

EFEITO DO pH, TIPO DE SAL E CONCENTRAÇÃO SALINA NA PROPRIEDADE DE EMULSÃO DE NANOESTRUTURAS PROTÉICAS

Samires Souza^{1*}, Suellen R. Vieira², Daniela O. dos Santos³.

1. Estudante da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB)
2. Estudante da Universidade Federal da Bahia (UFBA)
3. Professor da UESB - Departamento de Tecnologia Rural e Animal (DTRA)

Resumo

As proteínas do soro de leite apresentam importantes propriedades tecnológicas funcionais e são amplamente utilizadas na indústria de alimentos. Foram avaliadas a atividade e estabilidade emulsificante da proteína do soro de leite (PSL) e nanopartículas de proteína do soro de leite (NPSL) em função do valor de pH e concentrações de cloreto de sódio (NaCl). O experimento foi realizado em cinco níveis de pH, cinco concentrações de NaCl e dois níveis de agentes emulsificantes. Um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi usado para otimizar ou verificar a atividade e estabilidade das emulsões. Para o agente NPSL na atividade emulsificante foi obtido um modelo linear, e a estabilidade do agente NPSL obteve um modelo quadrático. Para a PSL a análise de variância da atividade e estabilidade da emulsão foi não significativa. Foi possível avaliar o efeito de pH e concentração de sal nas emulsões

Palavras-chave: NANOPARTÍCULAS; ESTABILIDADE; LEITE.

Apoio financeiro: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB

Trabalho selecionado para a JNIC: Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação – PPG/UESB; Comitê Interno de Iniciação Científica – CIIC/UESB.

Introdução

Segundo FENNEMA (2010), emulsão é a mistura de dois líquidos imiscíveis em que um deles encontra-se na forma de finos glóbulos no seio do outro líquido, formando uma mistura estável. Sendo necessária um meio de energia para formá-las através de agitação, homogeneizadores, ou processos de spray. As propriedades das proteínas alimentares são avaliadas por meio de vários métodos, tais como distribuição por tamanho das gotículas de óleo formadas, atividade de emulsificante, capacidade de emulsão e estabilidade da emulsão.

A atividade emulsificante da proteína depende da área interfacial estabilizada de gotículas de óleo dispersas, portanto, é função da razão do volume de óleo de emulsão e da concentração de proteína. Fatores como pH, concentração de proteína e sal afetam as propriedades físicas e as interações entre as proteínas e, por sua vez, alteram as propriedades funcionais. A grandeza mais importante relacionada à estabilidade é a mudança de área interfacial ao longo do tempo (MWASARU et al., 2000; LAWAL, 2004).

Proteínas como emulsificantes, formam uma película em torno da superfície de gotículas emulsionadas. Tal película apresenta propriedades viscoelásticas que determinam principalmente a extensão da estabilidade da emulsão contra a coalescência. As propriedades das emulsões estabilizadas pelas proteínas são afetadas por vários fatores. Eles incluem fatores intrínsecos, como pH, força iônica, temperatura, presença de surfactantes de baixo peso molecular, açúcares, volume da fase óleo, tipo de proteína e o ponto de fusão do óleo usado; e fatores extrínsecos, como tipo de equipamento, taxa de entrada de energia e taxa de cisalhamento (AZZAM & OMARI, 2002; FENNEMA, 2010). O presente estudo teve como objetivo a avaliação da atividade e estabilidade da emulsão da proteína do soro de leite e nanopartículas do soro de leite em função do valor de pH e concentração salina.

Metodologia

Preparação de polímeros solúveis de proteínas de soro de leite

As preparações dos polímeros foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por GIROUX et al (2009).

Preparação de nanopartículas

As nanopartículas foram produzidas por de ciclagem de pH. A Dispersão de polímeros de WPI foi acidificada sob agitação à pH de agregação 6,5 com HCl a 1 N, e foi adicionado CaCl₂ a uma concentração final de 5 mM e ajustado o pH para 6,0. A preparação foi envelhecida no pH de agregação, por um período de 24 horas a 4 °C. Após o período de envelhecimento, a dispersão foi neutralizada a pH 7,0 com NaOH 1 N e homogeneizada.

