

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
 FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
 Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental

FBA – 0201  
 Bromatologia

PROTEÍNAS NOS ALIMENTOS

Prof. Dr. João Paulo Fabi  
 Setembro 2017

**PROTEÍNAS ALIMENTARES:**

1. fácil digestão
2. não são tóxicas
3. adequadas no aspecto nutricional
4. utilizadas em produtos alimentícios
5. abundantes na agropecuária



**PROPRIEDADES:**

- Tecnológicas
- Nutricionais

**PROCESSAMENTO**

**Custo-Benefício:**  
 Ingestão X Aproveitamento

**PROPRIEDADES NUTRICIONAIS**  
**AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS E NÃO-ESSENCIAIS**

- Vegetais sintetizam os 20 (21) aminoácidos necessários para a produção de suas proteínas
- Animais não sintetizam todos eles, sendo que alguns devem ser ingeridos com o alimento.

Aminoácido (mg/g prot)	Ovo	Leite	Carne	Trigo	Arroz	Milho	Soja
His	22	27	34	21	21	27	30
Ile	54	47	48	34	40	34	51
Leu	86	95	81	69	77	127	82
Lys	70	78	89	23	34	25	68
Met+Cys	57	33	40	36	49	41	33
Phe+Tyr	93	102	80	77	94	85	95
Thr	47	44	46	28	34	32	41
Trp	17	14	12	10	11	6	14
Val	66	64	50	38	54	45	52

Por que?   

**AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS E NÃO-ESSENCIAIS**  
AMINOÁCIDOS LIMITANTES

- o corpo humano só vai absorver os outros aminoácidos na proporção em que o aminoácido de menor quantidade for utilizado para anabolismo (ex. LISINA)

Cereais (arroz, trigo, milho): - Lisina +++ Metionina  
 Leguminosas (feijão, soja): +++ Lisina - Metionina

Aminoácido (mg/g prot)	Ovo	Leite	Carne	Trigo	Arroz	Milho	Soja
His	22	27	34	21	21	27	30
Ile	54	47	48	34	40	34	51
Leu	86	95	81	69	77	127	82
Lys	70	78	89	23	34	25	68
Met+Cys	57	33	40	36	49	41	33
Phe+Tyr	93	102	80	77	94	85	95
Thr	47	44	46	28	34	32	41
Trp	17	14	12	10	11	6	14
Val	66	64	50	38	54	45	52



**PORTANTO.....**

Qualidade nutricional das proteínas:

1. Quantidade de aminoácidos essenciais
2. Digestibilidade proteica (biodisponibilidade)

**DIGESTIBILIDADE / BIODISPONIBILIDADE**

➤ Proporção de **NITROGÊNIO** que será absorvido após a digestão

↑ **PROTEÍNAS ANIMAIS** X ↓ **PROTEÍNAS VEGETAIS**

1. Solubilidade
2. Estrutura química
3. Fatores antinutricionais
4. Modificações químicas dos aminoácidos

## PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS

• Atributos sensoriais dos alimentos:

Ex. bolo da vovó

- ✓ *formação de gel*
- ✓ *formação de espuma*
- ✓ *formação de emulsão*
- ✓ *formação de massa*



## PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS

1. **HIDRATAÇÃO**
2. **SOLUBILIDADE**
3. **PROPRIEDADES INTERFACIAIS**
4. **GELEIFICAÇÃO E COAGULAÇÃO**
5. **TEXTURIZAÇÃO**
6. **FORMAÇÃO DE MASSAS**

## HIDRATAÇÃO PROTEICA

• composição de aminoácido

• maior radicais hidrofílicos (especialmente os carregados), maior hidratação

Resíduo de aminoácido	Hidratação (mol de H <sub>2</sub> O/mol de resíduo)	Resíduo de aminoácido	Hidratação (mol de H <sub>2</sub> O/mol de resíduo)	Resíduo de aminoácido	Hidratação (mol de H <sub>2</sub> O/mol de resíduo)
<b>Polar</b>		<b>Iônico</b>		<b>Apolar</b>	
Asn	2	Asp	6	Ala	1
Gln	2	Glu	7	Gly	1
Pro	3	Tyr	7	Phe	0
Ser, The	2	Arg*	3	Val, Ile,	1
Trp	2	His*	4	Leu, Met	1
Asp (n.i.)	2	Lys*	4		
Glu (n.i.)	2				
Tyr	3				
Arg (n.i.)	3				
Lys (n.i.)	4				

