

"ESTUDO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS
DO ISOLADO PROTEICO OBTIDO DO RESÍDUO
INDUSTRIAL DO PROCESSAMENTO DE TOMATE"

18/88

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

"ESTUDO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO ISOLADO
PROTEICO OBTIDO DO RESÍDUO INDUSTRIAL DO
PROCESSAMENTO DE TOMATE"

Parciais

Este exemplar corresponde
a redação final da MARISE APARECIDA RODRIGUES POLLONIO
tese defendida por ENGENHEIRO DE ALIMENTOS
marise Aparecida Rodrigues Pollonio
e aprovada pela Comissão
Julgadora em 30.11.88. PROF. Dr. ALOÍSIO JOSÉ ANTUNES
Campinas, 30 de novembro de 1988. ORIENTADOR

Presidente da Banca
TESE APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
MESTRE EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

1988

A meus pais, Antonio e Lourdes,

Ao Walter, Fabio e Rafael.

AGRADECIMENTOS

A autora deseja expressar seu agradecimento ao Prof. Dr. Aloísio José Antunes, um verdadeiro educador, pela seriedade, dignidade e competência com as quais conduziu sua orientação.

A realização dessa pesquisa foi viabilizada através da colaboração das empresas Cia. Industrial e Mercantil Paoletti, Cia. Industrial de Conservas Alimentícias "CICA" e Hoechst do Brasil Química e Farmacêutica S/A, na pessoa do Sr. Luiz Rossato, a quem a autora registra a sua gratidão. Nesse sentido, cumpre agradecer também à Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "ANDRÉ TOSELLO", na pessoa do Prof. Dr. Fumio Yokoya.

Aos Professores Drs. Arício X. Linhares, Sérgio F. dos Reis e Walter Esteves, a autora agradece a colaboração prestada na execução do presente trabalho.

A autora deve seu sincero reconhecimento a seu marido Walter, pelo estímulo e compreensão, a seus pais e seu irmão pela efetiva colaboração que tornaram possíveis a conclusão desse trabalho.

Finalmente, à CAPES e ao CNPQ pela concessão de bolsa de estudo e à Fundação de Amparo à Pesquisa da Pró-Reitoria de Pesquisa (UNICAMP) pelo auxílio financeiro, a autora expressa seu agradecimento e à ABIA pelo fornecimento das cópias xerox.

INDICE

INDICE DE TABELAS.....	i
INDICE DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiv
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DA LITERATURA.....	3
MATERIAL E MÉTODOS.....	49
Descrição da matéria-prima.....	49
Tratamento e análises preliminares da matéria-prima.....	50
Determinação da % de peles e sementes dos resíduos CB e HB.....	50
Caracterização química da matéria-prima.....	51
Umidade.....	51

Proteína.....	51
Gordura.....	51
Cinzas.....	51
Extração das proteínas dos diversos resíduos.....	52
Determinação da relação ótima de amostra:solvente.....	52
Determinação das condições ótimas de extração.....	52
Matéria-prima úmida.....	53
Matéria-prima seca.....	53
Determinação da composição química dos isolados proteicos.....	57
Fracionamento das proteínas presentes no RIPT - CB, HB e semente pura em eletroforese em gel de poliacrilamida..	57
Avaliação das propriedades funcionais.....	58
Teste de coagulação térmica.....	58
Solubilidade.....	58
Capacidade de absorção de água.....	59
Expansão e estabilidade de espuma.....	60
Capacidade de absorção de óleo.....	61
Atividade e estabilidade de emulsão.....	62
Viscosidade.....	63
Tratamento enzimático.....	64
Tratamento químico.....	64
pH.....	65
Concentração do isolado proteico.....	65

Temperatura.....	65
Análise Estatística.....	66
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
Determinação da % de peles e sementes nos resíduos CB e HB.....	67
Caracterização química da matéria-prima.....	68
Extração de proteínas dos diversos resíduos.....	71
Determinação da relação ótima de solvente: amostra....	71
Determinação das condições ótimas de extração.....	73
Fracionamento das proteínas presentes no RIPT - CB, HB e semente pura em eletroforese em gel de poliacrilamida...	87
Avaliação das propriedades funcionais.....	87
Teste de coagulação térmica.....	92
Solubilidade.....	95
Capacidade de absorção de água.....	99
Expansão e estabilidade de espuma.....	103
Capacidade de absorção de óleo.....	119
Atividade e estabilidade de emulsão.....	121
Viscosidade.....	132
CONCLUSÃO.....	141

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	148
---------------------------------	-----

INDICE DE TABELAS

TABELA 1:	Composição em aminoácidos para proteínas de sementes de tomate (mg/g de N).....	6
TABELA 2:	Composição em aminoácidos (mg/100 g N total e de sais minerais (mg/100g de matéria-seca) para peles de tomate (Tsatsaronis e Boskou, 1975).....	7
TABELA 3:	Ácidos graxos presentes no óleo de sementes de tomate (Tsatsaronis e Boskou, 1975).....	9
TABELA 4:	Propriedades funcionais típicas de proteínas em alimentos (Pomeranz, 1985).....	13
TABELA 5:	Determinação da % de peles e sementes nos resíduos CB e HB, após secagem.....	66
TABELA 6:	Composição química do resíduo originário dos CB, HB e semente pura, após secagem.....	69
TABELA 7:	Composição química de peles do resíduo originário dos tratamentos CB e HB, após secagem.....	70
TABELA 8:	Composição química de sementes de tomate originárias dos tratamentos CB e HB, após secagem...	70

TABELA 9: Determinação da % de umidade da matéria-prima recém-obtida da indústria.....	72
TABELA 10: Determinação da relação ótima de matéria-prima seca, úmida: solvente, a ser utilizada nos experimentos de extração das proteínas.....	72
TABELA 11: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT-CB, HB e semente pura, secos, precipitadas com ácido clorídrico 1N (expresso em % da proteína total precipitada).....	74
TABELA 12: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT-CB, HB e semente pura, secos, precipitados com ácido acético 1N (expresso em % da proteína total precipitada).....	75
TABELA 13: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT-CB, HB e semente pura, secos, precipitados com ácido cítrico (expresso em % da proteína total precipitada).....	76
TABELA 14: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT-CB, HB e semente pura, úmidos, precipitados com ácido clorídrico (expresso em % da proteína total precipitada).....	79

TABELA 15: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT-CB, HB e semente pura, seco e úmido, precipitadas com ácido clorídrico em pH 3,5. em função da temperatura e pH de extração (expresso em % da proteína total precipitada).....	81
TABELA 16: Diminuição de rendimento (%) ocorrida na extração de proteínas do RIPT-CB, HB e semente pura, sob efeito de diferentes ácidos.....	83
TABELA 17: Composição química dos isolados proteicos obtidos a partir do RIPT-CB, precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.....	83
TABELA 18: Composição química dos isolados proteicos obtidos a partir do RIPT-HB, precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.....	84
TABELA 19: Composição química dos isolados proteicos obtidos a partir de semente pura, precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.....	84
TABELA 20: Índice de proteína coagulada (%) para isolados proteicos obtidos a partir do RIPT-CB, HB e semente pura, precipitados com ácidos clorídrico acético e cítrico.....	93

TABELA 21: Índice de nitrogênio solúvel (INS) para isolados proteicos obtidos a partir do RIPT-CB, HB e semente pura, precipitados com ácido clorídrico.....	96
TABELA 22: Índice de nitrogênio solúvel (INS) para isolados proteicos obtidos a partir do RIPT-CB, HB e semente pura, precipitados com ácido acético.....	97
TABELA 23: Índice de nitrogênio solúvel (INS) para isolados proteicos obtidos a partir do RIPT-CB, HB e semente pura, precipitados com ácido cítrico.....	98
TABELA 24: Capacidade de absorção de água (ml de água absorvida/g de amostra) para isolados proteicos e matéria-prima bruta obtidos a partir do RIPT-CB, HB e semente pura, precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.....	100
TABELA 25: Volume de expansão (ml, t=0min) e estabilidade (ml de líquido liberado, t=30 min e 2 hrs) de espumas formadas por isolados proteicos obtidos a partir RIPT-CB, HB e semente pura, em função da concentração (pH 7,0; 25°C, 10.0000 rpm).....	104
TABELA 26: % de "Overrun" para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura em função da concentração (pH 7,0; 25°C, 10.000	

rpm).....104

TABELA 27: Volume de espuma (ml, t=0 min) e estabilidade (ml de líquido liberado, t =30 min e 2 hrs) para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura, em função do pH (concentração = 8,0%, 25°C, 2.000 rpm).....109

TABELA 28: % de "Overrun" para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura, em função do pH (concentração = 8,0%; 25°C, 2.000 rpm).....109

TABELA 29: Volume de expansão de espuma (ml, t=0 min e estabilidade (ml de líquido liberado, t=30 min e 2 hrs) para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura em função do pH (concentração = 8,0%, 25°C, 10.000 rpm).....110

TABELA 30: % de "Overrun" para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura em função do pH (concentração = 8,0% 25°C, 10.000 rpm).....110

TABELA 31: Volume e expansão (ml, t=0 min) e estabilidade (ml de líquido liberado, t=30 min e 2 hrs) de espumas

formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT-,
CB, HB e semente pura, em função da temperatura
pH 7,0; 25°C; 10.000 rpm).....117

TABELA 32: % de "Overrun" para espumas formadas por isolados
proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura,
em função da temperatura (pH 7,0; 25°C; 10.000
rpm).....117

TABELA 33: Capacidade de absorção de óleo (ml de óleo
absorvido/g de amostra) para isolados proteicos
e matéria-prima bruta obtidos a partir do RIPT-CB,
HB e semente pura precipitados com ácidos
clorídrico, acético e cítrico.....120

TABELA 34: índice de atividade de emulsão para emulsões
formadas pelos isolados proteicos obtidos do RIPT
CB, HB e semente pura em função do pH
(concentração 7,0%, 25°C).....123

TABELA 35: Índice de estabilidade de emulsão para emulsões
formadas pelos isolados proteicos obtidos do RIPT
CB, HB e semente pura, em função do pH
(concentração = 7,0%; 25°C).....123

TABELA 36: Índice de atividade de emulsão (%) para emulsões
formadas pelos isolados proteicos obtidos do RIPT

CB, HB e semente pura, em função da concentração (pH 7,0; 25°C).....	128
---	-----

TABELA 37: Índice de estabilidade de emulsão para emulsões formadas pelos isolados proteicos obtidos do RIPT CB, HB e semente pura (pH 7,0; 25°C).....	128
---	-----

TABELA 38: Efeito da velocidade de agitação na formação de emulsões formadas pelos isoalbos proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura, determinado através do índice de atividade e estabilidade de emulsão (pH 7,0; concentração = 7,0%; 25°C).....	131
---	-----

TABELA 39: Dados de viscosidade aparente (cps) para isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura, submetidos a diversos tratamentos.....	134
---	-----

TABELA 40: Dados de viscosidade aparente (cps) para isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura em função do pH (concentração 2,0%; 25°C).....	136
--	-----

TABELA 41: Dados de viscosidade aparente (cps) para isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura em diferentes concentrações (pH 7,0; 25°C).....	138
---	-----

TABELA 42: Dados de viscosidade aparente (cps) para isolados proteicos obtidos do RIPT-CB, HB e semente pura em	
---	--

diferentes temperaturas (pH 7,0; concentração 8,0; 25°)	139
--	-----

INDICE DE FIGURAS

- FIGURA 1: Fluxograma da obtenção de isolados proteicos do RIPT- ("cold break"; "hot break" e semente pura) a partir de material úmido.....54
- FIGURA 2: Fluxograma da obtenção de isolados proteicos do RIPT-("cold break"; "hot break" e semente pura) a partir de material seco.....56
- FIGURA 3: Efeito dos ácidos clorídrico, acético e cítrico no balanço de massa proteico para o isolado obtido a partir do RIPT - CB.....88
- FIGURA 4: Efeito dos ácidos clorídrico, acético e cítrico no balanço de massa proteico para o isolado obtido a partir do RIPT - HB.....89.
- FIGURA 5: Efeito dos ácidos clorídrico, acético e cítrico no balanço de massa proteico para o isolado obtido a partir de semente pura.....90
- FIGURA 6: Perfil eletroforético das proteínas dos isolados provenientes do resíduo industrial de tomate "cold break" (1,2,3,4), "hot break" (5,6,7,8) e semente pura (9,10, 11, 12).....91

FIGURA 7: Efeito da concentração de proteínas no volume de expansão (ml de espuma) e estabilidade (ml de líquido liberado) de espumas de isolados do RIPT...105

FIGURA 8: Efeito do pH no volume de expansão (ml de espuma) e estabilidade (ml de líquido liberado) de espumas de isolados proteicos obtidos do RIPT (10.000 rpm).....111

FIGURA 9: Efeito do pH no volume de expansão (ml de espuma) e estabilidade (ml de líquido liberado) de espumas de isolados proteicos obtidos do RIPT (2.000 rpm).....112

FIGURA 10: Índice de nitrogênio solúvel (INS) para isolados proteicos obtidos do RIPT.....114

FIGURA 11: Efeito da temperatura no volume de expansão (ml de espuma) e estabilidade (ml de líquido liberado) para espumas de isolados proteicos obtidos do RIPT.....118

FIGURA 12: Efeito do pH na % de atividade e estabilidade de emulsão formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT.....124

FIGURA 13: Efeito da concentração na % de atividade e

estabilidade de emulsão formadas por isolados	
obtidos do RIPT.....	129

RESUMO

Este estudo foi conduzido no sentido de otimizar os rendimentos de extração e avaliar as propriedades funcionais de isolados proteicos obtidos do resíduo industrial do processamento de tomate. Resíduos dos tratamentos "cold break" (CB), "hot break" (HB), bem como as sementes separadas (SS) na linha de processamento foram usadas como fontes para os isolados proteicos. Conteúdos de proteína bruta ($N \times 6,25$) dos resíduos CB, HB e SS foram, respectivamente, 23,75, 20,54 e 33,75%.

Eletroforese em gel de poliacrilamida indicou a existência de quatro frações proteicas, uma das quais detectada apenas em baixas concentrações.

Propriedades funcionais, tais como, coagulação térmica, índice de nitrogênio solúvel, capacidade de absorção de água, capacidade de absorção de óleo, propriedades de formação de espuma e emulsificação e viscosidade, foram determinadas para os isolados dos diferentes resíduos, tendo sido verificada a influência de vários parâmetros (concentração proteica, pH, temperatura e ácidos utilizados na etapa de extração).

Quando aquecidos a 100°C, os isolados dos resíduos CB e HB apresentaram valores de coagulação mais altos que aqueles obtidos para semente pura.

Máxima solubilidade ocorreu a pH 12,0 e mínima a pH 3,5.

Capacidade de absorção de água e óleo foram

especialmente elevados, principalmente para os isolados originados dos tratamentos CB e HB.

Os isolados mostraram boas características de emulsificação, rendendo emulsões estáveis. No contexto em que são determinadas as propriedades de formação de espuma, os isolados proteicos desenvolveram espuma eficientemente, mas com baixa estabilidade.

Viscosidade foi desfavoravelmente afetada por extremos de pH, temperatura, tratamento com enzima proteolítica, mercapto-etanol e uréia.

SUMMARY

This study was undertaken in order to optimize the extraction yields and to evaluate the functional properties of protein isolates obtained from residues of the tomato processing industry. Residues from the cold break (CB), hot break (HB) treatments, as well as seed separated (SS) in the processing line were used as protein isolates sources. Crude protein content (N x 6,25) of the CB, HB and SS residues amounted to 23.73, 20.54 and 33.75%, respectively.

Electrophoretic pattern (polyacrilamide gel disc electrophoresis) indicated the existence of four protein fractions, one of them being present in very low concentration.

Functional properties such as thermal coagulation, nitrogen solubility index, water absorption capacity, oil absorption capacity, foaming and emulsification properties and viscosity were determined for the isolates obtained from the CB, HB and SS residues. The influence of several parameters was assessed (protein concentration, pH, temperature and acids utilized in the precipitation step).

When heated at 100°C, isolates from residues CB and HB showed higher thermal coagulation values than the one obtained for the SS residue.

Maximum solubility was achieved at pH 12,0 and precipitation was more efficiently carried out at pH 3.5.

Water and oil absorption capacities were remarkably high, specially for the material originated from the cold and hot break treatment.

The isolates showed good emulsifying characteristics giving rise to very stable emulsions. As far as the foaming properties are concerned, the isolates developed foam efficiently but with low stability.

Viscosity was unfavorably affected by pH extremes, temperature, treatment with proteolytic enzyme, mercapto-ethanol and urea.

INTRODUÇÃO

O estudo de novas fontes proteicas com o objetivo de utilizar suas propriedades funcionais no processamento de alimentos pode ser justificado por razões de ordem econômica e/ou tecnológica. Uma dessas fontes com evidente potencial de utilização, e até agora não avaliada adequadamente, é constituída pelos resíduos do processamento industrial de tomate.

Esse material contendo peles, sementes e mucilagem possui cerca de 20-25% de proteína (Kramer e Kwee, 1977b), sendo seu principal destino após processamento industrial, incorporação em rações animais ou utilização como adubo orgânico (Esselen e Fellers, 1939; McKay e Smith, 1940; Ammerman et al 1963). Muitas vezes torna-se simplesmente um resíduo de difícil eliminação, transformando-se num agente poluidor de rios, lagos, localizados nas proximidades das indústrias processadoras de tomate (Edwards et al., 1952).

Os poucos trabalhos existentes sobre o resíduo do processamento de tomate preocupam-se em determinar sua composição química e otimizar processos de extração de proteínas, visando uma possível utilização nutricional. Muito poucas referências existem com relação às propriedades funcionais de suas proteínas. Ainda, a maior parte das pesquisas está voltada somente para a utilização de sementes, livres de peles, lóculos e mucilagem. Portanto, são muito escassos os dados de rendimento e de composição química dos diferentes componentes do resíduo.

Como resultado dessas observações, resolveu-se estudar, sob o ponto das propriedades funcionais de suas proteínas, os resíduos industriais do processamento de tomate, levando-se em consideração o tratamento recebido durante o processo. Assim, foram utilizados resíduos submetidos aos tratamentos "hot break" e "cold break", bem como as sementes obtidas na linha de processamento, isentas de qualquer tratamento químico ou térmico.

Vários processos de extração de proteínas foram testados na obtenção do isolado proteico, sempre objetivando o maior rendimento possível. Parâmetros como pH, temperatura de extração e agentes precipitantes foram avaliados e tiveram seus efeitos observados.

As propriedades funcionais estudadas foram aquelas que, via de regra, são as mais exploradas no desenvolvimento de novos produtos (Cooney et al., 1973; Betschart, 1974, McWatters e Holmes, 1979a, 1979b, 1979c; Satterlee, 1981; Schimidt et al., 1981). Tais propriedades seriam solubilidade, formação de espuma, atividade e estabilidade de emulsão, viscosidade, capacidade de absorção de água, capacidade de absorção de óleo e coagulação térmica.

REVISÃO DA LITERATURA

O aproveitamento direto de componentes do resíduo do processamento de alimentos através da recuperação por meios físicos e químicos de proteínas, aminoácidos, carboidratos, gorduras e ácidos orgânicos tem despertado, recentemente, grande atenção e interesse (Knorr, 1983).

Nesse contexto, a obtenção de isolados e concentrados proteicos a partir da biomassa resultante do processamento de diferentes alimentos tem sido intensivamente estudada (Pearson et al., 1965; Pant e Tulsiani, 1969; Sampson et al., 1971; Lu e Kinsella, 1972; Crenwelge et al., 1974; Vananuvat e Kinsella, 1975; Wang e Kinsella, 1976; Hutton e Campbell, 1977a, 1977b; Knorr, 1977; McWatters e Cherry, 1977; Lawhon et al., 1972, 1982; Fleming e Sosulski, 1974; Okezie e Kosikowski, 1981; Ziprin et al., 1981; Narayana e Rao, 1982; Rhee, 1984; Nakamura et al., 1984; Ma e Wood, 1987; Dumay et al., 1988).

Resíduos de tomate, acumulados na indústria durante a elaboração de sucos, concentrados e molhos, após as etapas de extração e refino, constituem-se numa massa compacta de peles, sementes e mucilagem, com amplo potencial de aproveitamento pela indústria.

De fato, o principal destino do bagaço resultante do processamento de tomate tem sido a incorporação em rações animais; em alguns casos aproveitado com adubo orgânico e, para indústria de pequeno porte, constitui-se num sério problema de

poluição ambiental, uma vez que não encontra mercado para escoamento do produto, e dada à relativa pequena quantidade, não existe justificativa econômica para secagem do material, tornando inviável a venda como ração animal.

Estudos visando aproveitamento da massa de resíduos de tomate contendo peles, sementes e mucilagem após secagem não são recentes. Esselen e Fellers (1939) demonstraram a utilidade do produto na alimentação de gado e encontraram boa eficiência e aceitação na ração de frangos, quando incluído na dieta em um nível de 11,6% e vários trabalhos relatam também seu uso como complemento na dieta de suínos e bovinos (Ben-Gera e Kramer, 1969).

O resíduo industrial de processamento de tomate (RIPT), segundo vários autores, apresenta os seguintes valores com relação à sua composição química, em termos de base seca: proteínas, 21,15 a 24,08%; lipídeos, 14,0 a 15,7%; cinzas, 3,05 a 4,0% (Esselen e Fellers, 1939; McKay e Smith, 1940; Edwards et al., 1952; Kramer e Kwee, 1977b). Esselen e Fellers (1939) verificaram também que a massa de resíduos era uma boa fonte de vitaminas A, B₁ e B₂.

Para semente, isenta de peles e mucilagem, os dados de composição química têm sido mais frequentemente relatados na literatura, uma vez que possuem maior teor de proteínas e portanto mais estudadas. De acordo com alguns autores, sementes de tomate apresentam em base seca, 22,91 a 36,91% de proteínas; 20,17 a 28,1% de gordura; 15,27 a 19,9 % de fibras e 4,5 a 9,6% de cinzas (Johns e Gersdorff, 1922; Lech et al., 1969; Tsatsaronis

e Boskou, 1975; Brodowski e Geisman, 1981; Carlson *et al.*, 1981).

A composição em aminoácidos para proteínas isoladas de sementes é apresentada na Tabela 1. De acordo com Brodowski e Geisman (1980), os aminoácidos presentes nas proteínas isoladas de sementes de tomate comparam-se favoravelmente aos da soja.

Com relação ao conteúdo de sais, segundo Tsatsaronis e Boskou (1975), sementes de tomate apresentam os seguintes resultados: potássio 780; sódio 110; cálcio 160; magnésio 300; fósforo 690; cloro 110; ferro 17; manganês 6; cobre 2 e zinco 5 mg/100g de matéria-seca..

A composição química das peles do RIPT livres de sementes e mucilagem, segundo Lasztity *et al.* (1986) e Tsatsaronis e Boskou (1975), revelou, respectivamente, os seguintes valores percentuais: proteína 5,7 e 10,0; gordura 3,6 e 3,8; fibra bruta 55,9 e 65,6; carboidratos como glicose 7,8 e 8,2; cinzas 2,7 e 2,8. A composição em aminoácidos para proteínas provenientes de peles, de acordo com Tsatsaronis e Boskou (1975) e o conteúdo de sais minerais são apresentados na Tabela 2.

A extração e caracterização do óleo obtido de sementes foram os temas principais dos primeiros trabalhos, visando uma utilização do resíduo que não fosse alimentação animal. Bailey e Burnnet (1914) através de prensagem das sementes de tomates obtiveram um rendimento de 22% de extração, apresentando o óleo, após refinação, boa qualidade para consumo humano.

Estudando a composição de ácidos graxos do óleo extraído com éter de petróleo a partir de sementes provenientes do descarte industrial de produtos de tomate, Tsatsaronis e

TABELA 1: Composição em aminoácidos para proteínas de semente de de tomate (mg/g de N).

Amino ácidos	Lech <u>et</u> <u>al</u> (1969)	Tsatsaronis e Boskou (1975)	Brodowski e Geisman (1980)
Lisina	366	308	412
Histidina	118	137	53
Arginina	592	551	232
Ácido aspártico	760	598	316
Treonina	201	198	487
Serina	314	311	113
Ácido glutâmico	1045	1155	403
Prolina	255	366	116
Glicina	384	290	103
Alanina	251	232	89
Cistina	79	75	12
Valina	268	231	287
Metionina	98	48	6
Isoleucina	254	220	275
Leucina	370	366	162
Tirosina	301	211	212
Fenilalanina	274	227	243
Triptofano	-	59	-

TABELA 2: Composição em amonoácidos (mg/100g N total) e de minerais (mg/100g de matéria-seca) para isolados proteicos obtidos de peles de tomate (Tsatsaronis e Boskou, 1975).

Aminoácidos		Minerais	
Lisina	275	Potássio	1100
Histidina	91	Sódio	95
Arginina	242	Cálcio	210
Ácido aspártico	662	Magnésio	115
Treonina	291	Fósforo	130
Serina	368	Cloro	210
Ácido glutâmico	946	Manganês	2
Prolina	311	Cobre	3
Glicina	472	Zinco	3
Alanina	243		
Cistina	61		
Valina	312		
Metionina	46		
Isoleucina	173		
Leucina	316		
Tirosina	163		
Fenilalanina	192		

Boskou (1975) determinaram os valores apresentados na Tabela 3.

A maior dificuldade encontrada para utilização das proteínas do RIPT é o estabelecimento de condições que levam a um alto rendimento de extração. Por esta razão, grande parte das pesquisas na área está voltada para a otimização dos parâmetros que permitam maior recuperação de proteínas. Poucos são os trabalhos orientados para a determinação das propriedades das proteínas isoladas e suas possíveis aplicações.

Kramer e Kwee (1977b) sugeriram para o resíduo industrial úmido, um processo de extração alcalino, através do qual o material é triturado, alcalinizado a pH 8,0 para solubilização das proteínas e posteriormente moído em moinho de pedra ou de bola. A polpa resultante desta operação é prensada e o extrato liberado é acidificado diretamente a pH 3,5 com ácido clorídrico, obtendo-se um precipitado contendo 48-58% de proteína. Os autores propuseram também uma acidificação fracionada nos pHs 4,8; 4,0 e 3,5, tendo encontrado entretanto, um maior rendimento na acidificação direta a pH 3,5, indicando que este deve ser provavelmente o ponto isoelétrico da maioria das proteínas presentes. No mesmo trabalho, extração de proteínas do RIPT com vários solventes, a fim de remover pigmentos e precipitar proteínas foi também realizada. Dos agentes testados, acetona, etanol e propanol foram os mais eficientes agentes precipitantes. A desvantagem observada foi que, caso a temperatura não se mantivesse bastante baixa (4°C), o grau de desnaturação das moléculas proteicas era bastante elevado.

Latlief e Knorr (1983a) extraíram as proteínas do RIPT

TABELA 3: Ácidos graxos presentes no óleo de sementes de tomate (%). (Tsatsaronis e Boskou, 1975).

Ácido graxo	%
Láurico	0,050
Tridecanóico	0,010
Mirístico	0,150
Pentadecanóico	0,020
Palmitico	16,300
Heptadecanóico	0,100
Esteárico	5,400
Monodecanóico	0,005
Araquídico	0,300
Tricosanóico	0,020
Linocérico	0,150
Pentacosanóico	0,020
Hexacosanóico	0,100
Heptacosanóico	0,005
Octacosanóico	0,005
Palmitoleico	0,300
Heptadecanóico	0,100
Oleico	25,100
Linoleico	50,400
Linolênico	1,100

em condições alcalinas e estudaram os efeitos de diversos ácidos e temperatura na precipitação. Não encontraram diferenças significativas para os ácidos testados (clorídrico, acético e cítrico). Verificaram que precipitação realizada a 60°C e a 90°C, produziu precipitados com teores mais elevados de gordura que o tratamento a 25°C. Os mesmos autores, em outro estudo (Latlief e Knorr, 1983b), observaram o efeito de quitina como agente coagulante, tendo verificado uma ação positiva deste polissacarídeo na precipitação das proteínas de semente de tomate, não afetando as propriedades funcionais que foram determinadas naquele estudo.

Visando buscar utilizações viáveis e econômicas, alguns autores têm avaliado as propriedades funcionais dos isolados proteicos obtidos do RIPT. Estas pesquisas, entretanto, têm sido bastante limitadas quando comparadas a trabalhos semelhantes realizados com outras fontes não convencionais de proteínas.

A produção de proteínas com o objetivo de utilizar suas propriedades funcionais em alimentos é bem recente. Na verdade, o uso de proteínas purificadas foi iniciado por outras indústrias que não as de alimentos. Caseína, por exemplo, foi utilizada na produção de plásticos e papel, muitos anos antes de seu isolamento para uso em alimentos (West, 1984). A produção de isolado proteico de soja e caseinato de sódio na década de 60, foi um marco decisivo que acelerou a busca de aplicações de proteínas funcionais. No caso da soja, a produção de isolados proteicos com utilização de suas propriedades funcionais foi uma alternativa à venda como ração animal da torta resultante da

extração de óleo (Circle et al., 1964; Wolf, 1970).

Outro fato que veio contribuir para o desenvolvimento de pesquisas em propriedades funcionais foram os repetidos insucessos dos estudos realizados com novas fontes visando encontrar proteínas para solução de problemas nutricionais. Nesse sentido, extensivas pesquisas foram realizadas com oleaginosas, grãos, legumes, peixes, algas, folhas e microorganismos, sendo na verdade, resultado da constatação de que o sucesso do uso dessas fontes não convencionais em alimentos, os quais possam ser elaborados e comercializados economicamente, depende muito mais de suas propriedades funcionais que de suas qualidades nutricionais (Kinsella, 1976; McWatters e Cherry, 1977; Lusas e Jividen, 1987; Madsen e Buchbjerg, 1987).

Propriedade funcional pode ser definida como alguma propriedade físico-química que afeta o processamento e comportamento da proteína e outros componentes em alimentos quando avaliada a qualidade do produto final (Kinsella, 1976).

Na avaliação de uma nova proteína, a maior dificuldade reside na falta de padronização da metodologia empregada no estudo de uma propriedade funcional, dificultando a comparação dos resultados. Métodos utilizados para determinação da funcionalidade de proteínas têm sido revisados por diversos autores (Mattil, 1971; Kinsella, 1976; Schoen, 1977), os quais insistem na necessidade de melhorar e padronizar os testes realizados. É prática comum dos pesquisadores utilizar uma proteína com propriedades funcionais bem caracterizadas, como padrão da funcionalidade da nova proteína que se pretende

avaliar. Proteínas de referência mais utilizadas têm sido albumina do ovo, caseinatos, proteínas da carne, soja (Wang e Kinsella, 1976).

Esta dificuldade é acrescida pelo fato de que as condições de processamento utilizadas na obtenção do isolado proteico (métodos de extração, precipitação, concentração, pH, força iônica e temperatura) significativamente afetam as propriedades funcionais (Lawhon e Cater, 1971; Knorr, 1977; Knorr, 1980). Ainda, na avaliação de uma nova proteína, é comum a utilização de sistemas modelos, o que dificulta a extrapolação para um sistema real, no caso, o tipo de alimento no qual se deseja sua incorporação. Além disso, proteínas são os constituintes mais reativos dentre os componentes dos alimentos, podendo reagir com açúcares redutores, gorduras, polifenóis, aditivos (nitritos, aldeídos, alcali, sulfitos) e vitaminas, alterando a funcionalidade do sistema como um todo, somando-se o fato de que os efeitos de combinações de diferentes proteínas não são simplesmente aditivos (Kinsella, 1976; Fennema, 1985).

As diferentes propriedades funcionais têm sido classificadas de acordo com as características e propriedades físico-químicas específicas de proteínas. Kinsella e Srinivasan (1981) propuseram uma classificação para as principais propriedades funcionais de proteínas em alimentos, a qual foi adaptada por Pomeranz (1985), descrita na Tabela 4.

As propriedades de hidratação ou hidrofílicas com especial ênfase na solubilidade, são as primeiras a serem avaliadas na pesquisa de uma nova proteína, uma vez que

TABELA 4: Propriedades funcionais típicas de proteínas em alimentos (Pomeranz, 1985).

Propriedade funcional	Modo de ação	Alimento
Solubilidade	Solvatação da proteína, dependente do pH	bebidas;
Absorção de água	Englobamento de H ₂ O pela matriz de proteína, ligação hidrogênio com H ₂ O	salsichas, pães, bolos e produtos cárneos;
Viscosidade	Espessamento, ligação de H ₂ O	sopas, molhos;
Gelatinização	Formação de matriz proteica com fixação	carnes, embutidos e produtos de panificação;
Elasticidade	Ligação hidrofóbica no glúten, ligações dissulfídicas em géis	carnes e produtos de panificação;
Emulsificação	Formação e estabilização de emulsões de gordura	sopas, embutidos, cremes, patês;
Absorção de gordura	Ligação de gordura livre	carnes, "donuts" e embutidos;
Ligação de flavor	Adsorção, encapsulamento, liberação	produtos cárneos simulados, novos produtos;
Formação de espuma	Formação de filmes estáveis para envolver glóbulos de ar	merengues, bolos e doces aerados.

constituem uma indicação do potencial de aplicação em alimentos, além de indicar a viabilidade da extração, determinando se a fonte é ou não viável, uma vez que dados de solubilidade representam o próprio rendimento da extração (Hutton e Campbell, 1977). O índice de nitrogênio solúvel é o método geralmente adotado com o objetivo de caracterizar a solubilidade de isolados ou concentrados proteicos (Kilara *et al.*, 1971; Mattil, 1971; Lu e Kinsella, 1972; McWatters e Holmes, 1979b; 1979c).

Uma proteína será tanto mais solúvel quanto maior for a sua capacidade de interagir com água através de ligações hidrogênio, dipolo-dipolo e iônicas (Fennema, 1985). A presença de alta proporção de resíduos de aminoácidos polares, formando dipolos permanentes (Ser, Thr, Tyr, Cys, Met, Asp-NH₂) e daqueles com carga (Asp, Glu, His, Lys, Arg) aumentam o número de interações eletrostáticas com a água, contribuindo para uma maior solubilidade das proteínas (Pant e Tulsiani, 1969; Pomeranz, 1985). O comportamento de moléculas proteicas no ponto isoelétrico é explicado em função deste fato. Nessa região de mínima solubilidade, a carga líquida da proteína é quase nula, levando à formação de agregados e precipitados proteicos. Longe dessa região, acima ou abaixo do ponto isoelétrico, a proteína apresenta carga elétrica negativa ou positiva, respectivamente, permitindo interação com água e, portanto, aumentando a solubilidade, acrescentando-se o fato de que moléculas de mesma carga repelem-se, tendendo a dissociar-se. Dessa forma, essa propriedade é utilizada para determinar o pH de máxima solubilidade através da curva de índice de nitrogênio solúvel de

uma proteína em função do pH e pode-se mesmo dizer que os dados de solubilidade correspondem ao rendimento da extração, uma vez que a % de nitrogênio extraído determinado no sobrenadante representa a quantidade extraída após aplicação de determinado tratamento (Lawhon e Cater, 1971; Kilara e Humbert, 1972; Betschart e Kinsella, 1973)

Condições aplicadas durante extração, pH, temperatura, força iônica, fonte e concentração de proteína, presença de outros componentes tais como gordura, carboidratos, agentes redutores e tenso-ativos influenciam o perfil de solubilidade de uma proteína.

