

OBTENÇÃO DE NOVOS INGREDIENTES ALIMENTARES POR HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE FIBRA DE COTILÉDONES DE SOJA (*GLYCINE MAX* (L.) MERRIL)

NEW FOOD OBTAINED FROM ENZYMATIC HYDROLYSIS OF SOYBEAN COTYLEDONS FIBER (*GLYCINE MAX* (L.) MERRIL)

Neusa Fátima Seibel, Adelaide Beléia

Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Londrina.
Departamento de Tecnologia de Alimentos, Caixa Postal 6001, Cep 86051-970 –
Londrina/PR E-mails: neuseibel@yahoo.com.br, beleia@uel.br

Recebido para publicação em 24/09/2007

Aceito para publicação em 02/05/2008

RESUMO

Fibra dos cotilédones de soja é a fração insolúvel obtida após o processamento do isolado proteico, constituída principalmente de polissacarídeos de parede celular. Duas amostras de fibras de cotilédones de soja, original (FAO) e micronizada (FAM), foram hidrolisadas enzimaticamente com carboidrases (Viscozyme L – Novozymes) e proteases (P3910 – Sigma) comerciais, para produzir novos ingredientes alimentares. Os hidrolisados obtidos de cada ensaio foram caracterizados pela concentração de proteínas e capacidade de hidratação e pela concentração de fibras alimentares. A fração sólida das fibras hidrolisadas com carboidrase apresentou maior quantidade de proteínas (45%) e aumento nas propriedades de hidratação: solubilidade e volume de intumescimento. A protease solubilizou 54% do total das proteínas das amostras, originando uma fração sólida, contendo 76% de fibras alimentares totais. Estes ingredientes poderão ser utilizados para obter proteínas com melhores propriedades de hidratação e aumentar o percentual de fibras alimentares em produtos alimentícios.

Palavras-chave: Fibras alimentares. Enzimas. Hidrolisados. Proteínas. Carboidratos.

ABSTRACT

Soybean cotyledons fiber is the insoluble fraction mass obtained from the processing consisting of isolated protein, being mostly constituted of cell wall polysaccharides. Two samples of soybean cotyledons fiber, original (ODF) and milled (MDF) were enzymatic hydrolyzed with commercial carbohydrases (Viscozyme L – Novozymes) and proteases (P3910 – Sigma), to produce new food. The solid material obtained after each test was evaluated for protein concentration

and hydration capacity and dietary fiber concentration. The solid fraction of the hydrolyzed fiber with carbohydrase showed higher proteins concentration (45%) and an increase in hydration properties; solubility and swelling capacity. The protease was able to solubilize 54% of the total proteins in the samples, producing a solid fraction with 76% total dietary fiber. These ingredients may be used to formulate foods containing proteins with better hydration properties and to increase the concentration of dietary fibers in food products.

Keywords: Fiber. Enzymes. Hydrolysates. Proteins. Carbohydrates.

1 Introdução

Fibra dos cotilédones de soja é a fração insolúvel do processamento do isolado proteico, constituída principalmente de polissacarídeos de parede celular. As fibras alimentares são definidas como macromoléculas resistentes à digestão pelas enzimas do trato gastrointestinal humano e são essencialmente compostas de componentes de parede celular, tais como polissacarídeos e lignina (THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003).

As fibras proporcionam efeitos fisiológicos para quem ingere a quantidade diária recomendada de fibras totais (25-30g), sendo que 75% desta quantidade deve ser fibra insolúvel, além de apresentar propriedades funcionais nos alimentos. A principal característica físico-química é a propriedade de hidratação, possivelmente pela presença de componentes de fibras alimentares insolúveis, como celulose, hemicelulose e lignina, que são materiais higroscópicos (AUFFRET et al., 1994; LÓPEZ et al., 1996; THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003). No entanto, processos tecnológicos, como moagem, secagem, aquecimento e extrusão modificam as propriedades físicas da matriz, afetando as propriedades de hidratação (GUILLON; CHAMP, 2000).

As propriedades físico-químicas de macromoléculas, proteínas e carboidratos podem ser manipuladas por tratamentos químicos, mecânicos, enzimáticos ou térmicos, com objetivos de aumentar a funcionalidade e a disponibilidade de nutrientes, produzir hidrolisados com peptídeos definidos, isolar peptídeos fisiologicamente ativos e remover sabores ou odores, assim como compostos tóxicos. A hidrólise enzimática é preferida em produtos alimentícios porque pode ser controlada, havendo

uma alteração total, parcial ou específica, dependendo do interesse (LAHL; BRAUN, 1994).

