



**INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**Centro de Tecnologia de Cereais e Chocolate - Cereal Chocotec**

**DANIELA ALMEIDA VEGA**

**ESTUDO DA SEPARAÇÃO TRIBOELETRÓSTÁTICA UTILIZANDO UM  
SISTEMA MODELO E GRÃO DE BICO PARA OBTENÇÃO DA PROTEÍNA  
VEGETAL**

**CAMPINAS**  
**2023**



**DANIELA ALMIEDA VEGA**

**ESTUDO DA SEPARAÇÃO TRIBOELETRÓSTATICA UTILIZANDO UM  
SISTEMA MODELO E GRÃO DE BICO PARA OBTENÇÃO DA PROTEÍNA  
VEGETAL**

*Dissertação apresentada ao Instituto de  
Tecnologia de Alimentos para obtenção do  
título de Mestre em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos.*

Aluno: Daniela Almeida Vega

Orientador: Profa. Dra. Mitie Sonia Sadahira

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação defendida pela aluna Daniela Almeida Vega e orientada pelo Profa. Dra. Mitie Sonia Sadahira.

**CAMPINAS**

**2023**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Bibliotecária Lucilene Paulina da Silva CRB/8 - 8507  
Biblioteca Central do ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos

V422e Vega, Daniela Almeida.

Estudo da separação triboeletrostática utilizando um sistema modelo e grão de bico para obtenção da proteína vegetal. Daniela Almeida Vega / Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, SP: Ital, 2023.

96 f.

Orientadora: Dra. Mitie Sonia Sadahira.

1. Fracionamento a seco. 2. Extração proteica. 3. Eletrostática. 4. Proteína do soro de leite. 5. Protótipo. I. Instituto de Tecnologia de Alimentos (Ital) - Centro de Tecnologia de Cereais e chocolates (Cereal Chocotec). II. Vega, Daniela Almeida. III. Título.

**Título em inglês:** Study of triboelectrostatic separation using a model system and chickpea to obtain plant-based protein.

**Key-words:** Dry fractionation; protein extraction; electrostatic; whey protein; prototype.

**Titulação:** Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Banca Examinadora:** Profa. Dra. Mitie Sonia Sadahira (Orientadora/Presidente), Prof. Dr. Flávio Luis Schmidt, Dra. Elaine Kaspchak, Dra. Elizabeth Harumi Nabeshima.

**Data da Defesa:** 28 de fevereiro de 2023

**Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

## **BANCA EXAMINADORA**

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida por Daniela Almeida Vega aprovada pela Comissão Julgadora em 28 de fevereiro de 2023.

---

Profa. Dra. Mitie Sonia Sadahira  
Instituto de Tecnologia dos Alimentos - ITAL (Presidente)

---

Prof. Dr. Flávio Luis Schmidt  
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP (titular)

---

Dra. Elaine Kaspchak  
Instituto de Tecnologia dos Alimentos - ITAL (titular)

---

Dra. Elizabeth Harumi Nabeshima  
Instituto de Tecnologia dos Alimentos - ITAL (suplente)

A ata de defesa de dissertação de mestrado com as respectivas assinaturas dos membros da banca encontra-se arquivada junto à documentação do aluno.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela oportunidade e força em momentos difíceis.

Aos meus familiares, principalmente minha mãe e o Vitor pela paciência e apoio durante todo o projeto.

Ao ITAL, pela oportunidade de realizar o mestrado. A Capes pela disponibilização de recursos pela PROAP (Programa de Apoio à Pós-Graduação). A minha orientadora, Mitie, agradeço a confiança e por me escolher para a realização deste projeto.

Ao Alfredo, por me incentivar, apoiar e orientar durante todo o processo, tornando possível o meu crescimento profissional no trabalho empresarial e acadêmico.

A Rosa Helena Aguiar, funcionária da faculdade de engenharia agrícola que abriu as portas do laboratório para que eu pudesse realizar estudos no moinho.

Ao Clodoaldo Saron, professor da USP de Lorena que me recebeu prontamente para utilização do equipamento de separação tribo eletrostática.

Ao Aldemir Chaim da Embrapa que fez a doação do circuito de alta tensão e me disponibilizou materiais de estudo sobre o tema.

Ao João Carlos de Castro Alves que fez a doação de 100 kg de grão de bico que foram utilizados em meu projeto.

A Leili que foi minha parceira durante aulas e estudos das apresentações tornando mais leve minha trajetória neste projeto.

A todos os professores das disciplinas que cursei durante o mestrado e todos os colaboradores do Cereal Chocotec.

A Raquel, aluna da pós-graduação da FEA/Unicamp, pela ajuda em importantes análises.

Ao Evandro da empresa TPL que forneceu análises de proteína.

Aos meus amigos pelo incentivo.

A todos que contribuíram para a realização deste projeto.

## RESUMO

A demanda do mercado para produção de frações concentradas em proteína vegetal tem aumentado, com isso os estudos para obtenção desses produtos são necessários. O processo consolidado para a obtenção de proteínas é o método úmido, entretanto, não é um processo sustentável, além de alterar a estrutura nativa da proteína. Dessa forma, utiliza-se o método de fracionamento a seco cujo consumo de água e energia é menor, além de não afetar a estrutura da proteína. Essa metodologia possui suas limitações, uma delas é a menor concentração de proteína, porém para o desenvolvimento de alguns produtos não é necessário uma concentração alta de proteína. No estudo em questão foi selecionado o método de separação triboeletrostática, primeiramente utilizou-se um delineamento composto central rotacional (DCCR) com as variáveis independentes fluxo de ar e voltagem das placas, para otimizar a concentração proteica em uma mistura de amido de milho e proteína do soro de leite. Nesse sistema modelo foi possível obter uma fração com 55,4% de proteína, um aumento de 207% em relação a mistura original que continha 18% de proteína. O alto fluxo de ar auxiliou a minimizar a formação de aglomerados e a menor voltagem das placas favoreceu a atração dos componentes mais carregados, como a proteína, evitando a contaminação da fração com carboidratos fracamente carregados. A realização dos testes com o sistema modelo foi essencial para compreensão do processo triboeletrostático para posteriormente os testes com a farinha micronizada do grão de bico, onde foram analisados os efeitos do tamanho de micronização da farinha e a umidade. Nessa segunda etapa dos testes foi possível observar que a redução da umidade auxiliou na dispersão da farinha micronizada de grão de bico, pois o mesmo possui um teor elevado de óleo. A aglomeração das partículas dificultou a separação, pois as partículas menores possuem um carregamento elétrico maior. Portanto, um estudo da secagem do grão de bico antes da moagem poderia resultar em uma melhor separação do amido da matriz proteica sem a necessidade de uma moagem intensa. Dessa forma, não ocorreria a aglomeração das partículas conduzindo a uma maior concentração proteica no processo de separação triboeletrostática.

**Palavras-chave:** Fracionamento a seco; extração proteica; eletrostática; proteína do soro de leite; protótipo.

## **ABSTRACT**

The market demand for the production of plant-based protein concentrate has increased, requiring studies to obtain these products. The consolidated process for obtaining proteins is the wet method, however, it is not a sustainable process, in addition to affecting the native structure of the protein. Thus, the dry fractionation method is used, which consumes less water and energy, in addition to not affecting the structure of the protein. This methodology has its limitations, one of which is the lower protein concentration, but for the development of some products a high protein concentration is not necessary. In the present study, the triboelectrostatic separation method was selected, firstly a Rotational Central Composite Design (RCCD) was performed with the independent variables airflow and plate voltage, to optimize the protein concentration in a mixture of corn starch and whey protein. In this model system it was possible to obtain a fraction with 55.4% protein, an increase of 207% in relation to the original mixture that contained 18% protein. The high air flow helped to minimize the formation of agglomerates and the lower voltage of the plates favored the attraction of more charged components, such as proteins, avoiding contamination of the fraction with weakly charged carbohydrates. Carrying out tests with the model system was fundamental for the understanding of the triboelectrostatic separation process for later tests with micronized chickpea flour, where the effects of flour micronization size and moisture were analyzed. In this second stage of the tests, it was possible to observe that the reduction of moisture improved the dispersion of the micronized chickpea flour, as it has a high oil content. The particles agglomeration made the separation difficult, as smaller particles have a greater electrical charge. Therefore, a study of chickpea drying before milling could result in a better separation of starch from the protein matrix without the need for intense milling. In this way, particle agglomeration would not occur, leading to a higher protein concentration in the triboelectrostatic separation process.

**Key words:** Dry fractionation; protein extraction; electrostatic; whey protein; prototype.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vii
Sumário de tabelas .....	xi
Sumário de Figuras .....	xiii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	3
Objetivo principal .....	3
Objetivos específicos .....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
Mercado de Proteínas Vegetais .....	3
Leguminosas e Pulses .....	4
Composição nutricional .....	6
Propriedades funcionais .....	8
Grão de Bico .....	11
Estrutura 11	
Aplicações de proteínas vegetais a partir de pulses .....	13
Métodos de extração .....	15
Fracionamento úmido .....	16
Fracionamento a seco .....	19
Umididade e Dureza .....	19
Tamanho das partículas .....	20
Moagem e Moinhos .....	23
Classificação por ar .....	27
Separação com peneira .....	28
Separação eletrostática .....	29
Diferença entre os métodos de extrações .....	32

4. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
Material .....	34
Métodos .....	34
• Preparação das amostras .....	35
Sistema Modelo (Mistura) .....	35
Moagem e Micronização (Farinha grão de bico) .....	35
• Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) .....	36
• Secagem .....	36
• Separação eletrostática .....	37
Sistema Modelo - Mistura (Pré-testes e Planejamento Experimental) .....	41
Pré-testes .....	41
Planejamento experimental.....	42
• Análises de Proteína.....	43
• Análise de Umidade.....	45
• Análise de lipídeos e cinza.....	45
• Análise do tamanho de partícula.....	45
• Análise estatística.....	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	46
Caracterização do grão de bico .....	46
Mistura	47
Moagem e Micronização .....	48
Separação eletrostática .....	50
Mistura – Sistema Modelo.....	50
Planejamento Experimental .....	52
Farinha grão de bico .....	56
6. CONCLUSÃO .....	59

REFERÊNCIAS.....	60
APÊNDICES I - TESTES PRELIMINARES .....	69
1) ANÁLISE DSC .....	69
2) TESTES COM DIFERENTES MOINHOS.....	73
3) TESTE COM PENEIRA.....	79
4) TESTE SEPARAÇÃO TRIBOELETRÓSTATICA EM LORENA USP	80
ANEXO I - ANÁLISES COMPLEMENTARES .....	87
1) CURVA SECAGEM GRÃO DE BICO.....	87
2) CURVA SOLUBILIDADE FARINHA DE GRÃO DE BICO .....	88
3) AMIDO DANIFICADO .....	89
4) CURVAS DSC – TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VITREA.....	90
5) METODOLOGIA ANÁLISE BRADFORD.....	94