Segundo Betschart (1974), a % de nitrogênio solubilizado em concentrado proteico de folhas de alfafa variou sensivelmente de acordo com o meio de solubilização em uma mesma faixa de pH, apresentando os menores índices em uréia a 0,1% e sulfato de sódio 0,1M e mais elevados em água destilada, mercapto-etanol e Tween 60 a 0,1%. Proteínas de folhas de soja, cujo ponto isoelétrico é 4,5 quando, extraídas com água alcalinizada com NaOH, tiveram seu valor de mínima solubilidade alterado para 3,2-3,7, quando o material proteico foi extraído com solução tampão de Tris 0,1M, sacarose, ácido ascórbico, hidrocloreto de cisteína e mercapto-etanol. Neucere e Dry (1968) verificaram que concentrados proteicos de amendoim extraídos com acetona foram menos solúveis que aqueles extraídos com água no mesmo pH, sugerindo que a mudança no perfil de solubilidade pode ser resultante da remoção de lípidos, com alguma modificação da estrutura proteica. Wang e Kinsella (1976) observaram o mesmo

efeito ao comparar a solubilidade de proteínas de folhas extraídas em diferentes soluções. Diferenças nos agentes de extração podem, dessa forma, alterar o ponto isoelétrico, uma vez que este é função da natureza e concentração dos solutos presentes na solução proteica (Mattil, 1971).

A presença de sais marcadamente altera a solubilidade de proteínas, de acordo com pesquisas de diversos autores (Hang, 1970; Betschart, 1974; Hermansson, 1975; Wang e Kinsella, 1976). Em geral, os autores tentam discutir os efeitos da adição de sais em termos de "salting-in", quando em concentrações muito reduzidas, certos sais de íons divalentes tais como $MgCl_2$ e $(NH_4)_2SO_4$ aumentam a solubilidade de muitas proteínas devido à alteração na tendência à ionização dos grupos R dissociáveis da proteína e, "salting-out", onde, em forças iônicas suficientemente elevadas, proteínas podem ser precipitadas quase completamente de sua solução devido à elevada concentração de sais, os quais podem remover água de hidratação das moléculas proteicas, diminuindo sua solubilidade (Fennema, 1985). Nesse aspecto, vários trabalhos têm citado que $NaCl$ e $CaCl_2$ são os dois sais comumente empregados em pesquisas que estudam a influência da força iônica. Ainda, trabalhos apontam para a necessidade de estudar a solubilidade de proteínas em diferentes forças iônicas, uma vez que a maioria dos alimentos são sistemas iônicos complexos. McWatters e Holmes (1979) determinaram que a % de nitrogênio solúvel para farinha proteica de amendoim dispersa em $NaCl$ 1,0M foi menor a pH 2,0 e 3,0, com máxima solubilidade a pH 6,0, enquanto em $NaCl$ 0,1M, mínimos de solubilidade ficaram entre

3,0 e 6,0 e máximo ocorreu a pH 8,0. Mattil (1971) encontrou que aumento nas concentrações de Na_2SO_3 e NaHPO_4 aumentou a solubilidade de farinhas proteicas obtidas de coco e diminuiu as de proteínas de sementes de girassol.

Características de solubilidade são também influenciadas pela ação de tratamento térmico envolvido no processo de extração (Knorr, 1983). Quando o calor ou coagulação térmica é envolvida, a solubilidade é substancialmente reduzida para proteínas de soja, folhas e sementes de algodão (Wolf, 1970; Lawhon e Cater, 1971; Betschart e Kinsella, 1974; McWatters e Cherry, 1977; Mangino *et al.*, 1987) devido à desnaturação irreversível ocorrida.

Outra importante propriedade funcional relacionada à interação de proteínas com água é sua capacidade de absorção ou retenção de água.

Embora usados indistintamente na literatura, os termos absorção de água e ligação de água têm significados diferentes. Absorção de água é definida como o teor de água adsorvida por um pó proteico seco, após equilíbrio com vapor de água a uma umidade relativa conhecida (Mellon *et al.*, 1947; Hagenmaier, 1972). Ligação de água, por outro lado, refere-se à quantidade de líquido retido por uma proteína após homogeneização com água, seguido da aplicação de uma pressão branda ou ação de força centrífuga, conforme reportado no método de Janicki e Walckzaki (1959). Entumescimento ("swelling") é outro termo comumente empregado no estudo das propriedades de hidratação de proteínas e corresponde à expansão espontânea ocorrida após uma proteína ter

sido embebida em um solvente. Trata-se de uma importante propriedade funcional, pois apesar de se expandirem, as proteínas não se dissolvem devido à insuficiente água e consequentemente melhoram características de viscosidade, espessamento, corpo ("body"), sendo importante na fabricação de salsichas, sopas, cremes (Pomeranz, 1985).

Expansão de proteínas é fortemente influenciada pelo tamanho da molécula, pH, força iônica, temperatura e origem da proteína, os quais influenciam também a capacidade de absorção e retenção de água (Kinsella, 1976).

O pH influencia a absorção total de água pela alteração da carga líquida da proteína, o qual determina forças interativas de atração e repulsão e sua capacidade de associar-se com a água. Assim, no ponto isoelétrico, proteínas apresentam mínima hidratação e máxima interação proteína-proteína, podendo, assim ocorrer, expansão. Hamm (1960) discutiu, citado em Fennema, (1985) o efeito do pH na absorção de água por proteínas da carne e determinou que a capacidade de reter água de bife cru diminuiu intensamente quando o pH variou de 6,5 para 5,0, ponto isoelétrico, durante o período de rigor e "pos-mortem", resultando em perda de suculência e maciez. Ainda, relacionado a variações no pH, alguns pesquisadores tem estudado a relação existente entre a capacidade de absorção de água e solubilidade, através da determinação do índice de nitrogênio solúvel. Lin et al. (1974), observaram que, quando o índice de solubilidade proteica de concentrados de proteínas de girassol diminuiu, houve um aumento na capacidade de absorção de água. De acord com Wu e

Inglett (1974), existe uma estreita correlação entre o índice de nitrogênio solúvel e absorção de água para farinha proteica de soja, ou seja, aparentemente quando o índice de nitrogênio solúvel diminui, absorção de água aumenta até certo ponto, a partir do qual volta a diminuir novamente. Hutton e Campbell (1977b) determinaram que as curvas de pH-retenção de água e pH-solubilidade tiveram o mesmo perfil.

A temperatura influencia a capacidade de absorção de água com efeitos dependentes da severidade do tratamento empregado e, portanto, do grau de desnaturação ocorrida e variações na solubilidade. Lin *et al.* (1974) verificaram considerável melhora na capacidade de absorção de água para concentrados proteicos de girassol extraídos a 60, 80 e 90°C. Huffman *et al.* (1975) observaram também que desnaturação térmica levando a uma pequena redução na solubilidade de farinhas proteicas de girassol, aumentou valores de capacidade de absorção de água.

Quando proteínas com estruturas muito compactas são aquecidas, ocorre uma certa dissociação que pode expor ligações peptídicas e cadeias laterais polares, melhorando a capacidade de absorção de água. Com tratamentos mais severos, levando à desnaturação e agregação, ao contrário, ocorre decréscimo no número de ligações hidrogênio e redução da disponibilidade de grupos amino polares para ligação de água (Fennema, 1985).

Além da solubilidade, alguns autores têm procurado relacionar capacidade de absorção de água com outras propriedades funcionais em sistemas modelos, tentando aproximar-se de sistemas

de alimentos reais. De acordo com Hermansson (1975), o grau de hidratação e viscosidade de uma proteína estão estritamente relacionados e são influenciados por pH, força iônica, temperatura e concentração proteica. A capacidade de ligar água é uma importante função de proteínas em alimentos viscosos, tais como, sopas, carne, queijos processados. Nesse sentido, produtos de carne constituem-se no modelo mais utilizado para se verificar a performance de proteínas com relação à capacidade de absorção de água, uma vez que esta e outras propriedades funcionais relacionadas (expansão, gelatinização e viscosidade) são os maiores determinantes em produtos cárneos processados e têm sido estudado por diversos autores (Bouton *et al.*, 1972; Hermansson, 1975a; Hermansson, 1975b).

Origem da proteína é outro fator determinante nas propriedades de absorção de água. Em geral, parece existir uma correlação positiva entre o conteúdo de grupos hidrofílicos da proteína e a capacidade de ligar água. Hagenmaier (1972) demonstrou que a redução do teor de nitrogênio amídico através da desamidação, levou a um aumento nas propriedades de absorção de água. O autor verificou ainda que, proteínas de origem vegetal tenderam a ligar menos água, com valores variando de 16g de água adsorvida para o isolado de algodão a 29,5g/100g para lactoalbumina. Das proteínas de origem vegetal, isolados proteicos de soja têm sido os mais estudados e mais amplamente utilizados em produtos cárneos em função de suas propriedades de hidratação (Rakosky, 1970).

A presença de sais, levando à alteração da força iônica e propriedades do solvente, tem grande influência na funcionalidade de isolados proteicos com relação à capacidade de absorção de água (Kinsella, 1979). Vários estudos têm demonstrado, para proteínas da soja, uma redução no teor de água adsorvida ou ligada quando cloreto de sódio é adicionado ao sistema (Urbanski *et al.*, 1982a, 1982b; Yao *et al.*, 1985). Estes últimos autores atribuem este fato principalmente ao efeito protetor dos íons cloreto e sódio, os quais circundam os grupos laterais polares e com carga dos resíduos de aminoácidos, impedindo-os de interagirem com moléculas de água. Berlin *et al.* (1968) sugerem que sais e proteínas são os principais componentes responsáveis pela absorção de água em farinhas de oleaginosas e, a altas concentrações de sais, interações água-sal predominam sobre as interações água-proteína, tornando as proteínas desidratadas. Chou e Morr (1979) discutem que mudanças nas interações proteína-água devido à presença de sais podem ser causadas pela competição entre grupos laterais de aminoácidos pela água e sal.

Um comportamento diferente é observado para carnes. De acordo com Shults *et al.* (1972), o aumento da capacidade de ligação de água com adição de sal deve-se ao fato de que, quando íons cloreto ligam-se às proteínas acima do ponto isoelétrico, ocorre um acréscimo na carga negativa líquida e, portanto, nas forças repulsivas, permitindo uma maior absorção de água na rede proteica. Vários estudos nessa linha são conduzidos no sentido de verificar o efeito de sal na capacidade de absorção de água em

isolados proteicos adicionados a produtos de carne, uma vez que a funcionalidade de proteínas não é caracterizada por efeitos aditivos e o comportamento em sistemas modelos ou isoladamente pode não ser o mesmo em sistemas reais (Hermansson e Akesson, 1975a, 1975b).

Condições de extração e concentração de proteína influenciam a capacidade de absorção de água de muitas proteínas. Fleming *et. al.* (1974) estudaram farinhas, isolados e concentrados proteicos de soja e girassol, com relação à capacidade de absorção de água, tratados com NaOH a pH 12, observando um marcante efeito positivo quando a concentração de proteína aumentou. A quantidade de água absorvida diminuiu quando os produtos foram tratados por longo tempo no pH 12,0. Tratamento alcalino seguido de reajuste até pH 6,0, melhorou a capacidade de absorção de água para a maioria de produtos de soja e girassol.

Tratamento enzimático também tem sido utilizado como um meio para melhorar a capacidade de retenção de água de muitas proteínas. Puski (1975), utilizando método de umidade relativa, determinou que a capacidade de absorção de água de proteínas de soja aumentou proporcionalmente à intensidade do tratamento aplicado. Mellon (1947) demonstrou que tratamento enzimático aumentou o número de grupos amino e carboxílico livres de caseína e relacionou este fato com aumento da capacidade de absorção de água, sugerindo existir uma proporcionalidade entre eles.

Características de viscosidade são frequentemente estudadas na avaliação das propriedades funcionais de uma nova proteína, uma vez que propriedades reológicas são muito

importantes no desenvolvimento e controle de qualidade de novos produtos e daqueles tradicionais, tais como cremes, bebidas sopas, pastas, molhos e diversas sobremesas geladas (Szczesniak e Farkas, 1962; Sherman, 1966; Vocadlo e Young, 1969; Tung *et al.*, 1970; Chevalley, 1975; Rao, 1977). Além disso, são utilizadas na determinação dos parâmetros de processamento tais como dimensionamento de bombas e trocadores de calor, estabelecimento de taxas de aquecimento nas operações de concentração, desidratação, pasteurização e esterilização (Charm, 1963; Holdsworth, 1971; Tiu e Boger, 1974; Rao e Anantheswaran, 1982; Schoemaker *et al.*, 1987).

A viscosidade de um fluido reflete sua resistência ao escoamento ou à deformação, quando submetido à ação de uma força tangencial, também denominada tensão de cisalhamento, ainda que de pequena intensidade (Holdsworth, 1971).

Os fluidos, segundo seu comportamento reológico, são classificados em dois grandes grupos: a) newtonianos, quando existe uma proporcionalidade direta entre a tensão de cisalhamento ou força aplicada e o gradiente de velocidades e, b) não-newtonianos, representado pela maioria dos fluidos reais, onde não existe essa proporcionalidade e a viscosidade aparente poderá sempre decrescer ou aumentar com a taxa de deformação e ainda variar com o tempo de aplicação da tensão de cisalhamento (Rao, 1977).

No caso de soluções contendo proteínas, o fator principal que influencia a viscosidade é o diâmetro aparente das moléculas, determinado pelo peso molecular, tamanho, estrutura e

assimetria, cargas elétricas e tendência à deformação das moléculas de proteínas. Fatores ambientais tais como pH, força iônica e temperatura podem alterar estas características.

É comum a busca de correlações entre viscosidade e outras propriedades funcionais tais como solubilidade, absorção de água e emulsificação, uma vez que proteínas ao absorverem água, se expandem causando mudanças nas propriedades hidrodinâmicas que são refletidas na viscosidade (Pomeranz, 1985). Correlação entre viscosidade e solubilidade, apesar de ser a mais pesquisada, não é de fácil tratamento (Fleming, 1974). Proteínas tornadas insolúveis pela desnaturação térmica ou por agentes químicos, não desenvolvem alta viscosidade quando colocadas em meio aquoso. Por outro lado, produtos proteicos em pó, altamente solúveis, porém com baixa capacidade de absorção de água, também apresentam baixa viscosidade, como por exemplo, albuminas e globulinas. Entretanto, proteínas com elevada capacidade de absorção de água, como no caso de caseinatos e isolados proteicos de soja, desenvolvem alta viscosidade (Kinsella, 1976).

Além dessas relações, desenvolvimento de uma maior ou menor viscosidade parece estar estritamente relacionado com a concentração proteica. A maioria das pesquisas tem demonstrado que o coeficiente de viscosidade de fluidos proteicos aumenta exponencialmente com a concentração de proteína, em função das interações proteína-proteína. De acordo com Fleming *et al.* (1974) a viscosidade da maioria dos concentrados e isolados proteicos de soja e girassol aumentou exponencialmente em função da

concentração proteica, embora a intensidade tenha sido diferente entre as preparações, com concentrados proteicos de semente de girassol apresentando viscosidade mais altas que as de soja.

Este fato foi também constatado por Hermansson (1975) ao estudar a viscosidade de dispersões de caseinatos. No mesmo trabalho, parâmetros de viscosidade definidos como n , índice de comportamento do fluido e, T_0 , tensão de cisalhamento inicial mínima que se deve aplicar para que haja deformação do fluido, aumentaram intensamente com a concentração de proteína para dispersões de caseinato, isolado proteico de soja e proteínas do soro do leite. Dispersões de proteína de soja caracterizaram-se por baixos valores de n e a existência de T_0 em concentrações acima de 8% e pH 7,0; dispersões de caseinato apresentaram altos valores de n e ausência de T_0 e proteínas do soro do leite forneceram dispersões de baixa viscosidade sobre uma larga faixa de concentração com altos valores de n e nenhum valor de T_0 . Em altas concentrações de proteínas (16-20%), as propriedades de fluxo das proteínas do soro aproximaram-se mais das dispersões de soja que de caseinato.

A presença de sais em alguns casos, leva a um aumento da viscosidade de dispersões proteicas e diminuição em outros. Fleming *et al.* (1974) determinaram que concentrados e isolados proteicos de soja e girassol tiveram suas viscosidades aumentadas quando NaCl foi adicionado às dispersões proteicas, sugerindo que solubilidade das proteínas foi um fator determinante na viscosidade, uma vez que essas foram mais solúveis em soluções salinas que em água destilada. Circle *et al.* (1964) determinaram

que em baixas concentrações (0,05 e 0,1%) sais de sódio (cloreto, nitrato, fosfato dihidrogênio e hexametáfosfato) tiveram pouco efeito na viscosidade de proteínas de soja. Porém, em concentrações mais elevadas (0,5 e 1,0%) diminuíram a viscosidade de dispersões não-aquecidas e aumentaram aquelas que sofreram tratamento térmico. Essa queda de viscosidade pela ação de sais foi explicada por Hermansson (1975) em função da estrutura das proteínas. As proteínas 7S e 11S globulinas presentes em maior quantidade na soja, são caracterizadas por estruturas quaternárias, sofrendo facilmente associação e dissociação e, portanto, forças de repulsão intramoleculares a baixas forças iônicas, provavelmente foram responsáveis pela desestabilização da estrutura quaternária.

O pH exerce forte influência na viscosidade de dispersões proteicas pela alteração da solubilidade e capacidade de absorção de água. Tratamento alcalino a diferentes valores de pH levou a um aumento marcante na viscosidade de concentrados proteicos de semente de girassol (Fleming, 1974). Viscosidade de proteinato de sódio de soja sofreu pronunciada queda de viscosidade acima ou abaixo do pH 7,0, provavelmente devido a menor solubilidade ou agregação a pH 6,0 e alguma ação hidrolítica em dispersões aquecidas a pH 9,0. (Hermansson, 1975).

Condições de processamento e presença de outras substâncias no sistema proteico são variáveis importantes na viscosidade. Efeitos oxidativos e térmicos aumentam a expansão de proteínas de soja e alteram, portanto, suas propriedades reológicas (Urbanski *et al.*, 1982a). Lipídeos (óleo de soja e

lecitina) e polissacarídeos (amido de milho, carboximetilcelulose e carragena) aumentam a viscosidade de dispersões proteicas de sementes de girassol não submetidas a tratamento térmico. Cisteína e sulfito de sódio, pela ação redutora, fortemente reduzem a viscosidade e géis não aquecidos de proteínas de soja e girassol pelo rompimento de ligações dissulfídicas. Tratamento enzimático tem sido utilizado como um meio de modificação da viscosidade de sistemas proteicos (Circle *et al.*, 1964). Puski (1975) observou que proteínas de soja tratadas com protease neutra de Aspergillus oryzae foi efetiva para induzir baixas viscosidades e perda do poder de gelificação.

Pelo fato de desempenhar importante função na estabilidade de emulsões em alimentos, novas proteínas são frequentemente estudadas com relação às suas propriedades de emulsificação (Pearson *et al.*, 1965; Lin *et al.*, 1974; Vananuvat e Kinsella, 1975; Hutton e Campbell, 1977; McWatters e Cherry, 1977; Aoki *et al.*, 1980; Waniska *et al.*, 1981; Nakamura *et al.*, 1984; Huang e Kinsella, 1987; Lin e Zayas, 1987)

Proteínas atuam como agentes emulsificantes devido à capacidade de reduzir a tensão interfacial entre dois líquidos imiscíveis tornando possível a mistura dos dois, o que ocorre em função da natureza anfotérica e flexível de suas proteínas, apresentando regiões hidrofóbicas e hidrofílicas com localizações distintas em sua estrutura (Hirotsuka *et al.*, 1984).

A redução da tensão interfacial óleo-água é a função essencial requerida por um emulsificante. De acordo com Haque e Kinsella (1988), na presença de um agente tenso-ativo, a energia

requerida para dispersar a fase óleo em glóbulos é diminuída e a pressão de Laplace (Halling, 1981) é equilibrada, tornando o sistema resistente ao futuro rompimento dos glóbulos de óleo na formação de emulsões. Com relação à estabilidade, entretanto, somente a redução da tensão interfacial não é suficiente para garantir a manutenção de uma emulsão formada, uma vez que esta depende diretamente da viscosidade e flexibilidade do filme proteico adsorvido na interface.

Proteínas, nesse sentido, formam filmes coesivos em torno dos glóbulos de óleo com força mecânica resistente à ruptura e coalescência quando pressão é aplicada, sendo considerados melhores agentes emulsificantes que aqueles de baixo peso molecular, não proteicos, tais como Tweens, e monoglicerídeos (Graham e Philips, 1979). Ao atingirem a interface, resíduos de aminoácidos não polares orientam-se em direção à fase não aquosa, diminuindo a energia livre do sistema, fazendo com que o restante da proteína adsorva espontaneamente, expondo-se e difundindo-se em uma monocamada molecular. Tem sido sugerido que, quanto mais hidrofóbica a proteína, maior será a concentração de proteína na interface, menor a tensão interfacial e mais estável a emulsão (Fennema, 1985).

Exemplos de proteínas com boa ação emulsificante são micelas de caseína (e leite em pó desnatado), proteínas da carne e peixe, isolados proteicos de soja e globina do plasma e sangue. Caseínatos possuem uma estrutura dissociada e não compactada, alta solubilidade e regiões hidrofílicas e hidrofóbicas bem separadas nos polipeptídeos, o que lhes confere boa ação

emulsificante. Entretanto, proteínas globulares, tais como lisozima, proteínas do soro de leite, ovoalbumina, com estrutura compacta e estável, apresentando alto poder hidrofílico, não produzem emulsão, a menos que sejam submetidas a algum tratamento para serem dissociadas sem perda de solubilidade (Fennema, 1985). Em contraste, Phillips (1981), atribui à albumina do soro bovino e à lactoglobulina a capacidade de formarem emulsões estáveis devido ao grande número de interações existentes entre "loops" e extensiva estrutura periódica.

Na avaliação de propriedades de emulsificação de proteínas, vários termos são comumente empregados. Capacidade de emulsificação é definida como o volume de óleo que pode ser emulsificado por g de proteína, antes que inversão ou colapso da emulsão ocorra. Métodos para determinar capacidade total de emulsão, ponto final ou ponto de inversão têm sido descritos por vários autores (Swift, 1961; Hegarty *et al.*, 1963; Carpenter e Saffle, 1964; Borton, 1967; Acton e Saffle, 1972; Crenwelge, 1974). O procedimento de emulsificação, em todos os casos, baseia-se na mistura ou agitação da solução de proteína com uma alíquota inicial de óleo, seguida pela adição de óleo até a quebra da emulsão, com variações ocorrendo em relação à taxa de adição de óleo, temperatura, taxa de agitação, tipo de óleo adicionado, concentração de proteína.

Atividade de emulsão representa um indicador da capacidade de emulsificação, o qual foi desenvolvido por Yatsumatsu *et al.* (1972) e empregado em várias pesquisas (Vananuvat, 1975; Wang e Kinsella, 1976; Volkert e Klein, 1979;

Huang e Kinsella, 1987). O método envolve a emulsificação de uma suspensão proteica através de agitação com óleo, seguido de centrifugação. A quantidade de óleo liberado é utilizada como índice de atividade de emulsão.

Estabilidade de emulsão essencialmente envolve o mesmo procedimento adotado na determinação da atividade de emulsão, incluindo aquecimento antes da centrifugação (Yatsumatsu *et al.*, 1972). O teor de óleo liberado nessas condições é reportado como índice de estabilidade da emulsão. Instabilidade de um sistema emulsionado pode refletir-se como cremeamento e separação de óleo, causados por floculação e coalescência, indicando, portanto, a capacidade do produto permanecer inalterado após a formação da emulsão.

Recentemente, novos métodos têm sido desenvolvidos para descrever as propriedades de emulsificação de proteínas. Webb *et al.* (1970) desenvolveram um procedimento para determinação da capacidade de emulsificação através de resistência elétrica. Pearce e Kinsella (1978) mediram as propriedades de emulsificação de diferentes proteínas através de técnica turbidimétrica, a qual tem sido atualmente empregada (Latlief e Knorr, 1983; Haque e Kinsella, 1988; Mizutani e Nakamura, 1988).

Fatores mais comuns que influenciam emulsões incluem as características das próprias proteínas, relacionada ao conteúdo de grupos hidrofílicos, estrutura, compactação, pH, força iônica, presença de açúcares, surfactantes de baixo peso molecular, exposição ao oxigênio, tipo de óleo, concentração de proteínas e condições de formação da emulsão (tipo de equipamento e

geometria, volume da fase de óleo, taxa de adição de óleo) (Kinsella, 1976; Halling, 1981).

Dentre esses, o pH, pela alteração da solubilidade da proteína, é um fator primário no seu desempenho quanto às propriedades de emulsificação (Pearson *et al.*, 1965; DuBois *et al.*, 1972; Crenwelge *et al.*, 1974; Huffman *et al.*, 1975; McWatters e Holmes, 1979; Volkert e Klein, 1979), uma vez que nos testes realizados, estas devem se dissolver e migrar à interface a fim de alterar as propriedades de superfície.

No ponto isoelétrico, onde a maioria das proteínas é insolúvel, proteínas não podem contribuir para estabilizar cargas superficiais (repulsivas) dos glóbulos de gordura, possuindo estruturas compactas com alta viscoelasticidade, as quais não contribuem na formação de emulsões (Volkert e Klein, 1979). Alguns pesquisadores, entretanto, têm encontrado algumas proteínas com propriedades ótimas de emulsão na região do ponto isoelétrico, justificando o fato em função da própria rigidez observada nessa faixa de pH, a qual pode ajudar a estabilizar a emulsão contra a coalescência do glóbulo, prevenindo abertura das moléculas e adsorção à interface ou estabilização de um filme proteico já adsorvido contra a deformação da superfície. Em adição, interações hidrofóbicas entre lípidos e proteínas são máximas no ponto isoelétrico da proteína (Halling, 1981).

Mita *et al.* (1973) prepararam emulsões de benzeno com várias proteínas a fim de estudar o comportamento destas no ponto isoelétrico, quanto à dependência do tamanho do glóbulo e distribuição de tamanho. Os resultados indicaram que o estado

inicial de dispersões das emulsões variou significativamente com o pH. No ponto isoelétrico, moléculas de proteínas perderam a carga, formando coágulos, impedindo a formação de glóbulos muito pequenos durante o processo de emulsificação. A taxa de adsorção de moléculas proteicas aumentou progressivamente na interface e a viscosidade dos filmes proteicos adsorvidos tornou-se alto devido ao decréscimo na área superficial em relação à molécula de proteína. Dessa forma, o tamanho médio do glóbulo aumentou progressivamente no ponto isoelétrico das proteínas, diminuindo a tensão interfacial e a taxa de coalescência nessa faixa, melhorando consideravelmente a emulsão. Comportamento semelhante foi evidenciado para proteínas do músculo de carne bovina em água, apresentando máxima capacidade de emulsão próxima ao pH 5,0, ponto isoelétrico das proteínas envolvidas. Entretanto, albumina do soro bovino a 0,004%, lisozima a 0,004% e proteínas do soro a 0,4%, apresentaram mínima solubilidade próximo ao ponto isoelétrico respectivo de cada proteína (Halling, 1981).

Gillet et al. (1977), estudando parâmetros que afetam extração de proteínas da carne e suas propriedades de emulsificação, demonstraram que a fração de volume na fase dispersa com relação à capacidade de emulsificação dependeu exclusivamente da concentração de proteína solúvel. Wang e Kinsella (1976) encontraram alta correlação ($r=0,8$) entre solubilidade proteica e estabilidade de emulsão para proteínas de folhas de alfafa e média correlação ($r=0,5$) entre atividade de emulsão e solubilidade. Crenwelge et al. (1974) verificaram os mesmos perfis de solubilidade-pH e capacidade de emulsificação-pH

no intervalo de pH 3,0-10,0. Yatsumatsu et al. (1972), a partir de estudos com sistemas modelos, demonstraram que várias preparações de proteínas de soja correlacionaram-se positivamente com o índice de nitrogênio solúvel e negativamente com teor de fibra crua.

Recentemente, estudos têm sido conduzidos com objetivo de aumentar a solubilidade de muitos isolados proteicos de fontes não convencionais a fim de melhorar as propriedades de emulsificação, uma vez que a insolubilidade é, nesses casos, uma das maiores limitações ao uso extensivo dessas proteínas em processamento de alimentos. Nesse sentido, proteínas têm sido submetidas à hidrólise ácida parcial (Holme e Briggs, 1959; Wu et al., 1976; Matsudomi et al., 1986); tratamento enzimático (Nakamura et al., 1984); desamidação (Ma e Khanzada, 1987); fosfatação química (Chou e Lin, 1987).

Variações na força iônica, alterando a carga elétrica e interações eletrostáticas, contribuem para uma menor ou maior estabilidade de emulsão. Mita et al. (1974) aumentando a força iônica em emulsões estabilizadas com albumina do soro bovino, com diferentes concentrações de NaCl, reduziram a taxa de coalescência nos pHs 2,9 e 7,0 em relação àquela observada próximo ao pH 4,9, ponto isoeletrico. Swift et al. (1961, 1963), demonstraram que a capacidade de emulsificação de proteínas da carne, solúveis em água, foi efetivamente aumentada quando concentrações de NaCl (0,5; 1,0 e 2,0) também o foram, ocorrendo tal fato em todos os valores de pH na faixa 4,0-8,0, aparentemente por um efeito "salting-in" nas proteínas

miofibrilares, resultando em maior solubilidade em água. Nos valores próximos do ponto isoelétrico (5,4), o aumento do teor de NaCl acentuadamente elevou a capacidade de emulsificação dessas proteínas. Os autores demonstraram também que ânions melhoraram a eficiência de proteínas quanto à sua capacidade de emulsificação, seguindo a série de Hofmeister (Fennema, 1985).

Pearson *et al.* (1965) investigaram o efeito da força iônica na estabilidade e capacidade de emulsificação de proteinato de sódio de soja, caseinato de potássio e leite em pó desnatado, verificando que a forças iônicas maiores que 0,3 e a pH 10,7 e 6,9, proteinato de sódio de soja teve sua capacidade de emulsificação fortemente diminuída. Resultados similares foram encontrados por outros pesquisadores. McWatters e Holmes (1979) observaram que as propriedades de emulsificação de farinha de amendoim foram melhoradas somente a baixos níveis de sal com ajuste de pH acima ou abaixo de 4,0, ponto isoelétrico das proteínas. Nenhuma emulsão foi formada com amostras altamente salinas a pH 2,0 e 4,0 e por suspensões com baixo teor de sal, exatamente no pH 4,0. Ainda, suspensões de proteínas em água apresentaram maior capacidade de emulsificação que suspensões salinas nos intervalos de pH 2,0-4,0 e 8,0-10.

Vários trabalhos têm indicado que, em geral, a eficiência de proteínas na formação e estabilização de emulsões tende a decrescer quando a concentração de proteína é elevada acima de um certo valor crítico (Swift *et al.*, 1961; Pearson *et al.*, 1965; Tsai *et al.*, 1972; Wang e Kinsella, 1976). Até certo limite, a capacidade de emulsificação é substancialmente melhorada com o

aumento da concentração, conforme demonstraram McWatters e Holmes (1979) ao medir a influência da concentração de proteína de amendoim na formação de emulsões. Alguns autores têm discutido o fato de que, quando a concentração de proteína é reduzida abaixo de um valor crítico, observa-se um maior grau de exposição de polipetídeos durante cisalhamento ocorrido no processo de emulsificação e conseqüentemente uma maior associação hidrofóbica das cadeias de polipeptídeos ocorre em lipídeos, resultando num volume muito maior da área superficial da proteína disponível e, portanto, no aumento da eficiência do poder de emulsificação (Tsai *et al.*, 1972).

Condições utilizadas nos testes de formação de emulsões tais como a taxa de adição de óleo, equipamento, temperatura, são decisivos para predizer os atributos de qualidade de uma proteína com relação à formação de emulsão (Tornberg e Hermansson, 1977; Tornberg e Lundh, 1978).

Huffman (1975) estudou a influência da taxa de adição de óleo e velocidade de cisalhamento na formação de emulsões estabilizadas por farinha proteica de girassol a 4.500 rpm e pH 7,0. Velocidades mais altas de mistura diminuíram a capacidade de emulsificação, como resultado da formação de glóbulos de gordura menores, aumentando a área superficial exponencialmente e, conseqüentemente, requerimentos de mais proteína como agente emulsificante. Aumento na taxa de adição de óleo melhorou a capacidade de emulsificação, mas acima de certa velocidade de homogeneização tornou a diminuir, sugerindo que membranas proteicas são formadas quase instantaneamente a altas taxas de

adição de óleo.

Poucos têm sido os trabalhos que discutem a influência do tipo de equipamento utilizado, energia e potência aplicados ao sistema (Tornberg, 1978). Tornberg e Hermansson (1977) avaliaram o efeito de diferentes equipamentos (ultra-turrax, um misturador denominado por Sorvall Ominimixer, homogeneizador de válvula e equipamento ultrassônico) nas características de emulsificação de isolado proteico de soja, caseinato de sódio concentrado proteico de soro de leite. Os autores encontraram significativas diferenças nas emulsões formadas, sendo que o homogeneizador de válvula e equipamento ultrassônico mostraram maior eficiência na formação de emulsões quando comparados com os demais.

Tratamentos térmicos quando aplicados a isolados e concentrados proteicos, levando à desnaturação de proteínas solúveis, invariavelmente reduzem a capacidade de emulsificação e estabilidade. Aquecimento intenso, em geral, decresce a viscosidade e rigidez do filme proteico adsorvido à interface e com isso desestabiliza a emulsão (Lin *et al.*, 1974; Kinsella, 1976). Entretanto, se o aquecimento levar à gelatinização de filmes proteicos interfaciais hidratados, ocorrerá aumento da estabilidade e rigidez da superfície (Fennema, 1985). Um exemplo disso é a gelatinização das proteínas miofibrilares, as quais contribuem para a estabilidade térmica de emulsões de carne, como em salsichas, resultando em melhor coesão e retenção de água e gordura.