Formação de emulsão

Realizou-se uma razão volumétrica de 1:3 de óleo de milho e de solução proteica. A homogeneização foi feita com o auxílio de um mixer por 2 minutos a 25 °C. As amostras para avaliar a estabilidade da emulsão foram colocadas em banho-maria a 80 °C por 30 min, posteriormente foram resfriadas com gelo por 10 minutos e centrifugadas a 6000 rpm/5 min. A estabilidade emulsificante (EE) foi calculada conforme a equação 1, como o percentual da camada que permaneceu emulsificada após o tratamento térmico.

$$\% \text{ E.E} = \frac{\text{Peso da Camada Emulsionada após o Aquecimento}}{\text{Peso Total do Conteúdo do Tubo}} \times 100 \quad (1)$$

Para a atividade emulsificante (AE) após as amostras serem agitadas, foram divididas em tubos e centrifugadas a 6000rpm/5 min. A atividade emulsificante será determinada como o percentual da camada que manteve emulsificada após a centrifugação, o cálculo da percentagem de AE será realizado de acordo com a equação 2.

$$\% \text{ A.E} = \frac{\text{Peso da Camada Emulsionada do Tubo}}{\text{Peso Total do Conteúdo do Tubo}} \times 100 \quad (2)$$

Delineamento experimental

Um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi usado para otimizar ou verificar a atividade e estabilidade da emulsão de proteínas do soro de leite e nanopartículas protéicas do soro de leite. O DCCR montado apresentou pontos axiais assim definidos. De maneira geral, temos dois níveis definidos (-1 e +1), foram obtidos 2K pontos fatoriais + 2 x K pontos axiais + um número arbitrário de pontos centrais, onde K é o número de variáveis independentes, assim foi obtido 22 pontos fatoriais + 2 x 2 pontos axiais + quatro pontos centrais, com um total de nove tratamentos e doze unidades experimentais. As análises foram realizadas com cinco níveis de pH (4,0; 4,4; 5,5; 6,6; 7,0) e cinco concentrações de NaCl (0,0; 0,14; 0,5;0,86; 1,0). Os dados experimentais foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem (Eq.3) e os coeficientes de regressão obtidos por meio de regressão linear múltipla.

$$K = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_i X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \quad (3)$$

Todas as análises estatísticas necessárias foram realizadas no pacote estatístico *Statistical Analysis System*® versão 9.0, procedimento RSREG (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Resultados e Discussão

Para a atividade emulsificante com NPSL os dados não ajustaram ao modelo de superfície de resposta obtendo ponto de sela, logo foi ajustado um modelo linear através da análise de regressão (proc reg). Na análise de regressão a falta de ajuste (FAJ) para o modelo linear foi não significativo. O modelo abaixo Eq (4) descreve os dados que foram ajustados com um valor de R² de 0,63.

$$\text{Atividade} = 72,1457 + 2,2901\text{sal} - 4,5080\text{pH} \quad (4)$$

Para a estabilidade da emulsão com NPSL os dados ajustaram ao modelo de superfície resposta, obtendo ponto de máximo de 65,55. O modelo pode ser observado na Eq. (5).

$$\text{Estabilidade} = -65,4856 - 44,2834 \text{ sal} * \text{sal} - 3,3726 \text{ pH} * \text{pH} \quad (5)$$

A variável que mais explica o comportamento dos dados é o pH com 63,70 % e a variável sal com 36,30 %.