## SUMÁRIO DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional de grãos de pulses (% mássica, base úmida). .	7
Tabela 2. Propriedades funcionais: grão de bico, lentilha e ervilha. ....	10
Tabela 3. Dureza dos grãos obtida pelo Texture Analyser (Instron- 5564Series- Table-Model- Systems-Twin-column-design,Canton, USA). ....	20
Tabela 4. Diâmetro médio de proteína e amido de grãos. ....	22
Tabela 5. Resultado da moagem do tremoço em moinho de impacto com fluxo de ar de 80m <sup>3</sup> /h com variação velocidade da roda classificadora.....	23
Tabela 6. Parâmetros de micronização utilizados em processos de classificação por ar e separação eletrostática. ....	26
Tabela 7. Pré-testes. ....	41
Tabela 8. Valores das variáveis independentes no DCCR. ....	43
Tabela 9. Testes com a farinha de grão de bico.....	43
Tabela 10. Caracterização da matéria prima (massa %, base úmida). ....	46
Tabela 11. Teor proteico e diâmetro médio da mistura e componentes isolados.	47
Tabela 12. Teor de proteína e diâmetro médio farinhas. ....	48
Tabela 13. Umidade e teor de proteína dos pré- testes com os sistema modelo.	50
Tabela 14. Teor de proteína dos testes do planejamento experimental.....	52
Tabela 15. Umidade farinhas de grão de bico. ....	57
Tabela 16. Teor proteico do material aderido a placa negativa. ....	58
Tabela 17. Tabela ANOVA para a resposta de teor proteico. ....	58
Tabela 18. Umidade e Temperatura de transição vítrea (Tg) da fração proteica.	70
Tabela 19. Umidade e Temperatura de transição vítrea (Tg) da fração de amido. .....	71
Tabela 20. Parâmetros para avaliação do tamanho de partícula das farinhas....	76
Tabela 21. Rendimento da separação com peneira. ....	80
Tabela 22. Teor de proteína. ....	80
Tabela 23. Umidade em base seca antes e após moagem do grão de bico. ....	81
Tabela 24. Massa e rendimento do processo com farinha de grão de bico natural (Ubs 11,7%). ....	84
Tabela 25. Massa e rendimento do processo com farinha de grão de bico seca (Ubs 6,9%).....	84

Tabela 26. Composição das frações. .... 86

## SUMÁRIO DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Grão de bico ( <i>Cicer arietinum</i> L): cotilédone e casca.....	11
<b>Figura 2.</b> Estrutura celular do grão de bico. (A) Região externa do cotilédone. (B) Região interna do cotilédone. (C) Farinha da região externa do cotilédone. (D) Farinha da região interna do cotilédone. ....	12
<b>Figura 3.</b> Estrutura dos grânulos e matriz proteica antes e após moagem do grão de bico. ....	13
<b>Figura 4.</b> Relação da solubilidade da proteína do grão de bico com pH. ....	16
<b>Figura 5.</b> Fracionamento úmido pelo método isoeletrico.....	17
<b>Figura 6.</b> Esquema de funcionamento do hidrociclone. ....	18
<b>Figura 7.</b> Conteúdo de proteína em função do tamanho de partícula para pulsos classificados ao ar.....	21
<b>Figura 8.</b> Frações ricas em proteínas. (A) Fracionamento seco, (B) Fracionamento úmido – fração de proteína solúvel, (C) Fracionamento úmido – fração de proteína insolúvel. ....	33
<b>Figura 9.</b> Frações ricas em amido. (A) Fracionamento seco, (B) Fracionamento úmido. ....	33
<b>Figura 10.</b> Esquema do sistema de separação triboeletrostática. ....	37
<b>Figura 11.</b> Funcionamento da aspersão do pó.....	38
<b>Figura 12.</b> Pote de alimentação no sistema. ....	38
<b>Figura 13.</b> Série tribo elétrica dos materiais.....	39
<b>Figura 14.</b> Sistema de indução de cargas.....	40
<b>Figura 15.</b> Circuito elétrico para geração de alta voltagem. ....	40
<b>Figura 16.</b> Distribuição de tamanho de partícula do amido, proteína e mistura do sistema modelo. ....	48
<b>Figura 17.</b> Distribuição de tamanho de partícula - Grão de bico moído no moinho Treu.....	48
<b>Figura 18.</b> Distribuição de tamanho de partícula – Grão de bico micronizado. Farinha micronizada - 1 com D50 =5,60µm. Farinha micronizada - 2 com D50 =11,82 µm.....	49
<b>Figura 19.</b> Gráfico valores preditos versus experimentais. ....	53
<b>Figura 20.</b> Superfície de resposta e Curva de contorno. ....	54

<b>Figura 21.</b> Mistura modelo antes e após separação. (A) Mistura modelo, (B) Placa Negativa, (C) Placa Positiva. Seta branca: Proteína, Seta preta: Amido .....	54
<b>Figura 22.</b> (A) Proteína do soro de leite. (B) Amido de milho. Fonte: HUANG et al., 2005.....	55
<b>Figura 23.</b> Farinha micronizada de grão de bico. (A) Granulometria 5,60 µm com 500x aumento. (B) Granulometria 11,82 µm com 500x aumento. (C) Granulometria 5,60 µm com 800x aumento. (D) Granulometria 11,82 µm com 800x aumento. Seta branca: Proteína, Seta preta: A .....	56
<b>Figura 24.</b> Gráfico temperatura de transição vítrea versus umidade – fração proteica. ....	70
<b>Figura 25.</b> Gráfico temperatura de transição vítrea versus umidade – fração amilácea.....	71
<b>Figura 26.</b> Gráfico temperatura de transição vítrea versus umidade.....	72
<b>Figura 27.</b> Moinho de facas. ....	73
<b>Figura 28.</b> Moinho de facas e martelo. ....	74
<b>Figura 29.</b> Moinho de anéis. ....	74
<b>Figura 30.</b> Moinho de bolas. ....	75
<b>Figura 31.</b> Distribuição de tamanho de partícula das farinha em diferentes moinhos .....	76
<b>Figura 32.</b> Distribuição de tamanho de partícula das farinha do moinho de facas (mesh 30) e do amido obtido por fracionamento úmido.....	77
<b>Figura 33.</b> Imagem MEV - Farinha micronizada em moinho de anéis.....	78
<b>Figura 34.</b> Imagem MEV — Farinha moída em moinho de facas (mesh 30).....	78
<b>Figura 35.</b> Imagem MEV – Farinha micronizada em moinho de bolas.....	78
<b>Figura 36.</b> Dimensões equipamento de separação triboeletrostática.....	83
<b>Figura 37.</b> Equipamento de separação eletrostática.....	83
<b>Figura 38.</b> Esquema processo separação eletrostática. ....	85
<b>Figura 39.</b> Sistema de indução de cargas - Polarização.....	86

## 1. INTRODUÇÃO

Visto que a busca por proteínas vegetais está aumentando, metodologias para obtenção das mesmas vem sendo exploradas. A obtenção de proteínas alternativas é uma área promissora para produção de novos produtos que serão importantes para atender o crescimento populacional nos próximos anos. Estima-se que a população irá aumentar em 2 bilhões de pessoas nos próximos 30 anos, com previsão de uma população mundial de 9,7 bilhões em 2050, podendo chegar a 10,9 bilhões em 2100 (Nações Unidas, 2020).

Outro motivo para a expansão do mercado de proteínas vegetais é o elevado custo da proteína animal, impossibilitando que toda população tenha acesso a esse alimento. O alto custo está relacionado com o tamanho da área necessária para a produção de proteína de origem animal e o grande consumo de água. Além disso a carne é um alimento perecível, não podendo ser estocada por longo período de tempo (FAO, 2016a).

O método mais utilizado para obtenção da fração proteica é o fracionamento úmido, onde se obtém isolado proteico com concentração de proteína em torno de 90% (SCHUTYSER *et al.*, 2011; ASSATORY *et al.*, 2019). Contudo, não é um método sustentável, há um elevado consumo de água e energia, além de alterar a estrutura da proteína, perdendo sua forma nativa (JAFARI *et al.*, 2016).

Dessa forma, estudos utilizando as metodologias de fracionamento a seco têm aumentado. Uma vez que se utiliza menor quantidade de água e não altera a forma nativa da proteína, mantendo suas propriedades funcionais. A metodologia mais utilizada é a classificação com ar que possui como mecanismo de separação a diferença de tamanho e densidade entre partículas, amido e proteína. Neste processo o grão moído é transportado pelo ar, onde partículas maiores e mais densas são carregadas para parte de baixo do equipamento e partículas menores, e menos densas saem na parte de cima (LUNDGREN, 2011).

Entretanto, essa metodologia é limitada, pois partículas com tamanho e densidade muito próximas, não serão separadas neste processo (TABTABAEI *et al.*, 2016). Enquanto, separação por triboeletrificação não possui essa limitação,

pois a metodologia consiste em separar os componentes devido a diferença de carga elétrica.

Na triboeletrificação, através do atrito, o carregamento elétrico é obtido através da transferência de elétrons entre as substâncias. Dessa forma, tem-se a proteína facilmente carregada, devido a presença de grupos funcionais ionizáveis em sua estrutura (MAYR *et al.*, 2006), geralmente ela é carregada positivamente, ou seja, perde elétrons. Enquanto, que o carboidrato é fracamente carregado, pois possui poucos grupos ionizáveis (ASSATORY *et al.*, 2019).

Tendo em vista os avanços nos estudos de fracionamento a seco para obtenção de proteínas vegetais, a proposta do projeto em questão foi estudar parâmetros que influenciam a separação triboeletrostática da proteína do grão de bico. Foi escolhida essa metodologia, pois o grão de bico é uma matéria prima limitada a classificação por ar, devido à proximidade de tamanho entre proteína e amido (XING *et al.*, 2020).

A matéria prima selecionada foi o grão de bico, pois possui uma grande produção mundial, ficando em terceiro lugar dentre as leguminosas (FAOSTAT, 2020). Além disso, ele é um pulse, subgrupo de leguminosas de sementes secas com baixo conteúdo gorduroso que exercem um papel importante na agricultura. Em virtude de sua interação simbiótica com as bactérias *Rhizobia* e *Bradyrhizobium*, auxiliam na fixação do nitrogênio no solo que é repassado para os próximos cultivos, melhorando assim a produtividade (FAO, 2016b).