Tratamento enzimático de isolados, concentrados e farinhas proteicas tem sido sugerido por alguns autores como uma maneira de melhorar as propriedades de emulsificação de proteínas, uma vez que digestão enzimática aumentaria o número de moléculas de peptídeos disponíveis na interface óleo-água e, portanto, uma maior área seria coberta e mais óleo emulsificado. Além disso, grupos hidrofóbicos ocultos poderão ser expostos melhorando o balanço hidrofílico-lipofílico na emulsificação. Entretanto, algum prejuízo com relação à estabilidade poderia ocorrer, uma vez que tratamento com enzimas levaria a peptídeos menores e menos globulares, formando uma camada proteica mais fina em torno do glóbulo de gordura (Puski, 1975).

Recentemente, succinilação de amino grupos levando a um aumento da hidrofobicidade, viscosidade e exposição de aminoácidos aromáticos têm sido utilizada para modificar propriedades de superfície de proteínas, melhorando propriedades de emulsificação (Kim e Kinsella, 1987; Ma e Wood, 1987; Messinger *et al.*, 1987).

Assim como emulsões, espumas são sistemas dispersos de duas fases distintas, onde uma delas, líquida, circunda uma fase dispersa constituída de glóbulos de ar. Proteínas podem agir como estabilizantes desse sistema, acumulando-se na interface ar-água, alterando as propriedades de superfície. Os glóbulos de ar são separados por uma fina camada de líquido, denominada lamela, formando uma interface gás-líquido de elevada proporção, resultando num filme adsorvido nesta região, prevenindo contra a coalescência dos glóbulos de ar. Isto é devido à redução da

tensão interfacial e formação de uma barreira protetora entre os glóbulos de ar entrelaçados (Halling, 1981). Ainda, o filme formado pela proteína em torno dos glóbulos de ar, deve ser estrutural, coesivo e contínuo e, portanto, proteínas com ótimas propriedades de formação de espuma devem ser capazes de formar membranas em torno dos vacúolos de ar e sofrer um certo grau de desnaturação espontânea, o qual deverá estabilizar a espuma e contribuir para o aumento da viscosidade observado após sua formação (DeVilbiss *et al.*, 1974). Dessa forma, uma proteína com boas propriedades de formação de espuma deve apresentar um balanço crítico entre sua capacidade de adsorver para formar uma membrana elástica estável e a tendência em auto associar-se excessivamente, o que resultaria em agregação e colapso da espuma.

Métodos empregados para formação de espuma são variados (Bailey, 1935; Yatsumatsu *et al.*, 1972; Wang e Kinsella, 1976). De acordo com Halling (1981), o mais comumente usado consiste no batimento ou mistura a altas velocidades de uma solução proteica, através do qual se realiza a incorporação de ar. Resulta em uma dispersão de gás mais uniforme, entretanto, devido à severidade da ação mecânica, grandes quantidades de proteínas são requeridas, uma vez que a tendência à rápida coalescência e obstáculos à formação do filme proteico adsorvido são características comuns neste processo. Excesso de batimento, como no caso da clara de ovo, causa coagulação-agregação das proteínas na interface ar-água, tornando-se insolubilizada e não adsorvendo apropriadamente, diminuindo a viscosidade da lamela, sendo

ineficiente para uma expansão e estabilidade de espuma.

Bombeamento de gás através de um meio poroso em uma dispersão aquosa com baixa concentração de proteínas (0,01-0,2%) é outro método utilizado com formação de grandes volumes de espuma (Clark e Ross, 1940; Thuman *et al.*, 1949). Nestes baixos níveis de concentração, a maioria das proteínas parece ser adsorvida pelos glóbulos de ar, passando através da solução e levadas em direção à coluna de espuma. Em tal processo, o volume de espuma produzida é dependente da quantidade e não da concentração de proteína que está sendo bombeada. Espumas assim formadas parecem ser muito menos estáveis que aquelas produzidas por batimento, o que em parte pode ser devido às baixas concentrações utilizadas.

Outros métodos de formação de espumas, menos utilizados, são agitação ("shaking"), produzindo baixos volumes de espumas e através de pressão, onde espumas são formadas após liberação de uma solução pressurizada de um "container", aerosol por exemplo (Fennema, 1985).

Recentemente, Wright e Hemmant (1987) desenvolveram dois métodos condutimétricos (semi-micro e micro) para medir as propriedades de formação de espuma de soluções proteicas, com valores de expansão e estabilidade correlacionando-se muito positivamente com o procedimento padrão comumente adotado para formação de espuma. A vantagem reside na utilização de poucas mg de proteína para caracterizar sua capacidade de formação de espuma.

A metodologia utilizada na produção de espuma tem grande influência na estabilidade, principalmente em função da área interfacial produzida. Mecanismos de desestabilização de espuma têm sido comumente descritos como drenagem, quebra ou escoamento do líquido da lamela liberado no decorrer do tempo, após formação da espuma devido à gravidade, diferenças de pressão e mesmo evaporação (Kinsella, 1976). Aumento da viscosidade da fase líquida, pela adição de sacarose, por exemplo, diminui o grau de escoamento durante a formação e expansão de espuma. Baixa tensão interfacial e glóbulos de grande volume diminuem a pressão (Halling, 1981).

Vários fatores determinam a formação e estabilização de espumas. Um parâmetro primário na formação de espumas são as propriedades de solubilidade das proteínas que agirão como agentes surfactantes, uma vez que durante formação de espuma, um filme contínuo e solúvel de proteínas é essencial para proporcionar elasticidade à membrana, a fim de que esta possa adaptar-se às mudanças de volume.

Intrinsicamente relacionada à solubilidade, o pH de dispersões proteicas afeta propriedades de espumas da mesma forma que em outras propriedades, ou seja, pela alteração na carga elétrica das moléculas de proteínas.

Trabalhos que discutem o efeito do pH não têm sido conclusivos com relação à forma como este parâmetro afeta a estabilização, causando escoamento da lamela ou ruptura, devido à interdependência destes processos, os quais levam ao colapso da espuma. A máxima estabilidade da lamela observada próxima ao

ponto isoelétrico indica que repulsão eletrostática dos filmes superficiais de proteínas não é muito importante nessa faixa de pH, uma vez que a rigidez da lamela é provavelmente muito maior que a intensidade das forças coloidais (Halling, 1981). Tem sido relatado que muitos isolados proteicos produzem espumas bem mais estáveis no ponto isoelétrico ou na região próxima, onde a maioria é insolúvel e sem carga elétrica (Kinsella, 1976). Este efeito estabilizante tem sido atribuído ao aumento da viscosidade de superfície causada pelas partículas insolúveis, além do fato de que atrações intermoleculares e eletrostáticas ocorridas no ponto isoelétrico elevam a resistência e rigidez dos filmes proteicos adsorvidos à interface.

Segundo Bull (1947), uma melhor produção do filme proteico ocorre em uma estreita faixa de pH, bem próxima ao ponto isoelétrico, onde ainda existe solubilidade, uma vez que a barreira de energia que proteínas solúveis contêm é minimizada nesta região de pH, onde a carga elétrica é quase nula e que, em outros valores, precisa ser vencida a fim de que a proteína possa ocupar a interface. Buckingham (1970), através de estudos com proteínas citoplasmáticas a baixas concentrações, concluiu que formação de espuma depende de um equilíbrio entre interações proteína-proteína e proteína-água. Próximo ao ponto isoelétrico, interações proteína-proteína, necessárias para a formação de um filme coeso, são facilitadas, o que não ocorre quando há predominância de interações proteína-água. Por outro lado, também não é desejável a formação de espuma exatamente no ponto isoelétrico, onde excesso de interações proteína-proteína leva à

formação de precipitados, desnaturação e redução do volume de espuma formado, o qual requer proteína solúvel. Watts (1937) observou máxima estabilidade nas espumas formadas por dispersões de farinhas de soja próximas ao ponto isoelétrica. Hermansson et al. (1971) demonstraram que precipitados proteicos atuando como partículas sólidas estabilizaram espumas de dispersões de 10% de concentrados proteicos de peixe. "Overrun" e estabilidade à drenagem foram máximas a uma força iônica de 0,5M, onde solubilidade foi mínima e a remoção do material insolúvel reduziu estabilidade, com % de "overrun" permanecendo inalterado.

Em contraste, Huffman et al. (1975) determinaram que espumas muito pobres são formadas na região do ponto isoelétrico para farinhas proteicas de girassol, observando ainda que máxima drenagem ocorreu no valor de mínima solubilidade, sendo que máxima estabilidade ocorreu próximo ao pH 9,0, onde a proteína é bem solúvel. Eldridge et al. (1963), estudando a capacidade de formação de espuma de proteínas de soja não hidrolisadas, encontraram resultados semelhantes. Espumas estáveis foram formadas acima de pH 6,5 e abaixo de pH 3,0, com máxima drenagem ocorrendo na região isoelétrica 4,0-6,0. O perfil da curva de solubilidade-pH e estabilidade-pH foi muito semelhante. Curvas de expansão mostraram que as espumas mais pobres foram formadas nessa região. Os autores concluíram ainda que, para formação de espumas, foi necessário disponibilidade de proteína solúvel e que espumas superiores foram obtidas quando a carga líquida das moléculas proteicas foi negativa. Wang e Kinsella (1976) verificaram as mesmas relações, avaliando as propriedades de

espuma de proteínas extraídas de folhas de alfafa, discutindo os resultados em termos de pH e carga elétrica. Assim, máxima estabilidade foi obtida nos pHs 2,0 e entre 5,0-6,5, o que levou o autor a sugerir que a coesão entre peptídeos foi máxima devido ao balanço de cargas atrativas, enquanto que acima de pH 7,0, cargas negativas em excesso repelem peptídeos vizinhos e desestabilizam a membrana. Watts e Ulrich (1939) encontraram que sobrenadantes de dispersões proteicas de soja produziram mais altos "overruns" e estabilidade que as farinhas brutas, sugerindo que remoção da parte insolúvel melhorou as propriedades de espuma das proteínas estudadas, concluindo que somente proteínas solúveis contribuem para formação de espumas.

Adição de substâncias que afetam solubilidade, viscosidade e grau de estruturação de proteínas influenciam marcadamente suas propriedades de formação de espuma. Cloreto de sódio tem sido frequentemente citado como agente que reduz estabilidade, porém aumenta a % de "overrun" de espumas de diferentes fontes proteicas. Hermansson *et al.* (1971) verificaram que adição de NaCl elevou o volume de expansão de espuma em 50%, quando a força iônica passou de zero para 0,5. Eldridge *et al.* (1974) observaram que NaCl numa concentração de 5%, reduziu consideravelmente a estabilidade de espumas formadas por proteínas de soja. Pesquisadores têm discutido o fato em termos de "salting-in", quando em baixas concentrações de NaCl, a solubilidade é aumentada e, portanto, a capacidade de formação de espuma é melhorada. Porém, à medida que a concentração é aumentada, efeitos de "salting-out" reduzem a estabilidade pela

lentidão em atingir o limite crítico necessário de desnaturação da superfície para estabilizar a membrana.

Sacarose e outros açúcares, ao contrário, diminuem a expansão dos filmes adsorvidos à interface. Por este motivo, são geralmente adicionados no estágio final de formação de espumas, quando o volume ótimo já foi atingido (DeVilbiss, 1974).

A presença de pequenas quantidades de lipídeos pode levar a uma intensa redução nas capacidades de formação de espuma, pela alteração da expansão da proteína à interface e enfraquecimento ou rompimento das forças coesivas necessárias entre a camada proteica em torno dos glóbulos de ar, resultando num rápido colapso da espuma (Kinsella, 1976). Lawhon *et al.* (1971) obtiveram melhores "overruns" e estabilidade de espumas de farinhas proteicas de algodão após remoção de óleo residual por extração com solventes. Da mesma forma, Eldridge *et al.* (1963) reportaram que remoção de fosfolípidos de proteínas de soja melhorou suas propriedades espumantes, através de lavagens com álcool dos isolados proteicos. Bailey (1935) verificou que a adição de óleo de oliva a proteínas da clara de ovo, diminuiu estabilidade e "overruns" das espumas formadas, observando efeito negativo de óleos e lípidos da gema em espumas de ovoalbumina. Wang e Kinsella (1976) removeram lipídeos de concentrados proteicos de alfafa através de lavagem com acetona, verificando substancial melhora na capacidade de formação de espuma e estabilidade, chegando a mesmos valores em expansão que clara de ovo, numa mesma faixa de concentração proteica. De acordo com Eldridge (1963), lipídeos polares são aqueles que mais prejudicam

a formação de espuma, uma vez que se ligam fortemente às proteínas. Em contraste, gorduras e óleos não polares podem ser frequentemente adicionados em quantidades muito maiores, sem os efeitos graves observados anteriormente.

Embora existam alguns trabalhos contraditórios com relação à influência da concentração de proteínas na formação de espumas, de um modo geral, as pesquisas indicam um maior aumento na estabilidade que no volume formado. Ainda, parece existir uma concentração ótima na qual têm-se maiores valores de "overruns". Watts (1937), verificando a capacidade de formação de espuma de proteínas de soja numa larga faixa de concentração (2,0-20,0%), encontrou máximos "overruns" a 8,0%. McDonald *et al.* (1961) observaram máximo "overrun" para espumas formadas por gliadina de trigo a 3,0%, numa faixa de concentração de 1,5-9,0%, sendo que a estabilidade ao escoamento do líquido da lamela aumentou constantemente. Isolado de soja apresentou máximo "overrun" a 3,0%, em estudo variando a concentração em 0,5-5,0%, com estabilidade à drenagem apresentando um platô acima de 3,0%. Baldwin e Sinthavalia (1971), numa ampla faixa de concentração proteica (2,0-40,0%) determinaram valores ótimos de % de "overruns" a 10,0%, com estabilidade aumentando constantemente. Nenhum trabalho reportado demonstra decréscimo na estabilidade com aumento da concentração (Halling, 1981). O efeito benéfico de maiores concentrações de proteínas na estabilidade de espuma têm sido atribuído à formação de glóbulos de ar menores e espumas mais rígidas. A concentração ideal para formação de máximo "overrun" é aquela onde a concentração de proteína na fase

líquida resulta em viscosidade adequada e espessura ideal do filme adsorvido (Fennema, 1985).

Tratamento térmico influencia a capacidade de formação de espuma de acordo com sua intensidade e natureza da proteína. Richert et al. (1972), estudando o efeito do calor nas propriedades espumantes de concentrados proteicos de soro de leite, verificaram que aquecimento a 65-70°C, melhorou substancialmente tais propriedades de espuma, com máxima estabilidade observada a 70°C. Acima deste valor houve um sensível prejuízo nas % de "overrun" e estabilidades obtidas como resultado da extensão da desnaturação térmica. Matrizes de correlação mostraram melhores volumes de espuma quando solubilidade foi próxima do máximo e desnaturação de proteínas próximas do mínimo. Huffman et al. (1975) verificaram que acima de 55°C farinhas proteicas de girassol formaram espumas menos expandidas, mas pouco efeito foi observado com relação à estabilidade. Extratos solúveis de farinhas de sementes de algodão submetidas a tratamento térmico moderado tiveram sua solubilidade e capacidade de formação de espuma diminuídas. Temperaturas acima de 30°C, já diminuíram a viscosidade de espumas (Lawhon et al., 1972a; 1972b). Aquecimento de dispersões proteicas de soja a 80°C aumentou estabilidade, porém reduziu um pouco do volume máximo de expansão, de acordo com estes últimos autores. Tratamento térmico de espumas já formadas causam uma expansão do ar, decréscimo na viscosidade com ruptura de bolhas e consequentemente colapso da espuma. Isto não ocorrerá somente se houver gelatinização suficiente para proporcionar rigidez ao

filme proteico adsorvido com estabilização da espuma, assim como acontece com proteínas da clara de ovo (Bailey, 1935).

Com este tipo de abordagem, o potencial de utilização das proteínas presentes no RIPT com relação às suas propriedades funcionais não foi, até o momento, convenientemente estabelecido, uma vez que poucos trabalhos têm se proposto a investigar o assunto.

Latlief e Knorr (1983b) determinaram a capacidade e estabilidade de emulsões preparadas com concentrados proteicos de sementes comerciais de tomate. Capacidade de emulsão foi determinada de acordo com técnica turbidimétrica com leitura de absorbância a 500 nm, desenvolvida por Pearce e Kinsella (1978). Estabilidade foi medida a partir do volume da água liberada de 25 ml de emulsão aquecida a 80°C por 1 hora, após 19 horas de repouso. Resultados indicaram que concentrados proteicos de tomate apresentaram propriedades similares aos emulsificantes comerciais que serviram de comparação no estudo. Entretanto, a técnica utilizada, pelo fato de não ser comumente empregada, dificulta a comparação com outros trabalhos de avaliação de propriedades de emulsificação. Kramer e Kwee (1977a) estudaram propriedades funcionais de isolados proteicos do RIPT com relação à % de coagulação térmica, solubilidade, densidade de massa e propriedades de formação de espuma e estabilização de emulsões e, embora avaliadas muito superficialmente, encontraram resultados favoráveis quando comparados ao isolado proteico comercial de soja e concentrado proteico comercial de soja e concentrado proteico de folhas de alfafa. A literatura sobre o assunto indica

que as propriedades das proteínas do RIPT merecem uma avaliação mais completa e sistemática.

MATERIAL E MÉTODOS

DESCRIÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

O material estudado constitui-se do resíduo industrial de tomate obtido após processamento de polpas, concentrados, molhos temperados e de semente pura procedentes das indústrias Cia. Industrial de Conservas Alimentícias "CICA" (Jundiaí, Presidente Prudente, SP) e Cia. Industrial e Mercantil Paoletti (Araçatuba, SP) tendo sido os tomates cultivados nessas regiões.

A matéria-prima foi obtida dos tratamentos usualmente empregados nas indústrias, conforme descritos abaixo:

a. Resíduo constituído de peles, sementes e mucilagem proveniente do tratamento "cold break" (CB). Neste tratamento, os frutos triturados são aquecidos a baixas temperaturas (65-70°C) em trocadores de calor a fim de facilitar o destacamento das peles nas operações de extração e inativação, além de tornar a polpa mais tenra. Nessa etapa, a utilização de baixas temperaturas garante a manutenção da cor prejudicando, entretanto, a consistência do suco, uma vez que enzimas pécticas presentes no produto não são devidamente inativadas (Gould, 1970).

b. Resíduo constituído de peles, sementes e mucilagem, resultante do tratamento "hot break" (HB), o qual consiste, da

mesma forma que o CB no aquecimento do tomate triturado, entretanto, a temperaturas mais elevadas (85-90°C), proporcionando um produto final de boa consistência em razão da inativação das enzimas presentes (Gould, 1970).

c. Semente pura, obtida na linha de processamento de tomates antes da etapa de secagem e sem tratamento químico.

TRATAMENTO E ANÁLISES PRELIMINARES DA MATERIA-PRIMA

A matéria-prima classificada de acordo com o item anterior foi dividida em lotes, sendo um deles congelado em freezer a -18°C, com retirada prévia de amostras para determinação da composição química e outro seco a 50-55°C por 48 horas em estufa com circulação forçada de ar. Após secagem, os resíduos foram moídos em moinho de martelo (Elo's, tipo Willye), resultando num produto com granulometria de 100 mesh.

Determinação da % de peles e sementes dos resíduos CB e HB

Foram pesados 50g de cada um dos resíduos CB e HB e separadas peles das sementes, com pesagem de cada fração e posterior secagem em estufa a 105°C até peso constante para determinação das % em base seca. Somente foram consideradas sementes totalmente livres de peles e vice-versa, sendo que os agregados dos quais sementes e peles não puderam ser destacadas uma das outras foram descartados. Assim, a determinação refere-se

mais à % de recuperação de sementes e peles do que à separação total, uma vez que essa é difícil realização. Resultados foram indicados como a média de três determinações.

Caracterização química da matéria-prima

Resíduos provenientes dos tratamentos CB, HB e semente pura; peles livres de sementes para cada um dos resíduos e sementes originárias dos dois resíduos foram analisadas com relação a:

a. Umidade

Foi determinada em estufa a 100-105°C por 4-5 horas até peso constante, de acordo com método descrito pela AOAC (1980).

b. Proteína

Nitrogênio total foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl, de acordo com método padrão da AOAC (1980) e a proteína total expressa como %N x 6,25.

c. Gordura

Gordura presente nas amostras foi extraída com éter de petróleo em extrator do tipo Soxhlet durante aproximadamente 5-6 horas e seu teor determinado gravimetricamente, como descrito na metodologia da AOAC (1980).

d. Cinzas

A % de cinzas foi determinada em mufla a 500°C, conforme método padrão da AOAC (1980).

Todas as determinações foram realizadas em triplicatas.

EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS DOS DIVERSOS RESÍDUOS

Determinação da relação ótima de amostra:solvente

Amostras das diversas matérias-prima úmida e seca foram dispersas em solventes nas proporções (amostra:solvente): 1:5; 1:10; 1:15 e 1:20, a fim de verificar-se a relação apropriada a ser usada nas extracções.

Determinação das condições ótimas de extração

Os métodos de extração para matéria-prima úmida foram originalmente baseados no trabalho de Kramer e Kwee (1977b), modificado no decorrer dos experimentos, visando obter maiores rendimentos e eficiência na extração. Para o material seco, o trabalho de Latlief e Knorr (1983a) foi a base para o início da otimização das condições de extração. Algumas das modificações introduzidas foram sugeridas com base nos trabalhos de recuperação de proteínas de outras fontes não convencionais de acordo com Lawhon e Cater (1971); Lu e Kinsella (1972); Betschart e Kinsella (1974) e Knorr (1977, 1980, 1983). Nos processos relatados em seguida, estão descritos as melhores condições de

operação (velocidades e tempos de trituração, agitação, centrifugação) determinadas após várias tentativas e modificações introduzidas.

Matéria-prima úmida

Resíduos provenientes dos tratamentos CB, HB e semente pura foram dispersos em água destilada na relação 1:10 p/v. O material foi então triturado em desintegrador a 10°C durante 3-5 minutos. Posteriormente o pH foi ajustado a vários valores com NaOH 1N e cada uma das amostras centrifugada a 5.000 rpm por 15 minutos (International Equipment Company - Model 20A).

O sobrenadante dessa operação foi acidificado com HCl 1N a vários valores de pH, sendo novamente centrifugado a 5.000 rpm por 15 minutos para remoção do precipitado proteico, do qual parte foi congelado a -18°C e parte liofilizado (Edwards do Brasil, modelo Pirani 78/1). Um fluxograma simplificado é apresentado na Figura 1.

Matéria-prima seca

Resíduos provenientes dos tratamentos CB, HB e semente pura secos e moídos foram diluídos em água destilada na relação 1:20 p/v. O pH foi ajustado a vários valores com NaOH 1N, triturados em desintegrador Marconi (Modelo TE-102) por 2-3 minutos a 10°C. A seguir, o material foi agitado a 1.000 rpm por 30 minutos (misturador Janke & Kunkel, tipo RW 20-S3) em

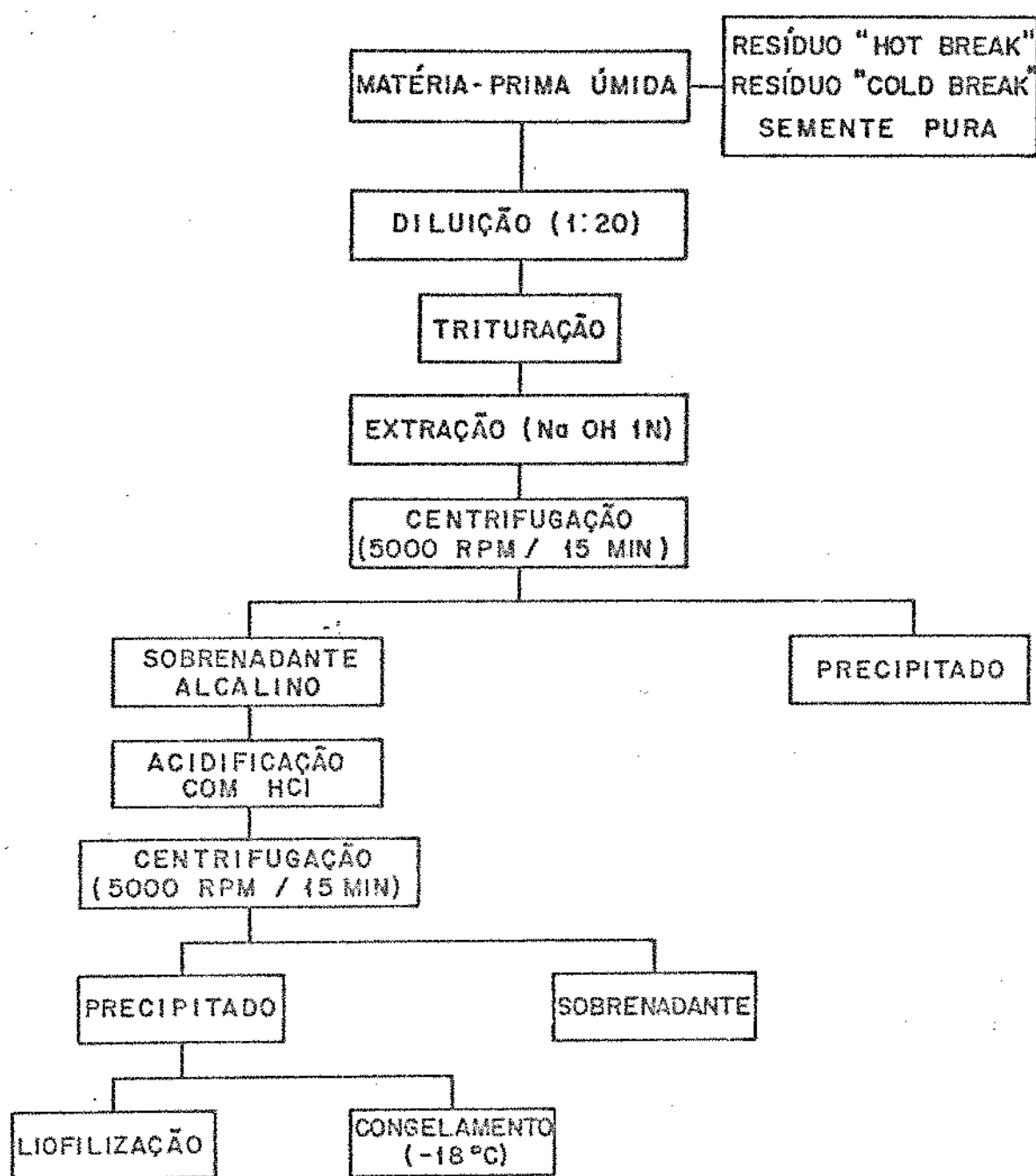


Fig. 1 - Fluxograma da obtenção de isolados proteicos do RIPT ("cold break", "hot break" e semente pura), a partir de material úmido.

temperatura ambiente, sendo que após os primeiros 15 minutos de agitação, a dispersão foi novamente ajustada ao valor de pH alcalino desejado, caso tivesse se alterado. Ao fim da agitação, o material foi centrifugado a 7.000 rpm por 15 minutos (International Equipment Company, model B-20A) para remoção dos sólidos em suspensão. O sobrenadante foi acidificado a vários valores de pH com HCl 1N e novamente agitado a 1.000 rpm por 30 minutos, com nova interrupção nos primeiros 15 minutos para correção do pH, se necessária. O precipitado proteico foi removido por centrifugação a 7.000 rpm por 15 minutos, lavado duas vezes com água destilada, seguido de nova centrifugação. O isolado assim obtido foi congelado a -18°C ou liofilizado (liofilizador Edwards do Brasil, modelo Pirani 78/1). Um fluxograma simplificado é apresentado na Figura 2.

Foram realizadas as seguintes variações nas condições de extração a fim de se obter os parâmetros de máximo rendimento:

- . pH de extração: 7,5; 8,5; 9,0; 10,0; 11,0 e 12,0 a temperatura ambiente;
- . pH de precipitação: 2,0; 3,0; 3,5; 4,5; 5,0; 6,0 e 7,0 a temperatura ambiente;
- . temperatura de extração: 45, 60 e 90°C , após determinados os parâmetros de máximo rendimento (pH de extração e precipitação a temperatura ambiente);

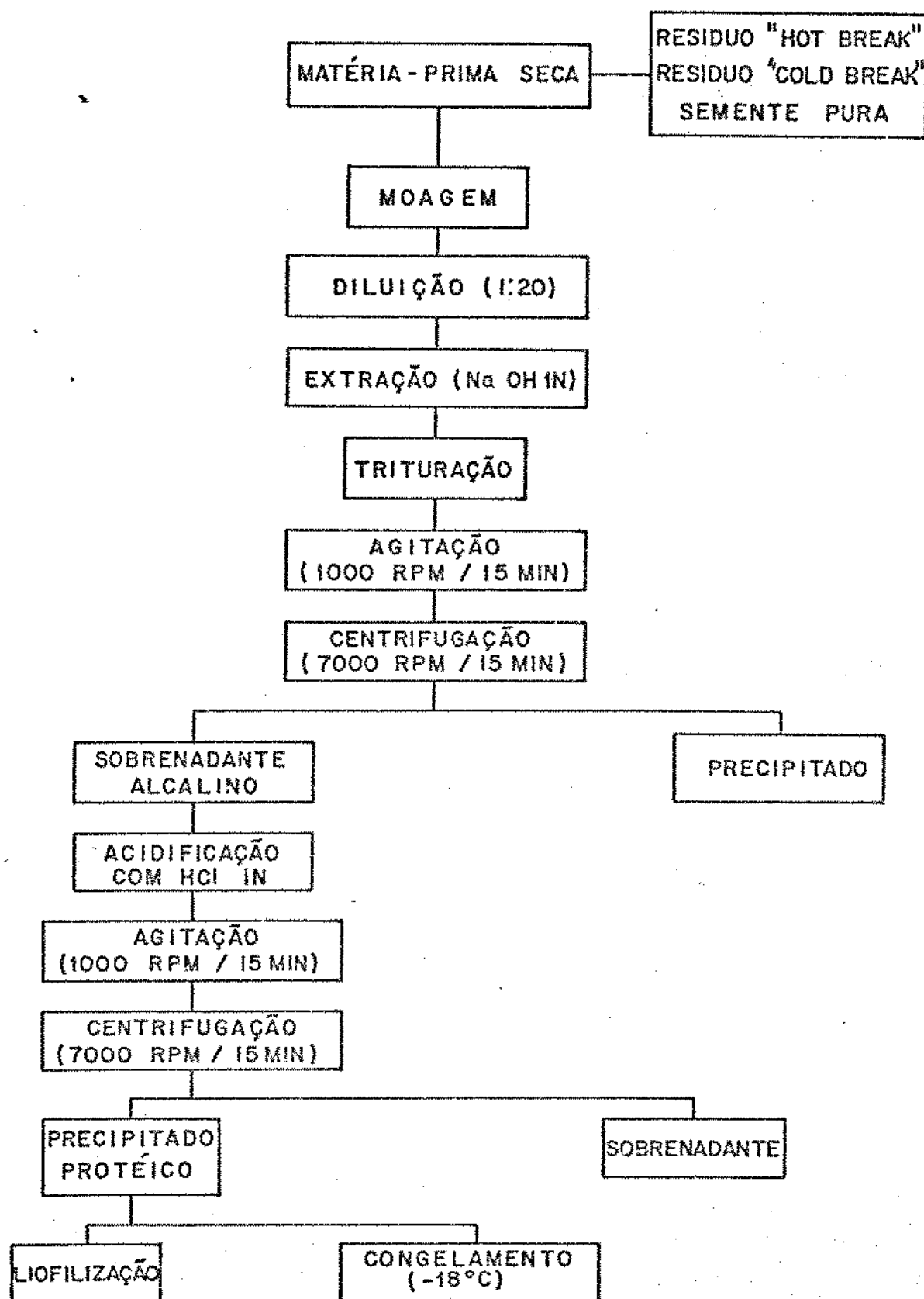


Fig. 2 - Fluxograma da obtenção de isolados proteicos do RIPT ("cold break", "hot break" e semente pura) a partir do material seco.

ácidos utilizados na precipitação do sobrenadante proteico alcalino: ácidos clorídrico, acético e cítrico na concentração 1N.

Determinação da composição química dos isolados proteicos

Isolados proteicos obtidos nas melhores condições de extração e a partir do emprego dos diferentes ácidos e temperaturas tiveram sua composição química determinada como descrito no item Caracterização química da matéria-prima.

FRACIONAMENTO DAS PROTEÍNAS PRESENTES NO RIPT CB, HB E SEMENTE PURA EM ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

O fracionamento de proteínas foi conduzido através de eletroforese em gel de poliacrilamida conforme descrito por Davis (1964). O gel foi empregado na concentração de 7%.

Proteínas do RIPT CB, HB e semente pura foram diluídas em tampão Tris-glicina, pH 8,3 e em água destilada com ajuste do pH a 12,0, onde ocorre completa dissolução.

As soluções de proteínas assim preparadas foram dosadas pelo método de Lowry *et al.* (1951) e amostras foram aplicadas aos tubos nas concentrações de 50, 100, 150 e 200 ug de proteína por tubo. A amperagem utilizada na separação foi de 2,5 mA por tubo durante a migração no gel superior e 5 mA por tubo no gel inferior. As distâncias migradas por cada banda foram determinadas.

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS

Teste de coagulação térmica

O teste de coagulação térmica foi realizado de acordo com Kramer e Kwee (1977) com alguma modificação. 0,2g dos isolados proteicos dos resíduos CB, HB e semente pura precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico foram diluídos em 10 ml de água destilada e, em seguida, seus pHs ajustados a 3,5; 7,0; 9,0 e 12,0. As misturas foram agitadas a 500 rpm/1minuto (misturador Janke & Kunkel GMBH, tipo RW20 - S₃), a temperatura ambiente. Em seguida, o material foi centrifugado a 3.500 rpm/15 minutos (International Equipment Company, model B-20A), sendo parte do sobrenadante analisado quanto ao teor de proteína pelo método de Biureto e a parte restante do sobrenadante foi aquecida a 100°C/15 minutos, com nova determinação de proteína. A % de proteína coagulada é dada por:

$$\% \text{ de proteína coagulada} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100, \text{ onde:}$$

A_1 = Absorbância antes do aquecimento

A_2 = Absorbância após o aquecimento

Solubilidade - índice de nitrogênio solúvel

O índice de nitrogênio solúvel foi determinado de acordo com Betschart (1974) com modificação na velocidade de centrifugação, uma vez que em testes preliminares, houve melhor sedimentação a velocidades mais baixas e tempos mais prolongados em comparação a aqueles utilizados no método citado. Dessa forma, 0,3g dos isolados proteicos dos resíduos e semente pura precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico foram dissolvidos em 10 ml de água destilada. O material foi agitado e ajustado valores de pH 1,0; 2,0; 3,0; 3,5; 4,5; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0 e 12,0 com HCl ou NaOH 0,1 ou 1N. A seguir as amostras foram agitadas a 200 rpm/15 minutos (misturador Janke & Kunkel GMBH, tipo RW20 - S3) e o material centrifugado a 1.500 rpm/30 minutos a 52C (International Equipment Company, model B 20A). Posteriormente foi determinada a % de N nos sobrenadantes pelo método semi micro Kjeldahl, de acordo com a AOAC (1980).

