotec.**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 625 - 639, maio/jun., 2001.

GEISE, J. Protein as ingredients: types, functions, applications. **Food Technol.**, v. 48, n. 10, p. 50 - 60, 1994.

GOIABRAS. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA dos PRODUTORES de GOIABA. Disponível em: <http://www.goiabras.org.br/>. Acesso em 30 agosto 2003.

GOSSET, P. W.; RIZVI, S. S. H.; BAKER, R. C. Qualitative analysis of gelation in egg protein systems. **Food Technol.**, v. 38, n. 5, p. 67 – 74, 1984.

GUERRERO, V. C.; FLORES, D. P.; ANCONA, B.; ORTIZ, D. G. Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* seeds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 584 - 591, 2002.

HEKKEN, V. D. L.; STRANGE, E. D. Functional properties of dephosphorylated bovine whole casein. **J. Dairy Sci.**, v. 76, n. 5, p. 3384 - 3391, 1993.

HERMANSSON, A. M. Determination of functional properties of protein foods. In: POTER, J.; ROLLS, B. (Eds.). **Problems in human nutrition**. New York: Academic Press, p. 407 - 438, 1973.

HORAX, R.; HETTIARACHCHY, N. S.; CHEN, P.; JALALUDDIN, M. Functional properties of protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). **J. Food Sci.**, v. 69, n. 2, p. 119 - 121, 2004.

INYANG, U. E.; IDUH, A. O. Influence of pH and salt concentration on protein solubility, emulsifying and foaming properties of sesame protein concentrate. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 73, n. 12, p. 1663 - 1667, 1996.

JACKS, T. J. Oilseed protein solubility after exposure to hydrogen peroxide. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 71, n. 12, p. 1429 - 1430, 1994.

JOHNSON, E. A.; BREKKE, C. J. Functional Properties of Acylated Pea Protein Isolates. **J Food Sci.**, v. 48, p. 722 - 725, 1983.

KABIRULLAH, M.; WILLS, R. B. H. Functional properties of acetylated and succinylated sunflower protein isolates. **J. Food Technol.**, v. 17, p. 235 - 249, 1982.

KAUR, M.; SINGH, N. Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. **Food Chem.**, v. 91, p. 403 - 411, 2005.

KEATTCH, C. J.; DOLLIMORE, D.; **An Introduction to Thermogravimetry**, 2nd. London: Heyden, 1975. 164p.

KHALID, E.K.; BABIKER, E.E.; TINAY, A H E. Solubility and functional properties of sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. **Food Chem.**, v. 82, n. 3, p. 361 - 366, 2003.

KINSELLA, J. E. Functional properties of proteins in foods: a survey. Crit. Rev. **Food Sci. Nutr.**, v. 7, p. 219 - 280, 1976.

KINSELLA, J. E. Milk proteins: physicochemical and functional properties. Crit. Rev. **Food Sci. Nutr.**, v. 21, n. 4, p. 197 - 262, 1984.

KINSELLA, J. E. Relationships between structure and functional properties of food proteins. In: Fox, P. F.; CONDON, J. J. (Eds). **Food Proteins**. London: Applied Science Publishers, 1982. p. 51 – 103.

KITABATAKE, N.; SHIMIZU, Y.; DOI, E. Continuous production of fish meat using a twin-screw extruder. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 53, n. 2, p. 344 - 348, 1988.

KONINGSVELD, G. A. V.; GRUPPEN, H.; JONGH, H. H. J.; WIJNGAARDS, G.; BOEKEL, M. A. J. S; WALSTRA, P.; VORAGEN, A. G. J. Effects of pH and heat treatments on the structure and solubility of potato proteins in different preparations. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p. 4889 - 4897, 2001.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680 - 4, 1970.