Para melhor compreensão do processo de separação triboeletrostática, foi realizado um planejamento experimental com uma mistura de amido de milho e proteína do soro de leite em proporção próxima ao teor proteico de proteína no grão de bico (18 – 20%). Este estudo foi essencial para compreensão do processo de triboeletrificação, pois os componentes estão separados, não sendo necessário a moagem.

## **2. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO PRINCIPAL**

- Estudar a metodologia de separação triboeletrostática para obtenção da proteína vegetal através de um protótipo desenvolvido.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar o desempenho do protótipo através dos parâmetros fluxo de ar comprimido e voltagem das placas no processo de separação triboeletrostática da fração proteica no sistema modelo.
- Avaliar a granulometria da micronização e influência da umidade no processo de separação triboeletrostática da fração proteica do grão de bico.

## **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **MERCADO DE PROTEÍNAS VEGETAIS**

Segundo informações levantadas pela Sociedade Vegetariana Brasileira (SVB) o mercado de proteínas vegetais cresce 40% ao ano. Sendo o valor desse mercado responsável por girar aproximadamente US\$ 3 bilhões em 2020 e com uma previsão de aumentar para US\$ 6,4 bilhões até 2023 (THE GOOD FOOD INSTITUTE - GFI, 2020).

Dentre os motivos para o crescimento desse mercado tem-se o crescimento urbano. Em 2018 cerca de 55% da população vivia em áreas urbanas, sendo a projeção para 2050 de 68% (UNITED NATION, 2018). Com relação a renda familiar foi observado um aumento entre 2017 e 2020 em alguns países, facilitando o acesso dessas pessoas a esse mercado. Mesmo após pandemia COVID 19, onde a renda em alguns locais diminuiu (OECD, 2022), pesquisas preveem o aumento no mercado global de ingredientes de frutas e vegetais para 2028 (DIGITAL JOURNAL, 2022).

O estilo de vida urbano leva a população a se preocupar com uma vida mais saudável e com o impacto ambiental na escolha dos alimentos, estando disposta a pagar mais por isso (ZION MARKET RESEARCH, 2018).

Estudos apresentam que alimentos de origem vegetal agridem menos o meio ambiente que alimentos de origem animal. Kim *et al.* (2019) apresenta em seu trabalho uma análise da emissão de gases do efeito estufa e o gasto de água em nove dietas diferentes. Observou-se que a dieta vegana trouxe uma redução per capita de 70% de emissão dos gases do efeito estufa com relação a dieta com consumo de carne diário. O consumo de água também reduziu na produção de alimentos de origem vegetal. Um dos motivos dessa redução se dá pela necessidade de um espaço menor para o cultivo das leguminosas. Na pecuária, a criação de gado implica no aumento do consumo de água.

A partir desse cenário, onde grande parte da população se preocupa com o meio ambiente e com a questão de saudabilidade, pode-se observar um aumento de 24% no lançamentos de produtos plant-based no Brasil entre 2016 e 2018 (FI, 2020).

O mercado de *plant-based* não atendente somente os veganos e vegetarianos, mas também os flexitarianos que pertencem ao grupo de pessoas que buscam reduzir o consumo de produto de origem animal. De acordo com a pesquisa da Kantar Worldpanel (2019), a redução de consumo de carne por 50% dos lares e o crescimento do grupo de pessoas com alergia à proteína, estão levando ao aumento da busca por produtos vegetais.

Outro ponto que deve ser considerado ao analisar o mercado de proteínas vegetais é o aumento populacional. De acordo com a Nações Unidas a previsão populacional para 2050 é de 9,7 bilhões de pessoas. Com o aumento populacional é estimado um aumento de 70% na produção de alimentos (ZHU *et al.*, 2021). Dessa forma, produtos alternativos, a proteína de origem animal, são essenciais para atender essa demanda.

## **LEGUMINOSAS E PULSES**

As leguminosas referem-se a plantas onde os grãos são produzidos dentro de um fruto na forma de vagem (FAO, 2016c). Estes grãos são fontes de proteína, fibra, amido e oligonutrientes (vitaminas e minerais), sendo os mais conhecidos

feijão, soja, lentilha, ervilha e grão de bico. Uma característica interessante desses grãos é que eles possuem proteína de reserva, sendo favorável à sua extração.

Iniciando pela soja que foi o precursor de alimentos proteicos de origem vegetal, tem-se que a produção nacional deste grão está em torno de 114 milhões de toneladas (CONAB, 2019). Ou seja, há uma grande produção para atender o mercado interno e suprir as necessidades no desenvolvimento de novos produtos. Entretanto, os consumidores evitam o consumo da soja devido a questões alergênicas e preocupação com produtos transgênicos. Portanto, é necessário buscar novas fontes, tais como os pulses, para substituir a soja não aceita por parte do mercado (Notícias Agrícolas, 2017; INNOVEST STRATEGIC VALUE ADVISORS, 2003).

Os pulses são sementes secas consumidas há séculos (7000-8000 a.c.), fazem parte da família das leguminosas, e ainda hoje ganham espaço no mercado. A FAO considera os pulses como super alimentos, pois são zero em colesterol, possuem alto conteúdo de ferro e zinco, rico em minerais e vitamina B, fonte de proteína, baixo índice glicêmico, baixo conteúdo gorduroso e fonte de fibra (FAO, 2016c).

Após a soja, pioneira no mercado de proteínas vegetais, a ervilha foi a segunda leguminosa que mais chamou a atenção para ser utilizada como substituta em produtos com proteína vegetal. Uma matéria prima muito interessante para países com grande produção desse grão, como o Canadá e a Rússia, considerados os maiores produtores de ervilha em 2013-2017 (Statista, 2020). Porém, a produção de ervilha no Brasil não é suficiente para atender o mercado interno (Vegazeta, 2019; Embrapa, 1997). Sendo assim, é vantajoso buscar variedades de pulses para que o Brasil não seja dependente da importação de proteína de ervilha, impactando os custos para desenvolvimento de novos produtos.

A partir desse cenário, em 2018, foi estabelecido um Plano Nacional de Desenvolvimento da Cadeia do Feijão e Pulses (PNDCFP) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento com o objetivo de aumentar a produção de pulses em 20% e o consumo per capita de feijão em 5 kg. Além do mercado interno, esse plano busca aumentar a exportação de pulses para 500 mil toneladas por ano até 2028, com a possibilidade de o Brasil tornar-se protagonista no beneficiamento desses grãos (PNDCFP, 2018).

Com relação ao grão de bico tem-se uma leguminosa relevante, sendo a terceira colocada entre a produção mundial das leguminosas. Após a soja e o feijão e antes da ervilha, lentilha e tremoço (FAOSTAT, 2020). No Brasil o consumo do grão de bico vem crescendo, como pode ser observado pelo aumento da plantação BRS Aleppo que em 2015 correspondia a 200 hectares e aumentou para 9000 em 2018 (EMBRAPA, 2018).

O grão de bico também possui a vantagem de resistir a ambientes secos, devido a sua raiz profunda. Além de crescer em temperaturas baixas, sendo uma opção para as regiões mais frias do Brasil (SOUZA, 2019; SOUSA, 2021).

Dessa forma, levando em conta que sua produção vem crescendo no Brasil e está consolidada no mercado externo, a utilização do grão de bico como ingrediente de produtos com proteína vegetal parece promissor nos próximos anos.

### ***Composição nutricional***

Com relação a composição proteica dos pulses têm-se duas principais proteínas de armazenamento: globulina e albumina. As globulinas e albuminas são proteína globulares. Porém, a globulina tem uma massa molecular maior que a albumina, e é solúvel em soluções salinas enquanto a albumina é solúvel em água (BOYE *et al.*, 2010). Essas características irão influenciar nas propriedades tecnológicas das leguminosas.

Outras proteínas encontradas nos pulses, em menor quantidade, são glutelina e prolamina (BOYE *et al.*, 2010). Além da composição proteica é importante analisar a composição de aminoácidos e a digestibilidade das proteínas. Esses pontos irão influenciar na qualidade nutricional das leguminosas.

Em geral, os pulses possuem altas quantidades dos aminoácidos lisina, leucina, ácido aspártico, ácido glutâmico e arginina, porém são pobres em aminoácidos sulfurados como a metionina e cisteína (SWANSON, 1990). Para aumentar a qualidade nutricional de um produto onde se utiliza ingredientes proteicos de leguminosas é interessante utilizar também proteína de cereais, pois esses dois grupos se complementam (BOYE *et al.*, 2010).

Também pode se utilizar as glutelinas para aumentar o valor nutricional no produto. Pois é a proteína que contém maior porcentagem dos aminoácidos cisteína e metionina (BESSADA *et al.*, 2019).

Com relação a digestibilidade, os pulses podem conter alguns inibidores de enzima, tais como inibidores de tripsina e quimiotripsina, que afetam a digestibilidade das proteínas, pois impedem a ação das enzimas proteolíticas. A digestibilidade de uma proteína se refere a quantidade que ela é absorvida pelo organismo. Estudos mostram que a digestibilidade de proteínas de grão de bico, feijão mungo e ervilhas são 65,3%-79,4%, 67,2%-72,2%, 60,4%,-74,4%, respectivamente (CHITRA *et al.*, 1995). Os valores de digestibilidade vão depender muito do tipo de grão e do seu processamento (BOYE *et al.*, 2010).

A remoção da casca influencia diretamente na digestibilidade das leguminosas. Pois, na casca estão presentes alguns fatores antinutricionais que podem impedir a absorção dos nutrientes. Além de interferir na digestibilidade, a casca pode afetar propriedades tecnológicas da proteína (FERNANDO, 2021). Dependendo do pulse, a casca pode ser retirada facilmente ou não. Moinhos do tipo atrito conseguem separar cascas que possuem aderência mais fraca ao grão, enquanto os abrasivos são utilizados para pulses com uma forte aderência à casca (FERNANDO, 2021).

A Tabela 1 apresenta a composição nutricional de alguns pulses. Observa-se que a porcentagem de proteína entre eles é próxima, destacando o tremoço com 36,17%. A composição de carboidratos, fibras e lipídios também é similar, sendo o grão de bico e o tremoço com maior quantidade de lipídios, 6,04% e 9,74%, respectivamente.

**Tabela 1. Composição nutricional de grãos de pulses (% mássica, base úmida).**

Pulse	Proteína (%)	Carboidrato (%)	Fibra (%)	Lipídio (%)
Grão de bico	18,4 – 29,0	59,5 – 65,4	3,0 – 17,4	4,5 – 6,6
Lentilha	26,4 – 31,4	56,5 – 64,6	6,7 - 10,7	1,2 – 1,3
Feijão	16,9 – 26,4	60,0 – 61,2	6,2 – 24,9	0,8 – 1,6
Ervilha	19,4 – 34,7	54,7 - 62,8	4,3 - 15,00	1,5 – 3,2
Tremoço	34,1 - 36,2	40,4 – 45,1	18,9 – 35,3	6,5 - 9,7

Fonte: FERNANDO, 2021; BOYE *et al.*, 2010, SCHUTYSER *et al.*, 2011; BOUKID *et al.*, 2019.

