

# COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DO FEIJÃO PRETO: AVALIAÇÃO DE RENDIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

Fulvio Batista Lemos Filho <sup>1</sup>  
João Gustavo Provesi <sup>2</sup>

**Resumo:** Este estudo avaliou métodos de extração de proteínas do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.), visando sua importância como fonte alternativa e sustentável de proteína vegetal. O objetivo principal foi comparar a eficiência dos métodos de extração aquosa, alcalina e enzimática, bem como caracterizar os extratos obtidos quanto às suas propriedades físico-químicas e funcionais. A metodologia envolveu a determinação do teor de proteína do feijão e dos extratos e a aplicação de diferentes procedimentos de extração, seguidos de análises de rendimento, solubilidade em função do pH, atividade espumante, capacidade emulsificante e eletroforese (SDS-PAGE). Os resultados indicaram que a extração aquosa apresentou maior rendimento (95%), seguida da enzimática (92%) e da alcalina (67%). Já em relação à solubilidade, o extrato aquoso mostrou superioridade em ampla faixa de pH, exceto próximo ao ponto isoelétrico. O extrato enzimático destacou-se na atividade espumante, enquanto o aquoso demonstrou melhor capacidade emulsificante e estabilidade térmica. A análise eletroforética confirmou a integridade das globulinas no extrato aquoso e a formação de peptídeos de menor peso molecular no extrato enzimático. Conclui-se que a escolha do método de extração deve ser orientada pelo tipo de aplicação desejada: o método aquoso é indicado para formulações que exigem proteínas integrais, enquanto o enzimático é adequado para produtos que requerem peptídeos bioativos com propriedades funcionais diferenciadas.

**Palavras-Chave:** Feijão preto. Hidrólise enzimática. Proteínas vegetais. Sustentabilidade. Propriedades funcionais.

## 1 INTRODUÇÃO

As proteínas são essenciais para a saúde humana, pois participam da construção e da regeneração de tecidos, regulam vias metabólicas e fortalecem o sistema imunológico. Habitualmente, as fontes proteicas mais consumidas provêm de animais, como carnes, ovos, leite e derivados, devido ao seu equilíbrio completo de aminoácidos. No entanto, o aumento da demanda global por proteína, juntamente com preocupações éticas e de bem-estar, tem impulsionado a busca por alternativas mais sustentáveis (SMITH et al., 2020).

O feijão preto (*Phaseolus vulgaris*), membro da família das leguminosas, apresenta um conteúdo protéico que varia entre 20% e 40%, posicionando-se como uma valiosa fonte de proteína vegetal, tanto do ponto de vista nutricional quanto econômico (KUDRE; BENJAKUL; KISHIMURA, 2013). Além de seu elevado teor de proteínas, suas sementes são ricas em fibras, vitaminas e minerais, o que as torna adequadas para dietas vegetarianas, veganas e onívoras.

---

<sup>1</sup> Acadêmico do curso de Engenharia Química do Instituto Federal de Santa Catarina – Câmpus Lages; fulvio.blf1974@ifsc.edu.br

<sup>2</sup> Docente do curso de Engenharia Química do Instituto Federal de Santa Catarina – Câmpus Lages; Orientador; joao.provesi@ifsc.edu.br

Visando a sustentabilidade, a produção de proteínas vegetais, como as derivadas do feijão preto, demanda menos recursos naturais e gera menor impacto ambiental do que a obtenção de proteínas de origem animal. Ainda assim, os métodos tradicionais de extração vegetal — especialmente as extrações alcalina e ácida — dependem do uso intensivo de reagentes químicos, tornando-se pouco compatíveis com práticas verdes. Por outro lado, processos enzimáticos, como a hidrólise assistida por proteases, e técnicas físicas, como a ultrassonificação, promovem a fragmentação controlada das proteínas em peptídeos menores (hidrolisados), mantendo suas propriedades físico-químicas e reduzindo o consumo de substâncias agressivas (SMITH et al., 2020).

A hidrólise enzimática é especialmente vantajosa porque gera peptídeos de diferentes tamanhos e sequências, dotados de funcionalidades desejáveis — como solubilidade em faixas variadas de pH, capacidade de formação de espuma e poder emulsificante — além de atividades bioativas que agregam valor em aplicações alimentícias e nutracêuticas. Assim, os hidrolisados de feijão preto podem ser empregados tanto em suplementos nutricionais para humanos quanto em rações animais, ampliando o leque de usos dessa matéria-prima.

Nesse contexto, o presente estudo tem por objetivo avaliar a eficiência dos métodos de extração aquosa e enzimática (papaína), quando comparados ao tradicional método de extração alcalina, de proteínas do feijão preto, bem como caracterizar os extratos obtidos em termos de suas propriedades físico-químicas e funcionais, prospectando seu potencial tecnológico no setor alimentício.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 Quantificação de proteínas no feijão**

Empregou-se o método de Kjeldahl para determinar o teor de proteína (%) no feijão preto, com base na medida do nitrogênio total. As amostras foram digeridas em  $H_2SO_4$  concentrado com catalisador até obtenção de solução clara, caracterizando a etapa de digestão. Após esfriamento, adicionou-se NaOH em excesso e coletou-se o destilado em solução de  $H_3BO_3$  com indicador. A titulação foi realizada com HCl 0,1 N, permitindo calcular o teor de nitrogênio e, por consequência, o teor de proteína, usando o fator de conversão 6,25 (ZENEON et al., 2008).

### **2.2 Extração alcalina (Método padrão)**

Foi pesado 10 g de feijão e triturado em 100 mL de água destilada (1:10) em liquidificador. Em seguida, ajustou-se o pH da suspensão para 9,0 com NaOH 5 M e agitou-se à temperatura ambiente por 2 h em agitador magnético. A amostra foi centrifugada a 3.700 rpm por 20 min, e o sobrenadante recolhido. Então, o pH do sobrenadante foi ajustado para 6,0 usando HCl 5 M e, em seguida, HCl 1 M, para precipitar as proteínas, que foram homogeneizadas por 5 min e centrifugadas novamente.

O precipitado (pellet) foi lavado em água destilada (relação 1:6), o pH ajustado para 6,0 com HCl 1 M e centrifugado por mais 5 min. Por fim, o pellet foi ressuspenso em volume conhecido de água destilada, transferido para balão volumétrico e o volume final registrado para as etapas de cálculo.

## **2.3 Extração aquosa**

Pesaram-se 10 g de feijão e acrescentaram-se 200 mL de água destilada (relação 1:20), seguida de homogeneização em liquidificador. Em seguida, o material foi transferido para uma incubadora shaker, onde permaneceu sob agitação a 120 rpm por 1 h a 50 °C. A suspensão foi então filtrada em gaze, o filtrado resultante foi coletado, o volume final ajustado em balão volumétrico de 100 mL e armazenado em frascos âmbar até as análises subsequentes. O extrato aquoso apresentou pH 6,5, esse extrato passou a ser denominado de 'extrato aquoso'.