LAWAL, O. S. Functionality of African locust bean (*Parkia biglobossa*) protein isolate: effects of pH, ionic strength and various protein concentrations. **Food Chem.**, v. 86, p. 345 - 355, 2004.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O.; OGUNSANWO, B. M.; SOSANWO, O. A.; BANKOLE, S. A. On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (*Parkia biglobossa*). **Food Chem.**, v. 92, p. 681 - 691, 2005.

LIADAKIS, G. N.; TZIA, C.; OREOPOULOU, V.; THOMOPOULOS, C. D. Protein isolation from tomato seed meal, extraction optimization. **J. Food Sci.**, v. 60, n. 3, p. 477 - 482, 1995.

LIN, M. J. Y.; HUMBERT, E. S.; SOSULSKY, F. W. Certain functional properties of sunflower meal products. **J. Food Sci.**, v. 39, p. 368, 1974.

LOURENÇO, E. J. **Tópicos de proteínas de Alimentos**. Jaboticabal: Ed. Funep, 2000. p.240 – 243.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, L.A.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v.193, p. 265 - 75, 1951.

LQARI, H.; VIOQUE, J.; PEDROCHE, J.; MILLÁN, F. *Lupinus angustifolius* protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization. **Food Chem.**, v. 76, p. 349 - 356, 2002.

LUSAS, E. W.; RIAZ, M. N. Soy proteins products: processing and use. **J. Nutr.**, v. 125, n. 35, p. 573 - 580, 1995.y

MA, C. Y.; KHANZADA, G. Functional properties of deamidated oat protein isolates. **J. Food Sci.**, v. 52, n. 6, p. 1583 - 1587, 1987.

MANGINO, M. E. Protein interactions in emulsions: protein-lipid interactions. In HETTIARACHCHY, N. S.; ZIEGLER, G. R. (Ed.) **Protein functionality in food systems**. New York: Marcel Dekker, 1994, p. 147-173.

MAGOSHI, J.; BECKER, M. A.; HAN, Z.; NAKAMURA, S. Thermal properties of seed proteins. **J. Therm. Anal. Cal.**, v.70, n. 3, p. 833 – 839, 2002.

MELITO, C.; TOVAR, J. Cell wall limit *in vitro* protein digestibility in processed legume seeds. **Food Chem.**, n. 53, p. 305 - 307, 1995.

McWATTERS, K. H.; HOLMES, M. R. Influence of pH and salt concentration on nitrogen solubility and emulsification properties of soy flour. **J. Food Sci.**, v. 44, p. 770, 1979a.

McWATTERS, K. H.; HOLMES, M. R. Salt concentration, pH, and flour concentration effects on nitrogen solubility and emulsifying properties of Peanut flour. **J. Food Sci.**, v. 44, p. 765 - 769, 1979b.

MEJRI, M.; ROGÉ, B.; SOUISSI, A. B.; MICHELS, F.; MATHLOUTHI, M. Effects of some additives on wheat gluten solubility: a structural approach. **Food Chem.**, v. 92, p. 7 - 15, 2005.

MIZUBUTI, I. Y.; JUNIOR, O. B.; SOUZA, L. W. O.; SILVA, R. S. S. F.; IDA, E. I. Propriedades funcionais da farinha e concentrado protéico de feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). **Arch. Lat. Amer. Nutr.**, v. 50, n. 3, Caracas, 2000.

MOHAMED, A. A. Effect of corn oil and amylose on the thermal properties of native soy protein and commercial soy protein isolate. **Food Chem.**, n. 78, p. 291 - 303, 2002.

MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGENSTEIN, J. M.; VAN BUREN, J. P.; KILARA, A. ; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **J. Food Sci.**, v. 50, p. 1715 - 1718, 1985.

MULVIHILL, D. M. Trends in the production and utilization of dairy protein products: functional properties and utilization. **Food Res. Quarterly**, v. 51, p. 65 - 73, 1991.

MWASARU, M. A.; MUHAMMAD, K.; BAKAR, J.; MAN, Y. B. C. Effects of isolation technique and conditions on the extractability, physicochemical and functional properties of pigeonpea (*Cajanus cajan*) and cowpea (*Vigna unguiculata*) protein isolates. II. Functional properties. **Food Chem.**, v. 67, p. 445 - 452, 1999.