## **Propriedades funcionais**

É importante conhecer as propriedades funcionais das farinhas proteicas de pulses para aplicação no desenvolvimento de novos produtos. Estas propriedades dependem da composição de aminoácidos, estrutura da proteína, condições de processamento e interações entre os componentes presentes no alimento (BOYE *et al.*, 2010). As propriedades podem ser alteradas durante o processamento e estocagem. Dessa forma, é importante levar em consideração a cadeia de produção do produto para avaliação das propriedades funcionais.

As propriedades funcionais de maior interesse são solubilidade, retenção de água, retenção de óleo, gelificação, propriedades emulsificantes e espumantes (MA *et al.*, 2011).

A solubilidade das proteínas é dependente do pH da solução. Geralmente, em pH alto ( $\text{pH} > 6$ ) e pH baixo ( $\text{pH} < 4$ ), a solubilidade é maior, enquanto em pH próximo ao ponto isoelétrico, entre 4-6, a solubilidade diminui. O ponto isoelétrico ocorre quando a carga líquida da proteína é nula, aumentando as interações proteína-proteína levando a sua agregação e precipitação (MA *et al.*, 2011).

O processo de extração de proteína também afeta a solubilidade, pois pode alterar sua estrutura. Observa-se na proteína extraída por precipitação isoelétrica uma solubilidade reduzida, devido sua desnaturação desencadeada pelo processo. Tratamentos térmicos também alteram a estrutura da proteína (MA *et al.*, 2011). No processo de fracionamento úmido é necessário a secagem da solução para obtenção da proteína desidratada (GHRIBI *et al.*, 2015).

A capacidade de retenção de água (CRA) é a quantidade de água absorvida por grama de proteína do material. Essa propriedade é intensificada com o aumento da concentração de proteína na farinha (PAREDES-LÓPEZ *et al.*, 1991). Alguns tratamentos também podem ser aplicados durante o processamento para melhorar essa propriedade, como aplicação de radiação gama em determinadas doses e o tratamento térmico (CELIK *et al.*, 2004).

A propriedade de capacidade de retenção de óleo (CRO) tem o conceito semelhante ao CRA, mas ao invés de reter a água é analisada a quantidade de óleo absorvido por grama de proteína do material. Da mesma forma, quanto maior a concentração de proteína maior será a CRO. O processo de fracionamento da

farinha também irá afetar essa propriedade, sendo a mesma favorecida pelo caráter hidrofóbico do material (GHRIBI *et al.*, 2015).

A emulsificação é uma propriedade necessária em dispersões liofóbicas, quando uma fase continua não tem a intenção de molhar a fase dispersa nela, devido a tensão interfacial entre as duas fases. Neste caso é necessário adicionar um surfactante como a proteína, que é uma molécula anfifílica que se adsorve na interface, direcionando seu segmento apolar para a fase de óleo e o polar para fase aquosa. Portanto, essa propriedade é importante, pois a grande maioria dos alimentos consiste na mistura de óleo e água, não sendo desejável a sua separação (FENNEMA, 2010).

A atividade emulsificante (AE) analisa a quantidade de óleo que pode ser emulsionada pela proteína. Outros componentes como carboidratos e fibras ajudam na estabilidade da emulsão, pois formam barreiras entre as gotas de óleo, evitando a coalescência (MA *et al.*, 2011).

A gelificação é medida através da mínima quantidade necessária do material para a formação de um gel firme. Ou seja, quanto menor a quantidade necessária melhor é o agente gelificante. A propriedade de gelificação pode ser fortalecida com o aumento da força iônica, em condições ácidas, através de adição de sal na solução como o  $\text{CaCl}_2$  (ZHANG *et al.*, 2007). O tratamento térmico também aumenta a capacidade de gelificação, pois a desnaturação da proteína e pré-gelatinização do amido que ocorre com o aquecimento auxiliando na formação de um gel firme (MA *et al.*, 2011). Em uma mistura com 15% de farinha de grão de bico já pode ser observada a formação de um gel firme, enquanto para a farinha de lentilha e ervilha é necessário 20% de farinha (MA *et al.*, 2011).

A Tabela 2 apresenta os valores das propriedades funcionais de farinha, concentrado e isolado para grão de bico, lentilha e ervilha. O concentrado foi obtido por fracionamento a seco e o isolado por fracionamento úmido.

**Tabela 2. Propriedades funcionais: grão de bico, lentilha e ervilha.**

<b>Pulse</b>	<b>Solubilidade (%)</b>	<b>CRA (g/g)</b>	<b>CRO (g/g)</b>	<b>AE (%)</b>
	0 – 17			
Grão de bico (farinha)	(pH 3) 57 – 61 (pH 7)	0,79 – 1,0	~ 1,76	-
Grão de bico (concentrado de proteína )	-	0,69	0,85	92
	~ 47			
Grão de bico (isolado de proteína)	(pH 3) 60,4 (pH 7)	2,3 – 3,5	1,7 – 2,7	72,9
	17 - 48			
Lentilha (farinha)	(pH 3) 54 - 57 ( pH 7)	0,65 – 0,82 (farinha)	1,7 – 1,76 (farinha)	-
Lentilha (concentrado de proteína)	-	0,95	0,92	58
	~18%			
Ervilha (farinha)	(pH 3) ~54% (pH 7)	~0,74	~1,75	-
Ervilha (concentrado de proteína)	-	0,84	0,83	66

Fonte: GHRIBI *et al.*, (2015), MA *et al.*, (2011). PAREDES-LÓPEZ *et al.*, (1991) KAUR *et al.*, (2007), BOYE *et al.*, (2010), SOSULSKI *et al.*, (1979), ZHANG *et al.*, (2007).

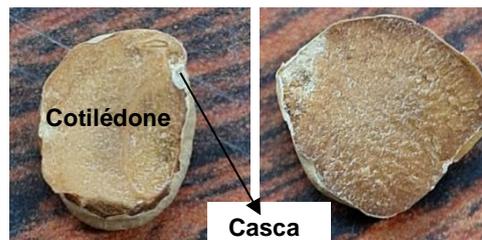
CRA: capacidade de retenção de água.

CRO: capacidade de retenção de óleo.

AE: atividade emulsificante.

## GRÃO DE BICO

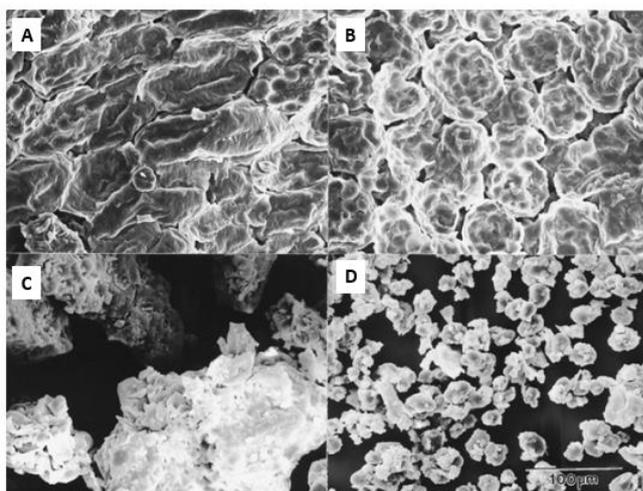
O grão de bico *Cicer arietinum* L. pode ser separado em duas espécies: desi e kabuli. Analisando suas morfologias, o desi possui geralmente uma coloração marrom, apresentando um formato mais angular, com um “bico” pronunciado, uma casca mais espessa (14% do seu peso total) e um peso que varia entre 0,1 – 0,3 g. Enquanto, o kabuli possui uma coloração mais branca, um formato mais arredondado, uma casca mais fina (5% do seu peso total) e um peso maior entre 0,2 – 0,6 g. A Figura 1 apresenta a estrutura geral do grão de bico presente nos dois tipos (WOOD *et al.*, 2011).



**Figura 1.** Grão de bico (*Cicer arietinum* L): cotilédone e casca.

### ***Estrutura***

As estruturas do grão de bico e de outras leguminosas apresentam grânulos de amidos envoltos por uma matriz proteica. Sendo as células da camada externa do cotilédone mais alongadas e compactas, enquanto as células do centro do cotilédone mais arredondadas e dispersas, com espaços intracelulares livres, como pode ser observado na Figura 2 (OTTO *et al.*, 1997; WOOD *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Estrutura celular do grão de bico. (A) Região externa do cotilédone. (B) Região interna do cotilédone. (C) Farinha da região externa do cotilédone. (D) Farinha da região interna do cotilédone.

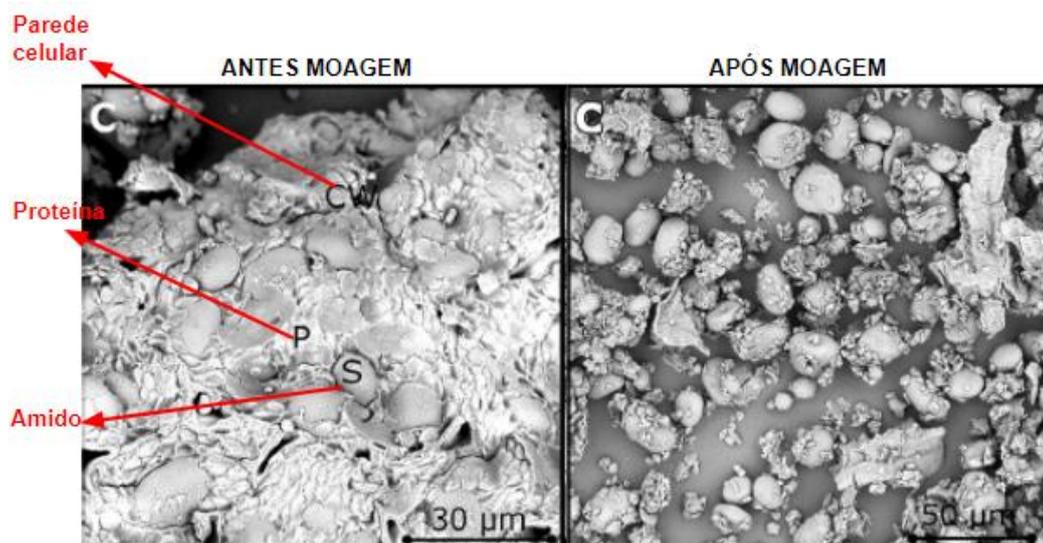
Fonte: OTTO *et al.*, 1997.