## **2.4 Extração aquosa assistida por protease**

Pesaram-se 10 g de feijão, que foram misturadas e homogeneizadas em liquidificador com 100 mL de água destilada (1:10 m/v), até se obter uma suspensão uniforme. O pH foi ajustado para 6,5 e a solução incubada em shaker a 45 °C e 70 rpm por 15 min. Em seguida, adicionou-se 2,5 g de papaína, e a reação prosseguiu sob as mesmas condições por 2,5 h. Terminada a hidrólise, a suspensão foi resfriada, transferida para tubos Falcon e centrifugada a 4.000 rpm por 15 minutos.

O sobrenadante foi coletado, volume ajustado em balões volumétricos e refrigerado até as análises. Esse extrato, devido ao tratamento enzimático empregado, passou a ser denominado 'extrato enzimático'.

## **2.5 Quantificação de proteínas nos extratos**

Para quantificação do teor de proteínas nos extratos obtidos foi utilizado o método de Lowry (1951). Nesse método uma determinada quantidade de extrato é misturado a uma solução de Lowry e ao reagente de Folin-Ciocalteu (1 N), e depois são determinadas as absorbâncias a 750 nm em espectrofotômetro. Para a quantificação é preparada também uma curva de calibração com albumina de soro bovino (BSA). Os extratos aquoso e hidrolisados foram posteriormente caracterizados em relação às suas propriedades físico-químicas e funcionais.

## **2.6 Análises de propriedades físico-químicas e funcionais dos extratos aquoso e hidrolisado**

### *2.6.1 Solubilidade em função do pH*

Diferentes porções dos extratos tiveram seu pH ajustado entre 2 a 12, com diferentes quantidades de NaOH 0,1 e 1 N ou HCl 0,1 e 1N. As amostras foram centrifugadas a 16.000 rpm por 30 min a 20 °C, e o sobrenadante foi analisado para quantificar a proteína solúvel em cada pH.

### *2.6.2 Propriedade espumante*

Misturaram-se 10 mL de solução proteica (extrato aquoso ou extrato hidrolisado) com 40 mL de tampão McIlvaine (pH 2,5; 5,5; 8,0) e agitaram-se em liquidificador por 5 min. Transferiu-se a espuma para proveta de 100 mL, registrando o volume inicial. Após 30 min, mediu-se o volume remanescente para calcular a estabilidade da espuma, conforme equação 1.

$$EE (\%) = (V_0/V_t) \times 100 \quad (1)$$

Onde, EE= Estabilidade da Espuma,  $V_0$  = volume inicial da espuma (mL) e  $V_t$  = volume da espuma após tempo  $t$  (mL).

### 2.6.3 Propriedade emulsificante e estabilidade da emulsão

Foram misturados 10 mL de solução proteica (extrato aquoso ou extrato hidrolisado) com 5 mL de óleo de milho em vórtex por 30 s; adicionou-se mais 5 mL de óleo e homogeneizou-se por 90 s. Em seguida, a amostra foi centrifugada a 1.150 rpm por 5 min, o volume da camada emulsificada registrada, calculando então a atividade emulsificante conforme equação 2. Para avaliar a estabilidade, submeteu-se às amostras a 85 °C por 15 min antes da centrifugação e calculou-se novamente a atividade resistente ao calor.

$$AE (\%) = (H_1/H_2) \times 100 \quad (2)$$

Onde: AE = atividade emulsificante,  $H_1$  = altura inicial da solução antes da emulsificação (mL),  $H_2$  = altura da camada emulsificada após centrifugação (mL)

$$EE (\%) = (H_3/H_4) \times 100 \quad (3)$$

Onde: EE = estabilidade emulsificante,  $H_3$  = é a altura da emulsão após o ciclo térmico,  $H_4$  = é a altura da emulsão antes do ciclo térmico.

### 2.6.4 Análise por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

Os extratos proteicos também foram caracterizados em relação às suas distribuições de massa molecular por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). As amostras foram misturadas com tampão Laemmli e fervidas a 95°C por 5 minutos. Entre 10 e 20  $\mu$ L de amostra foram carregadas em gel de poliacrilamida, com gel de empacotamento de 4% e gel de separação de 12%. A corrida foi realizada com voltagem de 100 V nos primeiros 15 minutos e depois a 150 V até o final da corrida. Os geis foram corados então em solução de azul de coomassie G-250 e descorados com uma solução de 45% metanol, 10 % ácido 45 % acético e água (v/v/v).

## 2.7 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os dados apresentados na forma de média  $\pm$  desvio padrão. Para análises envolvendo a comparação de grupos foi realizada a análise de variância (ANOVA), com o teste de separação de médias de Tukey (5%).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Quantificação de proteínas no feijão

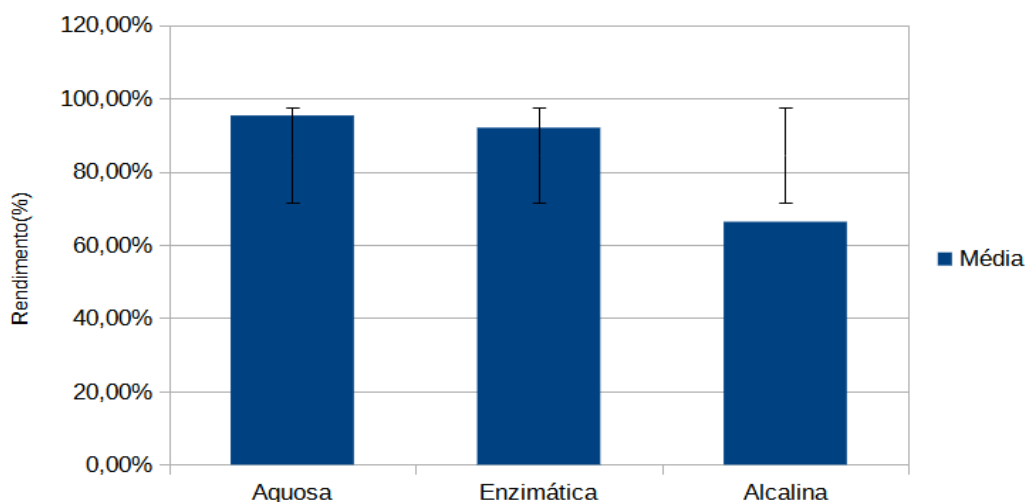
O teor médio de proteína na amostra de feijão preto utilizada foi de  $20,19 \pm 1,7\%$ . Este resultado situa-se dentro da faixa amplamente reportada na literatura para *Phaseolus vulgaris* L., cuja composição proteica varia tipicamente de 16% a 33% (FARINELL; LEMOS.,2010). Em outro estudo, Rocha-Guzmán et al. (2007) encontraram proteína bruta em torno de 19,8 g/100 g para amostras de feijão preto, corroborando com os resultados observados neste trabalho.