## Solubilidade

Estabilidade termodinâmica das interações proteína-proteína e proteína-solvente:

-**RESTRIÇÃO ESTÉRICA**

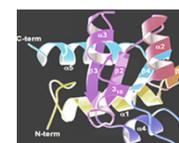
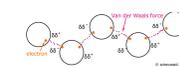
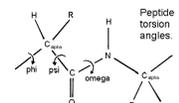
-**VAN DER WAALS**

-**ligações de HIDROGÊNIO**

-**INTERAÇÕES ELETROSTÁTICAS**

-**pontes DISSULFETO**

-**INTERAÇÕES HIDROFÓBICAS**



## SOLUBILIDADE:

Equilíbrio entre interações proteína-proteína e proteína-solvente

**Proteína-proteína:** interações hidrofóbicas

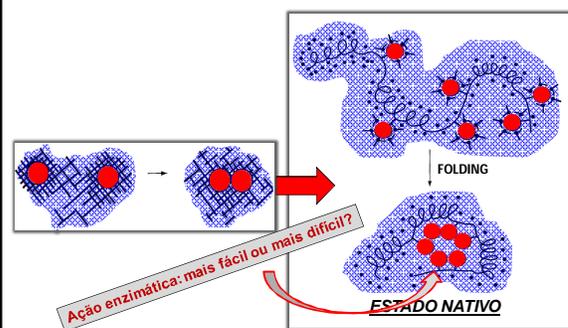
**Proteína-solvente:** interações iônicas

**MENOS RESÍDUOS HIDROFÓBICOS NA SUPERFÍCIE, MAIOR SOLUBILIDADE**

- 1) **Albuminas** - solúveis em água pH 6,6  
*Albumina sérica, ovoalbumina, α-lactoalbumina*
- 2) **Globulinas** - solúveis em solução salina pH 7  
*Glicinina, faseolina, β-lactoglobulina*
- 3) **Glutelinas** - solúveis em pH extremos (2 ou 12)  
*Glutelinas do trigo*
- 4) **Prolaminas** - solúveis em etanol 70%  
*Zeína e gliadinas; são extremamente hidrofóbicas*



## Solubilidade X Estrutura química



**SOLUBILIDADE:**

- Influência do pH: maior solubilidade em  $pH < pI$  /  $pH > pI$
- no pI de proteínas + hidrofóbicas: interações hidrofóbicas + interações iônicas
- maior interação "inter-molecular" → AGREGAÇÃO → PRECIPITAÇÃO

Proteínas com resíduos polares superfície > apolares, mais solúveis no pI:  
α-LACTOALBUMINA / ALBUMINA SÉRICA

**SOLUBILIDADE:**

- Influência da força iônica: sais estabilizam / desestabilizam as proteínas
- ↑ SOLUBILIDADE (SALTING IN) / ↓ SOLUBILIDADE (SALTING OUT)
- Série de Hofmeister:  $SCN^- > ClO_4^- > I^- > Br^- > Cl^- > F^- > SO_4^{2-}$   
 $NH_4^+ < K^+ < Cs^+ < Li^+ < Na^+ < Mg^{2+} < Ca^{2+}$

**GLOBULINAS**  
Pouco solúveis no pI  
sais ↑ solubilidade  
"SALTING IN"

**ALBUMINAS**  
Muito solúveis no pI  
sais ↓ solubilidade  
"SALTING OUT"

**SOLUBILIDADE:**

- Influência da temperatura:
- pH / forças iônicas constantes
- ↑ temperatura (0-40°C)
- ↑ solubilidade (a) polares
- > 40°C
- desdobramento/desnaturação
- ↓ SOLUBILIDADE

**ESTRUTURA QUÍMICA**

**DESNATURAÇÃO PROTEICA**

- Ligações peptídicas se mantêm inalteradas;
- Outros tipos de interações são afetadas;
- Domínios desfeitos;

**AUMENTO BIODISPONIBILIDADE**  
(???)

ALTA PROBABILIDADE DE INTERAÇÕES INTER-MOLECULARES!!!