NACZK, M.; RUBIN, L. J.; SHAHIDI, F. Functional properties and phytate content of pea protein preparations. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 51, n. 5, p. 1245 -1246, 1986.

NEVES, V. A. **Isolamento e digestibilidade in vitro da proteína da lentilha (*Lens esculenta*)**. 1991. 140p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. J. Lentil tannin-globulin and *in vitro* hydrolysis. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v.18, n. 3, p. 346 - 349, 1998.

NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. J.; SILVA, M. A. Características de solubilidade da fração protéica de semente de lentilha (*Lens culinares Medik*), var. precoce. **Alim. Nutr.**, São Paulo, v. 9, p. 89 -101, 1998.

NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. L.; SILVA, M. A. Isolation and *in vitro* hydrolysis of lentil protein fractions by trypsin. **Arch. Latinoameric. Nutr.**, v. 46, p. 238 – 242, 1996.

NEVES, V. A.; LOURENÇO, E.J. Isolation and *In vitro* hydrolysis of globulin G-1 from Lentils (*Lens culinaris medik*). **J. Food Biochem.**, v. 19, p. 309 - 320, 1995.

NICANOR, A. B.; MORENO, A. O.; AYALA, A. L. M.; ORTIZ, G. D. Guava seed protein isolate: Functional and nutritional characterization. **J. Food Biochem.**, v. 25, p. 77 – 90, 2001.

NUNES, M.C.; BATISTA, P.; RAYMUNDO, A.; ALVES, M. M.; SOUSA, I. Vegetable proteins and milk puddings. **Colloid Surface B**, v. 31, p. 21 - 29, 2003.

ORNELLAS, C. B. D.; JUNQUEIRA, R. G.; SILVESTRE, M. P. C. Efeito da Adição de NaCl sobre as propriedades funcionais do plasma bovino e de seus hidrolisados trópticos. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 20, n. 3, p. 391 – 397, 2000.

ORTIZ, S. E. M.; WAGNER, J. R. Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties. **Food Res. Int.**, v. 35, p. 511 - 518, 2002.

PAREDES, O. L.; FALOMIR, C. O. Functional properties of safflower protein isolates: Water absorption, whipping and emulsifying characteristics. **J. Sci. Food Agric.**, v. 37, p. 1104 - 1108, 1986.

PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 26, n. 3, p. 716 - 723, 1976.

PEDROCHE, J.; YUST, M. M.; LQARI, H.; CALLE, J. G.; ALAIZ, M.; VIOQUE, J.; MILLÁN, F. *Brassica carinara* protein isolates: chemical composition, protein characterization and improvement of functional properties by protein hydrolysis. **Food Chem.**, v. 88, p. 337 - 346, 2004.

PEREIRA, F. G. A cultura da Goiabeira. In: <http://www.todafruta.com.br>, acesso em 10/03/2004.

POLLONIO, M. A. R. **Estudo das propriedades funcionais do isolado protéico obtido do resíduo industrial do processamento de tomate.** 1988. 169p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

PRASAD, N. B. L.; AZEEMODIN, G. Characteristics and composition of guava (*Psidium guajava* L.) seed and oil. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 71, n.4, p. 457 - 458, 1994.

PUPPO, C.; CHAPLEAU, N.; SPERONI, F.; LAMBALLERIE-ANTON, M.; MICHEL, F.; AÑÓN, C.; ANTON, M. Physicochemical Modifications of High-Pressure-Treated Soybean Protein Isolates. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 1564 - 1571, 2004.

RAEMY, A. Behavior of foods studied by thermal analysis: Introduction. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 71, p. 273 - 278, 2003.

RAGAB, D. D. M.; BABIKER, E. E.; ELTINAY, A. H. Fractionation, solubility and functional properties of cowpea (*vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. **Food Chem.**, v. 84, n. 2, p. 207 - 212, 2004.