A recuperação consistente de cerca de 20% de proteína justifica o uso do feijão preto como fonte proteica para extratos e hidrolisados, pois, além de representar economia de insumo, garante boa qualidade nutricional (KUDRE; BENJAKUL; KISHIMURA, 2013).

### 3.2 Comparação entre os métodos de extração

Os resultados obtidos na análise laboratorial demonstram diferenças significativas na eficiência de extração de proteínas do feijão preto utilizando três metodologias distintas: extração aquosa, assistida por proteases e alcalina (Figura 1).

Figura 1 - Rendimento (%) de extração aquosa, enzimática e alcalina



Fonte: os autores (2025)

A extração alcalina apresentou os menores rendimentos, com média de  $67 \pm 8\%$ . Apesar de ser um método clássico e amplamente utilizado para extração de proteínas vegetais, foi o experimento com menor rendimento dentre os propostos neste estudo. A aplicação de pH elevado pode provocar desnaturação ou formação de agregados insolúveis, reduzindo a eficiência da extração.

Estudos anteriores relatam rendimentos superiores para extração alcalina de proteínas do feijão. Estudos como o de Ribeiro (2009) apresentaram resultados de até 77% de rendimento. Fatores diversos podem ser atribuídos a essas diferenças de rendimento, como diferenças na metodologia e equipamentos de laboratório utilizados.

A extração aquosa apresentou rendimento médio de  $95 \pm 7\%$ . Este resultado indica uma boa eficiência na solubilização das proteínas do feijão apenas com água, sem adição de reagentes químicos, destacando-se como um método simples, acessível e seguro, com baixos impactos ambientais. Valores próximos de 100%

sugerem uma recuperação próxima da quantidade total de proteínas teoricamente presente na amostra.

Na extração enzimática, o rendimento médio foi de  $92 \pm 11\%$ , não apresentando diferença significativa em relação ao extrato aquoso. A literatura reforça que a hidrólise enzimática é uma técnica eficaz para aumentar a solubilidade proteica e modular características funcionais dos extratos (LOPES et al., 2010).

De forma geral, os resultados obtidos indicam que, sob as condições experimentais adotadas, obteve-se percentuais de extração significativos, com destaques para a extração aquosa e extração enzimática, cujos extratos foram posteriormente caracterizados neste estudo. A extração alcalina, embora tradicional, mostrou-se menos eficiente para o feijão preto, sendo uma técnica que demanda cuidados na otimização de suas condições para evitar perdas proteicas.

Assim, o presente estudo reforça a importância da escolha adequada do método de extração em função da matriz alimentar e do objetivo tecnológico, sendo a extração aquosa e a enzimática recomendadas para processos que visem simplicidade e boa eficiência de recuperação.

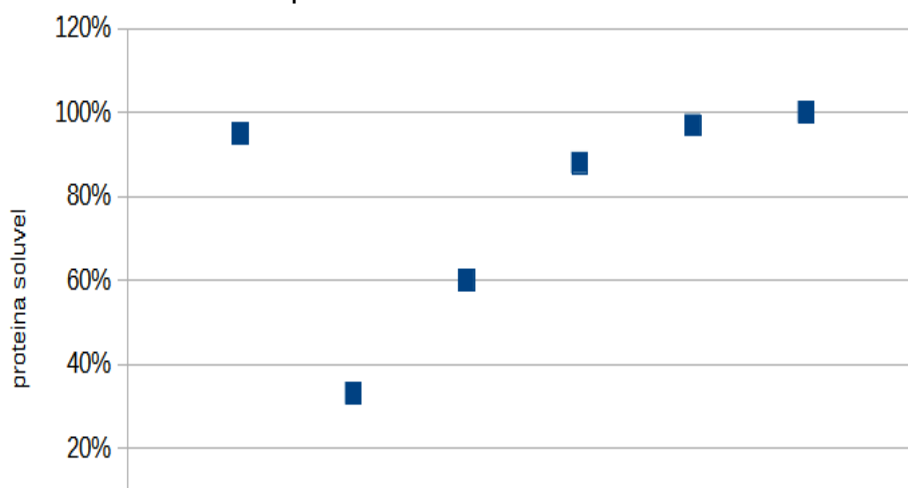
Considerando que o extrato alcalino apresentou menor rendimento protéico e, por estar associado a extração com uso de substâncias químicas, optou-se por descartar a análise das propriedades físico-químicas e funcionais desse extrato.

### 3.3 Análises de propriedades físico-químicas e funcionais dos extratos aquoso e hidrolisado

#### 3.3.1 Solubilidade

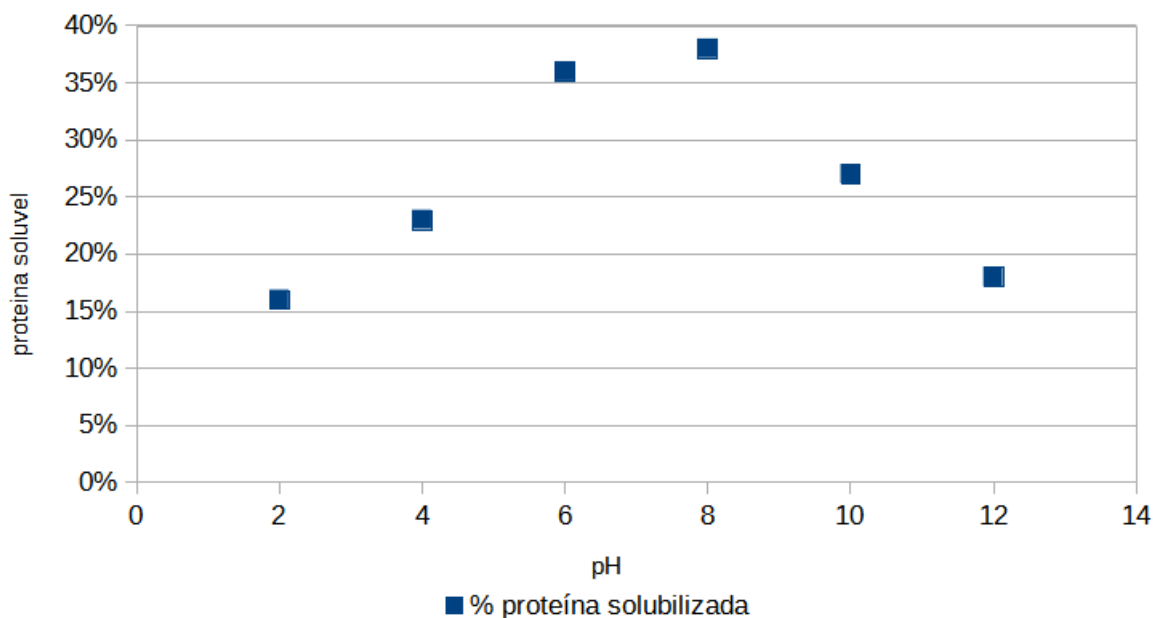
A solubilidade proteica dos extratos aquoso e enzimático do feijão preto mostrou diferenças significativas no comportamento em função do pH. Nos gráficos apresentados nas Figuras 2 e 3, o extrato aquoso apresentou elevada solubilidade proteica em praticamente toda a faixa de pH testada (2 a 12), com exceção da região em torno do pH 4, onde houve uma acentuada redução. Em comparação, o extrato obtido por hidrólise enzimática apresentou valores de solubilidade significativamente menores, oscilando entre aproximadamente 20% e 40%, com uma leve redução na região de pH ácido.