**PROPRIEDADES INTERFACIAIS:**

- Proteínas são anfifílicas; interface polar-apolar produz película viscoelástica
- H<sub>2</sub>O solvente universal.....logo existe uma orientação no nível estrutural

**PROPRIEDADES INTERFACIAIS** → conformação da estrutura primária:

- adsorver rapidamente à interface
- desdobrar e reorientar rapidamente à interface
- interagir para formar película coesiva e viscoelástica

- Padrão de distribuição dos segmentos hidrofílicos e hidrofóbicos:

> FILEIRAS, > CAPACIDADE SURFACTANTE

MAIOR flexibilidade molecular  
MAIOR capacidade surfactante

1) **PROPRIEDADES EMULSIFICANTES:** leites de vaca, soja e coco; manteigas e margarinas; maionese e molhos para saladas; salsichas e linguiças



1) **PROPRIEDADES EMULSIFICANTES:**

**VÁRIOS FATORES ALTERAM FORMAÇÃO DE EMULSÃO:**

-fatores intrínsecos (solubilidade, pH, força iônica, hidrofobicidade da superfície, surfactantes de ↓ peso molecular, temperatura)

-fatores extrínsecos (tipo de equipamento, taxas de entrada de energia e de cisalhamento)

**PROPRIEDADES EMULSIFICANTES** (fatores que influenciam):

-**pH e Solubilidade:** pH extremos → não resulta em emulsão satisfatória

- 1) alta solubilidade = pl: formação de emulsão **MÁXIMA** nesse pH
- 2) alta solubilidade ≠ pl: formação de emulsão **MÍNIMA** nesse pH

- **Hidrofobicidade da superfície:** maior capacidade emulsificante

- **Desnaturação parcial** (solúvel) → maior capacidade emulsificante

- flexibilidade molecular
- hidrofobicidade de superfície

- **Surfactantes de baixo peso molecular:** menor capacidade emulsificante

2) **PROPRIEDADES ESPUMANTES:** cremes, sorvetes, bolos, merengues, pães, suflês



- fatores intrínsecos / extrínsecos idênticos às emulsões  
- volume, expansão e estabilização da espuma

**PROPRIEDADES ESPUMANTES:** cremes, sorvetes, bolos, merengues, pães, suflês

**VÁRIOS FATORES ALTERAM FORMAÇÃO DE EMULSÃO:**

- **pH e Solubilidade:**

1. maior solubilidade = pl; formação de espuma **MÁXIMA** nesse pH
2. maior solubilidade ≠ pl; formação de espuma **MÍNIMA** nesse pH
  - mas uma pequena quantidade de proteína solúvel já pode gerar espuma suficiente.....
  - proteína insolúvel: pode estabilizar a espuma devido ao aumento da força coesiva na película

**PROPRIEDADES INTERFACIAIS:**



- **Sais:** salted out → maior espuma; salted in → menor espuma  
- **Açúcares:** baixa espumabilidade; alta estabilidade (suflês, merengues)

- **Lipídeos/Surfactantes:** → baixa espumabilidade; baixa estabilidade

- **Concentração:** maior proteína; maior firmeza da espuma

- **Desnaturação parcial** (solúvel) → maior formação de espuma

- flexibilidade molecular
- hidrofobicidade de superfície

### PROTEÍNAS DO OVO

Proteínas solúveis em água – parcialmente solúveis em água (quais?)

- Força mecânica??



**Formação de espuma**  
- Proteínas da clara



**Formação de emulsão**  
- Proteínas da clara e gema



PLASTIC  
ÁGUA





### PROPRIEDADES INTERFACIAIS:

- **PROPRIEDADES ESPUMANTES:**

- *Propriedades moleculares:*

1. Adsorver com rapidez na interface
2. Desdobrar e rearranjar rapidamente na interface
3. Formar película coesiva viscosa

**ESPUMABILIDADE**  
taxa de adsorção  
flexibilidade  
hidrofobicidade

X

**ESTABILIDADE**  
hidratação  
espessura  
concentração  
interações

- Sistemas alimentares: constituídos por uma série de proteínas

- Somatória dos efeitos de todas as proteínas

- Clara do ovo: soma dos efeitos das proteínas (quais?)