Em proteínas, os tratamentos enzimáticos têm proteólise limitada e seletiva para aumentar a solubilidade e melhorar a disponibilidade dos aminoácidos (FISCHER et al., 2001; LAHL; BRAUN, 1994). Os polissacarídeos têm sofrido tratamentos antes do uso para alterar a complexa estrutura física existente em compostos de parede celular porque a incorporação de fibras em alimentos pode causar modificações indesejáveis, particularmente quanto ao sabor e textura (MARSMAN et al., 1997; THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003). Os hidrolisados destes polissacarídeos apresentam aumento das quantidades de fibras solúveis e aumento do volume de intumescimento das fibras insolúveis, provavelmente pelo aumento da porosidade, e têm maior ou menor absorção de água, dependendo do tamanho e da distribuição dos poros (GUILLON; CHAMP, 2000).

O objetivo do trabalho foi obter novos ingredientes alimentares hidrolisando enzimaticamente fibras de cotilédones de soja, a partir do uso de carboidrase e de protease comerciais.

2 Material e métodos

2.1 Material

A matéria-prima utilizada foi fibra de cotilédones de soja, fibra alimentar original (FAO) e fibra alimentar micronizada (FAM), fornecida pela empresa Solae *Company* (Esteio/RS). As enzimas utilizadas foram carboidrase de *Aspergillus aculeatus* Viscozyme L (Novozymes), atividade 100unidades mL⁻¹, lote KTN02106 e protease

de *Bacillus licheniformis* P3910 (Sigma), E.C. 3.4.21.14. Os reagentes para as determinações foram de grau analítico.

2.2 Métodos

Amostras de fibra de cotilédones de soja foram hidrolisadas, usando 200 μ L g⁻¹ de carboidrase (Viscozyme L – Novozymes), durante 12 horas sob agitação a 30°C, e, em outras amostras, a hidrólise foi feita com 150 μ L g⁻¹ de protease (P3910 – Sigma), durante 5 horas sob agitação a 55°C.

Os hidrolisados sólidos foram secos em uma fina camada sobre lâmina de vidro em estufa com circulação e renovação de ar TE-394/3 TECNAL a 30°C. Os sólidos foram recuperados e triturados em moinho para pequenas amostras IKAA11 basic QUIMIS.

Nos sólidos oriundos da ação da carboidrase foram determinadas proteínas totais pelo método de Microkjeldahl (AOAC, 1995), que foram avaliadas quanto às propriedades de hidratação: solubilidade, índice de absorção de água e volume de intumescimento (SEIBEL, 2006). As frações sólidas da hidrólise com a protease foram avaliadas quanto aos teores de proteínas totais, usando o método de Microkjeldahl e de fibras alimentares solúveis, insolúveis e totais, com a metodologia enzimática-gravimétrica, segundo o método n° 985.29 da AOAC (1995), usando o kit de ensaio de fibra alimentar total da Sigma (TDF 100A) e tampão fosfato 0,08M pH 6.

3 Resultados e discussão

As fibras de cotilédones de soja, original e micronizada (com diminuição do tamanho das partículas) foram hidrolisadas enzimaticamente, após um experimento fatorial preliminar de 2³ com dois pontos centrais, que definiu as melhores condições capazes de solubilizar os maiores percentuais de carboidratos e proteínas (SEIBEL, 2006). As condições ideais para o uso da carboi-

drase (Viscozyme L – Novozymes), foram 200 μ L g⁻¹, durante 12 horas sob agitação a 30°C, e, para a protease (P3910 – Sigma) foram 150 μ L g⁻¹, durante 5 horas sob agitação a 55°C. Estes experimentos foram realizados para a obtenção de novos ingredientes sólidos com maior teor de proteínas e de fibras alimentares, respectivamente.

A carboidrase solubilizou 47% dos carboidratos inicialmente presentes nas amostras, originando frações sólidas da hidrólise com 62% a mais de proteínas, em média, do que as amostras antes da hidrólise (Tabela 1). Portanto, se há interesse em aumentar rendimento em proteínas por extração, a aplicação da Viscozyme L poderia extrair quantidades adicionais de proteínas para serem utilizadas em produtos alimentícios.

Tabela 1 - Proteínas e propriedades de hidratação da fração sólida das fibras dos cotilédones de soja após a hidrólise com a carboidrase, comparadas com as amostras não hidrolisadas.