Figura 2 - Fração solúvel (em %) do extrato aquoso em função de diferentes valores de pH



Fonte: os autores (2025)

Figura 3 - Fração solúvel (em %) do extrato enzimático em função de diferentes valores de pH



Fonte: os autores (2025)

Essa queda na solubilidade observada no pH 4 para o extrato aquoso está associada ao ponto isoelétrico (pI) das principais proteínas do feijão preto, sendo essas as globulinas. Nesta faixa de pH, as cargas positivas e negativas das proteínas se equilibram, resultando em menor repulsão eletrostática e, como consequência ocorreu uma maior agregação e precipitação das moléculas. Segundo os estudos de Boye et al. (2010), globulinas extraídas de leguminosas, como ervilhas e soja, apresentam solubilidade mínima entre pH 4 e 5, fenômeno igualmente observado neste trabalho com o feijão preto. Também observou-se uma maior solubilidade do extrato aquoso em pH extremos (ácido e alcalino) que está relacionada à ionização das cadeias laterais dos aminoácidos, que aumenta a repulsão entre as moléculas proteicas e favorece a dispersão no meio.

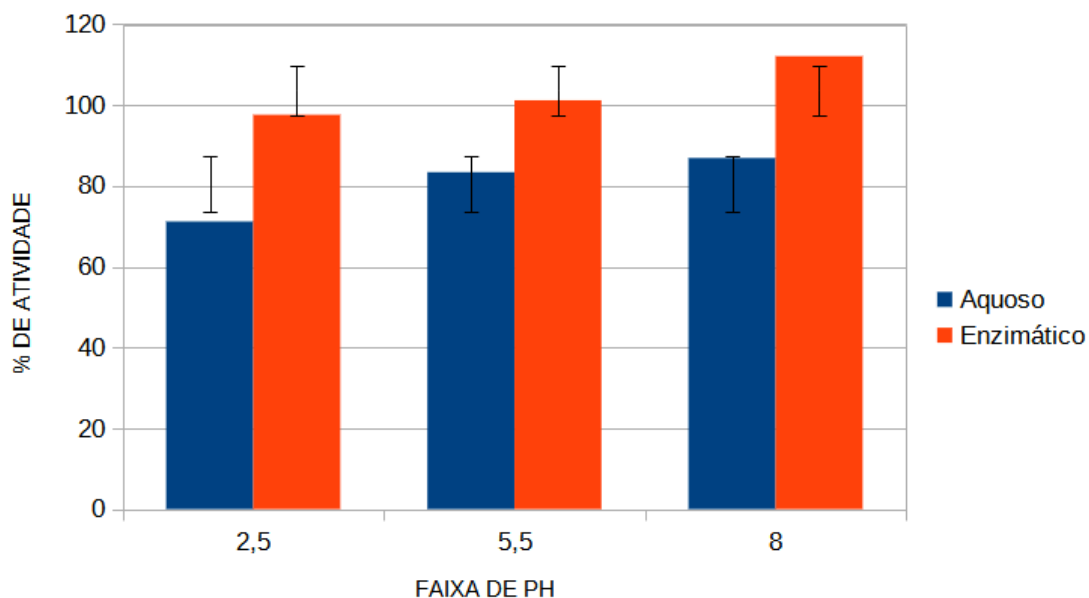
Por outro lado, o extrato enzimático, por passar por hidrólise parcial enzimática com a papaína, possui uma distribuição de peptídeos de menor massa molar. Essa característica, apesar de potencialmente favorecer a solubilidade em certas condições, também pode comprometer a formação de estruturas secundárias ou terciárias necessárias para manter a estabilidade das proteínas em solução, reduzindo a solubilidade em alguns pontos da curva (TAVANO, 2013).

A solubilidade proteica é um parâmetro crítico para aplicações tecnológicas e funcionais, especialmente na indústria de alimentos, onde a dispersão uniforme das proteínas influencia diretamente a emulsificação, gelificação e formação de espuma. Neste contexto, os dados obtidos indicam que o extrato aquoso pode apresentar maior potencial para formulações em alimentos líquidos ou emulsificados, enquanto o extrato enzimático, embora menos solúvel, pode oferecer peptídeos bioativos com funcionalidades específicas, como antioxidantes ou anti hipertensivos, como apontado por Fasolin et al. (2019) em estudos com feijão e outras leguminosas.

### 3.3.2 Propriedade espumante

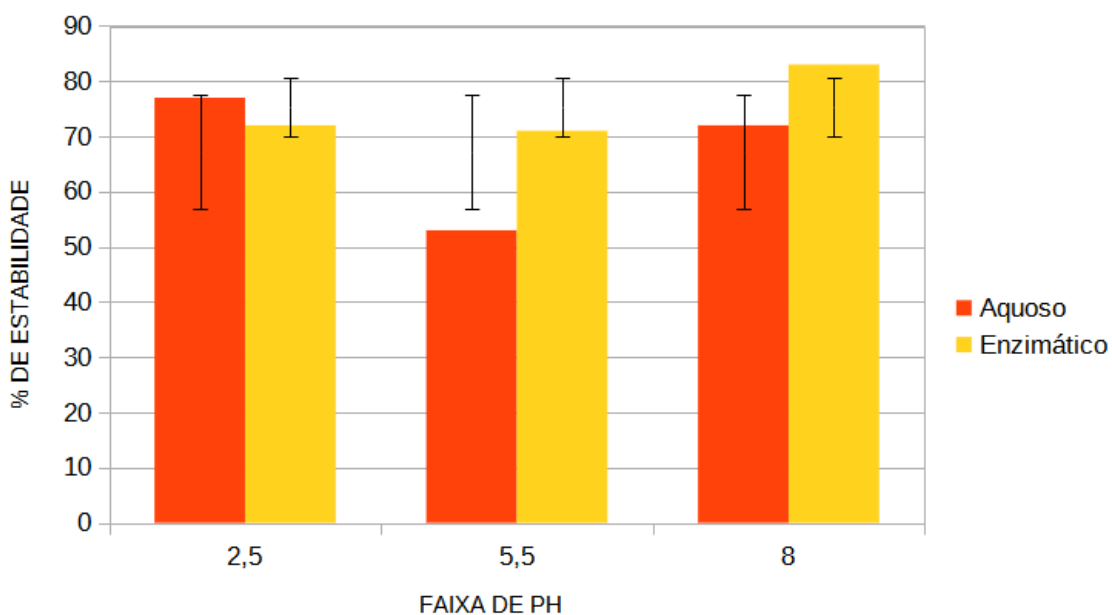
A avaliação da atividade e estabilidade espumante dos extratos proteicos obtidos por extração aquosa e enzimática obteve se diferentes resultados em função do pH e do tipo de extração utilizada (Figura 4).