O índice de nitrogênio solúvel (INS) é dado por:

$$INS = \frac{\text{N no extrato aquoso}}{\text{N na amostra não extraída}}$$

Capacidade de absorção de água

O método utilizado para determinação da capacidade de absorção de água foi aquele descrito por Sosulski (1960) com alterações na concentração de proteína e velocidade de centrifugação, uma vez que os isolado apresentam alta densidade de massa. No teste, 0,5g dos isolados proteicos precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico foram diluídos em 10 ml de

água destilada e agitados a 200 rpm/2 minutos (misturador Janke & Kunkel GMBH, tipo RW20 - S3). Centrifugação foi realizada a 7.000 rpm/15 minutos a 5°C (International Equipment Company, model B-20A). Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado e o resíduo remanescente foi pesado, sendo a capacidade de absorção de água (CAA) dada por:

$$CAA = (P_1 - P_2) \times 100, \text{ onde:}$$

P_1 = peso do material após centrifugação;

P_2 = peso do material seco original.

Expansão e estabilidade de espuma

Expansão e estabilidade de espumas formadas a partir dos isolados proteicos provenientes dos resíduos CB, HB e semente pura foram os índices avaliados com relação às propriedades de formação de espuma, de acordo com Huffman *et al.* (1975), com alguma modificação. Dispersões de 100 ml dos isolados proteicos foram formadas em tampão-fosfato pH 7,0 ou água destilada em diferentes concentrações e pHs, conforme descrito a seguir. As amostras foram agitadas em ultra-turrax (Janke & Kunkel, tipo T 45/6) a 10.000 rpm. A difusão agitada foi imediatamente levada para provetas graduadas de 250 ou 500 ml, dependendo do volume de espuma formada. Foram medidas a altura da espuma formada e a altura da camada de líquido liberado logo após sua formação, sendo o primeiro volume definido como "volume máximo de expansão

de espuma" em mililitros. A quantidade (volume) de líquido liberado em ml após 30 minutos e 2 horas foi considerado como um indicador de estabilidade. Resultados foram também reportados como % de "overrun", de acordo com Kramer e Kwee (1977a) definida pela relação:

$$\% \text{ de "overrun"} = \frac{V_1 - V_2}{V_2} \times 100, \text{ onde:}$$

V_1 = Volume após agitação

V_2 = Volume antes da agitação

Os experimentos foram conduzidos, variando-se os seguintes parâmetros:

- . concentração de proteína a pH 7,0: 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0%;
- . pH a concentração proteica 8,0%: 2,0; 3,5; 4,5; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0 e 12,0;
- . temperatura a pH 7,0 e concentração proteica 8,0%: 25; 40; 60; 80 e 100°C.

Capacidade de absorção de óleo:

Capacidade de absorção de óleo foi determinada de acordo com Lin et al. (1974). A 0,5g dos isolados proteicos provenientes dos resíduos CB, HB e semente pura, foram adicionados 10 ml de óleo de soja comercial, seguindo-se agitação a 4.500 rpm/30 segundos (ultra-turrax, Janke & Kunkel, tipo T

a 4.500 rpm/30 segundos (ultra-turrax, Janke & Kunkel, tipo T 45/6) para dispersão da proteína sem formação de emulsão. O material foi depositado igualmente em tubos de centrífuga de 12 ml, imediatamente após agitação, e deixado em repouso por 30 minutos a 25°C, sendo posteriormente centrifugado a 1.500 rpm/25 minutos (International Equipment Company, model B 20A). Foi medido o volume de óleo livre no sobrenadante e o óleo retido no "pellet" proteico foi expresso como "ml de óleo/g de amostra".

Atividade e estabilidade de emulsão

As propriedades de emulsificação, avaliadas como atividade e estabilidade de emulsão, foram realizadas através do método de Yatsumatsu et al. 1972). 0,7g dos isolados proteicos foram dispersos em 10 ml de água e agitados por 30 segundos a 10.000 rpm em ultra-turrax (Janke Kunkel, tipo T 45/6). 10 ml de óleo de soja comercial foram então adicionados à mistura e emulsão foi formada por agitação a 10.000 rpm/1 minuto no mesmo equipamento. A emulsão foi igualmente dividida em tubos de centrífuga de 12 ml e centrifugada a 3.500 rpm/5 minutos a 5°C (International Equipment Company, model B 20A) e o índice de atividade de emulsão (AE) é dado por:

$$AE = \frac{\text{altura da camada emulsificada}}{\text{altura total da emulsão}} \times 100$$

Para determinação da estabilidade de emulsão, seguiu-se o mesmo procedimento, com a introdução de um tratamento térmico

em banho-maria a 80°C/30 minutos, seguido de um resfriamento a 15°C em banho de gelo logo após a formação da emulsão. As condições de centrifugação são idênticas ao teste de atividade de emulsão e o índice de estabilidade de emulsão (EE) é dado por:

$$EE = \frac{\text{altura da camada emulsificada após aquecimento}}{\text{altura total da emulsão}} \times 100$$

Os experimentos foram conduzidos, variando-se os seguintes parâmetros:

. pH da dispersão proteica em concentração de 6%:
2,0; 3,5; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0;
11,0 e 12,0.

. concentração de proteína em pH 7,0: 1,0; 2,0; 3,0;
5,0; 7,0; 8,0; 9,0 e 10,0%;

. velocidade de agitação durante formação da emulsão a
pH 7,0 e a concentração proteica de 6%: 2.000; 7.000
e 10.000 rpm.

Viscosidade

Os isolados proteicos dos resíduos CB, HB e semente pura tiveram suas viscosidades determinadas em viscosímetro Brookfield modelo RVT, previamente calibrado à temperatura de 25°C com hastes e velocidades apropriadas a cada tipo de amostra

em função de sua viscosidade.

As amostras dos isolados proteicos foram submetidas aos seguintes tratamentos:

Tratamento enzimático

As amostras foram tratadas enzimaticamente de acordo com Horiuchi *et al* (1978). Soluções dos isolados proteicos provenientes dos tratamentos CB, HB e semente pura a 5%, pH 1,5, foram tratadas com pepsina 0,1% a 50°C em banho-maria por 20 horas. A seguir, o pH foi elevado para 4,5 com NaOH 1N e o precipitado removido por centrifugação a 2.000 rpm/5 minutos (International Equipment Company, model B 20A). O pH do sobrenadante foi ajustado para 6,5, seguindo-se aquecimento a 90°C/10 minutos e o precipitado formado foi novamente removido por centrifugação a 2.000 rpm/5 minutos. O sobrenadante foi conservado à temperatura de 10°C para posterior determinação da viscosidade.

Tratamento químico

Soluções dos isolados proteicos proveniente dos tratamentos CB, HB e semente pura a 3,0% foram submetidas aos seguintes tratamentos, de acordo com Horiuchi *et al*. (1978):

incubação em 0,1M CH₃COOH - 0,1M CH₃COONa a pH 4,5 a temperatura de 25°C/2 horas;

.incubação em 0,1M glicina - 0,1M NaOH a pH 10,0 com uréia 8M, temperatura de 37°C/2 horas;

.incubação em 0,05M 2-mercapto-etanol, temperatura de 37°C por 2 horas.

.incubação em pH 1,5, ajustado com HCl 1N e em pH 12,0, ajustado com NaOH 1N, a 60°C/24 horas, seguindo-se diálise contra água destilada por 24 horas.

Soluções dos diferentes isolados proteicos tiveram suas viscosidades determinadas após terem sido submetidos às seguintes variações:

.pH : 1,5; 2,0; 3,0; 3,5; 4,5; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0 e 12,0 ajustados com HCl ou NaOH 1N e agitados a 200 rpm/2 minutos (misturador Janke & Kunkel GMBH tipo 20 - S₃).

.concentração do isolado proteico: 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0; 14,0 e 16,0% em pH 7,0 (tampão-fosfato), agitados a 200 rpm/2 minutos.

.temperatura: 25, 35, 40, 50, 60, 80 e 100°C, seguindo-se rápido resfriamento a 25°C em banho de gelo, agitadas a 200 rpm/2 minutos (misturador Janke & Kunkel GMBH, tipo RW20 - S₃) em pH 7,0 e a 8,0% de concentração do isolado proteico.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A significância entre as médias para os diferentes tratamentos foi testado por análise de variância. Quando análise de variância indicou resultados significativos, foi realizado o teste "a posteriori" de TUKEY HSD, através do programa SYSTAT, com utilização dos módulos DATA e STATISTICS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da % de peles e sementes nos resíduos CB e HB

Os resultados apresentados na Tabela 5 indicam que uma maior % de sementes ocorre no resíduo proveniente do tratamento CB, chegando quase a 2,5 vezes o valor observado no tratamento HB. Esse fato pode ser explicado em função das temperaturas envolvidas nos dois processos.

TABELA 5: Determinação da % de peles e sementes nos resíduos CB e HB, após secagem.

Componente (%p/p)	Resíduo	Resíduo
	CB	HB
Peles	19,85	68,71
Sementes	80,15	31,29

Nos tratamentos CB, baixas temperaturas empregadas (65-70°C) não são suficientes para inativar enzimas pectinolíticas, tais como pectinaesterase e poligalacturonase, as quais atuam na mucilagem e pectina do bagaço, levando a uma maior liberação e destacamento das peles das sementes (Luh e Daoud, 1971). Ao contrário, tratamento térmico aplicado no processo HB,

inativa as enzimas citadas, formando agregados de peles e sementes após a etapa de prensagem, dificultando assim uma melhor recuperação de sementes. Deve-se observar, entretanto, que em termos gerais, no material seco e moído, a contribuição de peles e sementes é praticamente a mesma nos dois resíduos.

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA MATÉRIA-PRIMA

A composição química aproximada dos resíduos CB, HB e semente pura foi bastante semelhantes, de acordo com os dados da Tabela 6. Resíduo CB difere significativamente do HB com relação ao teor de umidade, proteína bruta e cinzas, segundo análise estatística realizada. Comparando-se com a semente pura, observa-se que ambos os resíduos diferem significativamente a nível de $P < 0,05$. No caso da semente, o teor de proteína bruta e gordura foi visivelmente mais elevado. Análise da composição química de peles separadas de sementes e apenas de sementes provenientes de ambos os resíduos estudados, conforme descritos nas Tabelas 7 e 8, estão em concordância com os dados apresentados na Tabela 6, indicando que a elevada % de proteína e gordura provém, quase exclusivamente, da semente, uma vez que a porcentagem destes constituintes é bem baixa no resíduo formado apenas de peles, conforme pode-se verificar na Tabela 7.

Valores mais altos de umidade observados nos resíduos CB e para peles em relação a aqueles obtidos para semente isolada dos mesmos processos, podem ser devidos à presença de material mucilaginoso misturado às peles, os quais não foram

TABELA 6: Composição química aproximada do resíduo originário dos tratamentos CB, HB e semente pura, após secagem.

Componente (% p/p)	Resíduo CB	Resíduo HB	Semente pura
Umidade	4,04 ± 0,07 ^a	6,83 ± 0,55 ^b	3,27 ± 0,05 ^a
Proteína bruta (N x 6,25)	23,75 ± 0,21 ^a	20,54 ± 0,21 ^b	33,75 ± 0,24 ^c
Gordura	8,74 ± 0,64 ^a	7,95 ± 0,39 ^a	27,32 ± 0,80 ^b
Cinzas	3,37 ± 0,11 ^a	3,88 ± 0,07 ^b	3,80 ± 0,06 ^b
Carboidratos (por diferença)	60,80 ± 0,71 ^a	60,10 ± 0,94 ^a	31,86 ± 0,94 ^b

a,b,c Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes (P < 0,05).

TABELA 7: Composição química aproximada de peles do resíduo originário dos tratamentos CB, HB, após secagem.

Componente (% p/p)	Resíduo CB	Resíduo HB
Umidade	6,50 ± 0,21 ^a	8,75 ± 0,28 ^b
Proteína bruta (N x 6,25)	9,45 ± 0,18 ^a	7,32 ± 0,26 ^b
Gordura	3,83 ± 0,26 ^a	3,25 ± 0,09 ^a
Cinzas	2,73 ± 0,12 ^a	2,25 ± 0,10 ^b
Carboidratos (por diferença)	77,49 ± 0,22 ^a	78,43 ± 0,56 ^a

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes (P < 0,05).

TABELA 8: Composição química aproximada de sementes de tomate originárias dos tratamentos CB, HB, após secagem.

Componente (% p/p)	Resíduo CB	Resíduo HB
Umidade	3,41 ± 0,23 ^a	3,05 ± 0,36 ^b
Proteína bruta (N x 6,25)	35,26 ± 0,23 ^a	33,15 ± 0,51 ^b
Gordura	26,28 ± 0,44 ^a	24,13 ± 0,67 ^b
Cinzas	2,95 ± 0,52 ^a	3,19 ± 0,36 ^b
Carboidratos (por diferença)	32,10 ± 0,87 ^a	36,48 ± 1,48 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes (P < 0,05).

totalmente hidrolisados pelas enzimas pectinolíticas podendo, desta forma, reter maior quantidade de água nos agregados que em sementes isoladas.

De acordo com a Tabela 8, pode-se verificar que a composição química de sementes isoladas do resíduo CB e HB diferiu significativamente a nível de todos os componentes, embora os valores obtidos sejam bem próximos.

Dados de composição química relativos a % de proteína e gordura estão na faixa daqueles apresentados pela literatura (Esselen e Fellers, 1939; McKay e Smith, 1940; Tsatsaronis e Boskou, 1975; Kramer e Kwee, 1977b; Brodowski e Geisman, 1980) e diferenças existentes, conforme já foi discutido por diversos autores, são devidas às variedades de tomates cultivadas, técnicas de processamento e cultivo, clima, solo, uma vez que no nosso caso, resíduos foram obtidos de diferentes cultivares. A Tabela 9 fornece a % de umidade da matéria-prima recém obtida da indústria, onde se observaram altos valores.

EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS DOS DIVERSOS RESÍDUOS

Determinação da relação ótima de solvente:amostra

Considerando-se os resultados na Tabela 10 a relação ótima obtida entre amostra:solvente foi 1:20, tanto para resíduo CB e HB como para semente pura para ambos materiais seco e úmido. Essa proporção foi utilizada em todos os experimentos de extração.

TABELA 9: Determinação da % de umidade da matéria-prima recém obtida da indústria.

Matéria-prima	% de Umidade
Resíduo CB	75,37 $\pm$ 0,52
Resíduo HB	79,84 $\pm$ 0,43
Semente pura	69,33 $\pm$ 0,80

TABELA 10: Determinação da relação ótima de matéria-prima seca e úmida : solvente a ser utilizada nos experimentos de extração das proteínas.

Relação amostra : solvente	Características do material
1 : 5	Grande compactação; impossível agitação mecânica ou trituração, tanto para material seco como úmido;
1 : 10	Comportamento identico à relação 1 : 5, com o material apresentando grande capacidade de absorção de água, tornando ineficiente a operação de centrifugação levando a baixos rendimentos de extração, tanto para matéria seca com úmida;
1 : 15	Relação razoável para semente pura seca, porém para os resíduos CB e HB secos, ainda foi grande a capacidade de absorção de água com dificuldades nas etapas de agitação e centrifugação. Para o material úmido, a proporção foi adequada.
1 : 20	Relação ideal para semente e resíduos CB e HB, secos e úmidos, permitindo agitação e homogeneização do material eficientemente.

Determinação das condições ótimas de extração

Dados de rendimento de extração para os processos descritos são apresentados nas Tabelas 11, 12, 13, 14 e 15, com relação à matéria-prima seca e úmida, efeito de diferentes ácidos e temperatura.

Para a matéria-prima seca, resultados indicados nas Tabelas 11, 12, e 13, mostraram que o pH ótimo de extração foi 12,0 para os três resíduos, CB, HB e semente pura. Em vários processos tentativos, visando otimizar o rendimento, cujos dados não estão apresentados no trabalho, uma vez que foram obtidos a partir de variações mínimas na metodologia, verificou-se que maior eficiência foi obtida quando os diferentes resíduos das matérias-primas foram dispersos em solução de NaOH 0,1%, resultando no pH 12,0, quando comparado ao ajuste do pH da solução em pHmetro com NaOH 1N. Isto pode ser devido ao fato de que o acréscimo de líquido de solução de NaOH 1N para elevar o pH a 12,0 alterou a relação amostra seca: solvente (água), diminuindo a eficiência na etapa de centrifugação.

O pH ótimo de precipitação, onde ocorreu maior recuperação de proteínas para os três resíduos foi 3,5, indicando ser este o ponto isoelétrico da maioria das proteínas presentes. Dessa forma, para amostra seca, extração a pH 12,0 e precipitação a pH 3,5 foram os parâmetros ideais resultando em rendimento de 55,68; 54,06 e 58,79%, respectivamente, para os resíduos CB, HB e semente pura, em processos idênticos de extração.

TABELA 11: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT - CB, HB e semente pura, secos, precipitados com ácido clorídrico 1N (expresso em % da proteína total precipitada).

Matéria-prima	pH de extração	pH de precipitação						
		2,0	3,0	3,5	4,5	5,0	6,0	7,0
Resíduo CB	7,5	12,75	11,02	13,50	12,17	11,02	10,97	7,54
	8,5	14,52	16,50	17,75	15,05	14,02	9,67	6,74
	9,0	16,21	18,23	19,94	17,41	17,15	10,37	5,81
	10,0	18,42	24,82	32,17	27,78	22,15	11,72	7,28
	11,0	21,85	31,70	39,82	26,50	19,75	12,62	9,95
	12,0	34,45	40,53	55,68	33,87	29,70	14,88	10,35
Resíduo HB	7,5	13,65	14,95	13,98	13,15	12,12	8,55	4,39
	8,5	15,07	17,13	21,24	18,37	16,85	10,23	6,78
	9,0	17,54	20,41	23,70	20,78	18,46	14,56	9,45
	10,0	24,37	26,48	35,74	28,75	21,14	11,94	8,24
	11,0	22,45	30,58	41,28	25,37	23,93	10,47	7,97
	12,0	36,82	41,25	54,06	34,65	30,07	14,82	8,61
Semente pura	7,5	11,03	11,98	13,89	12,14	10,97	8,43	5,17
	8,5	12,17	15,95	17,95	15,05	15,31	10,63	6,38
	9,0	13,15	16,81	20,95	15,81	16,00	11,43	4,48
	10,0	19,68	21,13	35,82	22,17	15,56	14,58	8,23
	11,0	22,44	27,82	43,27	29,75	18,45	9,67	7,75
	12,0	32,37	42,73	58,79	33,34	31,80	12,24	9,77

TABELA 12: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT - CB, HB e semente pura, secos, precipitados com ácido acético 1N (expresso em % da proteína total precipitada).

Matéria-prima	pH de extração	pH de precipitação						
		2,0	3,0	3,5	4,5	5,0	6,0	7,0
Resíduo CB	7,5	10,55	12,24	13,41	9,61	7,51	6,39	5,75
	8,5	14,32	12,26	16,20	13,33	9,11	8,29	7,69
	9,0	15,67	17,85	19,73	15,62	11,64	9,44	6,23
	10,0	19,57	22,16	30,60	20,38	17,50	12,48	11,83
	11,0	22,95	37,59	41,26	29,50	13,28	11,85	9,93
	12,0	25,54	36,56	52,05	31,67	21,78	17,46	13,66
Resíduo HB	7,5	9,34	10,32	12,88	11,63	9,68	7,92	5,21
	8,5	13,58	15,53	19,42	14,52	11,43	9,35	8,48
	9,0	12,66	19,37	24,75	18,49	12,30	7,72	7,57
	10,0	18,47	26,48	36,82	17,25	13,25	12,47	10,02
	11,0	20,17	29,81	42,41	25,11	16,85	14,70	12,75
	12,0	25,67	38,72	53,25	32,16	26,74	17,18	10,71
Semente pura	7,5	7,36	9,08	12,30	11,91	8,42	5,35	3,07
	8,5	11,61	13,42	15,74	12,86	9,31	7,28	5,63
	9,0	16,40	14,68	20,15	14,61	10,12	7,65	4,91
	10,0	18,22	24,97	32,29	19,67	13,28	8,46	10,30
	11,0	22,56	35,78	46,35	22,27	15,60	16,70	9,62
	12,0	29,72	38,37	54,13	30,03	18,45	15,81	11,24

TABELA 13: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT - CB, HB e semente pura, secos, precipitadas com ácido cítrico 1N (expresso em % da proteína total precipitada).

Matéria-prima	pH de extração	pH de precipitação						
		2,0	3,0	3,5	4,5	5,0	6,0	7,0
Resíduo CB	7,5	9,31	7,53	11,34	10,47	7,17	5,10	3,67
	8,5	10,62	12,20	13,82	9,23	8,49	6,14	7,78
	9,0	12,42	15,75	20,26	14,42	9,18	6,12	4,35
	10,0	16,16	13,93	29,52	20,51	15,54	9,15	10,80
	11,0	21,38	28,02	36,83	30,77	18,38	14,40	10,67
	12,0	26,37	32,18	48,76	29,26	21,30	17,78	12,38
Resíduo HB	7,5	6,25	7,33	10,71	8,59	6,00	4,13	3,10
	8,5	10,74	13,17	18,64	15,19	10,52	9,22	7,75
	9,0	14,49	17,28	21,45	14,48	10,82	8,91	7,60
	10,0	15,56	24,63	30,81	21,17	15,90	10,50	9,95
	11,0	19,32	30,08	37,93	28,33	14,32	11,51	9,15
	12,0	16,67	37,47	46,07	34,16	21,17	18,19	12,65
Semente pura	7,5	7,15	8,73	10,15	11,36	9,59	6,95	4,21
	8,5	11,29	12,13	14,24	13,70	10,89	8,20	5,68
	9,0	13,72	16,83	18,32	15,11	11,14	10,18	8,83
	10,0	19,77	25,31	31,69	24,13	14,56	10,30	7,96
	11,0	23,95	29,65	39,88	40,76	22,08	12,22	9,85
	12,0	25,67	40,14	47,68	38,32	24,55	12,27	11,97

Na região próxima ao pH 3,5, houve uma razoável recuperação de proteínas com rendimento variando entre 30 e 40%. Os resultados obtidos estão de acordo com Kramer e Kwee (1977b), que, embora utilizando processo de extração diferente, baseado na prensagem do material úmido alcalinizado, encontraram que uma maior quantidade de proteína foi obtida pela precipitação direta a pH 3,5, quando comparada à precipitação fracionada nos pHs 4,8 e 4,0.

A comparação entre valores de rendimento (Tabelas 11, 12 e 13) obtidos para os resíduos CB, HB e semente pura, indicou que estes foram semelhantes nos seus pontos de máximo, sugerindo que o processo de extração adotado teve a mesma eficiência para as diferentes matérias-primas estudadas.

Na avaliação do efeito dos diferentes ácidos, clorídrico, acético e cítrico como agentes precipitantes, ácido cítrico foi o que apresentou menores valores de rendimento, diminuindo a eficácia do processo de extração em 12,43; 14,78 e 18,90% para resíduos CB, HB e semente pura, respectivamente, em relação aos máximos observados quando HCl foi utilizado. A influência do ácido acético, nesse sentido, foi diminuir o rendimento em 6,52, 1,50 e 7,93% para os mesmos resíduos na ordem anterior. Ácido acético, portanto, apresentou praticamente a mesma eficiência que o ácido clorídrico na recuperação de proteínas. Uma possível explicação para os menores valores de rendimento observados para o ácido cítrico, pode estar relacionada com a força do ácido e concentração hidrogeniônica na normalidade utilizada. Foi observado que um volume maior de

solução 1N de ácido cítrico foi necessário para diminuir o pH da solução proteica para 3,5 quando comparado com HCl e ácido acético, podendo isto ter contribuído para uma maior dissolução das proteínas, as quais foram arrastadas na etapa posterior de centrifugação.

Os resultados obtidos apontam para o fato de que, embora apresentando um valor um pouco mais baixo de rendimento proteico, ácido cítrico e acético poderão ser usados na obtenção do isolado, o que poderá ser útil caso se pretenda a utilização do produto em alimentos.

O processo de extração para matéria-prima úmida apresentou valores de rendimento bem inferiores a aqueles obtidos para material seco, conforme Tabela 14.

O pH de extração alcalina que proporcionou máxima recuperação de proteínas foi 9,0, para resíduos CB, HB e semente pura, tendo sido observada intensa mudança de coloração dos bagaços, constituídos de peles e sementes a pH 11,0 e 12,0 de vermelho-alaranjado para marrom-avermelhado. O pH de precipitação máxima manteve-se o mesmo que no processo anterior, ou seja 3,5.

Os valores de rendimento relativamente baixos encontrados para matéria-prima úmida podem ser discutidos em termos da eficiência de algumas etapas de extração e da natureza da matéria-prima. No caso da matéria-prima seca, a moagem do material foi suficientemente eficaz para romper sementes e peles, formando um material homogêneo, rompendo barreiras celulósicas mais eficientemente e tornando as proteínas mais expostas ao solvente para serem extraídas. Já no material úmido, a trituração

TABELA 14: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT - CB, HB e semente pura, úmidos, precipitadas com ácido acético 1N (expresso em % da proteína total precipitada).

Matéria-prima	pH de extração	pH de precipitação						
		2,0	3,0	3,5	4,5	5,0	6,0	7,0
Resíduo CB	7,5	11,74	13,91	17,47	14,88	8,93	5,27	6,38
	8,5	14,02	19,58	26,82	20,24	13,50	10,43	9,27
	9,0	19,08	30,99	39,96	28,25	20,97	12,61	8,72
	10,0	17,46	27,11	45,98	25,35	17,56	12,50	7,71
	11,0	13,47	26,12	32,81	21,81	16,33	9,26	6,96
	12,0	11,20	22,43	29,35	20,49	13,85	8,44	4,89
Resíduo HB	7,5	11,76	14,03	19,87	16,56	10,59	7,23	6,22
	8,5	13,48	19,98	25,77	21,80	15,65	11,43	7,37
	9,0	18,53	31,45	38,71	32,52	18,06	10,72	9,51
	10,0	19,40	27,55	34,47	28,29	20,64	13,08	8,79
	11,0	17,32	23,39	31,97	24,24	18,53	10,81	4,86
	12,0	12,77	19,08	29,00	19,90	14,12	9,30	5,29
	7,5	14,57	15,23	19,84	17,38	13,42	11,50	7,96
	8,5	15,31	23,73	30,48	20,04	10,41	10,30	9,89
	9,0	18,05	34,92	42,34	23,27	15,83	12,94	10,54
	10,0	16,75	23,21	37,45	21,75	16,49	11,76	8,46
	11,0	13,86	28,55	35,41	19,50	11,46	7,74	6,95
	12,0	12,28	24,41	30,32	18,36	15,88	11,00	5,28

da matéria-prima, devido à presença de mucilagem contendo pectinas e peles com alto teor de umidade foi ineficiente, tendo sido visíveis ao final da operação, sementes intactas que não tiveram suas estruturas completamente rompidas e assim, dificultando a solubilização das proteínas durante a extração. O processo de recuperação de proteínas do material úmido sugerido por Kramer e Kwee (1977b), teve como uma das etapas, moagem do material em moinho de bola, a fim de desintegrar as sementes, facilitando a extração de proteínas e formando uma pasta juntamente com peles e mucilagem. Entretanto, em experimento conduzido neste tipo de equipamento, ocorreu um aquecimento excessivo da pasta final obtida, a qual continha ainda, sementes intactas, sendo necessário um tempo bastante longo para que a operação de desintegração fosse eficiente. Além disso, equipamentos desse tipo não encontram utilização comum. Portanto, otimizar um processo de extração em tais condições de laboratório, fazendo uso do moinho, corresponderia a impor uma séria limitação na produção em escala do concentrado do RIPT.

A extração da matéria-prima seca e úmida em diferentes temperaturas (45, 60 e 90°C), apresentou substanciais diminuições de rendimento, principalmente em temperaturas mais elevadas (90°C). Ainda, o efeito da temperatura foi mais prejudicial para o material úmido do que para o material seco, conforme os dados apresentados na Tabela 15. A 45°C foram observados os mesmos parâmetros de extração com máximo rendimento a pH 12,0 para material seco e 9,0 para material úmido. Entretanto, a 60°C, o pH ótimo de extração modificou-se para os resíduos CB, HB e semente

TABELA 15: Rendimento do processo de extração de proteínas do RIPT - CB, HB e semente pura, seco e úmido, precipitadas com ácido clorídrico a pH 3,5, em função da temperatura e pH de extração (expresso em % da proteína total precipitada).

Temperatura (°C)	pH de extração	Resíduo CB		Resíduo HB		Semente pura	
		seco	úmido	seco	úmido	seco	úmido
45	7,5	10,67	15,18	9,40	18,28	14,51	10,31
	8,5	15,29	28,34	13,62	24,58	18,23	26,74
	9,0	19,20	34,28	18,52	31,17	23,05	35,60
	10,0	26,25	29,09	27,63	28,64	31,31	31,17
	11,0	31,15	22,59	35,82	21,27	39,61	29,13
	12,0	39,91	19,32	42,48	18,11	47,24	24,45
60	7,5	11,15	15,25	13,50	12,33	11,39	8,35
	8,5	19,56	26,37	17,26	18,46	15,38	16,70
	9,0	24,73	29,86	19,63	25,52	20,25	26,67
	10,0	25,04	21,19	25,32	23,69	27,53	21,63
	11,0	20,30	16,35	24,66	18,77	25,38	19,44
	12,0	20,48	13,64	23,41	14,43	21,14	17,25
90	7,5	4,11	8,55	6,52	10,82	7,57	7,28
	8,5	12,95	13,76	11,63	15,54	15,46	18,13
	9,0	19,82	19,38	19,65	17,84	18,25	19,39
	10,0	18,68	14,19	14,42	13,48	17,86	15,35
	11,0	15,75	10,17	12,31	12,60	13,57	12,04
	12,0	10,16	6,35	9,36	8,31	11,90	10,42

pura secos, em contraste ao valor 12,0 observado a 25°C para os mesmos resíduos. Para o material úmido o pH ótimo de extração foi 9,0, como a 25°C. A 90°C, o pH ótimo para todos os experimentos com material seco e úmido foi 9,0, com rendimentos muito baixos a pH 11,0 e 12,0, onde anteriormente encontravam-se os valores ótimos para matéria-prima seca.

Este fato pode ser explicado levando-se em consideração que nas temperaturas utilizadas e em altos valores de pH, ocorreu a produção de agregados proteicos insolúveis, os quais não foram recuperados no sobrenadante, sendo descartados junto com os resíduos após a primeira centrifugação (Pomeranz, 1985).

A Tabela 16 fornece as diminuições nos rendimentos ocorridos nos valores ótimos quando as diferentes temperaturas foram aplicadas. Nossos dados indicam que em temperaturas mais elevadas, a eficiência da extração diminui sensivelmente, sendo que a 60°C e, principalmente a 90°C, ocorreram diminuições de rendimento de 55 a 68%. Os resultados estão de acordo com Knorr (1983), que em sua revisão concluiu que, coagulação ou precipitação de proteínas à temperatura ambiente tem sido escolhida pela maioria dos pesquisadores por reduzir desnaturação térmica das proteínas.

A composição química dos isolados proteicos obtidos a 25°C a partir de resíduos CB, HB e semente pura precipitados com ácido clorídrico, acético e cítrico é apresentado nas Tabelas 17, 18 e 19. A partir da análise estatística pode-se observar que para cada um dos resíduos, não houve diferenças significativas nos dados de composição química para os isolados obtidos com os

TABELA 16: Diminuição de rendimento (%) ocorrida na extração de proteínas do RIPT - CB, HB e semente pura, sob efeito de diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Resíduo CB		Resíduo HB		Semente pura	
	seco	úmido	seco	úmido	seco	úmido
45	32,11	14,21	27,74	19,48	19,64	15,92
60	55,58	25,27	55,71	34,12	53,17	37,01
90	63,34	51,20	63,65	53,91	68,96	54,20

TABELA 17: Composição química dos isolados proteicos obtidos a partir do RIPT - CB, precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.

Componente (% p/p)	Ácido clorídrico	Ácido acético	Ácido cítrico
Umidade	4,63 ± 0,16 ^a	5,41 ± 0,23 ^a	4,78 ± 0,74 ^a
Proteína bruta (N x 6,25)	53,01 ± 1,56 ^a	50,96 ± 1,54 ^a	50,35 ± 1,12 ^a
Gordura	16,62 ± 1,81 ^a	20,77 ± 0,92 ^a	20,21 ± 0,76 ^a
Cinzas	3,02 ± 0,21 ^a	2,54 ± 0,27 ^a	2,28 ± 0,31 ^a
Carboidratos (por diferença)	22,72 ± 0,20 ^a	20,32 ± 1,92 ^a	22,37 ± 0,13 ^a

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes (P < 0,05).

TABELA 18: Composição química dos isolados proteicos obtidos a partir do RIPT - HB, precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.

Componente (% p/p)	Ácido clorídrico	Ácido acético	Ácido cítrico
Umidade	4,33 ± 0,49 ^a	5,85 ± 0,25 ^a	5,17 ± 0,22 ^b
Proteína bruta (N x 6,25)	52,47 ± 1,15 ^a	50,89 ± 1,46 ^a	51,81 ± 1,16 ^a
Gordura	18,91 ± 0,72 ^a	17,54 ± 1,45 ^a	16,91 ± 1,93 ^a
Cinzas	3,91 ± 0,57 ^a	2,68 ± 0,38 ^a	2,94 ± 0,28 ^a
Carboidratos (por diferença)	20,78 ± 2,93 ^a	23,04 ± 2,47 ^a	23,17 ± 2,02 ^a

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Tabela 19: Composição química dos isolados proteicos obtidos a partir de semente pura de tomate, precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.