Para os dados de atividade emulsificante e a estabilidade da emulsão preparadas com PSL não foi possível ajustar modelos de superfície de resposta e nem modelos da análise de regressão, devido a ANOVA (Análise de Variância) dos dados ser não significativa. Para os valores das variáveis pH e concentração de NaCl planejados no estudo não foi possível ajustar modelos matemáticos que explicam o comportamento dos dados perante a atividade e estabilidade da emulsão com PSL. Porém, é sabido que essas duas variáveis possuem influencias significativas sobre qualquer uma das propriedades tecnológicas funcionais de proteínas. No entanto, para esses valores de pH e concentração de NaCl estudados não houve efeitos significativos sobre a atividade

e a estabilidade da emulsão preparadas com PSL.

Em pH próximo a 5,0 houve a turvação das amostras, isso ocorre por conta do ponto isoelétrico (PI) a β -lactoglobulina, (PI=5,2) que é a proteína de maior constituição do soro de leite. Nesse PI ocorre a ligação proteína-proteína diminuindo a solubilização, posteriormente a turvação da amostra. Já em pH maior ou menor que 5,0 ocorre a ligação proteína-água aumentando a solubilidade.

Para as amostras da atividade emulsificante da NPSL e PSL, após a centrifugação a camada não emulsionada obteve um aspecto turvo, já para a estabilidade emulsificante para NPSL e PSL após a centrifugação, a camada não emulsionada não apresentou turbidez. Isso é devido ao aquecimento que as amostras de estabilidade sofrem antes da centrifugação, ocorrendo a desnaturação e a diminuição da solubilidade da proteína nas amostras.

Segundo CHEFTEL *et al.* (1989), a natureza e a concentração de íons exercem efeitos significativos sobre a absorção de água e a solubilidade das proteínas. Assim, concentrações salinas compreendidas entre 0,5 e 1M (para os sais neutros), podem elevar a solubilidade da proteína (efeito "salting in") devido ao aumento da solvatação. Por outro lado, quando os níveis de sais são mais elevados, predominam as interações água-sal, em detrimento das interações água-proteína (efeito "salting out"), contribuindo para reduzir a solubilidade protéica.

Conclusões

A capacidade emulsificante da proteína do soro de leite é bastante importante na indústria de alimentos. Para a atividade e estabilidade da emulsão, é necessário a verificação das propriedades das proteínas presentes. Foi possível avaliar a influência da concentração de sal e a variação do pH para as emulsões de NPSL e para as emulsões PSL as variáveis foram não significativas. O ponto isoelétrico (PI) da β -lactoglobulina pode influenciar na atividade emulsificante e na estabilidade emulsificante da proteína, pois afetam na solubilidade da mesma. O aquecimento, concentração de sal, pH, tempo, velocidade entre outros, também influenciam na estabilidade e atividade emulsificante das proteínas.

Referências bibliográficas

- ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 3.ed. Viçosa: UFV. p.478, 2004.
- BRITTEN, M.; LAVOIE, L. Foaming properties of proteins as affected by concentration. **J. Food Sci.**, v. 57, p.1219-1222, 1992.
- CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.-L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Acribia, p. 179-220; 291-335. 1989.
- FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- GIROUX, H. J.; HOUDE, J.; BRITTEN, M. Preparation of nanoparticles from denatured whey protein by pH-cycling treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p.341-346, 2009.
- KINSELLA, J.E. Milk protein: physicochemical and functional properties. **Critical Review Food Science and Nutrition**. v.21, n.3, p.197-287, 1984.
- MCCLEMENTS, D. J. Food emulsions, principles, practices, and techniques. New York: CRC Press, 2 ed., 2005.
- NICORESCU, I., LOISEL, C., VIAL, C., RIABLANC, A., DJELVEH, G., CUVELIER, G., LEGRAND, J. Combined effect of dynamic heat treatment and ionic strength on denaturation and aggregation of whey proteins- Part I. **Food Research International**, v.41, p.707-713, 2008.
- RIBEIRO, E.P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos: proteínas**. 2ed, p. 86-109, São Paulo: Blucher, 2007.
- WANNISKA, R.D; KINSELLA, J.E. Foaming properties of proteins: evaluation of a column aeration apparatus using ovalbumin. **Journal Food Science**, v. 44, 1398-1411, 1979.