Amostras	Proteínas (%)	IAA	VI
FAO não hidrolisada	28,2 ^b ± 6,5	8,4 ^a ± 0,2	17,2 ^c ± 1,0
FAO após a hidrólise	45,5 ^a ± 1,6	4,1 ^c ± 0,1	31,0 ^a ± 0,3
FAM não hidrolisada	27,6 ^b ± 0,1	5,7 ^b ± 0,1	18,0 ^c ± 0,5
FAM após a hidrólise	45,0 ^a ± 1,2	3,3 ^d ± 0,1	21,5 ^b ± 0,8

FAO= fibra alimentar original; FAM= fibra alimentar micronizada. IAA= índice de absorção de água (g água absorvida/ g de amostra); VI= volume de intumescimento (mL de água/ g de amostra). Médias de determinações em triplicata. Proteínas em base seca. Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferiram ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

As propriedades de hidratação deste material sólido foram alteradas, após a hidrólise enzimática. O volume de intumescimento (VI) foi maior enquanto que o índice de absorção de água (IAA) foi menor, provavelmente devido às mudanças na estrutura física ocorridas durante a hidrólise, pois o IAA depende da conformação molecular, tamanho das partículas, números de sítios de ligação das moléculas e força de centrifugação, enquanto o VI depende da densidade, porosidade e solubilidade (AUFFRET et al., 1994; CHOU; MORR, 1979). O VI da fração sólida da hidrólise da FAM foi menor que da FAO, provavelmente devido às diferenças ocorridas em consequência da diminui-

ção do tamanho das partículas pela micronização. Guillon e Champ (2000) justificam o aumento do volume de intumescimento das fibras insolúveis, provavelmente pelo aumento da porosidade, e a menor absorção de água, pelo tamanho e distribuição dos poros.

A solubilidade proteica dos ingredientes obtidos após a hidrólise com a carbohidrase também foi maior do que a solubilidade das fibras alimentares (Tabela 2). O efeito do pH nesta propriedade de hidratação foi avaliado utilizando soluções com pH de 3,0 a 7,0. Para os ingredientes de fibra alimentar, o conteúdo de proteínas solúveis foi menor no pH 3,0 (original 5,7% e micronizada 4,7%), atingindo máximo de 10,7% na solução com pH 7,0, pois a maior parte da proteína solúvel já havia sido extraída no processo industrial de produção do isolado proteico. As frações sólidas, oriundas da hidrólise com carbohidrases, tiveram maior solubilidade proteica, em todas as soluções avaliadas, quando comparadas com as amostras não hidrolisadas ($p > 0,05$). O hidrolisado sólido da fibra original teve a solubilidade triplicada e o hidrolisado oriundo da fibra micronizada, duplicada. Esta diferença pode ser devido à diminuição das partículas pela micronização. As quantidades de proteínas solúveis nos pHs 3,0; 5,0 e 6,0 das frações sólidas da fibra alimentar original foram maiores que as frações sólidas da fibra alimentar micronizada, provavelmente devido às diferenças nas conformações e agregações formadas pelas proteínas e também do tamanho e da distribuição dos poros (GUILLON; CHAMP, 2000).

As frações sólidas das fibras alimentares, original e micronizada, hidrolisadas com a protease,

foram avaliadas quanto aos teores de proteínas e fibras alimentares e comparadas com os resultados das amostras antes da hidrólise (Tabela 3). Em média, a protease foi capaz de solubilizar 54% do total das proteínas presentes nas amostras. Assim, o percentual de fibras alimentares totais, nas frações sólidas das fibras hidrolisadas, aumentou para 76%, sendo as fibras insolúveis, as frações majoritárias nas duas amostras, antes e depois da hidrólise.

Tabela 2 - Efeito do pH na solubilidade proteica das frações sólidas das fibras dos cotilédones de soja após a hidrólise enzimática com a carbohidrase, comparadas com as fibras não hidrolisadas (% de proteínas solúveis em relação às proteínas totais).

Amostras	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 6,0	pH 7,0
FAO não hidrolisadas	5,7 ^c ± 0,5	6,0 ^b ± 0,5	6,7 ^d ± 0,1	7,7 ^c ± 0,4	7,6 ^c ± 0,1
FAO após a hidrólise	13,5 ^a ± 0,3	15,2 ^a ± 1,8	18,6 ^a ± 0,4	20,8 ^a ± 0,3	19,5 ^a ± 0,6
FAM não hidrolisadas	4,7 ^c ± 0,3	6,4 ^b ± 0,7	9,6 ^c ± 0,3	10,5 ^c ± 0,3	10,7 ^b ± 0,3
FAM após a hidrólise	10,4 ^b ± 0,4	12,5 ^a ± 0,7	13,3 ^b ± 0,4	16,4 ^b ± 2,2	19,8 ^a ± 1,6

FAO= fibra alimentar original; FAM= fibra alimentar micronizada.