Componentes (% p/p)	Ácido clorídrico	Ácido acético	Ácido cítrico
Umidade	4,24 ± 0,10 ^a	5,04 ± 0,41 ^a	5,51 ± 0,16 ^b
Proteína bruta (N x 6,25)	65,00 ± 1,58 ^a	60,92 ± 1,72 ^a	58,32 ± 1,63 ^a
Gordura	23,39 ± 0,79 ^a	22,49 ± 1,34 ^a	25,15 ± 1,02 ^a
Cinzas	2,34 ± 0,32 ^a	1,98 ± 0,34 ^a	1,87 ± 0,28 ^a
Carboidratos (por diferença)	5,03 ± 2,89 ^a	9,57 ± 0,45 ^a	9,15 ± 3,08 ^a

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

três ácidos.

O isolado proteico proveniente da extração de proteínas de semente pura apresentou os mais altos valores de concentração proteica, sendo, 65% para ácido clorídrico, 60,92% para ácido acético e 58,32% para ácido cítrico em comparação aos isolados obtidos dos resíduos CB e HB, cujos valores situaram-se em torno de 50-53% de proteína bruta. Isto pode ser, em parte, devido aos baixos valores de carboidratos observados para isolados proteicos de semente pura (5-9%) em relação aos resíduos CB e HB (18-23%). Por sua vez, essa diferença pode ser explicada pelo fato de que na matéria-prima original, o bagaço constituído de peles, semente e mucilagem apresentou um elevado teor de carboidratos (aproximadamente 60%), praticamente o dobro daquele observado para semente pura (aproximadamente 30%). Ainda, na obtenção do isolado proteico de semente pura, a fonte original possuía um teor de proteína consideravelmente maior (33,75%) comparado a % de proteína dos resíduos CB e HB (23,75 e 20,54, respectivamente). Entre os diferentes ácidos, ácido clorídrico foi aquele que apresentou isolados proteicos com maior concentração de proteína para os três resíduos estudados, sendo também, conforme já foi discutido, aquele que levou a maiores rendimentos, cujo efeito foi mais pronunciado para semente pura e diferenças menos acentuadas para resíduos provenientes de bagaços.

Observou-se elevada recuperação de gordura para os resíduos CB e HB, os quais continham originalmente 8,74 e 7,95%, respectivamente, passando para 16-21% no isolado proteico CB e

16-20% no isolado HB. É possível que o processo de extração adotado tenha induzido a alguma modificação na estrutura terciária ou quaternária das moléculas de proteína expondo alguns sítios de ligação, onde moléculas de gordura se ligaram, não tendo sido arrastadas com fibras após etapas de centrifugação. Para semente pura, ácido cítrico produziu um isolado proteico com maior teor de gordura (25,15%). Embora obtidos por processo de extração diferente, mas que foi a base dos diversos processos tentativos, preliminarmente realizados, nossos dados de composição química dos isolados de sementes podem ser comparados com aqueles resultantes de pesquisas de Latlief e Knorr (1983a). Teores de gordura encontrados por estes autores foram maiores que os valores obtidos no presente trabalho e variaram de 31,0 a 48,2%, sendo que amostras precipitadas com ácido cítrico, contiveram significativamente menos gordura que aquelas obtidas com ácido clorídrico e mistura 50:50 de ácido cítrico:ácido clorídrico, ao contrário dos resultados que obtivemos. A partir dos resultados obtidos por aqueles autores, pode-se inferir que o rendimento e concentração proteica do isolado foram inferiores aos valores aqui obtidos, uma vez que entre % de gordura, cinzas e umidade, isolados precipitados com ácido clorídrico a 25°C apresentaram um valor de 50,02, restando portanto, 49,98% para serem divididos entre % de proteína, fibras e carboidratos.

Com relação ao teor de cinzas, os isolados obtidos com ácido clorídrico contiveram maiores valores que aqueles reportados no trabalho citado anteriormente, ressaltando ainda que estes foram inferiores ao teor de cinzas presente nas

matérias-primas originais, provavelmente devido às etapas de lavagens com água destilada no processo de extração.

Finalmente, é apresentado para complementar os dados relativos à extração, um balanço de massa para os três processos em relação à quantidade de material proteico obtido, esquematizando, aliás, como foram calculados os rendimentos (Figuras 3, 4 e 5).

FRACIONAMENTO DAS PROTEÍNAS PRESENTES NO RIPT-CB, HB E SEMENTE PURA EM ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

Separação eletroforética indicou a presença de três frações proteicas nos resíduos provenientes dos tratamentos CB e HB e semente pura, quando aplicados a 50, 100 e 150 ug de proteína por tubo. Quando se aplicou 200 ug de proteína por tubo ocorreu a visualização de uma quarta fração para os três resíduos, indicando que, muito provavelmente, sua concentração é bastante pequena nos isolados analisados. Como, nenhuma banda diferente apareceu nos resíduos, pelos dados apresentados na Figura 6, pode-se concluir que a semente é a matéria-prima que contribui com as proteínas presentes, não sendo o bagaço (peles e mucilagem) responsável por nenhuma das proteínas separadas eletroforeticamente.

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS

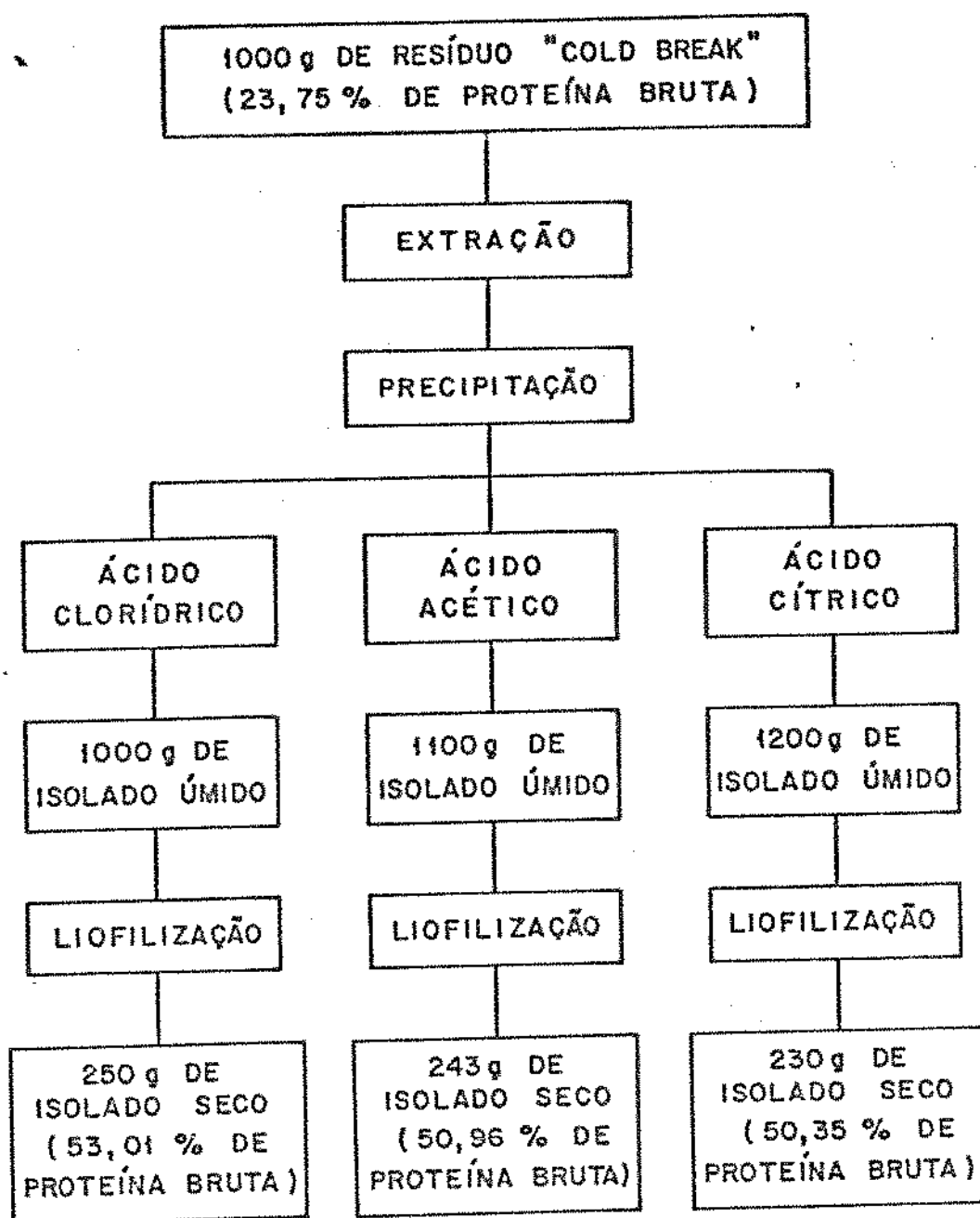


Fig. 3- Efeito dos ácidos clorídrico, acético e cítrico no balanço de massa proteico para o isolado obtido a partir de RIPT - CB.

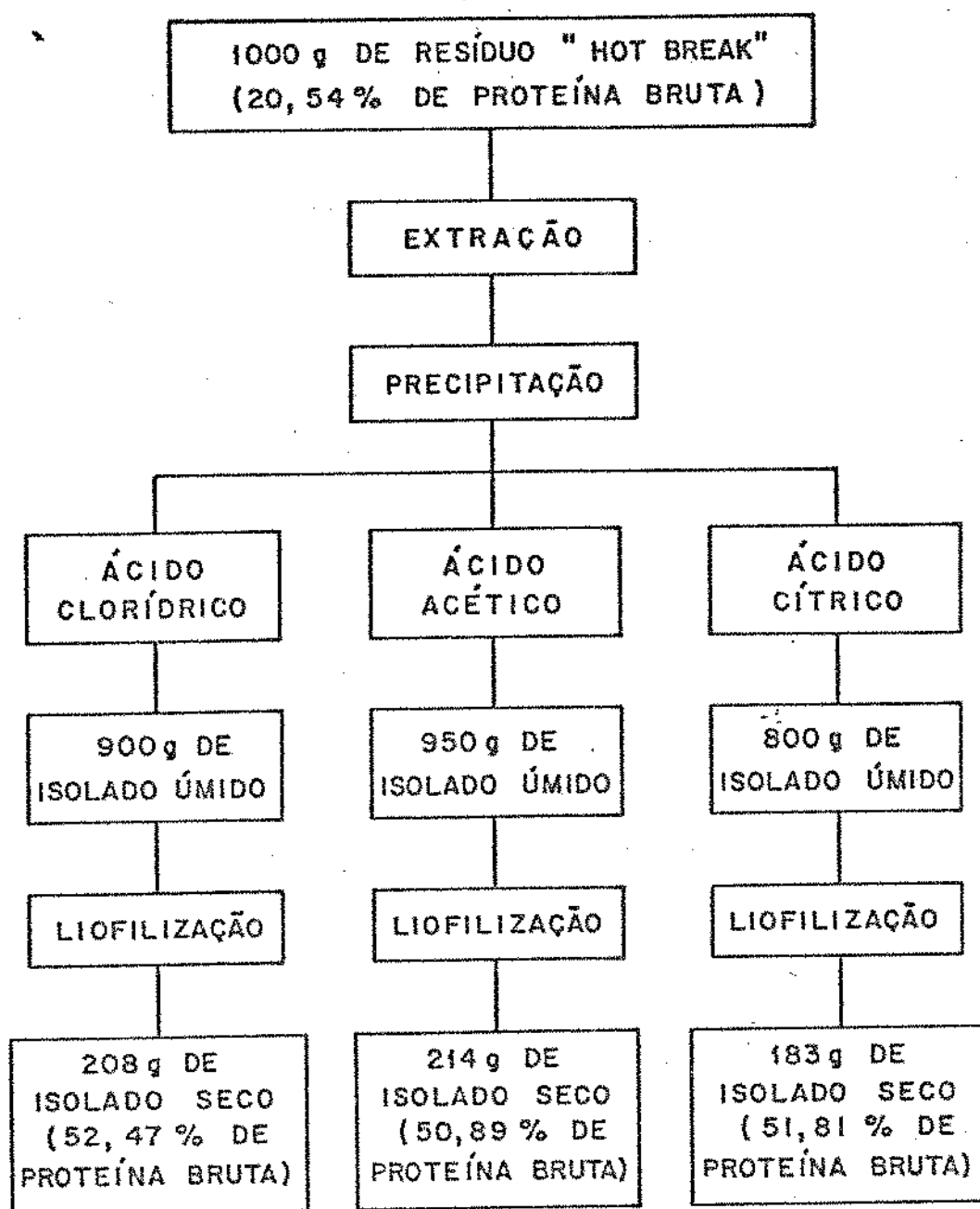


Fig. 4 - Efeito dos ácidos clorídrico, acético e cítrico no balanço de massa proteico para o isolado obtido a partir de RIPT - HB.

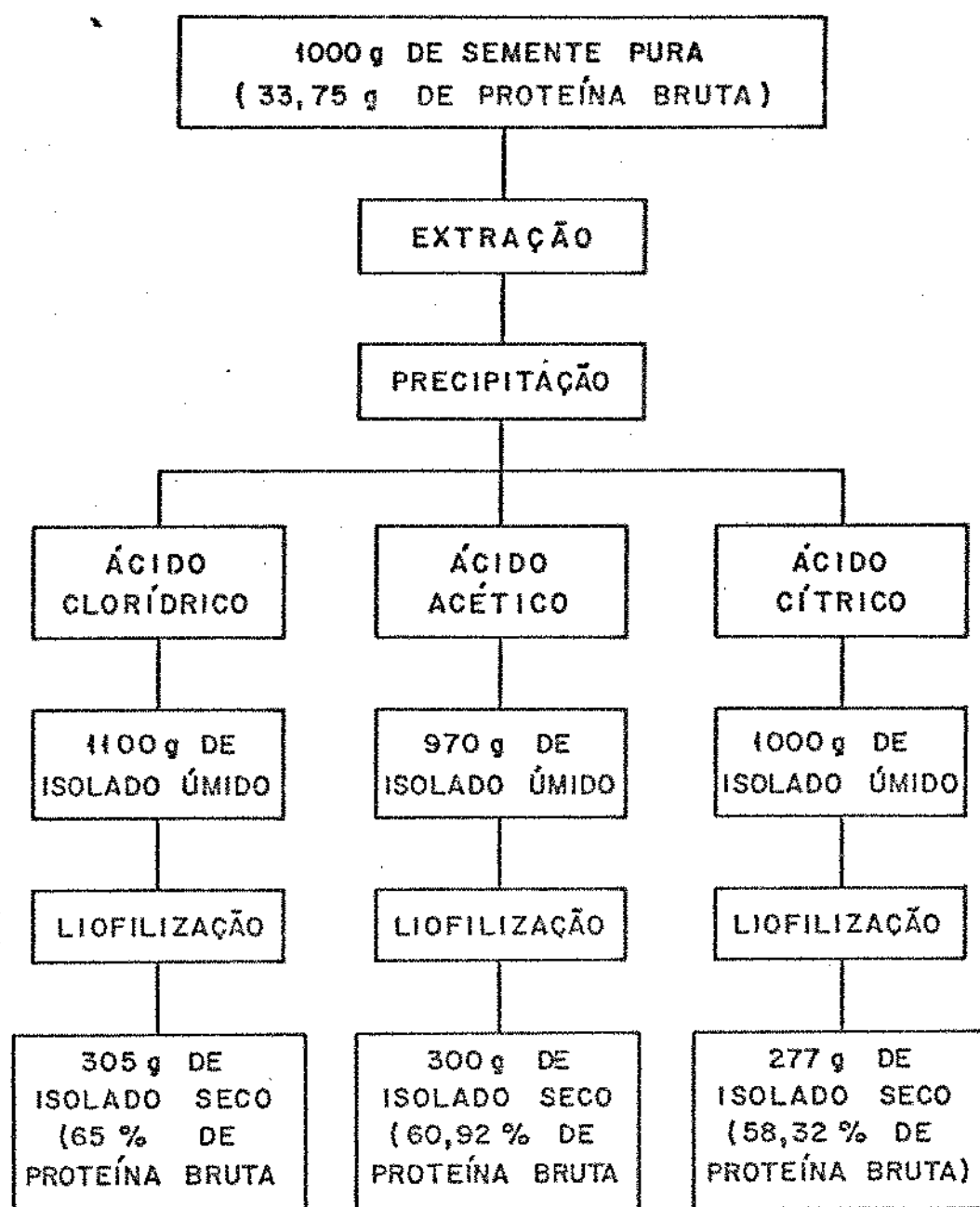


Fig. 5- Efeito dos ácidos clorídrico, acético e cítrico no balanço de massa proteico para o isolado obtido a partir de semente pura.

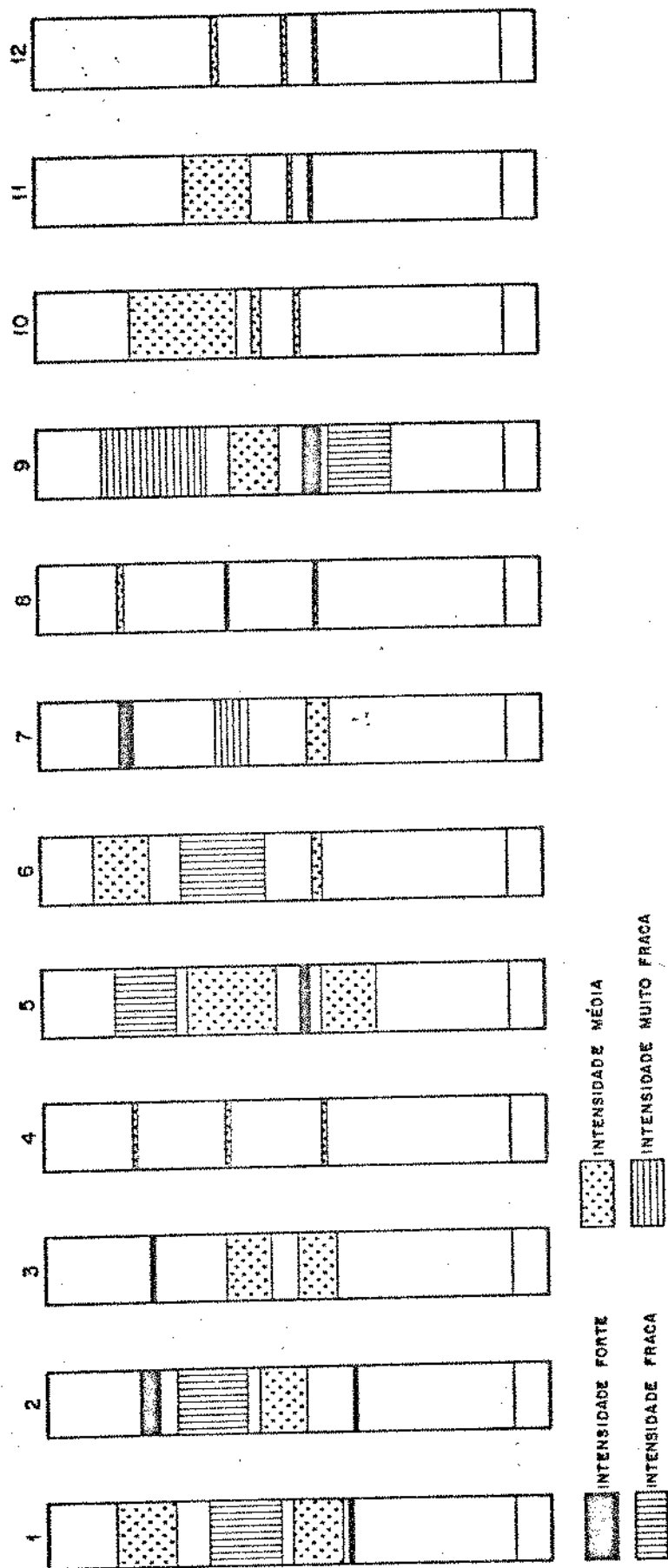


Fig. 6- Perfil eletroforético das proteínas das isoladas provenientes do resíduo industrial de processamento de tomate "cold break" (1, 2, 3 e 4); "hot break" (5, 6, 7 e 8) e semente pura (9, 10, 11 e 12).

CONCENTRAÇÕES DE
 AMOSTRAS APLICADAS (μg):

- 1, 5 e 9 = 200
- 2, 6 e 10 = 150
- 3, 7 e 11 = 100
- 4, 8 e 12 = 50

Teste de coagulação térmica

A % de proteína coagulada representa a quantidade de proteína solúvel total que precipitará após tratamento a 100°C, característica importante, caso se deseje a incorporação dos isolados em algum produto que receba tratamento térmico dessa ordem.

Os resíduos CB e HB apresentaram coagulação proteica com valores semelhantes, conforme os dados apresentados na Tabela 20, porém bem mais elevados que aqueles obtidos para o material proveniente (proteína solúvel) de semente pura. Esse comportamento não pode ser facilmente explicado, principalmente considerando-se que a maior parte do conteúdo proteico do RIPT CB e HB é proveniente da semente e portanto, a diferença não deveria ser tão marcante. Uma hipótese que poderia explicar o fato reside na diferença de tratamento recebido nos processos CB e HB, os quais são muito semelhantes e na obtenção de semente pura. Naqueles, os resíduos foram expostos à quebra de sementes, tratamento térmico mais intenso, choques na prensagem do bagaço para obter maiores rendimento em suco, o que não ocorreu na linha de processamento de sementes, uma vez que tais impactos levariam a sérios prejuízos para germinação futura. Com isso, proteínas dos resíduos dos tratamentos recebidos CB e HB, em função da severidade dos tratamentos recebidos, tornaram-se mais susceptíveis à desnaturação pelo calor.

Na avaliação do efeito de diferentes ácidos, verificou-se que ácido clorídrico produziu os maiores valores de coagulação

TABELA 20: Índice de proteína coagulada (%) para isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.

Ácido	pH	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
clorídrico	3,5	39,90 ± 2,09 ^a	36,84 ± 1,16 ^a	13,99 ± 1,19 ^b
	4,5	38,85 ± 2,11 ^a	37,08 ± 0,73 ^a	13,98 ± 1,26 ^b
	7,0	61,05 ± 1,27 ^a	61,05 ± 0,72 ^a	5,00 ± 1,24 ^b
acético	3,5	25,26 ± 1,17 ^a	30,85 ± 0,89 ^b	15,63 ± 1,30 ^c
	4,5	26,23 ± 1,50 ^a	34,06 ± 0,40 ^b	16,30 ± 0,88 ^c
	7,0	26,27 ± 0,88 ^a	35,40 ± 0,65 ^b	5,88 ± 1,50 ^c
cítrico	3,5	25,79 ± 0,40 ^a	22,04 ± 0,98 ^a	19,78 ± 2,06 ^b
	4,5	29,17 ± 1,48 ^a	29,88 ± 0,55 ^a	15,85 ± 1,12 ^b
	7,0	32,93 ± 1,94 ^a	33,54 ± 0,58 ^a	7,35 ± 0,85 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$)...

de transmitância foi possível. Para semente pura, entretanto, valores de % de coagulação térmica com ácido clorídrico foram ligeiramente menores que aqueles encontrados para ácido acético e cítrico, sendo, no entanto, bastante semelhantes para os três ácidos testados. Uma possível explicação é que, ao agir como agente coagulante, ácido clorídrico agregou as proteínas extraídas tornando-as mais susceptíveis à ação destas temperaturas, impedindo que maior quantidade ainda permaneça solúvel após tratamento térmico (Knorr, 1980). Entre ácido acético e cítrico, nenhuma conclusão final pode ser inferida, uma vez que valores foram variáveis, com maiores % de coagulação térmica para resíduos CB, menores para HB e muito semelhante para semente pura, na comparação entre ácido acético e cítrico, respectivamente. A Tabela 20 revela ainda, através da análise estatística, que, para ácido clorídrico e cítrico, o índice de proteína coagulada para os isolados proteicos obtidos do processo CB e HB não diferiram significativamente, porém ambos foram diferentes dos valores apresentados pelo isolado de semente pura. No caso do ácido acético, os dados de coagulação proteica foram diferentes para os três isolados.

Com relação aos diferentes pHs onde foi avaliada a propriedade de coagulação térmica, menores valores foram geralmente encontrados em pHs 3,5 e 4,5 que em 7,0, para os resíduos CB e HB, com comportamento inverso em pH 7,0 para semente pura, onde mais baixos valores de coagulação térmica foram observados. Este fato parece estar relacionado ao estado das proteínas nos pHs analisados (Lawhon e Cater, 1971). Conforme

foi previamente determinado, pH 3,5 é o ponto isoelétrico da maioria das proteínas presentes, onde ocorre mínima solubilidade e, portanto, as proteínas encontram-se num estado agregado onde o efeito do calor nas condições do experimento pode não ter sido tão efetivo para coagular as proteínas como no pH 7,0, onde a % de proteína solúvel foi maior e, portanto, estando mais livres em solução, puderam coagular mais facilmente. Entretanto, o comportamento anômalo para proteínas de semente pura, pode ser devido à hipótese de que embora uma maior % de proteína solúvel seja observada no pH 7,0, estas sejam resistentes à coagulação térmica.

Nos pHs 9,0 e 12,0, em todos os casos, não foi possível ter a % de transmitância devido à intensa reação de cor com o reagente de biureto e formação de coágulos, grumos escuros, provavelmente devido ao excesso de proteína solúvel.

Comparação com os valores obtidos por Kramer e Kwee (1977a), indicou que apenas isolados proteicos obtidos do resíduo HB, precipitado com ácido acético aproximou-se da % de proteína coagulada encontrada por estes autores (26,78%). Essas diferenças para outros resíduos, podem ser devidas ao método de extração de proteínas, o qual foi diferente nos dois estudos.

Solubilidade

Os valores de índices de nitrogênio solúvel estão apresentados nas Tabelas 21, 22 e 23 para isolados proteicos provenientes de tratamento CB, HB e semente pura, obtidos por

TABELA 21: Índice de nitrogênio solúvel (INS) para isolados proteicos obtidos a partir do RIPT - CB, HB e semente pura, precipitados com ácido clorídrico.

pH	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
1,0	13,00 $\pm$ 0,64 ^a	14,34 $\pm$ 0,48 ^a	12,50 $\pm$ 0,49 ^b
2,0	9,33 $\pm$ 0,80 ^a	10,07 $\pm$ 0,41 ^a	11,45 $\pm$ 0,56 ^b
3,0	8,23 $\pm$ 0,32 ^a	8,53 $\pm$ 0,43 ^a	9,03 $\pm$ 1,02 ^a
3,5	7,46 $\pm$ 0,71 ^a	6,20 $\pm$ 0,40 ^a	3,82 $\pm$ 0,25 ^b
4,5	9,33 $\pm$ 0,24 ^a	7,49 $\pm$ 0,54 ^b	8,97 $\pm$ 0,68 ^a
5,0	15,30 $\pm$ 0,65 ^a	14,33 $\pm$ 0,37 ^a	27,08 $\pm$ 0,67 ^b
6,0	31,34 $\pm$ 0,44 ^a	30,23 $\pm$ 0,39 ^a	39,58 $\pm$ 0,91 ^b
7,0	42,91 $\pm$ 0,36 ^a	43,23 $\pm$ 0,33 ^a	48,61 $\pm$ 1,05 ^b
8,0	54,97 $\pm$ 0,72 ^a	54,65 $\pm$ 1,04 ^a	57,29 $\pm$ 0,59 ^b
9,0	64,55 $\pm$ 0,73 ^a	64,09 $\pm$ 1,57 ^a	60,76 $\pm$ 0,53 ^b
10,0	69,03 $\pm$ 0,92 ^b	68,60 $\pm$ 1,00 ^a	69,44 $\pm$ 1,29 ^a
11,0	72,00 $\pm$ 0,14 ^a	72,09 $\pm$ 0,25 ^b	80,55 $\pm$ 1,16 ^b
12,0	79,48 $\pm$ 0,71 ^a	75,58 $\pm$ 0,39 ^a	88,54 $\pm$ 0,62 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA 22: Índice de nitrogênio solúvel (INS) para isolados proteicos obtidos a partir do RIPT - CB, HB e semente pura, precipitados com ácido acético.

pH	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
1,0	13,43 $\pm$ 1,92 ^a	13,44 $\pm$ 0,53 ^a	13,16 $\pm$ 0,43 ^a
2,0	11,57 $\pm$ 0,89 ^a	13,45 $\pm$ 0,76 ^a	12,10 $\pm$ 1,18 ^a
3,0	10,07 $\pm$ 1,30 ^a	11,86 $\pm$ 0,86 ^a	7,83 $\pm$ 0,75 ^a
3,5	7,09 $\pm$ 0,62 ^a	7,11 $\pm$ 0,22 ^a	4,98 $\pm$ 0,64 ^b
4,5	11,19 $\pm$ 0,64 ^a	9,88 $\pm$ 0,66 ^a	10,68 $\pm$ 1,23 ^a
5,0	20,15 $\pm$ 1,45 ^a	20,95 $\pm$ 0,57 ^a	24,19 $\pm$ 0,38 ^b
6,0	35,82 $\pm$ 0,43 ^a	35,18 $\pm$ 0,86 ^a	29,18 $\pm$ 0,99 ^b
7,0	45,89 $\pm$ 1,47 ^a	43,48 $\pm$ 0,72 ^a	43,06 $\pm$ 1,87 ^a
8,0	51,12 $\pm$ 0,56 ^a	56,92 $\pm$ 1,28 ^b	52,67 $\pm$ 0,97 ^a
9,0	59,33 $\pm$ 2,89 ^a	64,43 $\pm$ 0,67 ^b	66,19 $\pm$ 1,49 ^b
10,0	66,79 $\pm$ 1,66 ^a	70,35 $\pm$ 0,81 ^b	73,31 $\pm$ 1,44 ^b
11,0	72,01 $\pm$ 1,30 ^a	75,49 $\pm$ 1,54 ^a	87,54 $\pm$ 1,37 ^b
12,0	81,42 $\pm$ 0,75 ^a	80,24 $\pm$ 1,41 ^a	92,88 $\pm$ 3,67 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA 23: Índice de nitrogênio solúvel (INS) para isolados proteicos obtidos a partir do RIPT - CB, HB e semente pura, precipitados com ácido cítrico.

pH	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
1,0	14,41 ± 1,29 ^a	13,99 ± 1,54 ^a	13,72 ± 0,53 ^a
2,0	12,05 ± 0,75 ^a	11,43 ± 0,87 ^a	11,91 ± 1,15 ^a
3,0	10,03 ± 1,31 ^a	9,46 ± 0,80 ^a	9,71 ± 1,28 ^a
3,5	7,26 ± 0,75 ^a	7,80 ± 1,55 ^a	5,78 ± 1,29 ^a
4,5	10,84 ± 1,71 ^a	10,70 ± 1,65 ^a	8,30 ± 0,77 ^a
5,0	19,23 ± 0,96 ^a	20,58 ± 0,99 ^a	19,13 ± 1,65 ^a
6,0	32,45 ± 1,23 ^a	33,74 ± 1,85 ^a	27,90 ± 1,64 ^b
7,0	44,87 ± 2,09 ^a	48,97 ± 1,52 ^b	44,70 ± 0,73 ^a
8,0	57,27 ± 0,33 ^a	58,85 ± 2,26 ^a	55,60 ± 1,29 ^a
9,0	66,04 ± 2,01 ^a	68,21 ± 5,19 ^a	64,26 ± 0,94 ^a
10,0	69,62 ± 1,63 ^a	72,84 ± 1,41 ^a	71,84 ± 2,02 ^a
11,0	74,41 ± 1,30 ^a	79,00 ± 2,94 ^a	84,45 ± 1,47 ^b
12,0	80,09 ± 3,44 ^a	77,70 ± 2,39 ^a	89,53 ± 1,67 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

precipitação com ácidos clorídrico, acético e cítrico 1N.

Em todos os experimentos realizados, houve concordância no valor de mínima solubilidade, a qual ocorreu na região de pH 3,5 e, conforme já havia sido observado na definição dos parâmetros ideais de extração, este é o ponto isoelétrico das proteínas. Por outro lado, a região de maior solubilidade situou-se na região de pH 12,0.

A maioria dos resultados indicou que não houve diferenças significativas no INS na faixa de pH estudada entre os isolados CB e HB para os três ácidos e que ambos diferiram daquele obtido a partir de semente pura. No caso do ácido cítrico, os resultados foram um pouco variáveis, indicando, na maioria das vezes não haver diferença significativa entre os três isolados.

Observou-se ainda, que isolados proteicos de semente pura apresentaram-se menos solúveis que resíduos CB e HB na região do ponto isoelétrico (pH 3,5).

Capacidade de absorção de água

Os isolados proteicos das três matérias-primas estudadas, de acordo com a Tabela 24, apresentaram valores bastante semelhantes no que diz respeito à capacidade de absorção de água em termos de ml de água absorvida/g de amostra, não apresentando nenhuma diferença significativa entre os tratamentos CB, HB e semente pura. Em todas as condições testadas, foram encontrados altos valores, variando de 530-690% (matéria seca), o

TABELA 24: Capacidade de absorção de água (ml de água absorvida/g de amostra) para isolados proteicos e matéria-prima bruta obtidos a partir do RIPT - CB, HB e semente pura precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.

Ácido	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
clorídrico	6,62 ± 0,47 ^a	6,42 ± 0,31 ^a	6,90 ± 0,56 ^a
acético	5,98 ± 0,57 ^a	6,06 ± 0,53 ^a	6,01 ± 0,21 ^a
cítrico	5,52 ± 0,53 ^a	5,30 ± 0,42 ^a	6,04 ± 0,40 ^a
matéria-prima bruta	6,80 ± 0,59 ^a	6,30 ± 0,48 ^a	4,65 ± 0,42 ^a

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

que parece indicar a presença de muitos grupos hidrofílicos capazes de ligar água (Chou e Morr, 1979).

Isolados proteicos, obtidos de resíduos CB e HB precipitados com ácido clorídrico apresentaram resultados de capacidade de absorção de água bastante próximos daqueles observados para matéria-prima bruta após secagem, antes da extração, indicando que outros componentes, além da proteína, estão implicados na capacidade de absorção de água. Essa conclusão vem da observação de que, mesmo após concentração da proteína até cerca de 50-55% (concentração presente nos isolados proteicos), não houve sensível diferença em suas capacidades de ligarem água. Para os isolados precipitados com ácido acético e ácido cítrico, os resultados foram um pouco inferiores a aqueles precipitados com ácido clorídrico e do resíduo bruto. Como nestes isolados a % de proteína foi também ligeiramente inferior, alguma correlação pode ser inferida a partir deste fato.