Figura 4 - Atividade da espuma dos extratos aquoso e enzimático em diferentes valores de pH



Fonte: os autores (2025)

Figura 5 - Estabilidade da espuma dos extratos aquoso e enzimático em diferentes valores de pH



Fonte: os autores (2025)

Os extratos enzimáticos apresentaram maior atividade espumante em comparação com os extratos aquosos em todas as faixas de pH analisadas. No pH 2,5, o extrato enzimático apresentou uma atividade média de 97,6 mL de espuma por grama de proteína com estabilidade média de 72%, enquanto o extrato aquoso obteve valores inferiores, com atividade média de 71,2 mL/g e estabilidade de 77%.

Esse comportamento pode ser atribuído à hidrólise proteica promovida pela ação enzimática, que resulta na formação de peptídeos de menor peso molecular, capazes de reduzir a tensão superficial e aumentar a formação de espuma (MARTÍNEZ et al., 2020). Os hidrolisados proteicos frequentemente exibem maior capacidade espumante do que proteínas intactas, devido ao aumento da flexibilidade conformacional das moléculas .

Sobre a influência de faixas de pH diferentes, a funcionalidade espumante foi claramente observada. Para ambos os extratos, o aumento do pH de 2,5 para 8,0 resultou em um incremento na atividade espumante. No extrato aquoso, a atividade aumentou de 71,2 mL/g para 86,9 mL/g no pH 8, com estabilidade média de 72%. Da mesma forma, no extrato enzimático, a atividade subiu de 97,6 mL/g para 112,1 mL/g, enquanto a estabilidade foi de 83% no pH mais alcalino. Esse aumento pode ser explicado pela maior solubilização das proteínas em pH afastado do ponto isoelétrico, promovendo maior interação das moléculas na interface ar-água, essencial para a formação de espuma (DAMODARAN, 2005). Além disso, valores de pH alcalinos favorecem a exposição de grupos hidrofóbicos, melhorando a capacidade de formação e estabilização da espuma .

Embora a atividade espumante tenha aumentado com o pH, a estabilidade da espuma apresentou uma tendência ligeiramente decrescente ou constante. No extrato aquoso, a estabilidade caiu de 77% no pH 2,5 para 72% no pH 8. Para o extrato enzimático, a estabilidade também variou, de 72% a 83%, mas não de forma linear. Essa variação é coerente com outros estudos que indicam que peptídeos de baixo peso molecular podem formar espuma com maior facilidade, mas nem sempre garantem sua estabilidade por não conferirem suficiente rigidez à película interfacial (ZHAO; XU, 2020). A estabilidade observada, contudo, pode ser considerada adequada para aplicações industriais, especialmente no extrato enzimático, que atingiu até 83% de estabilidade.

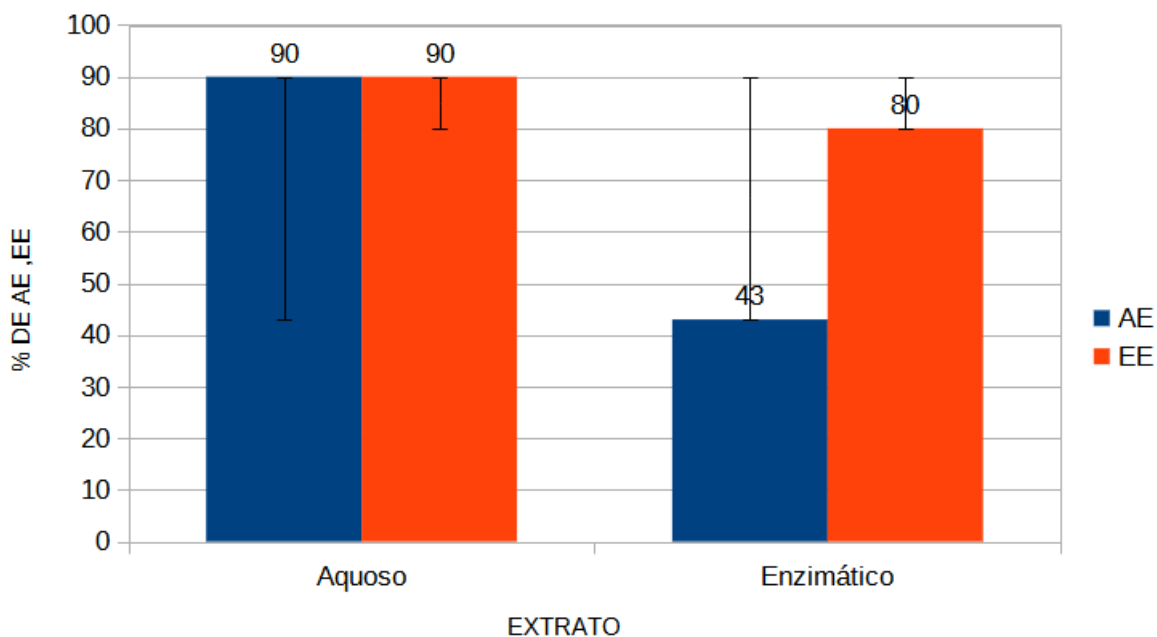
Comparativamente, os valores de atividade espumante observados neste estudo são superiores aos reportados por Pęksa et al. (2017), que obtiveram atividades de até 65 mL/g para proteínas de batata. Ainda em comparação, os resultados encontrados por Silva et al. (2021) ao estudar hidrolisados proteicos de leguminosas, se aproximam bastante , com atividades espumantes entre 90 a 120 mL/g. Esse desempenho sugere que tanto a extração aquosa quanto, principalmente, a enzimática são estratégias viáveis para a obtenção de ingredientes funcionais com potencial aplicação como agentes espumantes.