Essas estruturas celulares são confirmadas no estudo de Otto *et al.* (1997), onde é realizada a moagem do grão de bico e a separação através de uma peneira com malha 84 µm. A farinha com maior granulometria (> 84 µm) é proveniente das células da periferia do cotilédone, pois a forte ligação entre as estruturas, leva a uma maior dificuldade na quebra e redução do tamanho das partículas. Por outro lado, a farinha com menor granulometria (< 84 µm) é composta pelas células do interior do cotilédone que possuem maior espaço intercelular, sendo facilitado o desprendimento das estruturas durante a moagem.

Analisando a composição da farinha com maior granulometria, observou-se que os grânulos de amido e proteína continuaram aderidos, pois são provenientes das células periféricas, onde a ligação entre os componentes é mais forte. Sendo assim o teor proteico é maior. A farinha com menor granulometria, proveniente do interior do cotilédone, foi facilmente moída devido a ligação mais fraca, dessa forma, foi possível desprender os grânulos de amido. Então, mais grânulos de amido livres foram encontrados na farinha de menor granulometria. Enquanto, que na farinha com granulometria > 84 µm a proteína continua aglomerada ao amido, aumentando o teor proteico (OTTO *et al.*, 1997).

Além da organização estrutural, o tamanho da proteína e grânulo de amido devem ser analisados no processo de moagem. No estudo de Pelgrom *et al.* (2015a), houve uma maior redução das partículas da farinha comparado com o

estudo de Otto *et al.* (1997). Dessa maneira, levou a uma maior eficiência na separação dos grânulos, pois a farinha com menor granulometria, próxima ao tamanho do amido de 20 $\mu$ m, possibilitou a separação da proteína. Na malha de 84 $\mu$ m, a separação foi dificultada, pois os grânulos eram maiores e conseqüentemente a proteína e o amido estavam aderidos. Essa separação pode ser observada na Figura 3 que exhibe a estrutura do grão de bico antes e após a moagem.



**Figura 3.** Estrutura dos grânulos e matriz proteica antes e após moagem do grão de bico.

Fonte: PELGROM *et al.*, 2015.

A moagem ideal consiste em separar os grânulos de amido da matriz proteica que os envolve com o menor gasto de energia. Portanto, as condições de moagem estão diretamente relacionadas com as propriedades mecânicas dos grãos onde os grânulos de amido e proteínas são influenciados pela umidade e temperatura que estão acondicionados (PELGROM *et al.*, 2013).

## APLICAÇÕES DE PROTEÍNAS VEGETAIS A PARTIR DE PULSES

A utilização da farinha de leguminosas começou a ganhar espaço atualmente, devido a praticidade de aplicação (OTTO, 1997; SAIO, *et al.*, 1993).

A indústria passou a ter maior interesse no fracionamento desses grãos para recuperação de amido, proteína e fibras. Gerando maior valor agregado às

leguminosas e contribuindo no desenvolvimento de novos produtos (SAIO *et al.*, 1993).

A forma mais simples de se utilizar as leguminosas em novos produtos desenvolvidos é a farinha, obtida através da moagem do grão. Esse produto geralmente possui um teor de proteína baixo, o que limita as funcionalidades tecnológicas da farinha, sendo sua principal função aumentar o teor de nutricional de alimentos com baixo custo (BOYE *et al.*, 2010).

Uma forma mais aprimorada de se utilizar as leguminosas é através da concentração proteica da farinha, normalmente, obtida pelo fracionamento a seco, onde o teor de proteína pode chegar até 65% na fração fina (proteica) (BOYE *et al.*, 2010).

Também pode-se utilizar o isolado proteico, com uma concentração em torno de 90% de proteína, extraído pelo fracionamento úmido.

O concentrado e o isolado proteico podem ser adicionados em alimentos com o intuito de aumentar o teor nutricional e alterar as propriedades sensoriais do produto. A proteína possui funcionalidade tecnológica como propriedades emulsificantes e espumantes, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de óleo e gelificação, auxiliando a criação de novos produtos (BESSADA *et al.*, 2019).

A farinha pré-moída, concentrado ou isolado de proteínas de pulses podem ser aplicadas para substituir parcialmente a farinha de trigo ou de milho de massa de alimentos extrusado. O processo de extrusão consiste em pressionar uma massa de produto em uma matriz, onde ocorre o cisalhamento e aquecimento da mesma. A massa sai na extremidade da matriz com alta pressão, para que ocorra a sua expansão, chamando-os de pellets. É uma técnica muito utilizada para produzir snacks, cereais matinais, petiscos de animais, crispes, entre outros produtos crocantes (BOYE *et al.*, 2010).

Estas farinhas proteicas também podem ser adicionadas em massas, produtos de panificação, alimentos infantis, embutidos cárneos (almôndega, salsicha, hambúrguer), entre outros (BOYE *et al.*, 2010).

No processo da fracionamento a seco da farinha para se obter uma fração concentrada de proteína, são geradas frações ricas em amido e fibras. Muitas vezes essas frações são coprodutos, sendo o ingrediente principal a proteína. No

entanto, atualmente, a indústria vem valorizando os coprodutos, utilizando-os também em alimentos ou processos não alimentícios.

A fração de fibra é obtida principalmente na etapa onde a casca é retirada, pois a fibra se concentra principalmente na casca. A fibra pode ser utilizada em produtos que necessitam de retenção de água e propriedades antioxidantes. Por outro lado, a fração de amido pode ser aplicada para aumentar a gelatinização em produtos, assim como tapioca e amido de milho (FERNANDO, 2021).

Importante destacar que a qualidade dessas frações de proteína, amido e fibra dependem da origem, estrutura, composição e método de extração em que foram submetidas (ZHU *et al.*, 2021).

## **MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

Como apresentado, o mercado de proteínas vegetais vem crescendo e os estudos na busca de metodologias de extração, como consequência, estão aumentando. O método de extração ideal é aquele que apresenta a manutenção da estrutura nativa da proteína, menor gasto energético e de consumo de água, baixo impacto ao meio ambiente, alto rendimento e alta pureza requerida por algumas aplicações. É importante que a estrutura nativa da proteína seja mantida após extração, pois suas propriedades tecnológicas são desejáveis para aplicação em produtos (BOYE *et al.*, 2010).

As duas principais vias de extração é o fracionamento úmido e seco, entretanto existem estudos que utilizam os dois métodos em combinação. O intuito da associação dos dois métodos seria manter a estrutura nativa dos componentes pela via seca e aumentar a pureza pela via úmida (SCHUTYSER *et al.*, 2015; PELGROM *et al.*, 2015b).

Nesse processo combinado, a fração fina (rica em proteína) obtida no fracionamento a seco, é suspensa em água, centrifugada e filtrada para sua concentração. Dessa forma, é possível reduzir a quantidade de água utilizada, pois é necessário suspender menor quantidade de farinha, devido a previa seleção da fração. Também ocorre menor gasto de energia comparado o método de fracionamento úmido, pois é necessário evaporar menor quantidade de água (SCHUTYSER *et al.*, 2015; PELGROM *et al.*, 2015b).

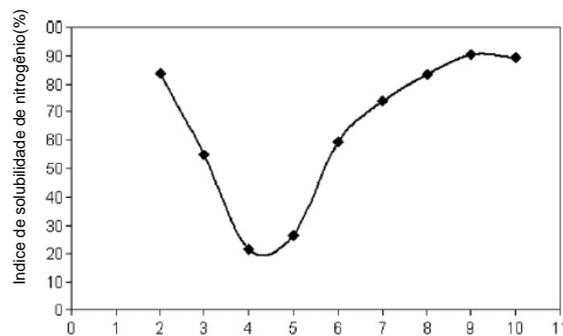
## Fracionamento úmido

O método de fracionamento úmido é um processo que envolve alto consumo de água e energia. O consumo de água varia de 50 – 90 kg de água/kg de proteína recuperada, dependendo do conteúdo de óleo das leguminosas (SCHUTYSER *et al.*, 2015, apud BERGHOUT *et al.*, 2015). Após o fracionamento é necessário o gasto de 54 MJ / kg de energia para remover a água da solução, comparado com 3,6 MJ / kg para fracionamento a seco (BERGHOUT *et al.*, 2015).

O fracionamento úmido também chamado de método isoelétrico consiste em separar os componentes pela solubilidade da proteína em função do pH (BOYE *et al.*, 2010).

Na primeira etapa o pH da solução de farinha é ajustado de 8 a 11, fazendo com que a proteína e o amido se solubilizem e os insolúveis, como fibra, precipitem. Na segunda etapa o pH da solução é ajustado ao ponto isoelétrico da proteína (pH 4 – 5) para que ocorra a sua precipitação, sendo a mesma separada por filtração (BOYE *et al.*, 2010).

Observa-se na Figura 4, que a solubilidade da proteína é alta em pH abaixo de 3, entre 4 e 5 ela reduz drasticamente e retorna a aumentar a partir do pH 6.



**Figura 4.** Relação da solubilidade da proteína do grão de bico com pH.

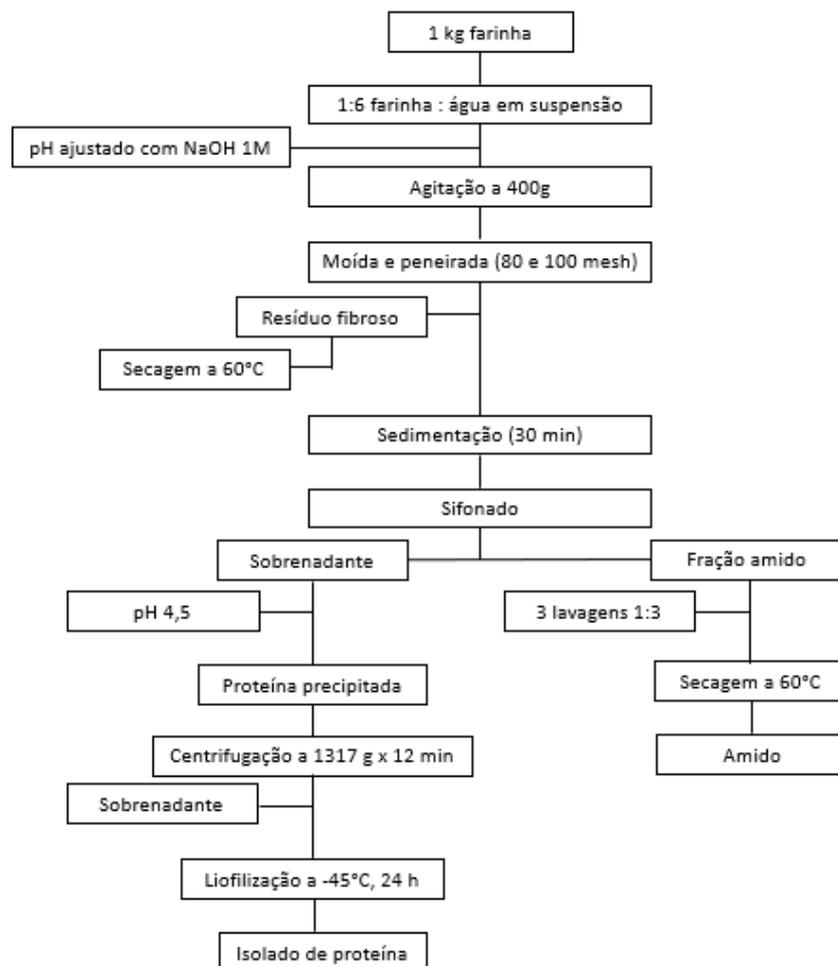
Fonte: BOYE *et al.*, 2010.