É importante ressaltar também que, como a % de carboidratos diminuiu significativamente (de aproximadamente 60 para 18-23%), os quais podem também ligar água devido a seus grupamentos hidrofílicos (Huton e Campbell, 1971), o que aliás, justifica a alta capacidade de absorção de água na matéria-prima bruta, proteínas desempenham um importante papel na absorção de água dos isolados obtidos (Kinsella e Fox, 1986). Ainda, diferenças na composição de proteínas dos vários isolados podem ter tido um efeito adicional na capacidade de absorção de água (Hagenmaier, 1972; Fennema, 1985; Pomeranz, 1985)

Isolados obtidos a partir de semente pura precipitados com ácido clorídrico apresentaram a mais alta capacidade de absorção de água (6,9) em termos de ml de água absorvida/g de amostra, sendo bem superior ao resíduo bruto de semente pura, o qual apresentou um valor de 4,65. Neste caso, uma relação entre a % de proteína e capacidade de absorção de água mais definida pode ser estabelecida. A % de proteína no isolado variou de 58-65%, quase o dobro daquela presente no resíduo bruto e como a % de carboidratos e fibras foi reduzida de aproximadamente 30 para 5-9%, muito provavelmente proteínas atuaram predominantemente como agentes capazes de ligarem água no isolado proteico analisado.

Carlson et al. (1981) determinaram a capacidade de absorção de água para sementes de tomate seca e moída a pH 4,0, tendo encontrado um valor menor que aquele reportado neste trabalho, ou seja, 325% em comparação a 465%. Kramer e Kwee (1977a) determinaram por um outro método (secagem do "pellet" proteico em estufa a 100°C/24 horas) a capacidade de ligação de água de isolado proteico do RIPT extraído a partir de material úmido moído e prensado, alcalinizado a pH 8,0 e então precipitado a pH 3,5 com ácido clorídrico, encontrando um valor de 11,58 ml de água/g de proteína. Corrigindo os resultados aqui obtidos em termos de base proteica, observou-se que maiores valores foram reportados neste trabalho (12,23 ml de água /g de proteína para isolado proteico do tratamento CB e 12,49 ml de água/g de proteína para isolado proteico do tratamento HB), sendo todos os valores superiores ainda, ao isolado proteico de soja, o qual

apresentou um valor de 9,05 ml de água absorvida/g de proteína comparado no trabalho citado.

Capacidade de formação de espuma

Os resultados referentes às propriedades de formação de espuma dos diferentes isolados proteicos são dados nas Tabelas 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 e 32, indicando que o volume máximo de expansão e estabilidade das espumas foram marcadamente influenciados por condições tais como, concentração de proteína, pH, temperatura e velocidade de agitação utilizada durante a formação de espuma.

O efeito da concentração de proteína é demonstrado a partir dos dados das Tabelas 25, 26 e Figura 7 para os três isolados dos diferentes resíduos. Em todos os casos observou-se um aumento progressivo do volume máximo de espuma formado (ml) e diminuição da quantidade de líquido liberado após 30 minutos e 2 horas, indicando um aumento na estabilidade quando se aumentou a concentração de proteína na faixa de 1-10%.

Essa influência positiva do aumento da concentração proteica nas propriedades de formação de espuma tem sido demonstrada por vários autores (Watts, 1939; McDonald e Pence, 1968; Baldwin e Sinthavalia, 1974; Kinsella, 1976; Halling, 1981).

O resíduo de processamento CB forneceu isolados proteicos levemente superiores quanto à capacidade de formação de espuma e estabilidade em comparação com isolado proteico do

TABELA 25: Volume de expansão (ml, t=0 min) e estabilidade (ml de líquido liberado, t=30 min e 2 hrs) de espumas formadas por isolados proteicos obtidos de RIPT - CB, HB e semente pura, em função da concentração (pH 7,0; 25°C; 10.000 rpm).

Concentração do isolado proteico (%)	RIPT - CB			RIPT - HB			Semente pura		
	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs
1	163	64	78	150	69	80	101	91	98
2	197	65	73	195	68	83	120	87	95
4	220	52	69	205	45	72	150	80	93
6	265	42	65	255	42	67	154	77	90
8	294	37	67	278	40	68	185	77	93
10	310	38	57	300	44	69	202	73	90

TABELA 26: % de "Overrun" para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura, em função da concentração (pH 7,0; 25°C; 10.000 rpm).

Concentração do isolado proteico (%)	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
1	50 ^a	63 ^a	10 ^b
2	95 ^a	97 ^a	20 ^b
4	105 ^a	120 ^a	50 ^b
6	155 ^a	165 ^a	54 ^b
8	178 ^a	194 ^a	85 ^b
10	200 ^a	210 ^a	102 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes. (P < 0,05).

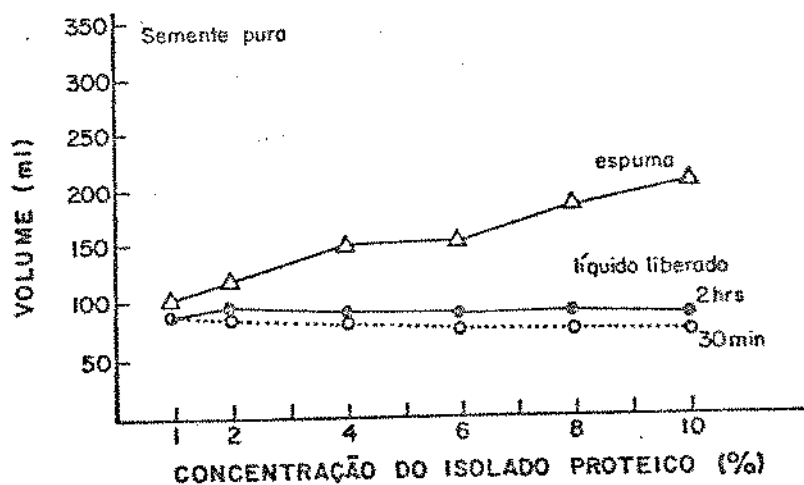
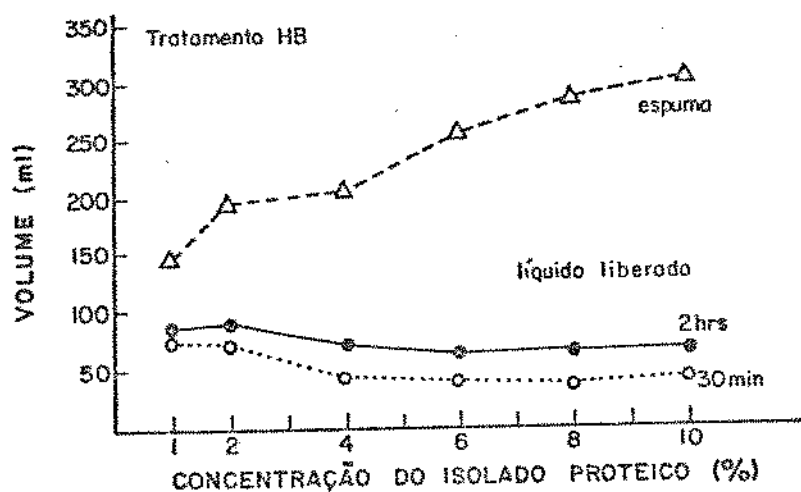
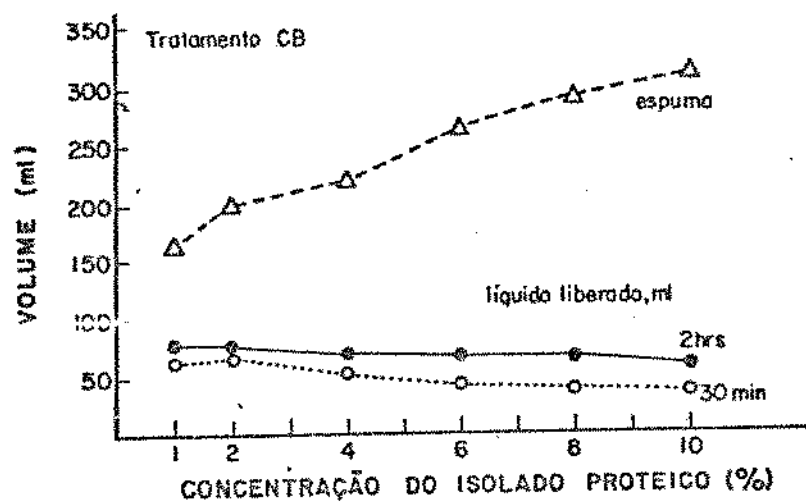


Fig.7 - Efeito da concentração de proteínas no volume de expansão (ml de espuma) e estabilidade (ml de líquido liberado) de espumas de isolados proteicos obtidos do RIPT.

tratamento HB, não sendo, entretanto diferentes significativamente com relação aos valores de "overrun", conforme apresentado na Tabela 26.

O isolado proteico de semente pura forneceu os menores volumes de expansão, com formação de espumas muito instáveis, fracas, com glóbulos de ar muito finos e baixa viscosidade, com quase total desaparecimento após os primeiros 30 minutos. Este fato não pode ser facilmente explicado, ao se considerar que o isolado proteico proveniente de semente pura contém a mais elevada % de proteína dos três estudados (65,0% em comparação a 53,01% para o isolado proveniente de resíduo CB e 52,47% para aquele proveniente de resíduo HB). Como proteínas atuam como agentes estabilizantes de espumas, um comportamento inverso deveria ter sido observado. Voltando à Tabela 17, a qual fornece a composição química dos diferentes isolados proteicos precipitados com ácido clorídrico utilizados para os experimentos de formação de espuma, observou-se que, de um modo geral, além da % de proteínas e gorduras, eles diferem significativamente na % de carboidratos (5% para isolado de semente pura, 22,72% para isolado de resíduo CB e 23,71% para isolado HB). Uma hipótese a ser considerada é que esses componentes possuam uma ação intensificadora e estabilizante nas espumas formadas pelo aumento da viscosidade dos filmes proteicos adsorvidos à interface, conferindo maior estabilidade e consistência nas espumas de isolados dos resíduos CB e HB (Halling, 1981). Aliás, foi observado que, em concentrações mais elevadas (6, 8 e 10%), as espumas dos isolados CB e HB apresentaram uma viscosidade

alta, com aspecto de "mousse", com glóbulos de ar muito pequenos, fortemente ligados, lembrando espuma formada pelas proteínas da clara de ovo, sabidamente possuidora de ótimas propriedades de formação de espuma (MacDonnell et al., 1955).

Nesse sentido, Hermansson et al. (1972) demonstraram que partículas insolúveis de concentrados proteicos de peixe atuaram como estabilizantes e sua remoção reduziu estabilidade de espumas formadas. Lin e Humbert (1974) sugeriram que outros constituintes, além das proteínas presentes em isolados de girassol podem ter ajudado na formação de espumas.

Um outro fato a ser considerado é que pode ter contribuído para uma menor formação de espuma e estabilidade observada nos isolados proteicos de semente pura foi a elevada % de gordura, 23,39%, em comparação aos valores de 16,52 e 18,91% para isolados proteicos de resíduos CB e HB, respectivamente. A presença de lipídeos acima de um nível crítico, ocasionando uma redução significativa na capacidade de formação e estabilização de espumas é um fato constatado por muitos autores e explicado pela alteração da expansão da proteína à interface e enfraquecimento ou rompimento das forças coesivas necessárias entre a camada de proteína em torno dos glóbulos de ar, resultando num rápido colapso da espuma (Wang e Kinsella, 1976). Lawhon et al. 1972 obtiveram melhores % de "overrun" e estabilidade de espumas de farinhas proteicas de algodão após remoção do óleo presente. Eldridge et al. (1963) reportaram que a remoção de fosfolipídeos de proteínas da soja melhorou substancialmente suas propriedades de formação de espuma. Bailey

(1935) detectou um efeito negativo de lipídeos da gema e óleo adicionado em espumas de ovoalbumina.

De acordo com a Figura 7, o aumento da concentração foi mais importante para proporcionar uma maior expansão da espuma que para melhorar sua estabilidade, uma vez que acima de 4% houve um platô com relação às quantidades de líquido liberado após 30 minutos e 2 horas, para os isolados proteicos de resíduos CB e HB. Abaixo de 4%, entretanto, a estabilidade medida nestes termos foi bem menor.

A existência de uma concentração ótima de proteína para proporcionar melhores resultados de estabilidade foi também reportado por Eldridge *et al.* (1963), o qual determinou que espumas de isolado proteico de soja apresentaram um platô a 3% em relação à estabilidade e drenagem das espumas, numa faixa de concentração proteica de 0,5-5,0%. Albumina do ovo em concentrações de 0,05-2,0% apresentou estabilidade constante acima de 0,1% (Halling, 1981). Deve-se ainda ressaltar com relação ao volume de expansão de espuma, que nas concentrações mais elevadas (8,0 e 10,0%) o efeito benéfico de aumento de volume não foi tão pronunciado como aquele observado quando se passou de baixas concentrações (1,0 e 2,0%) para aquelas mais elevadas.

O efeito do pH nos volumes e estabilidade de espumas dos diferentes isolados proteicos foi constatado pelos dados das Tabelas 27, 28, 29, 30 e Figuras 8 e 9. Espumas foram formadas com 8,0% dos isolados proteicos das diferentes matérias-primas a 25°C.

TABELA 27: Volume de espuma (ml, t=0 min) e estabilidade (ml de líquido liberado, t=30 min e 2 hrs) para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função do pH (concentração = 8%; 25°C; 2.000 rpm).

pH	RIPT -CB			RIPT - HB			Semente pura		
	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs
2,0	174	78	93	123	75	95	115	100	100
3,0	121	75	92	116	70	95	107	100	100
3,5	125	70	92	110	70	90	106	100	100
4,5	135	75	95	125	75	95	109	100	100
6,0	150	78	100	144	80	100	112	100	100
7,0	172	85	100	162	90	100	115	100	100
8,0	196	90	100	185	93	100	119	100	100
9,0	207	92	100	208	95	100	128	100	100
10,0	228	100	100	213	100	100	141	100	100
11,0	243	100	100	230	100	100	150	100	100
12,0	219	100	100	209	100	100	145	100	100

TABELA 28: % "Overrun" para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função do pH (concentração = 8%; 25°C; 2.000 rpm)

pH	RIPT -CB	RIPT - HB	Semente pura
2,0	34 ^a	23 ^a	15 ^a
3,0	21 ^a	16 ^a	7 ^a
3,5	25 ^a	10 ^a	6 ^a
4,5	35 ^a	25 ^a	9 ^b
6,0	50 ^a	44 ^a	12 ^b
7,0	72 ^a	62 ^a	15 ^b
8,0	96 ^a	85 ^a	19 ^b
9,0	107 ^a	108 ^a	27 ^b
10,0	128 ^a	113 ^a	41 ^b
11,0	143 ^a	130 ^a	50 ^b
12,0	119 ^a	169 ^b	45 ^c

a,b,c Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

TABELA 29: Volume de espuma (ml, t=0 min) e estabilidade (ml de líquido liberado, t=30 min e 2 hrs) para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função do pH (concentração = 8%; 25°C; 10.000 rpm).

pH	RIPT - CB			RIPT - HB			Semente pura		
	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs
2,0	277	42	80	280	53	79	183	76	81
3,0	270	38	72	244	40	78	180	79	84
3,5	250	24	56	220	27	60	174	76	87
4,5	273	30	60	247	45	65	179	78	89
6,0	286	35	64	263	38	80	180	80	90
7,0	294	37	67	278	40	78	185	77	92
8,0	307	40	78	290	35	73	187	79	93
9,0	310	44	79	305	41	71	192	75	86
10,0	335	68	75	315	69	86	220	79	85
11,0	365	78	84	350	78	92	261	80	91
12,0	324	89	96	340	93	97	240	83	98

TABELA 30: % "Overrun" para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função do pH (concentração = 8%; 25°C; 10.000 rpm)

pH	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
2,0	177 ^a	180 ^a	83 ^b
3,0	178 ^a	144 ^b	80 ^c
3,5	150 ^a	120 ^a	74 ^b
4,5	173 ^a	147 ^a	79 ^b
6,0	186 ^a	103 ^b	80 ^b
7,0	194 ^a	178 ^a	85 ^b
8,0	107 ^a	190 ^a	87 ^a
9,0	210 ^a	108 ^a	92 ^b
10,0	235 ^a	205 ^a	120 ^b
11,0	265 ^a	215 ^a	161 ^b
12,0	224 ^a	250 ^b	140 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

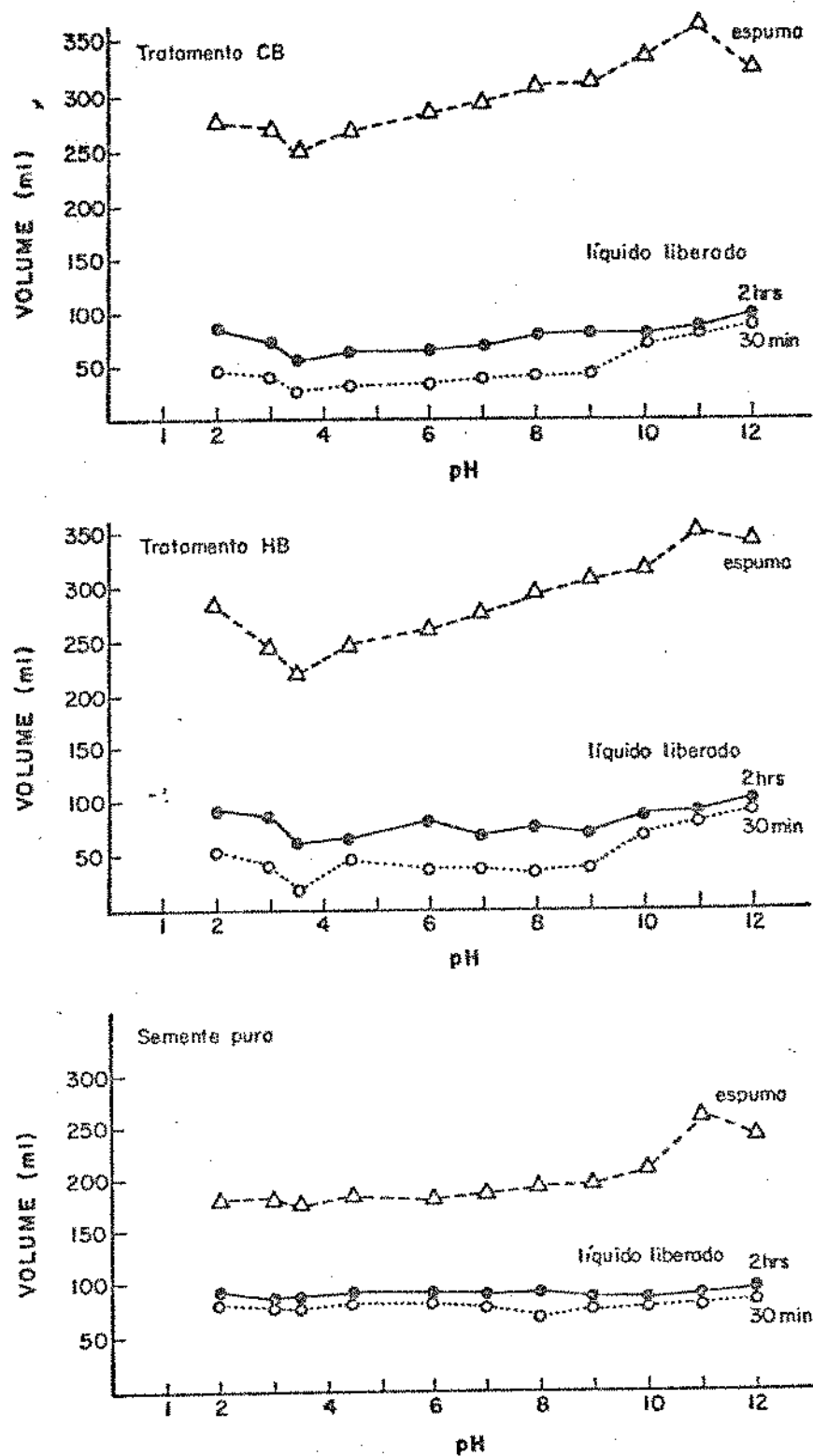


Fig. 8- Efeito do pH no volume de expansão (ml de espuma) e estabilidade (ml de líquido liberado) de espumas de isolados proteicos obtidos do RIPT (10.000 rpm).

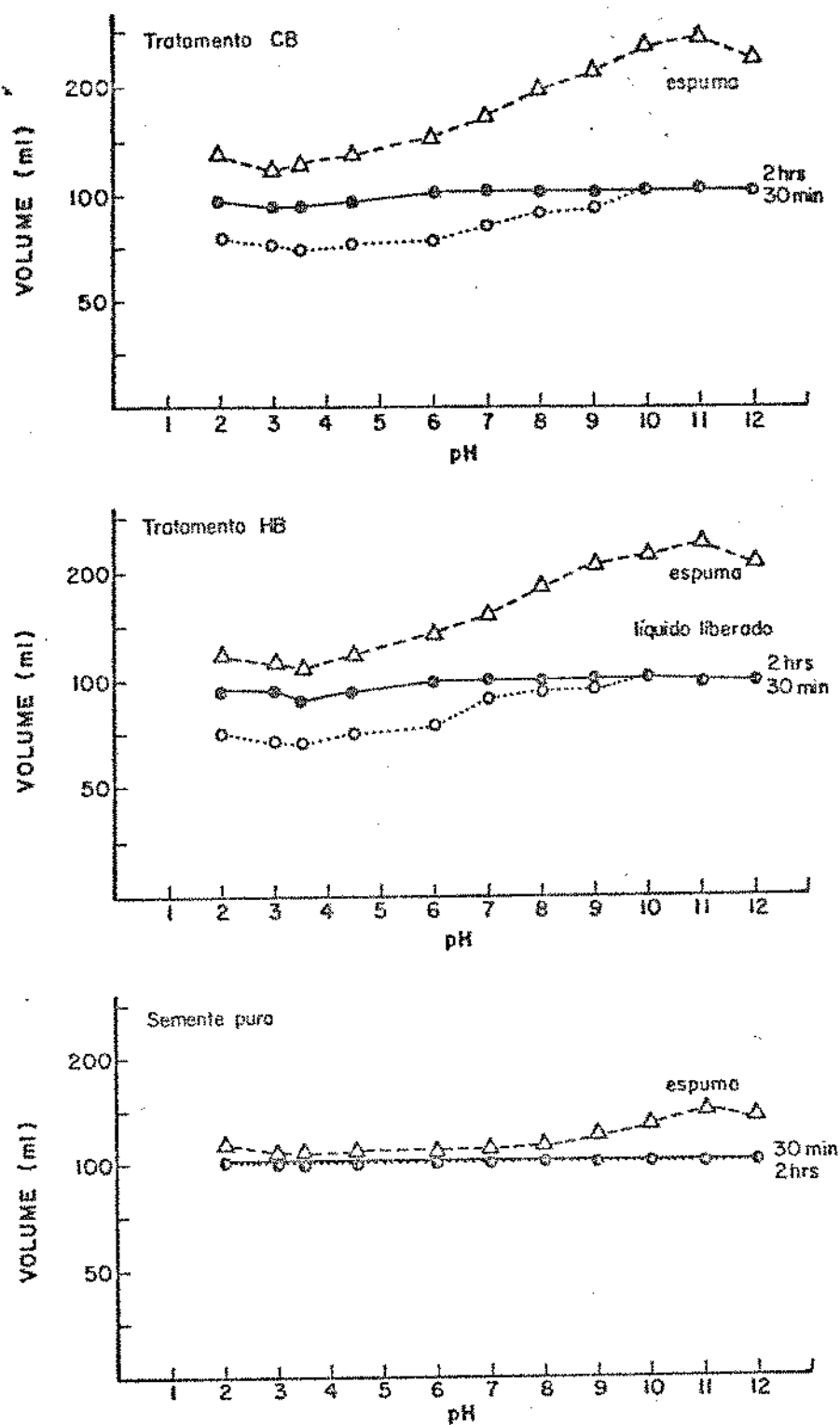


Fig. 9 - Efeito do pH no volume de expansão (ml de espuma) e estabilidade (ml de líquido liberado) de espumas de isolados proteicos obtidos do RIPT (2000 rpm).

Os resultados indicaram que menores volumes de espuma foram obtidos próximos ao ponto isoelétrico (pH 3,5) das proteínas para os três isolados estudados. Este fato está de acordo com diversos autores que indicam ser a disponibilidade de proteína solúvel, um pré-requisito essencial à formação de espuma (Lawhon e Cater, 1972; Eldridge *et al.* 1963; Huffman e Burns, 1975). Entretanto, apesar de menos expandidas, houve uma razoável formação de espuma para os três isolados proteicos no pH 3,5 com % de "overrun" para resíduo CB e HB e semente pura, respectivamente de 150%, 120% e 74%, em experimentos realizados em ultra-turrax a 10.000 rpm. A influência da baixa solubilidade contribuindo para formação de espumas muito pobres pode ser demonstrada quando a dispersão proteica foi agitada a baixa velocidade de 2.000 rpm, cujos dados encontram-se na Tabela 27 e 28 e Figura 8. Nesse caso, no ponto isoelétrico, % de "overrun" foram, respectivamente, 25, 10 e 6% para isolados proteicos provenientes de resíduo CB, HB e semente pura.

À medida que o pH foi aumentando e as proteínas tornando-se mais solúveis, volumes maiores de espumas foram obtidos, com o máximo ocorrendo em pH 11,0 para os três resíduos, tanto a 10.000 como a 2.000 rpm (Figuras 8 e 9). A comparação entre as curvas de solubilidade-pH, apresentadas na Figura 10 (elaboradas a partir dos dados apresentados na Tabela 21, com os valores de INS para proteínas precipitadas com ácido clorídrico) e expansão de espuma-pH para os três resíduos, revelou que elas apresentam o mesmo perfil. Com relação à estabilidade, entretanto, menores volumes de líquido foram liberados no ponto

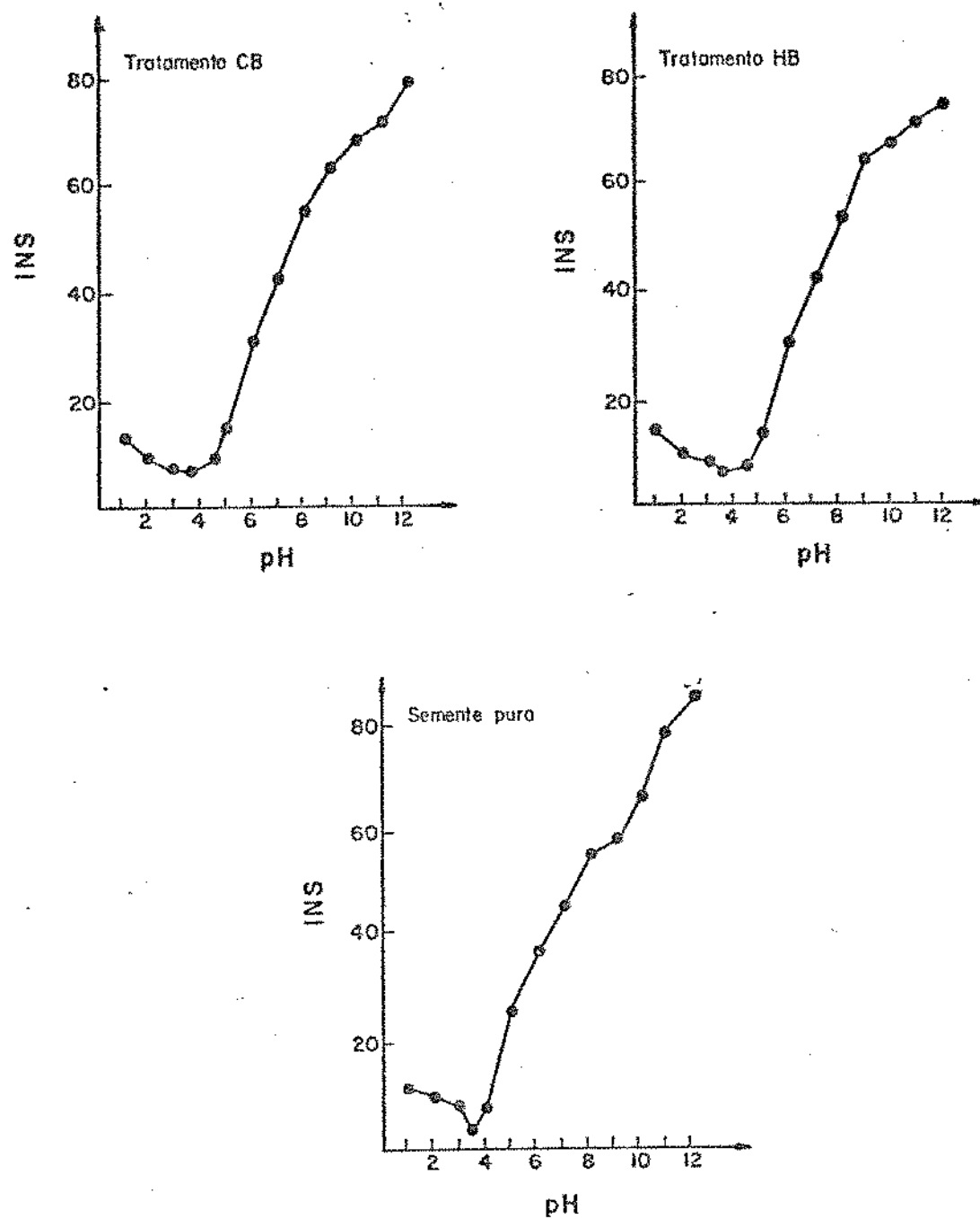


Fig. 10 - Índice de nitrogênio solúvel (INS) para isolados proteicos obtidos do RIPT.

isoeletrico, indicando que espumas mais estáveis foram formadas nessa região de pH. Esse efeito estabilizante no ponto isoeletrico tem sido atribuído ao aumento da viscosidade do filme proteico adsorvido à interface causada pelas atrações intermoleculares e eletrostáticas ocorridas no ponto isoeletrico, elevando a resistência e rigidez dos filmes proteicos (Kinsella, 1976; Watts, 1939). Buckingham (1970), trabalhando com proteínas citoplasmáticas concluiu que a formação e estabilidade das espumas dependeram de um equilíbrio entre as interações proteína-proteína e proteína-água, o qual é necessário para formação de um filme proteico coeso, o que não ocorre longe do ponto isoeletrico, onde há predominância das interações proteína-água. Wang e Kinsella (1976), nesse sentido, também relataram que o excesso de solubilidade de proteínas isoladas de folhas de alfafa nos pHs alcalinos foi responsável pela redução de quantidade de proteína agregada necessária para estabilizar as espumas. Essas considerações parecem explicar também, no nosso caso, a queda observada no volume máximo de espuma ocorrido a pH 12,0, valor de máxima solubilidade dos três isolados proteicos.

As Tabelas 28 e 30 apresentam as % de "overrun" para espumas dos diferentes isolados em função do pH sob a influência de duas velocidades de agitação: 2.000 e 10.000 rpm. Baixas velocidades foram ineficientes para promover incorporação de ar adequada ou mesmo levar a uma desnaturação espontânea, expondo as proteínas e permitindo uma maior retenção de ar na rede proteica (Fennema, 1985). O comportamento dos isolados proteicos com relação às suas propriedades de formação de espuma, nos pontos de

mínimo e máximo foi o mesmo nas duas velocidades.

A 2.000 rpm as % de "overrun" para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura diferiram significativamente apenas no pH 12,0. Abaixo deste valor, não houve diferenças entre os isolados dos resíduos CB e HB e no intervalo de pH 4,5-11,0, os dados de % de "overrun" para as espumas dos isolados CB e HB foram significativamente diferentes das de semente pura. A 10.000 rpm foi observado um comportamento semelhante.

Dispersões proteicas aquecidas a várias temperaturas previamente à formação de espumas apresentaram volumes e estabilidades descritos nas Tabelas 31 e 32 e Figura 11. Aquecimento a 40°C levou a volumes de espuma superiores a aqueles observados à temperatura ambiente para isolados proteicos provenientes de resíduos CB e HB, sendo que a partir dessa temperatura, tratamento térmico teve efeito indesejado, levando à redução no volume de espuma formado pelos três isolados. O índice de estabilidade determinado também foi prejudicado em temperaturas mais elevadas. Tratamento térmico reduzindo a capacidade de formação de espuma e estabilidade tem sido relatado por diversos autores (Eldridge *et al.*, 1963; Lawhon *et al.*, 1972a; 1972b; Huffman *et al.*, 1975) e explicado em função da desnaturação proteica ocorrida e subsequente perda de solubilidade (Yatsumatsu *et al.*, 1972). O efeito benéfico ocorrido a 40°C para proteínas dos isolados dos resíduos CB e B pode ser explicado devido a uma maior dissociação dos agregados de proteínas, expondo certos grupos, tornando a proteína mais

TABELA 31: Volume de expansão (ml, t=0 min) e estabilidade (ml de líquido liberado, t=30 min e 2 hrs) de espumas formadas por isolados proteicos obtidos de RIPT - CB, HB e semente pura, em função da temperatura (pH 7,0; 25°C; 10.000 rpm).

Temperatura (°C)	RIPT - CB			RIPT - HB			Semente pura		
	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs	t=0 min	t=30 min	t=2 hrs
15	260	36	68	270	44	70	198	79	90
25	294	37	67	278	40	68	185	77	92
40	336	45	69	312	55	71	205	80	92
50	287	60	72	235	58	73	154	83	94
60	243	74	85	212	70	82	113	89	95
80	197	85	91	174	83	90	110	95	98
100	152	90	94	125	89	95	105	99	99

TABELA 32: % de "Overruns" para espumas formadas por isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura, em função da temperatura (pH 7,0; 25°C; 10.000 rpm).

Temperatura (°C)	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
15	160 ^a	170 ^a	98 ^b
25	194 ^a	178 ^a	85 ^b
40	236 ^a	212 ^a	105 ^b
50	187 ^a	135 ^b	54 ^c
60	143 ^a	112 ^b	13 ^c
80	97 ^a	74 ^b	10 ^c
100	92 ^a	25 ^a	5 ^b

a,b,c Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes. (P < 0,05).