RELKIN, P. Using thermal analysis and combined techniques for food characterization. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 80, p. 799 - 801, 2005.

ROOS, Y. H. Thermal analysis, state transitions and food quality. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 71, p. 197 - 203, 2003.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. Functional properties of Lupin Seed (*Lupinus mutabilis*) Proteins and Protein Concentrates. **J. Food Sci.**, v. 47, n. 2, p. 491 - 497, 1982a.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. Functional properties of Winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* (L) DC) proteins. **J. Food Sci.**, v. 47, n. 2, p. 503 - 509, 1982b.

SCHRIRALDI, A.; FESSAS, D. Classical and knudsen thermogravimetry to check states and displacements of water in food systems. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 71, p. 225 - 235, 2003.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos – propriedades, degradações e modificações**. São Paulo: Varela, 1996. p. 259 - 334.

SILVA, J. B.; BORA, P. S.; NETO, V. Q. Caracterização de propriedades funcionais do Isolado protéico de semente de algaroba (*Prosopis juliflora* (SW) D. C.) modificado por acetilação. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 17, n. 3, p. 263 – 269, 1997.

SILVA, M. A.; NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. J. Frações protéicas e globulina principal de Grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), cv IAC-Marrocos. **Alim. Nutr.**, v. 12, p. 131-149, 2001.

SILVA, S. A.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M.; ALENCAR, A. L. S.; PRASAD, S.; CAVALHEIRO, J. M. O. Estudo termogravimétrico e calorimétrico da Algaroba. **Quim. Nova**, v. 24, n. 4, p. 460 - 464, 2001.

SOSULSKI, F.W; McCURDY, A. R. Functionality of flours, protein fractions and isolates from Field peãs and Faba beans. **J. Food Sci.**, v. 52, n. 4, p. 1010-1014, 1987.

SWIFT et al., 1961 apud WANG, J. C.; KINSELLA, J. E. Functional properties of novel proteins: Alfafa leaf protein. **J. Food Sci.**, v. 41, p. 286 - 292, 1976.

TAKEITI, C. Y.; SOUZA, A. S.; NETTO, F. M. Influencia do tratamento térmico nas propriedades de solubilidade e de emulsificação de isolados protéicos de soja e seus hidrolisados enzimáticos. **Braz. J. Food Technol.**, v. 7, n. 1, p. 87 - 101, 2004.

TORNBERG, E.; HERMANSSON, A. M. Functional characterization of protein-stabilized emulsions – Effect of processing. **J. Food Sci.**, v. 42, p. 468 - 472, 1977.

VIOQUE, R. S.; CLEMENTE, A.; VIOQUE, J.; BAUTISTA, J.; MILLÁN, F. Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization. **Food Chem.**, v. 64, p. 237 -243, 1999.

WANG, J. C.; KINSELLA, J. E. Functional properties of novel proteins: Alfafa leaf protein. **J. Food Sci.**, v. 41, p. 286 - 292, 1976.

WANG, S. H.; FERNANDES, S. M.; CABRAL, L. C. Solubilidade de nitrogênio, dispersibilidade de proteína e propriedades emulsificantes dos extratos hidrossolúveis desidratados de arroz e soja. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 20, n. 1, p. 12 – 17, 2000.

WENDLANDT, W. W. **Thermal Methods of Analysis**. New York: Interscience Publishers, 1964.

YASUMATSU et al., 1972 apud WANG, J. C.; KINSELLA, J. E. Functional properties of novel proteins: Alfafa leaf protein. **J. Food Sci.**, v. 41, p. 286 - 292, 1976.

ZAYAS, J.F. **Functionality of proteins in food**. Heidelberg: Springer, 1997. p. 6-75.

ZIEGLER, G. R.; FOEGEDING, E. A. The gelation of proteins. **Adv. Food Nutr. Res.**, v. 34, p. 203 – 298, 1990.