A variação do pH leva a alteração da forma nativa da proteína, devido à sua desnaturação, e conseqüentemente alterações das suas propriedades funcionais (SCHUTYSER *et al.*, 2011).

Essa metodologia proporciona uma farinha com alta pureza proteica, sendo possível, obter concentrado/isolado com 70-90% de proteína (BOYE *et al.*, 2010,

Zhu *et al.*, 2021). A concentração de proteína obtida depende das condições utilizadas no processo, como relação de diluição da farinha com água, pH utilizado para solubilização, tempo e temperatura de mistura, pH utilizado no ponto isoelétrico, entre outros.

Como a metodologia depende da solubilidade dos componentes, os parâmetros de processo variam de acordo com a matéria prima. Betancur-Ancona *et al.*, (2004) realizou um estudo de otimização do processo de fracionamento úmido para o feijão-lima, para analisar a resposta concentração de proteína obtida (Figura 5).



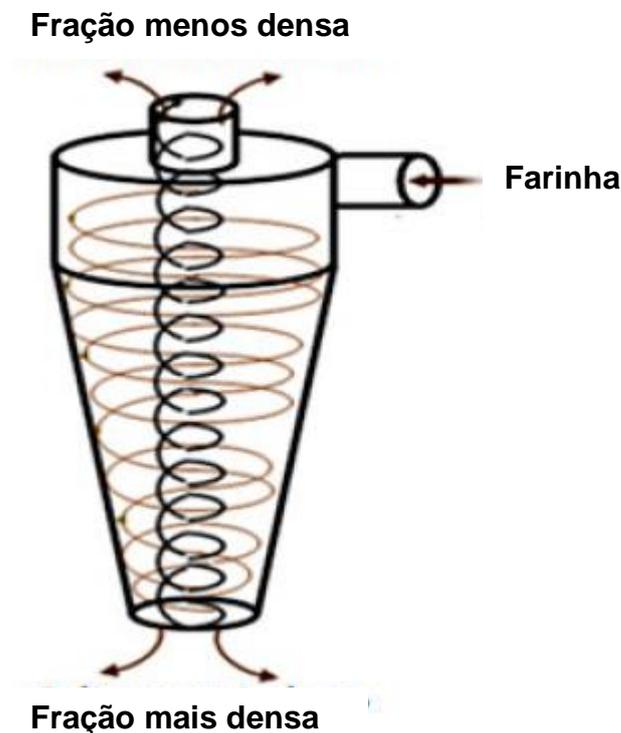
**Figura 5.** Fracionamento úmido pelo método isoelétrico.

Fonte: BETANCUR-ANCONA *et al.*, 2004.

Nesse estudo, os parâmetros foram: proporção de farinha e água (1:6 w/v), pH 11 para solubilização da proteína e amido e 1 hora de mistura a temperatura ambiente após pH estabilizado em 11. Nesse processo foi possível obter uma fração de amido com 98,4 % de pureza e fração proteica com 72% de proteína.

Outro método de fracionamento úmido utilizado é o hidrociclone, onde também ocorre alto consumo de água e energia. Essa metodologia é baseada na separação física dos componentes através de duas forças: aceleração centrífuga e força de arraste. A diferença de algumas características entre as partículas, como tamanho, formato, densidade e porosidade, influenciam na separação dos componentes. Assim, como a viscosidade e densidade do fluido (SVAROVSKY, 1990).

A Figura 6 apresenta o esquema de funcionamento do processo, sendo a fração menos densa coletada na parte superior do hidrociclone e a fração mais densa no fundo. A fração menos densa contém mais proteína e a mais densa é composta por mais amido (EMAMI *et al.*, 2005).



**Figura 6.** Esquema de funcionamento do hidrociclone.  
Fonte: adaptado de AMARAL, 2017

Essa metodologia também é influenciada pelo pH, pois é necessário que o componente se solubilize para ser arrastado junto com sua fração. Ou seja, quanto maior a solubilidade da proteína, maior o teor proteico da fração coletada na parte superior do hidrociclone (EMAMI *et al.*, 2005).

Conclui-se que os métodos de fracionamento úmido possuem como vantagem a elevada pureza das frações obtidas, em contrapartida, resultam em alto gasto de água e energia, além de afetarem a estrutura nativa da proteína alterando suas propriedades tecnológicas (JAFARI *et al.*, 2016).

### ***Fracionamento a seco***

Devido ao menor consumo de energia e água, o fracionamento a seco é um processo mais sustentável, em comparação ao fracionamento úmido (SCHUTYSER *et al.*, 2015). A energia requerida no método de fracionamento seco classificação por ar é de 3,6 MJ/kg de proteína recuperada, enquanto o fracionamento úmido requer 54 MJ/kg de proteína recuperada (SCHUTYSER *et al.*, 2015).

O rendimento e a pureza da farinha rica em proteína são parâmetros importantes para serem observados no processo. No fracionamento a seco, a pureza pode ser considerada como desvantagem do método, pois a quantidade de proteína no fração final é menor do que a obtida por fracionamento úmido (SCHUTYSER *et al.*, 2015; ASSATORY *et al.*, 2019).

Para aumentar a concentração de proteína ou amido na farinha obtida pela separação é necessário encontrar a melhor metodologia para a matéria prima utilizada. Conforme apresentado, os pulses possuem algumas características diferentes, dessa forma deve se encontrar o melhor tipo de fracionamento ou a combinação deles para o pulse em questão. Dentro do fracionamento a seco a separação da farinha após moagem pode ser realizada pela classificação por ar, por peneiras ou por eletrostática.

### ***Umidade e Dureza***

A fratura do grão está relacionada com a umidade que é inversamente proporcional a dureza. No caso do estudo realizado com trigo, foi observada uma eficiência menor de separação na utilização de trigo duro comparado com trigo úmido, porque a proteína e o amido tendem a se ligar mais fortemente em trigo duro (ASSATORY *et al.*, 2019). Além disso, no trigo duro a tendência na moagem

é o rompimento da parede celular antes do conteúdo celular, o que influenciará nas partículas finais (SCHUTYSER *et al.*, 2011).

Em contrapartida, para leguminosas foi observado que os grãos mais duros aumentaram a eficiência da moagem por impacto. Quanto maior a dureza do grão, menor o tamanho das partículas após a moagem, pois o grão apresenta uma característica quebradiça (TYLER *et al.*, 1984). Outro ponto levantado no estudo de Tyler *et al.* (1984) é que os pulses com maior teor de fibra bruta e parede celular insolúvel em água, possuem maior resistência a ruptura pela moagem.

Além da umidade, o tipo de leguminosa irá influenciar na dureza. Na Tabela 3 está destacado em vermelho a dureza de leguminosas, após moagem com moinho de impacto e roda classificadora de 2900 rpm. Observa-se que o grão de bico é mais macio que a ervilha, com 197 N, porém mais duro que a lentilha e o feijão, 31N e 126N, respectivamente.

**Tabela 3. Dureza dos grãos obtida pelo Texture Analyser (Instron- 5564 Series- Table-Model- Systems-Twin-column-design, Canton, USA).**

Legumes	Tamanho grânulo de amido ( $\mu\text{m}$ )	Conteúdo proteico (g/100g matéria seca)	Conteúdo gorduroso (g/100g matéria seca)	Umidade (g/100g)	$D_{0,5}$ ( $\mu\text{m}$ )	Dureza do grão (N)	Densidade partícula ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )
Ervilha	25,8 $\pm$ 0,5	23,7 $\pm$ 0,8	1,9 $\pm$ 0,3	12,6 $\pm$ 0,4	17,1 $\pm$ 0,8	210 $\pm$ 23	1441 $\pm$ 4,5
Feijão	25,0 $\pm$ 0,6	29,8 $\pm$ 1,4	2,0 $\pm$ 0,2	12,7 $\pm$ 0,1	14,9 $\pm$ 0,2	126 $\pm$ 13	1427 $\pm$ 2,7
Grão de Bico	18,9 $\pm$ 0,1	21,6 $\pm$ 0,9	6,6 $\pm$ 0,2	11,7 $\pm$ 0,1	16,1 $\pm$ 0,4	197 $\pm$ 28	1408 $\pm$ 2,8
Lentilha	25,1 $\pm$ 0,8	24,9 $\pm$ 0,3	2,1 $\pm$ 0,0	11,9 $\pm$ 0,8	12,4 $\pm$ 0,8	31 $\pm$ 18	1437 $\pm$ 0,6

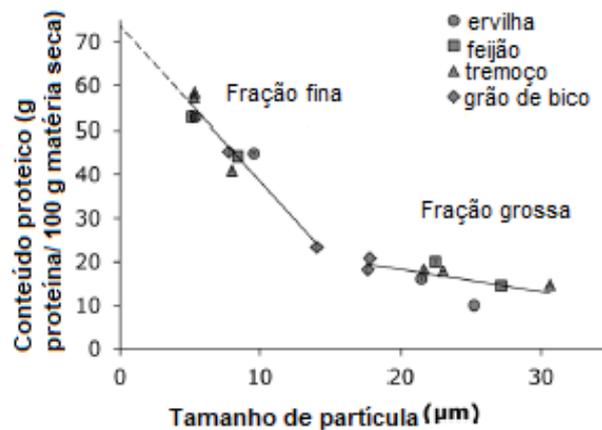
Fonte: PELGROM *et al.*, 2015a.

### **Tamanho das partículas**

O tamanho de partícula é um parâmetro importante para a separação da proteína e do amido no fracionamento a seco, pois irá influenciar diretamente na quebra ou não da ligação entre os componentes. Principalmente no método de classificação por ar, muito estudos analisam este parâmetro e identificam algumas características intrínsecas dos pulses que podem auxiliar na separação por ar.

De acordo com Schutyser *et al.* (2011), quanto maior a uniformidade do tamanho dos grânulos de amido, melhor será a separação. Além da diferença entre o tamanho da proteína e amido que deve ser grande para otimizar o processo de separação.