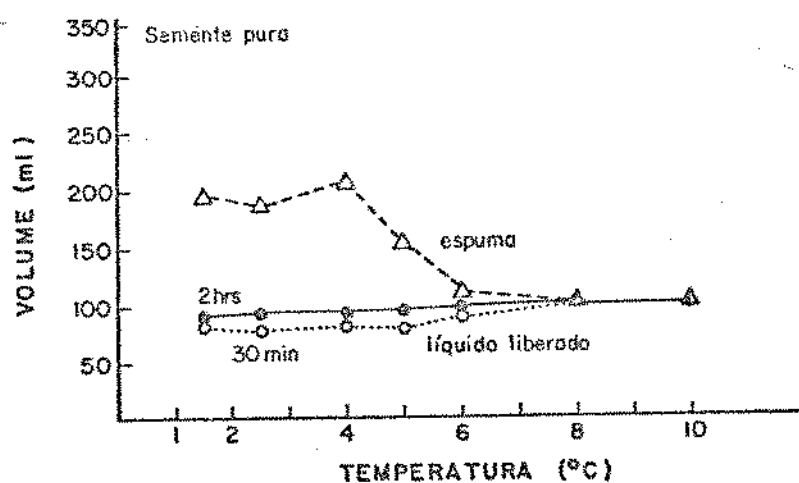
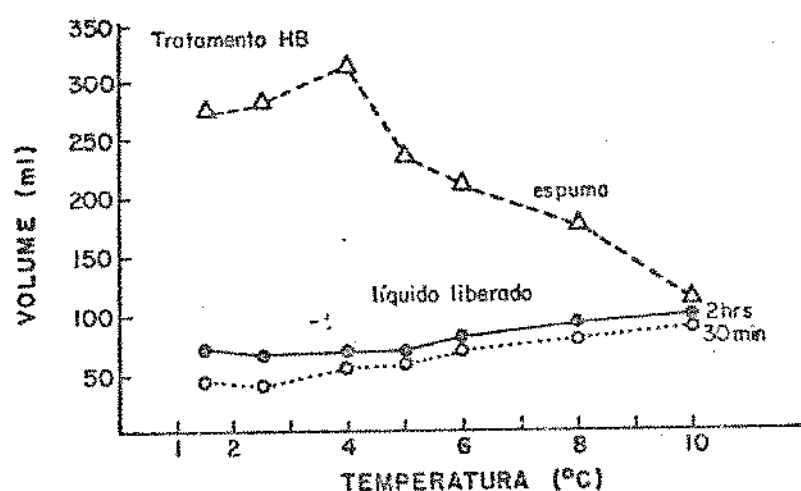
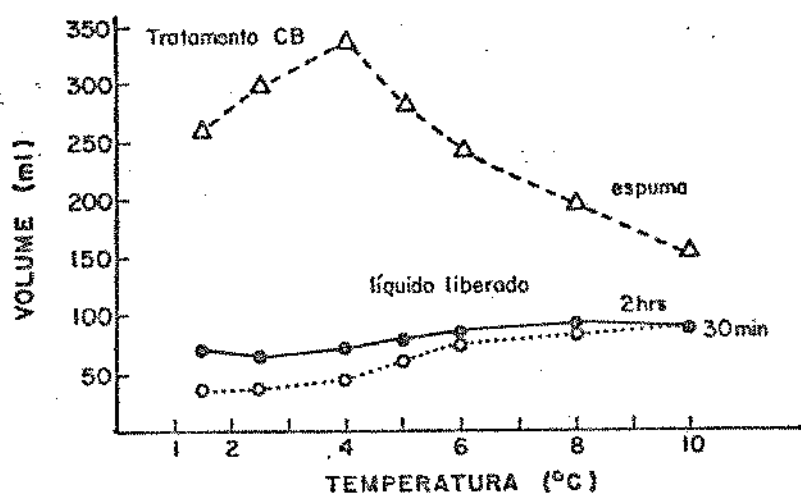


Fig. 44- Efeito da temperatura no volume de expansão (ml de espuma) e estabilidade (ml de líquido liberado) de espumas de isolados proteicos obtidos do RIPT.

solúvel (Kinsella, 1976). Este fato justifica-se ainda, ao se considerar que o pH da dispersão proteica submetida ao aquecimento foi 7,0, onde a proteína não é totalmente solúvel (Figura 10) e o calor, portanto, pode ter contribuído para diminuir a agregação proteica.

Capacidade de absorção de óleo

A capacidade de absorção de óleo para isolados proteicos de resíduos CB, HB e semente pura são apresentados na Tabela 33, bem como os valores respectivos da matéria-prima antes da extração.

Os isolados proteicos procedentes do RIPT CB e HB foram significativamente diferentes do isolado proteico obtido de semente pura com relação aos dados de absorção de óleo, mas não diferiram entre si. Para matéria-prima bruta, a análise estatística indicou não existir nenhuma diferença a nível de $P < 0,05$.

Em todas as amostras foram observados elevados valores de absorção de óleo, sendo que os isolados proteicos do material que recebeu tratamento CB e HB foram maiores que aqueles da semente pura. Também cada isolado proteico foi capaz de absorver muito mais óleo que a matéria-prima original.

Assim como foi observado em relação à capacidade de absorção de água, outros componentes, além das proteínas, parecem ser capazes de ligarem gordura, uma vez que isolados proteicos de resíduos CB e HB contendo respectivamente 53,01 e 52,47% (para os

TABELA 33: Capacidade de absorção de óleo (ml de óleo absorvido/g de amostra) para isolados proteicos e matéria-prima bruta obtidos a partir do RIPT - CB, HB e semente pura precipitados com ácidos clorídrico, acético e cítrico.

Ácido	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
clorídrico	9,40 ± 0,35 ^a	9,20 ± 0,10 ^a	6,00 ± 0,36 ^b
acético	8,60 ± 0,20 ^a	8,20 ± 0,26 ^a	5,00 ± 0,20 ^b
cítrico	7,80 ± 0,26 ^a	7,60 ± 0,18 ^a	4,60 ± 0,17 ^b
matéria-prima bruta	5,40 ± 0,20 ^a	5,00 ± 0,26 ^a	4,00 ± 0,40 ^a

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

isolados precipitados com ácido clorídrico) de proteína, possuem capacidade de absorção de óleo muito mais elevada (9,4 e 9,2 ml de óleo absorvido/g de amostra) que o isolado proteico de semente pura (6,0 ml de óleo absorvido/g de amostra). Como também já foi discutido, a hipótese de que fibras e carboidratos presentes em maior quantidade nos isolados proteicos CB e HB possuam a propriedade de absorver gordura vale aqui também, uma vez que estes resíduos possuem maior quantidade desses componentes que isolados de semente pura. Isto justificaria também a elevada capacidade de absorção de óleo dos resíduos brutos, uma vez que nestes, a % de proteína é substancialmente menor que nos isolados obtidos após extração. Ainda, neste caso, a menor % de absorção de gordura observada para resíduo bruto de semente pura, pode ser devido a alta quantidade de gordura (33,75) já existente no resíduo, o que, de certa forma, já ocuparia uma boa parte dos sítios de ligação de óleos e outros lipídeos. Essa explicação pode ser aplicada também aos isolados proteicos, uma vez que aqueles provenientes de semente pura possuem uma maior % de gordura.

Atividade e estabilidade de emulsão

As propriedades de emulsificação dos isolados proteicos foram avaliadas pela determinação da atividade e estabilidade de emulsão com variações nos seguintes parâmetros: pH da dispersão proteica, concentração de proteína e velocidade de agitação para formação das emulsões.

As Tabelas 34 e 35 e figura 12 forenecem os dados de atividade e estabilidade de emulsão dos diferentes isolados proteicos em função do pH no intervalo 2,0-12,0. Os resultados indicaram que os menores valores de % de atividade de emulsão foram encontrados na região do pH 3,5, ponto isoelétrico da maioria das proteínas do RIPT e de semente pura. À medida que o pH foi se afastando do ponto isoelétrico na região alcalina, houve um aumento progressivo da % de atividade de emulsão com valores máximos em pH 9,0 para isolados proteicos provenientes de tratamento CB e HB e pH 8,0 para o isolado de semente pura.

Tal como ocorreu na avaliação das propriedades de formação de espuma, a comparação entre as curvas de % de emulsão-pH e solubilidade-pH (Figura 10) revelou que estas apresentam o mesmo perfil no intervalo de pH 2,0-9,0 para os isolados proteicos de resíduos CB e HB e em 2,0-8,0 para proteínas de semente pura, indicando uma evidente correlação entre as propriedade de emulsificação e % de solubilidade proteica.

Os resultados aqui obtidos estão de acordo com vários autores. Yatsumatsu et al. (1972) encontraram uma correlação positiva entre a % de atividade de emulsão e índice de nitrogênio solúvel para proteínas de diferentes produtos de soja. Segundo Pearson et al. (1969), somente a fração de proteína solúvel pode funcionar como um efetivo agente emulsificante. Crenwelge et al. (1974) estudando as propriedades de emulsificação de diferentes proteínas animais e vegetais, determinaram o mesmo perfil de solubilidade-pH e capacidade de emulsificação-pH no intervalo de 3,0-10,0. Gillet et al. (1972) demonstraram que as propriedades de

TABELA 34: Índice de atividade de emulsão (%) para emulsões formadas pelos isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função do pH (concentração = 7,0%; 25°C)

pH	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
2,0	37 ^a	41 ^a	31 ^b
3,0	41 ^a	40 ^a	35 ^b
3,5	38 ^a	39 ^a	29 ^b
4,0	40 ^a	44 ^a	31 ^b
5,0	50 ^a	48 ^a	33 ^b
6,0	54 ^a	55 ^a	46 ^b
7,0	65 ^a	64 ^a	50 ^b
8,0	72 ^a	69 ^a	56 ^b
9,0	75 ^a	72 ^a	52 ^b
10,0	66 ^a	68 ^a	44 ^b
11,0	60 ^a	62 ^a	39 ^b
12,0	52 ^a	54 ^a	38 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

TABELA 35: Índice de estabilidade de emulsão para emulsões formadas pelos isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função do pH (concentração = 7%; 25°C).

pH	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
2,0	30 ^a	32 ^a	33 ^b
3,0	32 ^a	31 ^a	30 ^b
3,5	35 ^a	31 ^a	28 ^b
4,0	37 ^a	34 ^a	25 ^b
5,0	42 ^a	41 ^a	28 ^b
6,0	49 ^a	47 ^a	40 ^b
7,0	62 ^a	59 ^a	43 ^b
8,0	68 ^a	66 ^a	50 ^b
9,0	76 ^a	77 ^a	57 ^b
10,0	65 ^a	66 ^a	43 ^b
11,0	59 ^a	60 ^a	36 ^b
12,0	57 ^a	52 ^a	31 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

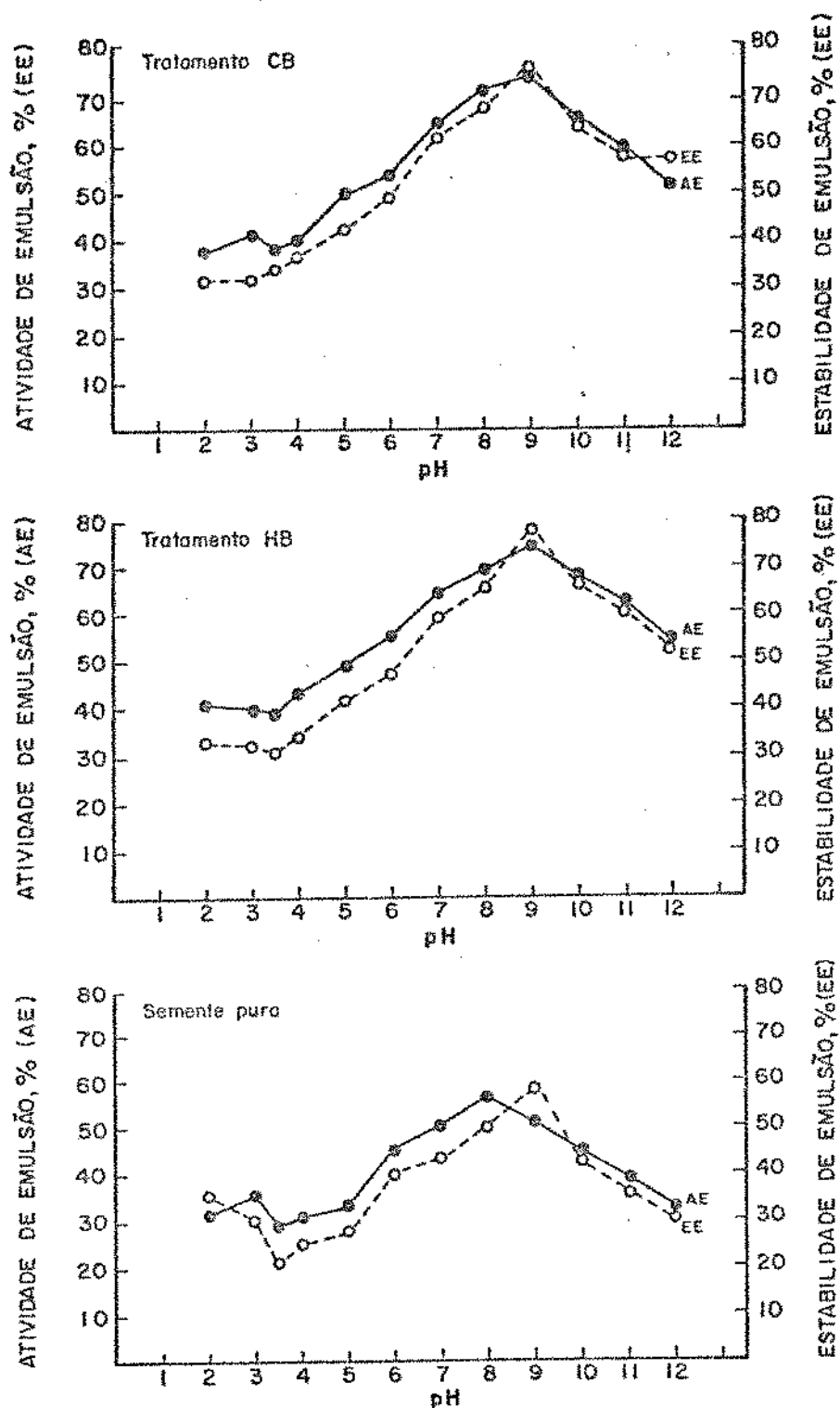


Fig. 12- Efeito do pH na % de atividade e estabilidade de emulsão formada por isolados proteicos obtidos do RIPT.

emulsificação de proteínas da carne dependeram, quase que exclusivamente, do nível de proteína solúvel no processo de formação de emulsões.

Tal como ocorreu no nosso experimento, valores mínimos de % de atividade de emulsão no ponto isoelétrico são comuns na literatura. Os autores geralmente concordam com o fato de que nessa região, onde as proteínas são insolúveis, há predominância de estruturas compactas, sem cargas e com alta viscoelasticidade, as quais não contribuem para estabilização de emulsões (Halling, 1981; Fenema, 1980).

Acima de pH 8,0 para isolado proteico de semente pura e 9,0 para isolado proteico dos resíduos CB e HB, observou-se uma queda acentuada nos valores de % de atividade de emulsão, tendo ocorrido fenômeno de "cremeamento", definido comumente como a formação de duas emulsões, uma delas flutuante no topo da outra (Bennet *et al.*, 1968).

Nos experimentos realizados, ocorreu uma mudança de coloração que separou as duas fases emulsificadas, além de uma pequena separação de óleo, tendo sido considerada como índice de instabilidade também a emulsão flutuante. Tomberg (1978) utilizou o índice de estabilidade ao "cremeamento" para caracterizar emulsões estabilizadas por proteínas, determinando a % de óleo da fase aquosa ou emulsão flutuante após cremeamento, em relação ao teor de óleo original adicionado.

Halling (1981) indica que o aumento intensificado da solubilidade da proteína pode levar à formação de glóbulos muito pequenos durante o processo de emulsificação e aumentar o

"cremeamento" levando ao colapso da emulsão. Além disso, nos pHs de máxima solubilidade ocorre desdobramento das estruturas compactas de proteínas e de formação da membrana proteica na interface com predomínio das interações proteína-água, afetando o equilíbrio lipofílico-hidrofílico do agente emulsificante, que, no caso, são as proteínas dos isolados em estudo. De fato, conforme pode-se verificar a partir das curvas de INS presentes na Figura 10, a solubilidade das proteínas aumentou consideravelmente a partir dos pHs 8,0 e 9,0, sendo máxima em pH 12,0 para todos os isolados proteicos.

Assim como a % da atividade de emulsão, os resultados indicaram que a % de estabilidade de emulsão foi dependente do pH. Menores valores de estabilidade foram obtidos no ponto isoelétrico, sendo ainda inferiores a aqueles reportados no teste de % de atividade de emulsão. De acordo com Wang e Kinsella (1976) e Volkert e Klein (1979), uma vez que a solubilidade de proteínas é muito baixa na região do ponto isoelétrico, as membranas proteicas aí formadas são muito delgadas e sob ação do aquecimento a 80°C ocorreu desnaturação, aumentando a fragilidade e finalmente ruptura do filme proteico. No pH 9,0, observou-se que os dados de % estabilidade de emulsão foram maiores que os de atividade de emulsão, indicando que nesse caso, a proteína solúvel formou um filme capaz de encapsular os glóbulos de gordura, os quais foram então estabilizados pelo calor, fenômeno também observado por Ivey *et al.* (1970) e Volkert e Klein (1979). Acima do pH 9,0, aumentando-se o nível de solubilidade das proteínas, a diminuição dos índices de % de estabilidade de

emulsão podem ser devidos a um grau mais intenso de desnaturação, maior exposição e desdobramento das moléculas proteicas e predomínio de interações proteína-água (Halling, 1981). Nesse caso, glóbulos de gordura dificilmente conseguirão ser encapsulados pelo filme proteico, diminuindo a quantidade de óleo emulsificado para uma dada proteína.

Finalmente, com relação ao efeito do pH, observou-se a partir das Tabelas 34 e 35, que os dados de atividade de emulsão bem como os de estabilidade não diferiram significativamente entre os isolados CB e HB, porém ambos foram diferentes do isolado de semente pura.

Os valores de % atividade e estabilidade de emulsão sob a influência da concentração de proteínas na faixa 1,0-9,0 são apresentados nas Tabelas 36 e 37 e Figura 13.

De acordo com os resultados obtidos, % de atividade de emulsão, bem como estabilidade foram substancialmente melhorados com aumento da concentração de proteína, sendo que a 8,0% para isolado CB e HB e 9,0% para semente pura, ocorreram os máximos valores de % de emulsão.

O aumento da concentração proteica, levando a uma maior eficiência nas propriedades de emulsificação tem sido verificado por vários autores (Inklaar e Fortuin, 1969; Pearson *et al.*, 1969; Acton e Saffle, 1970). Algumas pesquisas têm relatado ainda, a existência de altos coeficientes de correlação entre a % de proteína solúvel e ml de óleo emulsificado, indicando linearidade entre os dois parâmetros (Swift *et al.*, 1961; 1963; Hegarty *et al.*, 1963; Carpenter e Saffle, 1964).

TABELA 36: Índice de atividade de emulsão (%) para emulsões formadas pelos isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função da concentração (pH 7,0; 25°C).

Concentração do isolado proteico (%)	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
1	31a	38a	19b
2	45a	41a	26b
3	53a	48a	32b
5	63a	58a	42b
7	69a	68a	50b
8	71a	69a	58b
9	73a	72a	61b
10	73a	75a	62b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

TABELA 37: Índice de estabilidade de emulsão para emulsões formadas pelos isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função da concentração (pH = 7,0; 25°C)

Concentração do isolado proteico (%)	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
1	28a	25a	18b
2	35a	30a	23b
3	42a	41a	32b
5	56a	55a	40b
7	64a	64a	42b
8	71a	71a	46b
9	64a	65a	51b
10	63a	64a	53b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

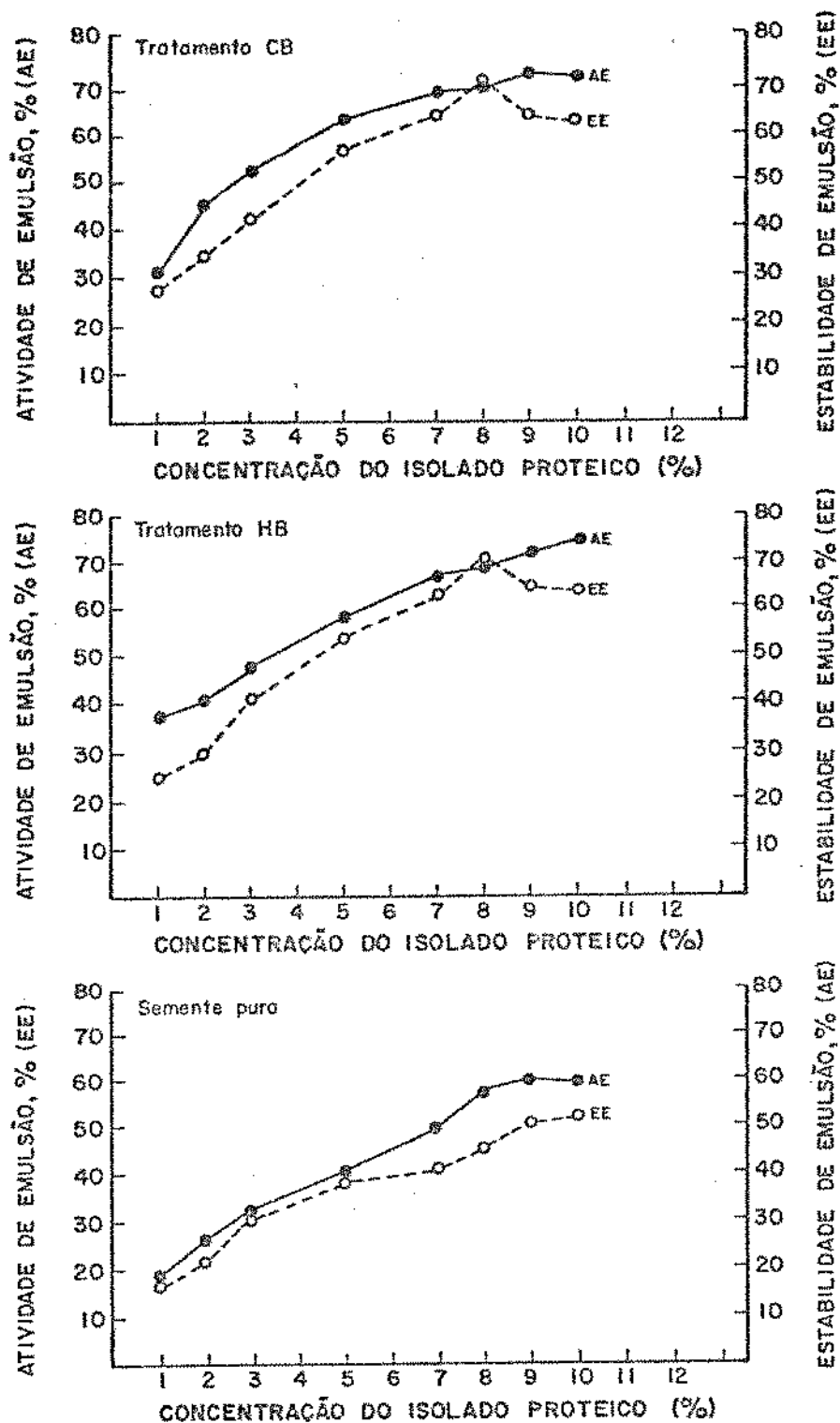


Fig. 13- Efeito da concentração na % de atividade e estabilidade de emulsões formadas por isolados proteicos do RIPT.

Além dessas considerações, nossos dados relativos aos isolados CB e HB apontam para a existência de uma concentração ótima de proteína necessária para formar emulsões mais estáveis, favorecendo um maior grau de dissociação e exposição de polipeptídeos capazes de proporcionar uma máxima interação hidrofóbica com lipídeos, elevando a capacidade no processo de emulsificação. Acton e Saffle (1972) determinaram que emulsões estabilizadas por gelatina, tiveram suas % de estabilidade positivamente correlacionadas com a concentração proteica até um nível de 1,5%, com decréscimo de estabilidade além deste valor. Crenwelge et al. (1969) verificaram altos valores de concentração proteica para emulsões estabilizadas por diferentes proteínas vegetais e animais, a partir dos quais a capacidade de emulsificação manteve-se inalterada ou diminuída.

Também com relação à concentração de proteína, os dados indicaram que diferenças significativas ocorreram apenas entre isolados de semente pura e os do processo CB e HB, sendo que os dois últimos não diferiram entre si.

Finalmente, na avaliação de alguns parâmetros que afetam as propriedades de emulsificação dos isolados proteicos, a influência da velocidade de agitação foi investigada.

Os dados da Tabela 38 indicam que velocidades mais altas levaram a uma maior eficiência no processo de emulsificação com maior % de óleo emulsificado e maior estabilidade. Os baixos valores de atividade e estabilidade de emulsão observados a baixas velocidades são provavelmente devidos ao fato de que estas não foram suficientes para promover a formação de membranas

TABELA 38: Efeito da velocidade de agitação na formação de emulsões estabilizadas por isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura, determinado através do índice da atividade e estabilidade de emulsão (% de AE e EE, pH 7,0; concentração = 7%; 25°C).

Velocidade de agitação	RIPT - CB		RIPT - HB		Semente pura	
	AE	EE	AE	EE	AE	EE
2.000	26	33	24	33	23	32
5.000	38	37	37	39	35	33
7.000	46	43	51	46	48	37
10.000	68	64	65	61	50	43

proteicas e reduzir o tamanho dos glóbulos de gordura, proporcionando área superficial necessária para adsorção requerida. Dos valores de agitação estudados, 10.000 rpm foi aquele que forneceu os elevados valores de atividade e estabilidade de emulsão.

Assim, como observado para concentração proteica, também para velocidades de formação de emulsões parece existir um grau ótimo de agitação. Carpenter e Saffle (1972) verificaram que, até certo ponto, a quantidade de óleo emulsificado correlacionou-se positivamente com o aumento da velocidade. A partir de certo valor, entretanto, a correlação foi negativa ($r = -0,986$), devido provavelmente, à elevada força de cisalhamento que dispersou o óleo em partículas menores, aumentando, portanto, a área superficial a ser emulsificada por uma mesma quantidade de proteína solúvel. Nesse sentido, o efeito da velocidade de agitação, isoladamente, pouco diz sobre as condições ótimas de formação de emulsões. Associado, entretanto, à influência do pH e concentração proteica, é possível proceder à otimização do processo de emulsificação, requerendo-se menos proteína para obter volumes da fase de óleo similares a aqueles obtidos quando apenas um dos parâmetros está nas condições de máxima formação de emulsão.

Viscosidade

Os valores de viscosidade aparente para os isolados proteicos submetidos aos tratamentos químico, enzimático e

ácido/básico estão apresentados na Tabela 39.

Em relação aos agentes químicos, mercapto-etanol 0,05M foi o que mais drasticamente reduziu os valores de viscosidade de 89,0, 88,0 e 42,0 cps a pH 7,0 em tampão fosfato para 6,0, 6,0 e 4,5 cps, respectivamente para isolados provenientes dos resíduos CB, HB e semente pura, seguindo-se o tratamento com uréia 8M e tampão ácido acético-acetato. Esses dados indicam que provavelmente, a quebra de ligações dissulfídicas e um elevado grau de dissociação molecular de proteínas foram os responsáveis pela brusca queda nos valores de viscosidade aparente. Esta observação está em concordância com Circle *et al.* (1964), o qual determinou que agentes redutores tiveram marcante efeito na redução da viscosidade aparente de dispersões proteicas de soja não-aquecidas, impedindo a gelificação quando as mesmas foram submetidas a diferentes tratamentos térmicos.

Tratamento enzimático com pepsina 0,1% reduziu a viscosidade das amostras, indicando susceptibilidade dos isolados à ação hidrolítica da enzima. Nesse sentido, a utilização de tratamento enzimático em fluidos contendo proteínas, tem sido um recurso comumente adotado para alterar a viscosidade, acarretando na maioria das vezes uma redução dos valores dessa propriedade funcional (Puski, 1975).

Com relação ao tratamento ácido/básico, os resultados indicaram que em pH 12,0, ocorreu uma maior redução nos valores de viscosidade aparente em relação ao tratamento em pH 1,5.

Com exceção do tratamento ácido/básico, a análise estatística revelou que não houve diferenças significativas nos

TABELA 39: Dados de viscosidade aparente (cps) para isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura, submetidos a diversos tratamentos.

Tratamento aplicado	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
Mercapto- etanol 0,05M	6,0 ^a	6,0 ^a	4,5 ^a
Glicina 0,1M- NaOH 0,1M, uréia 8M, pH 10,0	13,0 ^a	12,0 ^a	10,0 ^a
CH ₃ COOH 0,1M- CH ₃ COONa, pH 4,5	49,0 ^a	50,0 ^a	45,0 ^a
Pepsina 0,1%	12,0 ^a	10,0 ^a	9,0 ^a
HCL, pH 1,5	49,0 ^a	46,0 ^a	9,0 ^b
NaOH, pH 12,0	20,0 ^a	18,0 ^a	7,0 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$).

valores de viscosidade aparente quando os três isolados foram submetidos ao mesmo tratamento.

Diferentes valores de pH, pela alteração da solubilidade, exercem forte influência nas propriedades reológicas de dispersões proteicas (Kinsella, 1976). Pelos dados apresentados na Tabela 40, observa-se que menores valores de viscosidade aparente foram obtidos próximos ao pH 3,5, ponto isoelétrico das proteínas do RIPT. Nessa região de mínima solubilidade, as proteínas encontram-se na forma de agregados e sem carga elétrica, havendo portanto, pouca interação entre moléculas de proteínas e água. Com relação a esse aspecto, correlação entre solubilidade e viscosidade tem sido muito pesquisada e a análise não é de simples tratamento (Hermansson e Akesson, 1975). Nossos dados estão em concordância com o fato de que proteínas com baixa solubilidade não desenvolvem alta viscosidade quando colocadas em meio aquoso. Este fato justifica os maiores índices de viscosidade ocorridos na faixa de pH alcalino, onde as proteínas são mais solúveis. Fleming *et al.* (1974) observaram comportamento semelhante quando tratamento alcalino a diferentes pHs levou a um aumento considerável na viscosidade de concentrados proteicos de girassol.

A queda de viscosidade observada nos extremos de pH alcalino pode ter sido resultado de alguma hidrólise. Essa possibilidade foi também sugerida por Circle *et al.* (1964), quando verificaram aumento da viscosidade de dispersões proteicas de soja acima de pH 6,0, com diminuição acima de pH 9,0.

TABELA 40: Dados de viscosidade aparente (cps) para isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em função do pH (concentração do isolado proteico = 2%; pH 7,0; 25°C)

pH	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
1,5	48,0 ^a	45,0 ^a	13,5 ^b
2,0	44,0 ^a	41,0 ^a	11,0 ^b
3,0	41,5 ^a	38,5 ^a	10,5 ^b
3,5	30,5 ^a	32,0 ^a	8,0 ^b
4,5	50,0 ^a	48,0 ^a	17,0 ^b
5,0	60,5 ^a	58,0 ^a	24,0 ^b
6,0	83,0 ^a	81,0 ^a	38,0 ^b
7,0	89,5 ^a	88,0 ^a	42,0 ^b
8,0	93,0 ^a	91,0 ^a	45,0 ^b
9,0	87,5 ^a	85,0 ^a	40,0 ^b
10,0	85,0 ^a	80,0 ^a	38,0 ^b
11,0	80,5 ^a	75,5 ^a	35,0 ^b
12,0	72,5 ^a	69,5 ^a	30,5 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

Em todos os pHs, isolados proteicos do RIPT CB e HB não apresentaram valores de viscosidade significativamente diferentes para um mesmo pH e ambos foram diferentes daqueles obtidos para isolado proteico de semente pura.

A dependência entre viscosidade aparente dos isolados e concentração proteica é obtida a partir da Tabela 41. Para todos os valores crescentes de concentração proteica foi observado um aumento nos dados de viscosidade aparente, especialmente a partir de 6,0%, indicando uma elevação no número de interações proteína-proteína. Essa hipótese é substantiada pelo fato de que a pH 7,0, onde foram conduzidos os experimentos, todos os isolados são pouco solúveis, não havendo portanto, predominância das interações proteína-água. Assim, em baixas concentrações de proteínas, como a 2,0%, interações proteína-proteína pouco contribuem para aumento da viscosidade. O aumento da viscosidade em sistemas proteicos com aumento da concentração tem sido relatado na literatura (Circle *et al.*, 1964; Fleming *et al.*, 1974; Hermansson e Akesson, 1975).

Analisando-se o efeito da temperatura, através da Tabela 42, observou-se que em todos os casos, tratamento térmico afetou negativamente a viscosidade das dispersões proteicas com intenso decréscimo em temperaturas mais elevadas. Este fato sugere que a ação do calor levou à desnaturação das proteínas presentes nos isolados dos diferentes resíduos, reduzindo o número de interações proteína-proteína e proteína-água.

Para amostras não-aquecidas, nossos valores de viscosidade foram comparáveis ao isolado proteico comercial de

TABELA 41: Valores de viscosidade aparente (cps) para isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em diferentes concentrações (pH 7,0; 25°C).

Concentração do isolado proteico (%)	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
2	89 ^a	88 ^a	42 ^b
4	161 ^a	152 ^a	31 ^b
6	193 ^a	170 ^a	174 ^a
8	340 ^a	315 ^a	220 ^b
10	560 ^a	560 ^a	430 ^b
12	750 ^a	780 ^a	670 ^b
14	920 ^a	890 ^a	800 ^b
16	1105 ^a	1000 ^a	980 ^b

a,b Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

TABELA 42: Valores de viscosidade aparente (cps) para isolados proteicos obtidos do RIPT - CB, HB e semente pura em diferentes temperaturas (pH 7,0; 25°C).

Temperatura (°C)	RIPT - CB	RIPT - HB	Semente pura
25	340,0 ^a	315,0 ^b	220,0 ^b
35	330,0 ^a	310,0 ^a	230,0 ^b
50	270,0 ^a	245,0 ^b	183,0 ^c
60	215,0 ^a	205,0 ^a	140,0 ^b
80	160,0 ^a	155,0 ^a	110,0 ^b
100	135,0 ^a	110,0 ^b	95,0 ^{ab}

a,b,c Médias apresentando diferentes expoentes em uma mesma linha são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

soja, de acordo com Circle et al. (1964) os quais utilizaram-se das mesmas condições para determinação da viscosidade. Entretanto, é fato reconhecido que as propriedades reológicas de proteínas da soja são intensamente melhoradas com tratamento térmico e, em altas concentrações, podem chegar à gelificação, o que não ocorreu em nossos isolados.

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que as características de viscosidade dos isolados proteicos provenientes dos tratamentos CB, HB e semente pura são dependentes da solubilidade das proteínas, afetados por condições que envolvem alteração da carga elétrica, dissociação e ruptura das ligações peptídicas e dissulfídicas. Além disso, aumentam com a concentração proteica e são influenciadas negativamente pela aplicação de tratamento térmico brando ou severo.

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho permitem as seguintes conclusões:

1. Os resíduos HB e CB apresentaram composição química bastante semelhantes e teores de carboidratos substancialmente maiores que semente pura, a qual, por sua vez teve % de proteína e gordura bem mais elevadas que os resíduos.

2. Análise da composição química de peles e sementes separadamente demonstrou que a % de proteína presentes no resíduo provém na maior parte da semente pura.