Os resultados obtidos indicam que a hidrólise enzimática contribuiu positivamente para a atividade espumante dos extratos, sem comprometer significativamente sua estabilidade. O efeito do pH também foi determinante, sendo o pH 8,0 o que conferiu melhores propriedades espumantes em ambos os extratos. Esses achados corroboram a literatura e demonstram o potencial de aproveitamento das proteínas extraídas como ingredientes funcionais em sistemas alimentares.

### 3.3.3 Atividade emulsificante e estabilidade da emulsão

Nesse estudo os resultados dos extratos proteicos obtidos a partir do feijão preto sinalizaram diferenças significativas entre os métodos de extração aquoso e enzimático no que diz respeito à capacidade de formar e estabilizar emulsões. Conforme os dados apresentados, o extrato aquoso apresentou uma atividade emulsificante (AE) de 90%, enquanto o extrato enzimático atingiu 43%. Para a estabilidade da emulsão (EE) a 85°C, ambos os extratos apresentaram valores elevados, com 90% para o aquoso e 80% para o enzimático (Figura 6).

Figura 6- Atividade emulsificante e estabilidade da emulsão dos extratos aquoso e enzimático



Fonte: os autores (2025)

Para a elevada atividade emulsificante do extrato aquoso pode ser explicada pela presença de proteínas intactas, especialmente as globulinas, que são predominantes em leguminosas e apresentam alto potencial interfacial. Tais proteínas, por sua estrutura tridimensional parcialmente hidrofóbica e parcialmente hidrofílica, atuam de forma eficaz na formação de filmes interfaciais entre as fases oleosa e aquosa, promovendo emulsificação estável (MOLINA ORTIZ et al., 2005; PADILHA et al., 2021).

Por outro lado, o extrato enzimático apresentou menor atividade emulsificante, o que pode estar relacionado à hidrólise parcial das proteínas pela papaína. A quebra das cadeias polipeptídicas pode produzir a redução molecular e pode comprometer a integridade estrutural necessária para formar emulsões estáveis. Porém, é importante destacar que, mesmo com a menor AE, o extrato enzimático demonstrou estabilidade significativa (80%). Um indício que os peptídeos resultantes da hidrólise mantêm propriedades anfipáticas suficientes para estabilizar emulsões, o que é consistente com resultados obtidos por Chen et al. (2013), que observaram boa capacidade emulsificante em peptídeos derivados de soja após hidrólise enzimática.

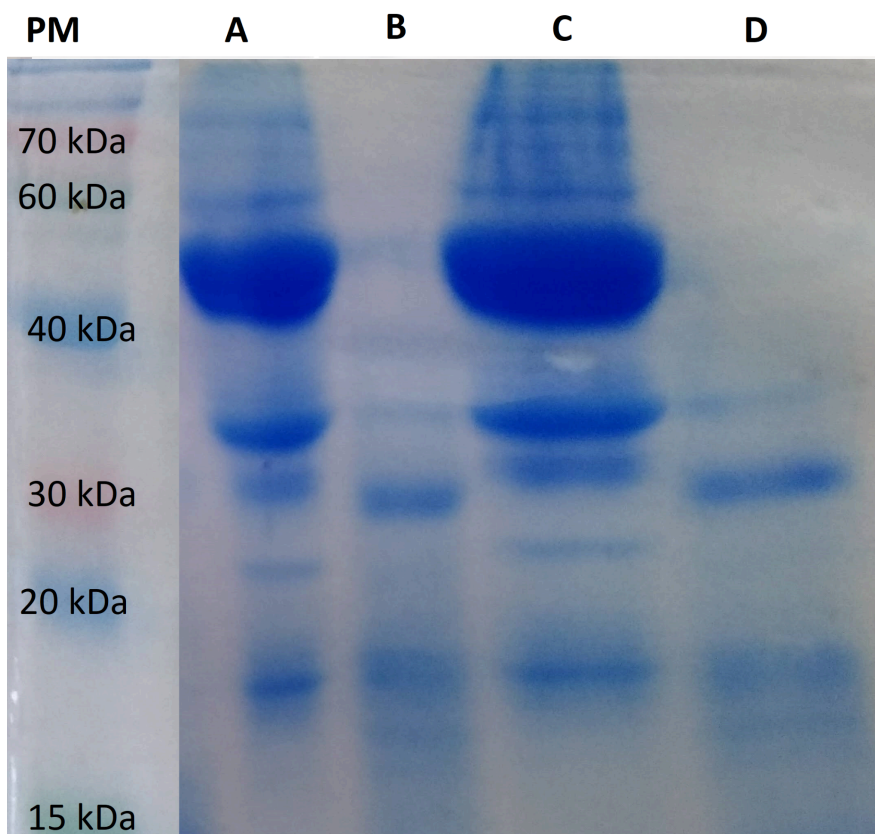
Conforme Stone et al. (2015), a eficiência de um emulsificante está relacionada não apenas à sua capacidade de formar emulsões, mas também à sua resistência térmica e à manutenção da estrutura da emulsão ao longo do tempo. Sendo assim, os dois extratos demonstraram estabilidade térmica satisfatória a 85 °C, o que é relevante para aplicações em alimentos processados, como emulsões tipo maionese, bebidas proteicas e molhos.

Outros estudos similares, como o de Bora et al. (2019), que investigaram as propriedades emulsificantes de proteínas extraídas de leguminosas, mostraram AE entre 40–85% dependendo da origem e do método de extração, o que projeta os extratos do feijão preto, especialmente o aquoso, como promissores para aplicações tecnológicas.

### 3.3.4 Análise por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

As análises de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) dos extratos proteicos de feijão preto obtidos pelos métodos aquoso e enzimático revelaram um padrão de bandas que reflete tanto as proteínas intactas quanto os fragmentos gerados pela ação da papaína (Figura 7).

Figura 7 - Perfil em eletroforese (SDS-PAGE) dos extratos aquosos e hidrolisados de feijão preto



A - Extrato aquoso, carregamento de 10 µL  
B - Extrato hidrolisado, carregamento de 10 µL  
C - Extrato aquoso, carregamento de 20 µL  
D - Extrato hidrolisado, carregamento de 20 µL  
Fonte: os autores (2025)

Nas amostras de ambos os métodos, foram observadas bandas intensas em torno de 50–60 kDa, compatíveis com as vicilinas (proteínas de reserva 7S), e outra região de alta intensidade próxima a 70–80 kDa, correspondente às leguminas (proteínas 11S). Esse perfil de alto peso molecular é característico das globulinas de leguminosas e corrobora resultados anteriores de Horaci et al. (2009) e Arthur, Mechie, Caniatti-Brazaca (2005), que também encontraram faixas marcantes nessas mesmas regiões ao analisar concentrados proteicos de feijão comum preto.