A Figura 7 apresenta a porcentagem de proteína e tamanho de partícula da fração fina e fração grossa obtida no processo de classificação por ar.



**Figura 7.** Conteúdo de proteína em função do tamanho de partícula para pulses classificados ao ar.

Fonte: PELGROM *et al.*, 2015a.

No estudo de Pelgrom *et al.* (2015a) é apresentado o tamanho do grânulo de amido do grão de bico por volta de 18 µm, sendo o menor tamanho entre os pulses comparados. Observa-se na Figura 7 que a porcentagem de proteína na fração fina do grão de bico é menor, devido a essa menor a diferença entre o tamanho da proteína e do amido.

A Tabela 4 apresenta um compilado do diâmetro médio ( $D_{50}$ ) das partículas de alguns grãos na literatura. Como já citado, o grão de bico tem o menor valor dentre os grãos apresentados.

**Tabela 4. Diâmetro médio de proteína e amido de grãos.**

<b>Grãos</b>	<b>D<sub>50</sub> - Proteína (µm)</b>	<b>D<sub>50</sub> – Amido (µm)</b>
Trigo e Cevada	< 20	20 - 35
Tremoço	5 - 25	40
Ervilhas, favas e lentilhas	-	25 - 40
Grão de bico	-	17
Lentilha	-	22

Fonte: ASSATORY *et al.*, 2019; PELGROM *et al.*, 2014, AGUILERA *et al.*, 2009.

Sendo assim, para se obter uma melhor separação da farinha do grão de bico, a moagem tem que ser mais intensa para se alcançar tamanhos menores de partículas, chegando mais próximo ao tamanho dos grânulos de amido e das partículas de proteínas (CARMO *et al.*, 2020).

Contudo a farinha não pode ser muito fina, pois diminui o rendimento, devido a maior adesão da farinha às paredes do moinho (PELGROM *et al.*, 2014; CARMO *et al.*, 2020).

Observa-se no estudo de moagem do tremoço que o diâmetro médio das partículas da farinha está relacionado com o rendimento da moagem e com o conteúdo proteico (Tabela 5). Nas farinhas mais finas, observa-se também que a umidade diminui, devido ao menor tamanho de partícula e maior área superficial para perder umidade (PELGROM *et al.*, 2014).

**Tabela 5. Resultado da moagem do tremço em moinho de impacto com fluxo de ar de 80m<sup>3</sup>/h com variação velocidade da roda classificadora.**

Velocidade da roda classificadora durante a moagem (rpm)	D <sub>0,5</sub> (µm)	Rendimento da moagem (g/100g)	Área específica da superfície (m <sup>2</sup> /g)	Conteúdo proteico (g/100g sólidos secos)	Conteúdo de umidade (g/100g)
Grits	196,3 ± 7,5	-	0,24 ± 0,05	39,9 ± 0,2	8,8 ± 0,0
1000	105 ± 31,0	96,3 ± 0,4	0,33 ± 0,05	37,7 ± 2,6	8,5 ± 0,2
2500	26,0 ± 2,2	71,0 ± 3,5	0,80 ± 0,04	38,5 ± 2,6	6,3 ± 0,2
4000	16,3 ± 2,0	66,3 ± 4,0	1,02 ± 0,07	45,4 ± 0,9	6,8 ± 0,5
6000	14,1 ± 0,3	68,3 ± 2,0	1,13 ± 0,04	40,3 ± 1,7	6,1 ± 0,8

Fonte: PELGROM *et al.*, 2014.

Portanto, podemos identificar como características do grão de bico: um dos pulses que possui maior quantidade de lipídeo, baixa densidade e menor tamanho de grânulo de amido e corpos proteicos.

Como a classificação com ar é baseada no tamanho das partículas e densidade, as características do grão de bico dificultam a utilização desta metodologia, conforme observado no estudo de Pelgrom *et al.* (2015a).

Outro ponto, é a dispersibilidade do material que influencia na separação com ar, ela é afetada pelo conteúdo de lipídeos do grão de bico, pela baixa densidade e pelo menor tamanho de partícula do amido (Tabela 5). Quanto menor o tamanho médio das partículas menor a dispersibilidade da farinha (Pelgrom *et al.*, 2015a). Com relação a baixa densidade, partículas grandes podem ser arrastadas para a fração de partículas finas durante a separação, reduzindo a pureza da fração de proteína.

### **Moagem e Moinhos**

A moagem deve ser adequada para desaglomerar os grânulos de amido da matriz proteica (BOYE *et al.*, 2010; TYLER, 1984). Os corpos proteicos formam uma rede que envolve os grânulos de amido. O qual é confirmado no estudo de Moller *et al.* 2021, onde foram analisadas imagens da farinha de ervilha, e

identificou-se nitrogênio em abundância ao redor dos grânulos de amido. Portanto, a moagem deve ser suficiente para que ocorra a separação entre eles. O aumento da velocidade do moinho pode melhorar a eficiência de desintegração entre proteína e amido (ASSATORY *et al.*, 2019). O estudo de Pelgrom *et al.*, 2013 mostrou que o conteúdo de proteína foi maior com o aumento da velocidade de moagem.

Em alguns casos é necessário uma moagem previa do grão e posteriormente a micronização para reduzir a farinha em diâmetro próximo ao tamanho do grânulo de amido.

De acordo com Pelgrom *et al.*, 2015a, para que haja uma ótima desaglomeração entre proteína e amido é importante que a distribuição do tamanho de partícula da farinha se sobreponha a distribuição de tamanho de partícula dos grânulos de amido.

No estudo de Moller *et al.*, 2021, foi observado que para boa separação da proteína e amido o diâmetro médio das partículas da farinha após moagem deveriam ser idealmente, entre 10  $\mu\text{m}$  e 40  $\mu\text{m}$ . O valor está de acordo com a teoria de Pelgrom *et al.*, 2015a, pois são próximos ao tamanho dos grânulos de amido.

Portanto, a farinha com uma granulometria próxima ao tamanho do amido é necessária, porém é um processo difícil de ser controlado, pois depende de características do grão como a dureza, teor de fibra bruta e parede celular insolúvel em água, além da não uniformidade nos tamanhos dos grânulos de amido (MOLLER *et al.*, 2021; TYLER, 1984). De modo que a quebra pode não ocorrer entre a ligação da proteína e amido, mas no meio do grânulo de amido formando finos de amido com o mesmo tamanho da proteína (PELGROM *et al.*, 2014, SCHUTYSER *et al.*, 2011).

A moagem intensa pode causar danos no amido, e seus finos são levados para a fração fina na separação. Por outro lado, se a moagem da farinha não for suficiente, os corpos proteicos, grânulos de amido e parede celular se mantem agregados. Além disso, farinhas muito finas tendem a aderir a parede do equipamento devido a força de van der Waals reduzindo o rendimento (PELGROM *et al.*, 2014).

O parâmetro estudado sobre o diâmetro médio da farinha obtida na moagem e micronização auxilia na execução desta etapa que é muito importante

para o fracionamento, pois influencia diretamente na concentração de proteína. Também é importante analisar o tipo de moinho a ser utilizado neste processo, as características do moinho afetam a estrutura dos componentes na farinha obtida.

Dentre os moinhos utilizados, tem-se o de impacto, onde o tamanho das partículas é reduzido pela força de impacto e cisalhamento, pois os grãos são pressionados contra uma peneira. Como exemplo tem-se moinho martelo, moinho de pinos, moinho de facas, entre outros (FERNANDO, 2021; SCHUTYSER *et al.*, 2011; ASSATORY *et al.*, 2019). Alguns estudos indicam que o moinho de impacto causa menor dano aos grânulos de amido (ZHU *et al.*, 2021).

O moinho a jato também é eficiente para produção de farinhas com partículas menores, sendo a redução de tamanho ocasionada pela colisão entre as partículas e paredes do equipamento. Ele funciona através da movimentação das partículas do material alimentado junto com corrente de ar em alta velocidade (SCHUTYSER *et al.*, 2011; ASSATORY *et al.*, 2019). A mecânica de quebra dessa metodologia ocorre através de impacto e fricção (KDIDI *et al.*, 2019).

Existe a opção de moinho de bolas, onde são adicionadas esferas de tamanhos variados em um recipiente juntamente com a farinha, o recipiente é agitado rapidamente gerando uma redução no tamanho das partículas. A redução do tamanho ocorre por impacto e compressão entre componentes, podendo comprimir a proteína e o amido, tornando difícil sua separação. Assim como afeta a estrutura macromolecular e gera partículas heterogêneas, não sendo desejável no fracionamento a seco (ZHU *et al.*, 2021; KDIDI *et al.*, 2019).

A distribuição de tamanho de partículas da farinha é afetada pela mecânica de dissociação, como o tipo de moinho, velocidade do rotor, força de moagem, tamanho da peneira e tempo de moagem (FERNANDO, 2020; KDIDI *et al.*, 2019).

A Tabela 6 apresenta os parâmetros de micronização utilizados em alguns estudos.

**Tabela 6. Parâmetros de micronização utilizados em processos de classificação por ar e separação eletrostática.**

<b>Método de separação e Produto</b>	<b>Equipamento</b>	<b>Veloc. roda classificadora (rpm)</b>	<b>Vazão do ar (m³/h)</b>	<b>Veloc. moinho de impacto (rpm)</b>	<b>Taxa alimentação (kg/h)</b>	<b>Diâmetro de partícula (µm)</b>
<b>Classificação por ar - Tremoço</b>	Moinho a jato (ZPS50)	1000, 2500, 4000, 6000	80	8000	0,5 kg/h / 2 rpm	~500, 50, 40, 20, 10
<b>Classificação por ar - Ervilha</b>	Moinho a jato (ZPS50)	5000	52	8000	0,5 kg/h / 2 rpm	-
<b>Separação eletrostática - Ervilha, lentilha e grão de bico</b>	Moinho a jato (ZPS50)	4000, 2200, 2900	40	8000	0,5 kg/h / 2 rpm	20
<b>Separação eletrostática - Torta de óleo de colza</b>	Moinho de facas (100 UPZ)	-	-	18000	1 kg/h	D <sub>50</sub> = 42
<b>Separação eletrostática - Torta de óleo de colza</b>	Moinho a jato	-	-	2000	1,1 kg/h	D <sub>50</sub> = 42
<b>Separação eletrostática - Torta de óleo de colza</b>	Moinho de bolas	51	-	-	jarro de 2l com 70 esferas (35 com 25 mm e 35 com 20mm), tempo de processo: 1- 20h	D <sub>50</sub> = 43

Fonte: PELGROM *et al.*, 2014; MOLLER *et al.*, 2021; XING *et al.*, 2020; KDIDI *et al.*, 2019.