### GELIFICAÇÃO E COAGULAÇÃO:

- gel → **SÓLIDO** ↔ **LÍQUIDO**

- Interações → rede capaz de aprisionar a água e substâncias de baixo peso molecular

- Gel de proteínas:

- **AQUECIMENTO** (solução ~ concentrada)
  - Desnaturação (parcial) expõe grupos funcionais
- **RESFRIAMENTO:** interação dos grupos expostos
  - Redes estáveis de ligações não-covalentes
  - aumento das ligações de H
  - aumento das interações hidrofóbicas



- **GEIS:** ligações de H termicamente reversíveis (gelatina)
- **COÁGULOS:** interações hidrofóbicas termicamente irreversíveis (clara de ovo); pontes dissulfeto são termicamente irreversíveis (ovoalbumina)

### 1) GEIS TRANSLÚCIDOS:

- poucos resíduos hidrofóbicos - formação + lenta
- resfriamento (ordenação das ligações de H)
- geis fortes / termicamente reversíveis
- menos propensos a sinerese

**Ex. GELATINA**



### 2) COÁGULOS (opacos):

- muitos resíduos hidrofóbicos
- agregação de forma desordenada
- Tipo de geis fracos / termicamente irreversíveis
- mais propensos a sinerese

**Ex. QUEIJOS / OVO FRITO**



### TEXTURIZAÇÃO:

- ESTADO GLOBULAR PROTEÍNA VEGETAL → ESTRUTURA FÍSICA FIBROSA (carne)

#### 1) Texturização por formação de fibra:

- isolado proteico concentrado (↑ pH)
- bombeado por micro-orifícios (↓ pH - desnatura)
- massa → amassada, comprimida e esticada
- adicionadas de gordura, aromas, etc.,
- aquecida à 90°C para gelificar



#### 2) Texturização por extrusão:

- isolado proteico concentrado
- extrusor → avança sob alta pressão
- final do fundo cônico aquecida a 180°C
- desnaturação proteica (fusão termoplástica)
- liberação de pressão → água evapora
- ocorre expansão (*puffing*) do produto






### FORMAÇÃO DE MASSA:

- Farinha de trigo + água + força mecânica → massa viscoelástica

- Fração amido → propriedades de intumescimento



- Fração proteica insolúvel: **GLUTÉN**

- mistura heterogênea de proteínas:
  - *gliadinas* e *glutelinas*: aprisionar o gás durante a fermentação da massa



### Proteínas do Trigo

**GLÚTEN:** 30% aminoácidos hidrofóbicos  
 < 10% aminoácidos hidrofílicos  
 1-3 mol% de Cys - Cistina

**CISTEÍNA** → **CISTINA** + 2H<sup>+</sup> + 2e<sup>-</sup>

**Massa do pão:**

- resíduos hidrofóbicos (ar - lipídeos)
- resíduos hidrofílicos (coesão-adesão)
- sulfidril-dissulfeto → polimerização → cavidades de ar
  - agentes oxidantes, ↑ elasticidade (iodatos e bromatos – PROIBIDOS!!!)

### DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS EM ALIMENTOS

- Determinação de um elemento químico elementar (C, N);
- Determinação de grupo específico da proteína (aminoácido, ligação peptídica).

A conversão para conteúdo de proteína é feita através de um fator.

#### ANÁLISES ELEMENTARES

##### A. Análise de carbono

- digestão mais fácil do que para o nitrogênio;
- menores erros no resultado por causa da maior quantidade em relação ao nitrogênio;
- fator de correção mais constante do que o nitrogênio;
- **Desvantagem: maior dificuldade em separar os carbonos pertencentes à proteína dos carbonos de outros componentes.**

#### B. Análise de nitrogênio

- é a determinação mais utilizada;
- considera que as proteínas têm 16% de nitrogênio em média (vai depender do tipo de proteína);
- fator geral na transformação de nitrogênio para proteína é de 6,25.

16g N - 100g proteínas  
 Yg N - Xg proteínas  
 X = Y x 100 = Y x 6,25 g de proteínas

Este fator de conversão gera erros quando o conteúdo em N de um alimento é muito diferente de 16%. Nestes casos, existem os fatores de conversão específicos para cada alimento:

**- trigo: 5,70; leite: 6,38; carne e ovos: 6,25; gelatina: 5,55.**

Food	Factor
<b>Animal origin</b>	
Eggs	6.25
Meat	6.25
Milk	6.38
<b>Vegetable origin</b>	
Barley	5.83
Corn (maize)	6.25
Millet	5.83
Oats	5.83
Rice	5.95
Rye	5.83
Sorghums	6.25
Wheat: Whole kernel	5.83
Wheat	6.31
Endosperm	5.70
Beans: Castor	5.30
Jack, lima, navy, mung	6.25
Soybean	5.71
Velvet beans	6.25
Peanuts	5.46

#### MÉTODO DE KJELDAHL: DETERMINAÇÃO ATRAVÉS DO "N" TOTAL

Método proposto por Johan Kjeldahl na Dinamarca em 1883. Dermina N orgânico total.