Comparando se os extratos, nota-se que o método aquoso preservou predominantemente essas bandas de 50–80 kDa, indicando que a maioria das cadeias proteicas permaneceu praticamente intacta. A intensidade relativamente elevada dessas faixas sugere extração eficiente das globulinas nativas, de forma semelhante ao que Farinelli e Lemos (2010) descreveram para extratos aquosos de feijão. Já no extrato enzimático, as bandas de 50–80 kDa apresentaram intensidade ligeiramente menor, pois parte desses polipeptídeos foi clivada pela enzima papaína em fragmentos menores.

Foi possível constatar que, o extrato enzimático revelou novas faixas de baixo peso molecular, especialmente entre 10 e 25 kDa. Tais bandas correspondem a peptídeos gerados pela ação proteolítica da papaína, evidenciando clivagens específicas nas cadeias das vicilinas e leguminas. Essa formação de fragmentos de 15–25 kDa assim como foi também observada por Hermanto et al. (2023) e Garmidolova et al. (2022) em hidrolisados de leguminosas, reforçando que a hidrólise enzimática confere ao extrato maior diversidade de peptídeos menores, potencialmente responsáveis por propriedades funcionais aprimoradas (solubilidade, atividade antioxidante e emulsificação).

Para as bandas em 15–25 kDa, o extrato enzimático exibiu ainda faixas discretas abaixo de 15 kDa, o que sugere a presença de oligopeptídeos de porte ainda menor. Pacheco et al. (2022) já relataram que hidrolisados proteicos de leguminosas podem conter fragmentos nessa região de peso molecular, alguns dos quais apresentam atividade biológica interessante. Assim, o perfil de baixo peso molecular do extrato enzimático é consistente com os ensaios de funcionalidade (solubilidade e atividade espumante) feitos anteriormente, pois a geração de peptídeos menores geralmente está associada a maior capacidade de reduzir tensão superficial e formar espuma (SMITH et al., 2020; SILVA et al., 2021).

Do ponto de vista qualitativo, a SDS-PAGE permitiu-se concluir que a extração aquosa foi suficiente para liberar as globulinas nativas, sem promover cortes significativos nas cadeias proteicas, o que pode ser interessante em aplicações alimentícias que exigem proteínas inteiras, como em processos de gelificação ou emulsificação em pH próximo ao ponto isoelétrico (Damodaran, 2005). Por outro lado, a extração enzimática criou um perfil proteico mais fragmentado, com ênfase em peptídeos de baixo peso molecular, possivelmente dotados de maior solubilidade em ampla faixa de pH e maior atividade funcional, conforme apontado em trabalhos sobre hidrolisados de leguminosas (MORAIS et al., 2002; NASCIMENTO, 2015).

Comparando com a literatura, observou-se que Horaci et al. (2009) encontraram perfil semelhante ao do extrato aquoso, com bandas principais a 50 e 75 kDa, sem grande presença de fragmentos menores. Já Arthur, Mechie, Caniatti-Brazaca (2005) comprovaram que tratamentos físicos (como irradiação) não promovem o mesmo grau de fragmentação que uma hidrólise enzimática, o que explica por que o extrato enzimático deste estudo apresentou tantas bandas de

baixo peso molecular. Outro autor relevante, Smith et al. (2020), demonstrou que a papaína produz clivagens específicas em leguminosas, gerando peptídeos entre 10 e 25 kDa, exatamente como se observou aqui.

Em suma, a SDS-PAGE dos extratos de feijão preto mostra que a extração aquosa preserva as globulinas intactas, resultando em um perfil de alto peso molecular, enquanto a hidrólise enzimática com papaína leva à formação de uma gama de peptídeos menores (10–25 kDa e abaixo), com potencial tecnológico superior em aplicações que demandam solubilidade e atividade funcional elevada. Esses achados suportam a escolha do método enzimático quando se busca ingredientes com maior bioatividade e funcionalidade, e, simultaneamente, corroboram a eficiência da extração aquosa quando se almejam proteínas integrais para formulações específicas.

#### **4 CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos neste projeto demonstram ser possível extrair proteínas de feijão preto com métodos de baixo custo e impacto ambiental, como a extração aquosa ou assistida por enzimas.

Os extratos proteicos obtidos através dos métodos de extração empregados neste estudo do feijão preto, sendo eles métodos aquoso e hidrolisado, apresentaram perfis funcionais distintos, com implicações importantes para aplicações tecnológicas. A análise de solubilidade revelou que o extrato aquoso possui maior solubilidade proteica em ampla faixa de pH, exceto na região do ponto isoelétrico na faixa de pH 4, enquanto o extrato enzimático, embora menos solúvel, demonstrou potencial em oferecer peptídeos com propriedades funcionais específicas.

Para as propriedades espumantes, o extrato enzimático obteve um destaque por apresentar maior atividade espumante em todas as faixas de pH testadas, atribuída à presença de peptídeos de baixo peso molecular formados pela hidrólise parcial com papaína. A estabilidade da espuma, embora levemente variável, foi considerada adequada para ambos os extratos, com destaque para o desempenho em pH 8.

Já para a atividade emulsificante, o extrato aquoso demonstrou ter desempenho superior tanto na capacidade de emulsificação quanto na estabilidade da emulsão a 85 °C, provavelmente devido à integridade das proteínas globulares presentes. Já o extrato hidrolisado também demonstrou estabilidade significativa, sugerindo que os peptídeos gerados pela hidrólise ainda retêm propriedades anfipáticas úteis para estabilização de emulsões.

Por meio da caracterização em eletroforese (SDS-PAGE) ficou evidenciado que o extrato aquoso manteve as globulinas nativas (50–80 kDa), enquanto o extrato hidrolisado apresentou uma distribuição mais fragmentada de peptídeos (10–25 kDa e abaixo), coerente com as melhorias observadas nas propriedades funcionais como solubilidade e espumabilidade.

O estudo então revelou, que a escolha entre os métodos de extração deve considerar a aplicação final desejada: o extrato aquoso é mais indicado para sistemas que exigem proteínas integrais e elevada estabilidade estrutural, já para o extrato hidrolisado é mais adequado para formulações que se beneficiam da bioatividade e funcionalidade de peptídeos menores. Ambos os extratos, aquoso e enzimático, apresentam potencial promissor como ingredientes funcionais em alimentos, bebidas e outros produtos industriais.

## AGRADECIMENTOS

À minha amada esposa, Raquel Lima de Souza Batista Lemos, e à minha amada filha, Rafaela Lima de Souza Lemos, pelo amor, paciência e compreensão nos momentos de ausência, bem como pelo incentivo constante para seguir adiante, mesmo diante dos desafios.