Médias de determinações em triplicata, em base seca.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferiram ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Tabela 3 - Caracterização das fibras de cotilédones de soja não hidrolisadas e das frações sólidas das fibras hidrolisadas com a protease (%).

Amostras	Proteínas	Fibras insolúveis	Fibras solúveis	Fibras totais
FAO não hidrolisada	28,2 ^a ± 6,5	55,5 ^b ± 0,5	3,8 ^c ± 0,1	59,4 ^c ± 0,4
FAO após a hidrólise	16,1 ^b ± 0,2	70,6 ^a ± 1,2	4,4 ^{bc} ± 0,6	75,0 ^a ± 0,8
FAM não hidrolisada	27,6 ^a ± 0,1	56,6 ^b ± 0,4	5,9 ^{ab} ± 1,0	62,5 ^b ± 0,6
FAM após a hidrólise	14,8 ^b ± 0,3	72,4 ^a ± 1,8	4,9 ^{bc} ± 0,1	77,2 ^a ± 1,8

FAO: fibra alimentar original. FAM: fibra alimentar micronizada

Médias de determinações em triplicata, em base seca.

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferiram ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Estas frações sólidas das hidrólises proteicas podem ser utilizadas como ingredientes em vários produtos, pois o aumento da concentração de fibras totais permite o uso como ingrediente (fonte de fibras) em concentrações menores, em comparação com os ingredientes originais. Além de produzir menor impacto nas propriedades sensoriais, pois é sabido que a incorporação de fibras alimentares pode causar modificações indesejáveis, particularmente quanto ao sabor e textura.

Estes ingredientes também podem ser usados como componentes benéficos à saúde, pois as fibras

apresentam efeitos fisiológicos proporcionados a quem ingere a quantidade diária recomendada, 25 a 30g no total, sendo que 75% desta quantidade devem estar na forma insolúvel. Os benefícios descritos são: aumento da saciedade, regulação do trânsito intestinal, aumento do volume fecal (principalmente as insolúveis), redução do colesterol, aumento na excreção de sais biliares e prevenção de algumas doenças, incluindo o câncer de cólon (principalmente as solúveis) (THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003). É importante lembrar que as propriedades fisiológicas das fibras alimentares são relacionadas com a principal característica físico-química, a propriedade de hidratação, possivelmente pela presença de componentes de fibras alimentares insolúveis, como celulose, hemicelulose e lignina (AUFFRET et al., 1994; LÓPEZ et al., 1996).

4 Conclusões

Novos ingredientes alimentares foram obtidos a partir da hidrólise enzimática das fibras de cotilédones de soja, usando carboidrase e protease comerciais. A hidrólise com carboidrase originou um produto com maior concentração de proteínas totais e solúveis, que têm maior volume de intumescimento. E a hidrólise proteica produziu um ingrediente com maior teor de fibras alimentares totais e insolúveis.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo suporte financeiro; à Solae Company, pelo fornecimento das amostras, à Novozymes, pela doação da carboidrase e à UEL, pela estrutura laboratorial.

Referências

AOAC. **Official methods of analysis**. Association of Official Analytical Chemists 16. ed. v. I e II, 1995.

AUFFRET, A. et al. Effect of grinding and experimental conditions on the measurement of hydration properties of dietary fibres. **LWT**, v.27, p.166-172, 1994.

CHOU, D.H.; MORR, C.V. Protein-water interactions and functional properties. **JAACS**, v.56, p.53A-62A, 1979.

FISCHER, M. et al. Enzymatic extractability of soybean meal proteins and carbohydrates: heat and humidity effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.4463-4469, 2001.

GUILLO, F.; CHAMP, M. Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. **Food Research International**, v.33, p.233-245, 2000.

LAHL, W.J.; BRAUN, S.D. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. **Food Technology**, p.68-71, 1994.

LÓPEZ, G. et al. Relationship between physical and hydration properties of soluble and insoluble fiber of artichoke. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.2773-2778, 1996.

MARSMAN, G.J.P. et al. *In vitro* accessibility of untreated, toasted, and extruded soybean meals for proteases and carbohydrases. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.4088-4095. 1997.

SEIBEL, N.F. **Caracterização, fracionamento e hidrólise enzimática dos componentes do resíduo do processamento da soja (*Glycine Max* (L.) Merrill), fibras dos cotilédones**. Londrina, 2006. 103p. Tese. (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina (UEL).

THARANATHAN, R.N.; MAHADEVAMMA, S. Grain legumes: a boon to human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v.14, p.507-518, 2003.