**DEGRADAÇÃO:**  
 Proteína + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> → (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(aq) + CO<sub>2</sub>(g) + SO<sub>2</sub>(g) + H<sub>2</sub>O(g)

**LIBERAÇÃO DE AMÔNIA:**  
 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(aq) + 2NaOH → Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(aq) + 2H<sub>2</sub>O(l) + 2NH<sub>3</sub>(g)

**ABSORÇÃO DA AMÔNIA:**  
 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (rosa) + NH<sub>3</sub> → NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub> (azul)

**TITULAÇÃO:**  
 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub> (azul) + HCl → H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (rosa) + NH<sub>4</sub>Cl

É uma titulometria de neutralização, onde:

- número de miliequivalente do ácido = número de miliequivalente da base
- n° de meq do HCl = n° de meq do N
- mL do ácido x normalidade do ácido = peso N (g) / meq do N
- peso N (g) = mL do ácido x normalidade do ácido x 0,014
- peso N (mg) = mL do ácido x normalidade do ácido x 14
- % N x fator = % de proteína total.

#### METODO DE DUMAS

O método descoberto por Jean-Baptiste Dumas (1831) determina N total, após combustão da amostra a 700 – 900 °C e medida volumétrica do N gasoso (impreciso). Equipamentos recentes completam a análise em 3 minutos e com boa precisão, pois consegue eliminar a água e CO<sub>2</sub> presentes, analisando em detector de condutividade térmica (TCD) apenas o N elementar.

<https://www.youtube.com/watch?v=lyo0nnyhoas>

Kjeldahl vs. Dumas Chemistry	
Kjeldahl	Dumas
Sample digested in sulfuric acid and a catalyst for 3-2 hours.	Sample is introduced into a furnace at high temperature in the presence of oxygen, in a inert gas stream. Digestion time: < 1 min.
(CHN) + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> → CO <sub>2</sub> + SO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Transfer of N <sub>2</sub> to N <sub>2</sub> , as well as other products of combustion.
Nitrosification of sulfuric acid with sodium hydroxide, formation of ammonia gas and distillation of ammonia.	Reduction of NO <sub>x</sub> to N <sub>2</sub> , trapping or removal of other gases, detection of N <sub>2</sub> on a TCD detector.
NH <sub>3</sub> + NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> → NH <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O + Na <sup>+</sup>	
Ammonia is typically trapped in a boric acid solution to form ammonium borate and treated with sulfuric acid.	

#### ANÁLISE POR GRUPOS FUNCIONAIS

##### METODO POR BIURETO

ligações peptídicas formam um complexo de cor roxa com sais de cobre em soluções alcalinas

**MÉTODO DE LOWRY (reagente de FOLLIN-CIOCALTEAU)**  
 reagente fenol e cobre em condições alcalinas; aminoácidos aromáticos 10 a 20X mais sensível que UV, 100X mais sensível que o método por biureto

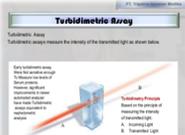
##### METODO POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA

Proteínas absorvem UV em 280 nm.  
 Aminoácidos aromáticos: tirosina, triptofano

## ANÁLISE POR GRUPOS FUNCIONAIS

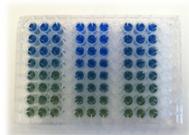
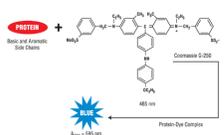
## MÉTODOS TURBIDIMÉTRICOS

A medida é baseada na turbidez causada pela proteína precipitada por algum agente precipitante



## MÉTODO DYE-BINDING (ligação de corante)

Corante que forma um complexo colorido com a proteína: "Bradford"



## ATIVIDADE PRÁTICA

- Visualização de propriedades interfaciais das proteínas da clara do ovo:

- Formação de espuma em diferentes condições
- Discutir:
  - > Influência dos tratamentos ou componentes alimentares na formação e duração da espuma;
  - > Influência dos diferentes tipos de proteínas existentes na clara do ovo;
  - > Aplicação prática.



## REFERÊNCIAS

- ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 1.
- FENNEMA, O. R. **Química de alimentos**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- COULTATE, T. P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- DE MAN, J.M. **Principles of Food Chemistry**. 3.ed. Gaithersburg, Maryland, 1999.
- BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 4.ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2009.