3. O material extraído e precipitado em pH 12,0 e 3,5 para matéria-prima seca e 9,0 e 3,5 para matéria-prima úmida, apresentaram maiores rendimentos, com o método de extração sendo mais eficiente para material seco em relação ao úmido.

4. O ácido clorídrico foi o mais eficiente agente precipitante das proteínas, embora % de rendimento razoáveis tenham sido obtidos com ácidos acético e cítrico.

5. Tratamento térmico aplicado durante a extração diminuiu sensivelmente a % de rendimento, especialmente a altas temperaturas, com efeito mais prejudicial no processo de extração da matéria-prima úmida em relação à seca. Nas temperaturas de 60

e 90°C, também alterou-se o pH máximo de extração alcalina.

6. Análise da composição química de isolados proteicos indica que semente pura forneceu isolados de maiores concentrações proteica e de gordura e menor quantidade de carboidratos, sendo os isolados CB e HB bastante semelhantes.

7. Com relação ao fracionamento das proteínas dos diferentes resíduos e sementes, pode-se concluir que a semente é a matéria-prima que predominantemente contribui com as proteínas, não sendo o bagaço (peles e mucilagem) responsável por nenhuma das proteínas separadas eletroforicamente.

8. Os resíduos CB e HB apresentaram valores de % de coagulação térmica bem semelhantes, porém bem mais elevados que aqueles obtidos para as proteínas da semente pura.

9. Isolados proteicos CB e HB obtidos pela precipitação com ácido clorídrico produziram os maiores valores de % de coagulação térmica. Para isolado proteico de semente pura, os resultados foram bastante semelhantes para os três ácidos utilizados, ou seja, ácido clorídrico, acético e cítrico.

10. A pH 7,0, ocorreram os maiores valores de % de coagulação térmica para os resíduos CB e HB e menores para semente pura, quando comparados aos dados obtidos a pHs 3,5 e 4,5.

11. Com relação à solubilidade dos isolados proteicos, a determinação do índice de nitrogênio solúvel definiu o pH de mínima solubilidade em 3,5 e máxima em pH 12,0 não havendo diferenças marcantes entre os três ácidos utilizados.

12. Isolados proteicos provenientes de tratamento CB, HB e semente pura apresentaram elevados valores de capacidade de absorção de água e bastante próximos entre si.

13. A capacidade de formação e estabilidade de espumas formadas pelos isolados proteicos dos resíduos CB, HB e semente pura aumentaram progressivamente com a concentração de proteína, apresentando um efeito mais benéfico para expansão que para estabilidade.

14. Em concentrações mais elevadas de proteínas (8 e 10,0%) a influência no volume de espuma e estabilidade não foi tão pronunciada como quando se passou de baixos teores de proteína (1,0 e 2,0%) para os mais elevados.

15. O isolado proteico obtido de semente pura forneceu espumas muito instáveis e com os mais baixos valores de volume, muito provavelmente devido à maior concentração de lipídeos.

16. Menores volumes de espumas foram obtidos próximo ao ponto isoeletrico, indistintamente para os resíduos CB, HB e

16. Menores volumes de espumas foram obtidos próximo ao ponto isoelétrico, indistintamente para os resíduos CB, HB e semente pura. Máxima expansão ocorreu a pH 11,0, com aumento progressivo até este valor.

17. Por outro lado, verificou-se que espumas mais estáveis foram formadas próximas ao ponto isoelétrico no pH 3,5, para todos os isolados estudados.

18. A capacidade de formação de espuma e estabilidade foram muito superiores quando experimentos foram conduzidos a 10.000 rpm do que a 2.000 rpm.

19. Temperaturas acima de 40°C tiveram efeito altamente negativo nos volumes e estabilidades na espuma devido à desnaturação e, conseqüentemente, perda de solubilidade.

20. Aquecimento a 40°C proporcionou volumes de espuma superiores a aqueles observados à temperatura ambiente para isolados provenientes dos resíduos CB e HB e levemente superior para semente pura.

21. Isolados proteicos obtidos dos resíduos CB e HB apresentaram uma capacidade de absorção de óleo bem mais elevada que o isolado proteico proveniente de semente pura e os respectivos resíduos brutos que lhes deram origem.

22. Resíduo bruto de semente absorve menos gordura quando comparado aos isolados proteicos de todos os resíduos analisados, devido ao elevado teor de lipídeos presente no resíduo original.

23. As proteínas dos resíduos CB, HB e semente pura possuem boa estabilidade e ação emulsificante.

24. Todos os isolados proteicos apresentaram menores valores de atividade de emulsão próximo ao pH 3,5, região isoelétrica.

25. A % de atividade de emulsão foi máxima a pH 9,0 para os resíduos CB e HB e a pH 8,0 para aqueles obtidos de semente pura.

26. Os maiores índices de atividade de emulsão foram observados para isolados proteicos dos resíduos CB e HB, em relação a aqueles obtidos de semente pura.

27. O aumento da concentração de proteína melhorou substancialmente a % de atividade e estabilidade de emulsão, com máxima % de atividade ocorrendo a 8,0% para resíduos CB e HB e 9,0% para semente pura.

28. Baixas velocidades de agitação utilizadas para formar as emulsões resultaram em baixos valores de % de atividade

e estabilidade, sendo que 10.000 rpm forneceu os valores máximos com relação a essas variáveis.

29. Com relação à viscosidade das amostras de isolados proteicos provenientes de resíduos CB, HB e semente pura, a presença de mercapto-etanol 0,05M foi o que mais reduziu a viscosidade, seguindo-se tratamento com uréia e tampão ácido acético-acetato, pH 4,5.

30. Tratamento enzimático com pepsina reduziu a viscosidade das amostras, indicando susceptibilidade dos isolados à ação hidrolítica desta protease.

31. Soluções dos isolados proteicos apresentaram mínima viscosidade próxima ao pH 3,5 e valores mais elevados na região alcalina pH 8,0-9,0, sendo este fato provavelmente devido a menor solubilidade das proteínas no ponto isoeletrico e maior na região alcalina.

32. Extremos de pH alcalino (pH 12,0) reduziram mais a viscosidade do que extremos de pH ácido.

33. A viscosidade das amostras dos isolados em estudo, aumentou consideravelmente com a elevação da concentração de proteína, principalmente a partir de 6,0%.

34. A temperatura afetou negativamente a viscosidade das dispersões proteicas, com intenso decréscimo observado em temperaturas mais elevadas, principalmente acima de 60°C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACTON, J. C. and SAFFLE, R. L. 1972. Emulsifying capacity of muscle protein. Phase volumes at emulsion collapse. J. Food Sci., 37(6): 904-906.
- ACTON, J. C. and SAFFLE, R. L. 1970. Stability of oil-in-water J. Food Sci., 35(6): 852-855.
- ACTON, J. C. and SAFFLE, R. L. 1970. Stability of oil-in-water emulsions. J. Food Sci., 35(6):1118-1120.
- AMMERMAN, C. B.; ARRINGTON, L. R.; LOGGINS, P. E.; McCALL, J. T. and DAVIS, G. K. 1963. Nutritive value of dried tomato pulp for ruminants. J. Agric. Food Chem., 11(4): 347-348.
- ADKI, H.; TANEYAMA, O. and IMAI, M. 1980. Emulsifying properties of soy protein: characteristics of 7S and 11S protein. J. Food Sci., 45(3): 534-538,546.
- BAILEY, M. I. 1935. Foaming of egg white. Ind. Eng. Chem., 27: 973-976.
- BAILEY, H. S. and BURNNET, L. B. 1914. Tomato seed oil. Science 1017: 953.

BALDWIN, R. L. and SINTHAVALIA, S. 1974. Fish protein concentrate foam. J. Food Sci., 39(5): 880-882.

BEN-GERA and KRAMER, A. 1969. The utilization of food industries wastes. Adv. Food Res., 17: 77-152.

BERLIN, E.; ANDERSON, B. A. and PALLANSCH, M. J. 1968. Comparison of water sorption by milk powder components. J. Dairy Sci., 51(9): 1339-1342.

BETSCHART, A. A. and KINSELLA, J. E. 1973. Extractability and solubility of leaf protein. J. Agric. Food Chem., 21(1): 60-65.

BETSCHART, A. A. and KINSELLA, J. E. 1974. Influence of storage on composition, amino acid content and solubility of soybean protein concentrate. J. Agric. Food Chem., 22(1): 166-173.

BETSCHART, A. A. 1974. Nitrogen solubility of alfalfa protein as influenced by various factors. J. Food Sci., 39(6): 1110-1115.

BIRD, K. A. 1975. Plant proteins: their role in the future. J. Am. Oil Chem. Soc., 52(4): 240A-242A.

BOIS, M. W. du; ANGLEMEIR, A. F; MONTGOMERY, M. W. and DAVIDSON, W. D. 1972. Effect of proteolysis on the emulsification

characteristics of bovine skeletal muscle. J. Food Sci., 37(1): 27-28.

BORTON, R. J.; WEBB, N. B. and BRATZLER, L. J. 1967. Emulsifying capacities and emulsion stability of dilute slurries from various meat trimmings. Food Technol. 21(4): 162-164.

BOUTON, P. EE.; HARRYS, P. V. and SHORTHORSE, W. R. 1972. Effect of ultimate pH upon the water holding capacity and tenderness of mutton. J. Food Sci., 37(3): 351-355.

BRODOWSKI, D. and GEISMAN, J. R. 1980. Protein content and aminoacis composition of protein of seed from tomatoes at various stages of ripness. J. Food Sci., 45(2): 228-229, 235.

BUCKINGHAM, J. H. 1970. Effect of pH, concentration, temperature on the strength of cytoplasmic protein foams. J. Sci. Food Agric., 21: 441-445.

BULL, H. B. 1947. Spread monolayers of protein. Adv. Protein 3: 95-121.

CARLSON, B. L.; KNOW, D. and WATKINS, T. R. 1981. influence of tomato seed addition on the quality of wheat flour breads. J. Food Sci., 46(4): 1029-1031, 1042.

CARPENTER, J. A. and SAFFLE, R. L. 1964. A simple method of estimating the emulsifying capacity of various sausage
J. Food Sci., 29(6): 774-781.

CHARM, S. E. 1963. The direct determination of shear stress and shear rate behavior of foods in the presence of a yield
J. Food Sci., 28(1): 107-113.

CHEVALLEY, J. 1975. Rheology of chocolate. J. Text. Stud., 6:
117- 196.

CHOU, D. H. and MORR, C. V. 1979. Protein-water interactions and functional properties. J. Am. Oil. Chem. Soc., 56: 53A-62A.

CHOW, C. F. and LIN, C. W. 1987. Studies on the functionality of pig skin collagen through chemical and enzymic modification III. The utilization of pig skin collagen modifier in emulsified foods. J. Chin. Agric. Chem. Soc., 25(1): 40-46.

CIRCLE, S. J.; MEYER., E. W. and WHITNEY, R. W. 1964. Rheology of soy protein dispersions. Effect of heat and other factors on gelation. Cereal Chem., 41(2): 157-172.

CLARK, G. L. and ROSS, S. 1940. Measurement of static and dynamic foams in characteristics units. Ind. Eng. Chem., 32: 1594-1594.

COONEY, C. M.; MORR, C. V.; RICHERT, S. H. and BALAZS, I. 1973.
Effect of lipids upon foaming properties of whey protein
concentrates. J. Dairy Sci., 56:(4): 635-640.

CRENWELGE, D.; DILL, C. W.; TYBOR, P. T. and LANDSMANN, W. A.
1974. A comparison of the emulsification capacities of some
protein concentrates. J. Food Sci., 39(1): 175-177.

DAVIS, B. I. 1964. Disc electrophoreses II - Methods and
application to human serum proteins. Ann. N. Y. Acad. Sci.,
121: 404-

DEVILBISS, E.; HOLSINGER, V. M.; POSATI, L. and PALLANSCH, M. J.
1974. Whey protein concentrated foams. Food Technol., 28(3):
40-45.

DUMAY, E.; CONDET, F. and CHEFTEL, J. C. 1988. Defatted flour,
protein concentrate and protein isolate from glandless
cottonseed: characterization of protein constituents and
functional properties. Food Sci. Technol. Abs., 20(2): 37.

EDWARDS, P. W.; ESKEW, R. K.; HOERSCH, A.; ACETO, N. C. and
REDFIELD, C. S. 1952. Recovery of tomato processing wastes
Food Technol., 6(3): 383-386.

ELDRIDGE, A. C.; HALL, P. K. and WOLFF, W. J. 1963. Stables
foams from unhydrolyzed soybean protein. Food technol.,

17(5): 120-123.

ESSELEN, W. B. and FELLERS, C. R. 1939. Nutritive value of dried tomato pomace. Poutry Sci., 18: 45-47.

FENNEMA, O.O. 1985. Food Chemistry. Marcel Deker Ed., New York.

FLEMING, S. E.; SOSULSKI, F.W. and HAMON, N. W. 1974. Viscosity and water absorption characteristics of slurries of and soybean flours, concentrates and isolates. J. Food Sci., 39(2): 188-191.

GERMAN, J. B.; ONEIL, T. E. and KINSELLA, J. E. 1985. Film forming and foaming behavior of food proteins. J. Am. Oil. Chem. Soc., 62(9): 1358-1366.

GILLET, T. A.; MEIBURG, D. E.; BROWN, E. L. and SIMON, S. 1977. Parameters affecting meat protein extraction and interpretation of model system data for meat emulsion. J. Food Sci., 42(6): 1606-1609.

GOULD, A. W. 1974. Tomato production, processing and quality evaluation. Weastport, AVI. 445 p.

GRAHAM, D. E. and PHILLIPS, M. C. 1979. Proteins at liquid interfaces. 1. Kinetics of adsorption and surface denaturation. J. Colloid Interface Sci., 70: 403-407.

- HAGENMAIER, R. 1972. Water binding of some purified oilseed proteins. *J. Food Sci.*, 37(6): 965-966.
- HALLING, P. J. 1981. Proteins - stabilized foams and emulsions. *CRC. Crit. Rev. Food Sci. and Nutr.*, 82: 155-203.
- HANG, Y. D.; STEINBRAUS, K. and HACLER, L. R. 1970. Comparative studies on nitrogen solubility of mung beans, pea beans and red kidney beans. *J. Food Sci.*, 35(3): 318-320.
- HAQUE, Z. and KINSELLA, J. E. 1988. Emulsifying properties of food proteins: bovine serum albumin. *J. Food Sci.*, 53(2): 416-420.
- HEGARTY, G. R.; BRATZLER, L. J. and PEARSON, A. M. 1963. Studies on the emulsifying properties of some intracellular beef muscle protein. *J. Food Sci.*, 28(6): 663-668.
- HENRY, W. C. and BARBOUR, A. D. 1933. Beating properties of egg white. *Ind. Eng. Chem.*, 25: 1054-1058.
- HERMANSSON, A. M. 1975. Functional properties of proteins for foods: flow properties. *J. Text. Stud.*, 5(4): 425-439.
- HERMANSSON, A. M. 1972. Functional properties of proteins for foods: swelling. *Lebensmit. Wiss. Technol.*, 5(1): 24-29.

HERMANSSON, A. M. and AKESSON, C. 1975a. Functional properties of added protein correlated with properties of meat systems: effect of concentration and temperature on water binding properties of model meat systems. J. Food Sci., 40(3): 595-602.

HERMANSSON, A. M. and AKESSON, C. 1975b. Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of salt on water-binding properties of model meat systems. J. Food Sci., 40(3): 603-610.

HERMANSSON, A. M.; SIVIK, B. and SKJÖLDEBRANDE, C. 1971. Functional properties of proteins for foods: factors affecting solubility, foaming and swelling of fish protein concentrate. Lebensmit. Wiss. Technol., 4(6): 201-204.

HERMANSSON, A. M. 1975. Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of a meat products. J. Food Sci., 40(3): 611-614.

HIROTSUKA, M.; TANIGUCHI, H.; NARITA, H. and KITO, M. 1984. Increase in emulsification activity of soy lecithin - soy protein complex by ethanol and heat treatments. J. Food Sci., 49(4): 1105-1110.

HOLDSWORTH, S. D. 1971. Applicability of rheological models to the interpretation of flow and processing behavior of fluid

food products. J. Text. Stud., 2(3): 393-417.

HOLME, J. and BRIGGS, D. R. 1959. Studies on the physical nature of gliadin. Cereal Chem., 36(4): 321-340.

HORIUCHI, T.; FUKUSHIMA, D.; SUGIMOTO, H. and HATTORI, T. 1975. Studies on enzyme modified protein as foaming agents: effect of structure on foam stability. Fd. Chem., 3(1): 35-42.

HUANG, Y. T. and KINSELLA, J. E. 1987. Effects of phosphorylation on emulsifying and foaming properties and digestibility of yeast protein. J. Food Sci., 52(6): 1684-1688.

HUFFMAN, V. L; LEE, C. K. and BURNS, E. E. 1975. Selected functional properties of sunflowers meal. J. Food Sci., 40(1): 70-74.

HUTTON, C. W. and CAMPBELL, A. M. 1977. Functional properties of soy concentrate and soy isolate in simple systems and in a food system. Emulsion properties, thickening function and fat absorption. J. Food Sci., 42(2): 457-460.

HUTTON, C. W. and CAMPBELL, A. M. 1977. Functional properties of soy concentrate and soy isolate in a simple systems. Nitrogen solubility index and water absorption. J. Food Sci., 42(2): 454-456.

INKLAAR, P. A. and FORTUIN, J. 1969. Determining the emulsifying and emulsion stabilizing capacity of meat additives. Food Technol., 23(1): 103-109.

IVEY, F. J.; WEBB, N. B. and JONES, V. A. 1970. The effect of droplet size and interfacial film thickness on the emulsifying capacity and stability of meat emulsions. Food Technol., 24(11): 1279-1281.

JOHNS, C. D. and GERSDORFF, C. E. F. 1922. The proteins of the tomato seed, Solanum esculentum. J. Biol. Chem., 51: 439-452.

KILARA, A. ; HUMBERT, E. S. and SOSULSKI, F. W. 1972. Nitrogen extractability and moisture adsorption characteristics of sunflower seed products. J. Food Sci., 37(5): 771-773.

KIM, S. H. and KINSELLA, J. E. 1987. Surface active properties of food proteins: effects of reduction of disulfide bonds on film properties and foam stability of glycinin. J. Food J. Food Sci., 52(1): 128-131.

KINSELLA, J. E. 1976. Functional properties of protein in foods: a survey. CRC. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 77: 219-280.

KINSELLA, J. E. 1981. Functional properties of proteins: possible relationships between structure and function in foams. Food

Chem., 7: 273-288.

KINSELLA, J. E. 1979. Functional properties of soy proteins. J. Am. Oil. Chem. Soc., 56: 242-258.

KINSELLA, J. E. and FOX, P. F. 1986. Water sorption by proteins milk and whey proteins. CRC. Crit. Rev. Food Sci. Nut., 24: 91-139.

KNORR, D. 1980. Effect of recovery methods on yield, quality and functional properties of potato protein concentrates. J. Food Sci., 45(6): 1183-1186.

KNORR, D. 1977. Protein recovery from wastes effluents of potato processing plants. J. Food Sci., 42(2): 563-566.

KNORR, D. 1983. Recovery of functional proteins from processing wastes. Food Technol., 37(1): 71-77.

KRAMER, A. and KWEE, W. H. 1977a. Functional and nutritional properties of tomato protein concentrates. J. Food Sci., 42(1): 207-211.

KRAMER, A. and KWEE, W. H. 1977b. Utilization of tomato processing wastes. J. Food Sci., 42(2): 212-215.

LATLIEF, S. J. and KNORR, D. 1893a. Tomato seed protein

concentrates: effects of methods of recovery upon yield and compositional characteristics. J. Food Sci., 48(6): 1583-1586.

LATLIEF, S. J. and KNORR, D. 1983b. Effect of chitin as coagulating aid on protein yield, composition and functionality of tomato seed protein concentrates. J. Food Sci., 48(6): 1587-1590.

LAWHON, J. T. and CATER, C. M. 1971. Effect of processing method and pH of precipitation on the yields and functional properties of protein isolates from glandless cottonseed. J. Food Sci., 36(3): 372-377.

LAWHON, J. T.; CATER, C. M. and MATTIL, K.F. 1972. A comparative study of whipping potential of an extract from several oilseed flours. Cereal Sci. Today, 17: 240-244, 246, 294.

LAWHON, J. T.; CATER, C. M. and MATTIL, K. F. 1972. A whippable extract from glandless cottonseed flour. J. Food Sci., 37(2): 317-321.

LAWHON, J. T.; GLASS, R. W.; MANAK, L. J. and LUSAS, E. W. 1982. White-colored protein isolate from sunflower: processes and products. Food Technol., 36(10): 76-87.

LECH, W.; MUSZKATOWA, B.; KAKOWSKA, L. and IRZEBSKA, J. L. 1969.

Nutritive value of tomato seed protein. Food Sci. Technol. Abs., 17(6): 23.

LIN, M. J.; HUMBERT, E. S. and SOSULSKI, F.W. 1974. Certain functional properties of sunflower meal products. J. Food Sci., 39(2): 368-370.

LIN, C. S. and ZAYAS, J. 1987. Protein solubility, emulsifying stability and capacity of two defatted corn germ proteins. J. Food Sci., 52(6): 1615-1619.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L. and KANDALL, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265.

LU, P. S. and KINSELLA, J. E. 1972. Extractability and properties of protein from alfalfa leaf meal. J. Food Sci., 37(1): 94-99.

LUH, B. S. and DAOUD, H. N. 1971. Effect of break temperature and holding time on pectin and pectic enzymes in tomato pulp. J. Food Sci., 36(7): 1039-1043.

LUSAS, E. W. and JIVIDEN, G. M. 1987. Characteristics and uses of glandless cottonseed food protein ingredients. J. Am. Oil. Chem. Soc., 64(6): 973-986.

- MA, C. Y. and KHANZADA, G. 1987. Functional properties of deamidated oat protein isolates. *J. Food Sci.*, 52(6): 1583-1587.
- MA, C. Y. and WOOD, D. F. 1987. Functional properties of oat proteins modified by acylation, trypsin hydrolysis. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 64(12): 1726-1731.
- MCDONELL, L. R.; FEENEY, R. E.; HANSON, H. L.; CAMPBELL, A. and SUGIHARA, T. F. 1955. The functional properties of the egg white proteins. *Food Technol.*, 9(1): 49-53.
- MADSEN, R. F. and BUCHBJERG, E. 1987. Production of improved isolated derived from seeds of a grain legume. European Patent Application. *Food Sci. Technol. Abs.*, 20(3): 205.
- MANGINO, M. E.; LIAO, Y.Y.; HARPER, N. J.; MORR, C. V. and ZADOW, J. C. 1987. Effects of heat processing on the functionality of whey protein concentrates. *J. Food Sci.*, 52(6): 1522-1524.
- MATSUDOMI, K. H.; TANAKA, A.; KATO, A. and KOBAYASHI, K. 1986. Functional properties of deamidated gluten obtained by treating with chymotrypsin at alkaline pH. *Agric. Biol. Chem.*, 50(8): 1989-1994.
- MATTIL, K. F. 1971. The functional requirements of protein in

- foods. J. Am. Oil. Chem. Soc., 48: 477-480.
- McDONALD, C. E. and PENCE, J. W. 1961. Wheat gliadin in foams for food products. Food Technol., 15(3): 141-144.
- McKAY, C. M. and SMITH, S. E. 1940. Tomato pomace in the diet. Science, 91: 388-389.
- McWATTERS, K. H. and CHERRY, J. P. 1977. Emulsification, foaming, and protein solubility properties of defatted soybean, peanut, field bean. J. Food Sci., 42(6): 1444-1450.
- McWATTERS, K. H. and HOLMES, M. R. 1979a. Influence of moist heat on solubility and emulsification properties of soy and plant flours. J. Food Sci., 44(3): 770-773, 781.
- McWATTERS, K. H. and HOLMES, M. R. 1979b. Influence of pH and salt concentration on nitrogen solubility and emulsification properties of soy flour. J. Food Sci., 44(3): 770-781, 783.
- McWATTERS, K. H. and HOLMES, M. R. 1979c. Salt concentration, pH and flour concentration effects on nitrogen solubility and emulsifying properties of peanut flour. J. Food Sci., 44(3): 765-769.
- MELLON, E. F., KORN, A. H. and HOOVER, S. 1947. Water absorption of protein. The effect of free amino groups in casein. J.

Am. Oil. Chem. Soc., 69: 827.

MELNICK, D. and OSER, B. L. 1949. The influence of heat processing on the functional and nutritive properties of protein. Food Technol., 3(2): 57-71.

MESSINGER, S. K.; RUPNOV, J. H.; ZEECE, M. G. and ANDERSON, R. L. 1987. Effect of partial proteolysis and succinylation on functionality of corn germ protein isolate. J. Food Sci., 52(6): 1620-1624.

MITA, T.; IGIRCHI, E.; YAMADA, K.; MATSUMOTO, S. and YONEZAWA, D. 1974. Dispersion state of protein stabilized emulsion. II. Effect of sodium chloride on stability of oil in water systems. J. Text. Stud., 5(1): 89-96.

MITA, T.; YAMADA, K.; MATSUMOTO, S. and YONEZAWA, D. 1973. Dispersion state of protein stabilized emulsions. Dependence of globule size and size distribution upon pH in concentrated oil-in-water systems. J. Text. Stud., 4(1): 41-52.

MIZUTANI, R. and NAKAMURA, R. 1988. Improvement of functional properties of wheat gluten and blood globin by complex-formation with soy lecithin. J. Food Sci., 53(2): 527-530.

NAKAMURA, R.; HAYAKAWA, S.; YASUDA, K. and SATO, Y. 1984.

Emulsifying properties of bovine blood globulin: a comparison with some proteins and their improvement. J. Food Sci., 49(1): 102-104.

NAARAYAMA, K. and RAO, M. S. N. 1982. Functional properties of raw and heat processed winged bean (Psophocarpus tetragolubus) flour. J. Food Sci., 47(5): 1534-1538.

NEUCERE, N. J. and DRY, R. L. 1968. Effect of organic solvents on protein extracted from peanuts. J. Agric. Food Chem., 16(2): 364-365.

OKEZIE, B. O. and KOSIKOWSKI, F. V. 1981. Extractability and functionality of protein yeast cells grown on cassava hydrolysate. Food Chem., 6: 7-13.

OKEZIE, B. O. and BELLO, A. B. 1988. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. J. Food Sci., 53(3): 450-454.

PANT, R. and TULSIANI, D. R. 1969. Solubility and aminoacid composition of proteins isolated from leguminous seeds. J. Agric. Food Chem., 17(2): 361-366.

PEARCE, K. N. and KINSELLA, J. E. 1978. Emulsifying properties of protein: evaluation of a turbidimetric technique. J. Agric. Food Chem., 26(3): 716-723.

- PEARSON, A. M.; SPOONER, M. E.; HEGARTY, G. R. and BRATZLER, L. J. 1969. The emulsifying capacity and stability of soy sodium proteinate, potassium caseinate and non-fat dry milk. Food Technol., 19(1): 103-107.
- PHILLIPS, M. C. 1981. Protein conformation at liquid interfaces and its role in stabilizing emulsions and foams. Food Technol., 35(1): 50-57.
- POMERANZ, Y. 1985. Functional properties of food components. Academic Press, Inc. Orlando, Florida.
- PUSKI, G. 1975. Modification of functional properties of soy protein by proteolytic enzyme treatment. Cereal Chem., 52(5) 655-664.
- RAD, M. A. 1977. Measurement of flow properties of fluid food developments, limitations and interpretation of phenomena. J. Text. Stud., 8(3): 257-282.
- RAD, M. A. and ANANTHESWARAN, R. C. 1982. Rheology of fluids in food processing. Food Technol., 36(2): 116-126.
- RAKOSKY, J. 1970. Soy products for meat industry. J. Agric. Food chem., 18(6): 1005-1009.
- RHEE, K. S. 1984. Use of glandless cottonseed and sunflower seed

in batter/breading for fried beef patties. J. Food Sci., 49(4): 1224-1225.

RICHERT, S. H.; MORR, C. V. and COONEY, C. M. 1974. Effect of heat and other factors upon foaming properties of whey protein concentrates. J. Food Sci., 39(1): 42-48.

SAFFLE, R. L. 1968. Meat emulsions. Adv. Food Res., 16: 105-160.

SAMPSON, A. S., CATER, C. M. and MATTLE, R. K. 1971. Preparation and characterization of coconut protein isolates. Cereal Chem., 48(2): 182-190.

SATTERLEE, L. D. 1981. Proteins for use in foods. Food technol., 35(6): 53-70.

SECHLER, C.; MAHARG, L. O. and MANGEL, M. 1959. The effect of household table salt on the whipping quality of egg white solids. Food Res., 24(2): 198-204.

SHERMAN, P. 1966. The texture of ice-cream. 3. Rheological properties of mix and melted ice-cream. J. Food Sci., 31(5): 707-716.

SHIGA, K. and NAKAMURA, Y. 1987. Relation between denaturation and some functional properties of soybean protein. J. Food Sci., 52(3): 681-684, 690.

- SCHIMIDT, G. R.; MAWSON, R. F. and SIEGEL, D. G. 1981. Functionality of a protein matrix in comminuted meat products. *Food Technol.*, 35(5): 235-237, 252.
- SCHOEMAKER, C. F; LEWIS, J. I. and TAMURA, M. S. 1987. Instrumentation for rheological measurements of foods. *Food Technol.*, 41(3): 80-84.
- SCHOEN, H. M. 1977. Functional properties of protein and their measurement. In *Food Proteins*, Edit. Whitaker, J. R. and Tanenbaum, S. R. AVI Pub. Co.
- SHULTS, G. W.; RUSSEL, D. R. and WIERBICKI, E. 1972. Effect of condensed phosphates on pH, swelling and water holding capacity of beef. *J. Food Sci.*, 37(6): 860-864.
- SOSULSKI, F. W. 1961. The centrifugue method for determining water absorption in hard red spring wheat. *Cereal Chem.*, 39(4): 344-350.
- SZCZESNIAK, A. S. and FARKAS, E. 1962. Objective characterization of the mouthfeel of gum solutions. *J. Food Sci.*, 27(4): 381-385.
- SWIFT, C. E.; LOCKET, C. and FRIJAR, A. 1961. Comminuted meat emulsions the capacity of meats for emulsifying fat. *Food Technol.*, 15(11): 468-473.

SWIFT, C. E. and SULZBACHER, W. L. 1963. Comminuted meat emulsions: factors affecting meat proteins as emulsion stabilizers. Food Technol., 17(2): 224-226.

TIU, C. and BOGER, D. V. 1972. Complete rheological characterization of time-dependent food products. J. Text. Stud., 5(3): 329-338.

TORNBERG, E. 1978. Functional characterization of protein stabilized emulsions. Creaming stability. J. Food Sci., 43(6): 1559-1562.

TORNBERG, E. and HERMANSSON, A. M. 1977. Functional characterization of protein stabilized emulsions: effect of processing. J. Food Sci., 42(2): 468-472.

TORNBERG, E. and LUNDH, G. 1978. Functional characterization of protein stabilized emulsions: standardized emulsifying procedure. J. Food Sci., 43(6): 1553-1558.

TSAI, R., CAISENS, R. G. and BRISKEY, E. J. 1972. The emulsifying properties of purified muscle protein. J. Food Sci., 37(2) 286-288.

TSATSARONIS, G. C. and BOSKOU, D. G. 1975. Aminoacid and mineral salt content of tomato seed and skin waste. J. Sci. Food

Agric., 26(3): 421-425.

TUNG, M. A.; RICHARDS, J. F.; MORRISON, B. C. and WATSON, E. L.
1970. Rheology of fresh, aged and gamma-irradiate egg white.
J. Food Sci., 35(3): 872-874.

URBANSKI, G. E.; WEI, L. S.; NELSON, A. I. and STEINBERG, M. P.
1982A. Effect of solutes on rheology of soy flour and its
components. J. Food Sci., 47: 792-795, 799.

URBANSKI, G. E.; WEI, L. S.; NELSON, A. I. and STEINBERG, M. P.
1982b. Rheology and water imbibing of major fractions of
soybean beverage. J. Food Sci., 47: 1021-1022.

VANANUVAT, P. and KINSELLA, J. E. 1975. Some functional
properties of protein isolates from yeast, Sacharomyces
fragiles. J. Agric. Food Chem., 23(4): 613-616.

VOCADLO, J. J. and YOUNG, M. M. 1969. Rheological properties of
some commercially available fats. Can. Inst. Food Technol.,
2: 137-140.

VOLKERT, M. A. and KLEIN, B. P. 1979. Protein dispersibility and
emulsion characteristics of flour soy products. J. Food Sci.
44(1): 93-96.

WANG, J. C. and KINSELLA, J. E. 1976. Functional properties of

alfafa leaf proteins: foaming. J. Food Sci., 41: 498-501.

WANG, J. C. and KINSELLA, J. E. 1976. Functional properties of novel proteins: alfafa leaf protein. J. Food Sci., 41:286-292.

WANISKA, R. D.; SHELTY, J. K. and KINSELLA, J. E. 1981. Protein stabilized emulsions. Effect of modification on emulsifying activity of bovine serum albumin in a model system. J. Agric. Food Chem., 29(6): 826-829.

WATTS, B. M. and ULRICHI, D. 1939. An active whipping substance from soybean. Ind. Eng. Chem. 31: 1282-1283.

WEBB, N. B.; IVEY, F. J.; CRAIG, H. B.; JONES, V. A. and MONROE, 1970. The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. J. food Sci., 35(4): 501-504.

WEST, S. I. 1984. Food proteins: sources and properties. J. Am. Technol. Biotechnol., 34B: 176-181.

WOLF, W. 1970. Soybean proteins: their functional, chemical, and physycal properties. J. Agric. Food Chem., 18(6): 969-976.

WU, V. Y. and INGLETT, G. E. 1974. Denaturation of plant proteins related to functionality and food applications. A review. J. Food Sci., 39(2): 218-225.

YAO, J. J.; WEI, L. S. and STEINBERG, M. P. 1988. Water binding

and rheological properties of properties of isolated soy
J. Food Sci., 53(2): 464-467.

YATSUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S.; MIRAKI, M.; TODA, J.;
WADA, T. and ISHII, K. 1972. Whipping and emulsifying properties
of soybean products. Agric. Biol. Chem., 36(6): 719-727.

ZIPRIN, Y. A.; RHEE, K. S.; CARPENTER, Z. L.; HOSTETLER, R. L.;
TERREL, R. N. and RHEE, K. C. 1981. Glandless cottonseed,
peanut and soy protein ingredients in ground beef patties:
effect on rancidity and other quality factors. J. Food Sci.,
46(1): 58-61.