Aos meus familiares, pelo apoio incondicional e pelas palavras de encorajamento que me fortaleceram ao longo desta jornada.

Ao meu orientador, Prof. João Gustavo Provesi, pela orientação, disponibilidade, dedicação e valiosas contribuições na realização deste trabalho de conclusão de curso.

Ao corpo docente do curso de Engenharia Química do Instituto Federal de Santa Catarina – Campus Lages, por compartilharem seus conhecimentos e experiências, contribuindo de forma significativa para minha formação profissional.

Aos colegas do curso de Engenharia Química, pela parceria, amizade, troca de experiências e apoio mútuo ao longo desta trajetória acadêmica, tornando a caminhada mais leve e enriquecedora.

## REFERÊNCIAS

ARTHUR, V.; MECI, R.; CANIATTI-BRAZACA, S. G. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris L.*) irradiado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 25, n. 1, p. 18–24, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000100018>. Acesso em: 2 jun. 2025.

BOYE, J.; ZARE, F.; PLETCH, A. Extraction, functional properties, and applications of pea protein isolates—a review. *Food Research International*, v. 43, n. 2, p. 414–431, 2010.

BORA, P. et al. Emulsifying properties of legume proteins: Effect of pH, salt and heating. *LWT - Food Science and Technology*, v. 101, p. 113–120, 2019.

CHEN, L. et al. Effect of enzymatic hydrolysis on the functional properties of peanut protein. *Food Chemistry*, v. 141, n. 2, p. 1603–1609, 2013.

CLEMENTE, A. F. Hidrolisados de proteínas: potencial de uso em alimentos. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v. 17, n. 2, p. 125–142, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00007-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00007-3)

DAMODARAN, S. Food Proteins and Their Functional Properties. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1201/9780203755617>

DAMODARAN, S. Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, v. 70, n. 3, p. R54–R66, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07150.x>

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B. Qualidade nutricional e tecnológica de genótipos de feijão cultivados em diferentes safras agrícolas. *Bragantia*, Campinas, v. 69, n. 3, p. 759–764, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000300030>

GARMIDOLOVA, A. et al.. Papain hydrolysates of lupin proteins with antioxidant, antimicrobial, and acetylcholinesterase inhibitory activities. *Applied Sciences*, v. 12, n. 23, art. 12370, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/app122312370>.

HERMANTO, Sandra H.; AHMAD, SYADZWINA N.; RUDIANA, TARSO. Optimization of soy protein hydrolysis with papain enzyme and its cytotoxic activity against MCF-7 cancer cells. *J. Sains Farmasi & Klinis*, v. 10, n. 1, p. 137–144, abr. 2023.

KUDRE, B. S.; BENJAKUL, S.; KISHIMURA, H. Protein extraction from legumes. *Journal of Food Science*, v. 78, n. 4, p. R771–R779, 2013. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6052>

LOPES JUNIOR, C. de O. et al. Otimização da extração enzimática da proteína do feijão. *Acta Scientiarum. Technology*, v. 32, n. 3, p. 319–325, 2010. Disponível em: <https://periodicos.uem.br/actascitechnol/article/view/6277> . Acesso em: 4 jun. 2025.

LOWRY, O. H.; et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

MARTÍNEZ, M. J. et al. Functional properties of enzymatically hydrolyzed proteins: a review. *Food Hydrocolloids*, v. 102, p. 105638, 2020.

MOLINA ORTIZ, S. E. et al. Functional properties of soy protein concentrate produced by ultrafiltration. *Food Science and Technology International*, v. 11, n. 4, p. 323–332, 2005.

MORAIS, L. A. et al. Desenvolvimento de hidrolisados proteicos de grãos vegetais: aspectos funcionais e bioativos. *Revista de Nutrição*, v. 15, n. 3, p. 345–353, 2002.

MOURA, E. C. J. et al. Perfil proteico de leguminosas submetidas à hidrólise enzimática com papaína. *Revista Brasileira de Tecnologia Agropecuária*, v. 11, n. 4, p. 345–352, 2018.

NASCIMENTO, E. F. Desenvolvimento de hidrolisados proteicos de leguminosas e avaliação de suas propriedades funcionais. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás.

NOBRE, A. L. S.; FERREIRA, S. R. S. Extração e caracterização de proteínas vegetais. In: Livro Didático de Tecnologia de Alimentos. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. p. 125–148.

PACHECO, R. J. et al. Propriedades techno-funcionais de hidrolisados proteicos de leguminosas no processamento de alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 25, e2022016, 2022. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000200026>

PADILHA, C. E. A. et al. Functional properties of black bean protein concentrate obtained via alkaline extraction. *Journal of Food Science*, v. 86, n. 1, p. 75–83, 2021.

PEKSA, A. et al. The application of potato proteins: a review. *Food Reviews International*, v. 33, n. 3, p. 240–257, 2017.

REDDY, S. J.; PUBOLS, M. H.; MCGINNIS, J. Effect of gamma irradiation on nutritional value of dry field beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for chicks. *Journal of Nutrition*, v. 109, n. 7, p. 1307–1312, 1979. <https://doi.org/10.1093/jn/109.7.1307>

RIBEIRO, H. J. S. S.; PRUDENCIO, S. H.; MIYAGUI, D. T.; RIBEIRO, E. L. A. Caracterização de concentrado proteico de feijão comum preto, cultivar lapar 44, novo e envelhecido. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 29, n. 3, p. 610–616, set. 2009. DOI: 10.1590/S0101-20612009000300019 .

RIBEIRO, H. J. S. de S. et al. Caracterização de concentrado proteico de feijão comum preto. cultivar lapar 44, novo e envelhecido. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n. 3, p. 610–616, 2009. DOI: 10.1590/S0101-20612009000300019.

ROCHA-GUZMÁN, N. E. et al. Antioxidant activity and protein content of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 12, p. 4939–4945, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.005>

ROCHA-GUZMÁN, N. E. et al. Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Food Chemistry*, v. 103, p. 521–529, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.021>

SILVA, F. L. et al. Functional properties of legume protein hydrolysates: current status and future perspectives. *Food Chemistry*, v. 343, p. 128646, 2021.

SMITH, J. T. et al. Bioactive peptides from enzymatic hydrolysates of legumes: production, purification and functional characteristics. *International Journal of Food Science & Technology*, v. 55, n. 5, p. 1733–1746, 2020.

STONE, A. K. et al. Protein-based emulsifiers and their potential for improving texture and stability in food emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, v. 45, n. 2, p. 170–182, 2015.

TAVANO, O. L. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 90, p. 1–11, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.01.011>

ZENEBON, O. et al. *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

ZHAO, X.; XU, J. The role of peptides in foaming properties of protein hydrolysates. *Trends in Food Science & Technology*, v. 99, p. 35–44, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox13040479>