## ***Classificação por ar***

Essa metodologia consiste na separação das partículas de proteínas e grânulos de amido a partir das suas diferenças de densidade e tamanho (SCHUTYSER *et al.*, 2015).

O fracionamento ocorre através de uma roda classificadora que é alimentada pela farinha e um fluxo de ar. A roda gera força centrífuga e gravitacional arrastando as partículas mais densas e maiores para o fundo do equipamento enquanto as partículas finas e leves saem na parte superior (ASSATORY *et al.*, 2019; SCHUTYSER *et al.*, 2015).

A rotação da roda classificadora determina o tamanho de corte, que é o tamanho médio que divide a farinha grossa, coletada no fundo, da farinha fina, coletada na parte superior do classificador.

A farinha grossa, onde se localizam as partículas maiores, é composta majoritariamente por amido. Já na farinha fina prevalecem as proteínas por serem partículas menores (SCHUTYSER *et al.*, 2011).

A classificação por ar é limitada pelas características das leguminosas. Grãos com alto teor de lipídeos podem prejudicar a dispersibilidade das partículas no ar (PELGROM *et al.*, 2015b). Partículas com pequena diferença de tamanho, densidade e com propriedades termodinâmicas similares também possuem uma separação ineficiente (FERNANDO, 2021; TABTABAEI *et al.*, 2019).

A turbulência do ar na classificação diminui o controle da separação ocasionando a entrada de partículas em frações não desejáveis (FERNANDO, 2021; ASSATORY *et al.*, 2019). A presença de grânulos danificados também afeta a separação por ar, pois os finos do amido danificado podem apresentar gravidade específica similar aos corpos proteicos sendo separados junto com eles (PELGROM, *et al.*, 2015a; TABTABAEI *et al.*, 2019).

Para melhorar o fracionamento por esse método alguns estudos realizam a reciclagem da fração grossa. A mesma passa novamente pelo classificador de ar para retirar as partículas de proteína que ainda ficaram misturadas no amido (TYLER *et al.*, 1981; CHALLA *et al.*, 2010; ASSATORY *et al.*, 2019). No estudo de Wu *et al.*, 2005 a fração grossa obtida pela classificação com ar é moída novamente e fracionada mais duas vezes, depois é reciclada mais 3 vezes na classificação por

ar com vários tamanhos de corte de 15µm, 18µm, 24µm e 30µm para recuperação da proteína ainda existente na fração grossa.

A utilização de substâncias que aumentam a dispersibilidade da farinha auxilia a separação nessa metodologia com ar. Principalmente em farinhas com alto teor de lipídeos, como é o caso do tremoço, pode se utilizar amido de batata (PELGROM *et al.*,2014).

Uma vantagem dessa metodologia é a possibilidade de aumentar a escala de produção piloto para comercial (ASSATORY *et al.*,2019).

### **Separação com peneira**

A peneira é uma das ferramentas mais antigas utilizada para separação de materiais com diferentes tamanhos. A separação é baseada nas diferentes aberturas das peneiras que contemplam uma variação grande de tamanho (MAYER-LAIGLE *et al.*, 2018).

Essa técnica que pode ser utilizada em conjunto com outras metodologias para melhorar a eficiência de separação da proteína e amido. Como por exemplo, em combinação com a classificação por ar no estudo de Challa *et al.*, 2010, essa combinação foi utilizada em farelo de soja, de algodão e trigo, sendo a concentração de proteína de 539 g/kg, 499 g/kg e 192 g/kg com a peneira e em combinação com a classificação com ar aumenta para 553 – 557 g/kg, 521–527 g/kg) e 194–201 g/kg), respectivamente

É pouco eficiente quando utilizada de forma independente, pois a concentração obtida é muito baixa. No estudo de Maaroufi *et al* (2000) não foi possível separar a proteína do amido da ervilha, e sim concentrar os componentes em uma fração com 25,7% de proteína e 55,4% de amido a partir de uma farinha com 23,7% de proteína e 52,7% de amido. Utilizando nove peneiras com abertura de 2,5 - 0,122 mm. Dessa forma na indústria de alimentos o fracionamento da farinhas com peneira pode ser utilizado para remover componentes específicos e enriquecer a farinha com outros componentes (MAAROUFI *et al.*, 2000).

Para separação da proteína e amido o ideal seria utilizar peneira com abertura próxima ao tamanho do amido, para retê-lo e permitir somente a passagem da proteína. Entretanto, peneira com orifícios muito pequenos em torno de 40 µm e 20 µm tendem a entupir com mais frequência, dificultando a separação.

O qual é uma das desvantagem dessa técnica, o entupimento dos orifícios da peneira dependendo do produto e da malha (SCHUTYSER *et al.*, 2011).

Outra dificuldade dessa metodologia é a contaminação da fração com partículas maiores pelas partículas finas que ficam presas nesta fração (MAAROUFI *et al.*, 2000).

Geralmente essa metodologia é realizada com a combinação de várias peneiras empilhadas com granulometrias diferentes em ordem decrescente. Dessa forma, as partículas maiores são separadas na parte superior reduzindo o entupimento das peneiras mais abaixo.

### ***Separação eletrostática***

Existem diferentes tipos de separadores eletrostáticos, os quais o carregamento elétrico das partículas pode ocorrer por indução, descarga corona e tribo-carregamento (ZHU *et al.*, 2021). O carregamento por indução e a descarga corona são utilizados para separar material com condutividades significativamente diferentes, como é o caso de misturas de plásticos. Entretanto, se o material for pequeno e os componentes possuírem condutividade elétrica similares a melhor opção é a tribo-eletrificação.

A tribo-eletrificação é a separação eletrostática na qual o material recebe carga por atrito pela colisão entre partículas e entre partículas e parede (WANG *et al.*, 2015b). É um método livre do uso de solventes e sua vantagem com relação aos outros métodos é a separação de partículas com tamanhos e densidades similares. Entretanto, é necessário que as propriedades dielétrica das partículas sejam diferentes, pois o processo consiste em separar as frações através de força eletrostática (ASSATORY *et al.*, 2019).

No tribo-carregamento ocorre a transferência de elétrons de um material para outro. A substância que perde elétrons fica carregada positivamente, enquanto, a substância que recebe elétrons fica carregada negativamente. A proteína tende a perder elétrons se tornando positiva (MAYR *et al.*, 2006). Ela possui grupos ionizáveis em sua estrutura onde os grupos terminais N e C dos aminoácidos favorecem a ionização (JAFARI *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2021). O comportamento de tribo-carregamento também depende da espécie da farinha,

pois pode haver diferença no tamanho, formato e propriedades superficiais dos corpos proteicos (PELGROM *et al.*, 2015a).

Por outro lado, os carboidratos possuem poucos grupos ionizáveis, sendo fracamente carregados. As características dos carboidratos não favorecem a separação eletrostática (ASSATORY *et al.*, 2019). Portanto, no estudo de XING *et al.*, 2020 foi utilizada a classificação com ar para separar o amido e depois a separação eletrostática para selecionar proteína e fibra. Sendo que a fibra tende a receber elétrons se tornando negativa.

Após o carregamento elétrico, pela corrente de ar que promove a movimentação do material pela tubulação, as partículas são submetidas ao campo elétrico (XING *et al.*, 2018). O campo elétrico separa as partículas em seus diferentes tipos e magnitudes de carga através da atração entre as cargas opostas (ASSATORY *et al.*, 2019).

O tamanho das partículas, resultado da moagem, pode afetar no carregamento elétrico, pois partículas pequenas possuem maior área superficial, portanto maior área de carregamento. O que é positivo, porém também é negativo visto que com alto carregamento elétrico as partículas possuem maior tendência para se aglomerar (FERNANDO, 2021). Além da aglomeração causada pela atração entre as cargas opostas, as partículas pequenas podem expor os lipídeos tornando-a mais propensa a aglomeração (ASSATORY *et al.*, 2019; PELGROM *et al.*, 2014). Portanto, deve-se planejar a velocidade de moagem para que os componentes se dissociem e não formem aglomerados.

A força do campo elétrico e o fluxo de ar são parâmetros importantes para a dissociação de aglomerados. Visto que o maior campo elétrico aumenta a atração das partículas pelas placas e o aumento da vazão de ar aumenta a turbulência levando a quebra dos aglomerados. Por outro lado, uma vazão alta aumenta a colisão entre partículas e entre partícula e parede do equipamento, o que aumenta a densidade de carga, podendo aumentar as chances de aglomeração (ASSATORY *et al.*, 2019).

A aglomeração leva a neutralização das cargas, reduzindo a eficiência de separação, pois as partículas neutras não são capturadas por nenhum eletrodo (ZHU *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2015b). A quantidade de farinha que alimenta o processo também afeta o carregamento elétrico das partículas, pois a presença de

muitas partículas pode diminuir a probabilidade de colisão e conseqüentemente de carregamento (ASSATORY *et al.*, 2019).

O tamanho da tubulação afeta no tempo em que as partículas serão carregadas, afetando a separação. Porém, os resultados de alguns estudos são controversos, no estudo de Tabtabaei *et al.*, 2016 o aumento do tubo levou ao maior tempo de residências das partículas colidindo entre si e com a parede, aumentando a carga e melhorando a separação. Entretanto, no estudo de Wang *et al.*, 2015b, o aumento do tubo de retenção diminuiu a eficiência de separação, pois aumentou o tempo das partículas colidindo e formando agregados. Portanto, esse parâmetro depende do tipo de farinha e suas propriedades, como propensão para formar aglomerados.

Como citado, a voltagem das placas também afeta a separação, assim como o campo elétrico dependendo da distância entre as placas. Os estudos de Tabtabaei *et al.*, 2016 e Wang *et al.*, 2015a, mostram que o aumento da voltagem melhora a separação, devido ao aumento na força de atração entre as placas.

Outra fator importante para a triboeletrificação é a umidade do material. Em geral, a menor umidade melhora a fluidez entre as partículas e as torna mais susceptíveis ao carregamento elétrico (ZHU *et al.*, 2021).

No estudo de Tabtabaei *et al.*, 2016 os pontos otimizados para uma melhor separação foram vazão de fluxo de ar menor (7 l/min), maior tubo de carregamento (250 cm) e maior aplicação de voltagem nas placas (-7,5kV e 5kV).

Para o estudo de Wang *et al.*, 2015a, os parâmetros que trouxeram melhores resultados foram: a maior velocidade de gás de arraste utilizada (>28m/s), o menor tubo de tribocarregamento (125 mm comparado com 225mm) trazendo menor tempo de carregamento, e a farinha com maior tamanho de partícula ( $D_{4,3}$  de 210  $\mu\text{m}$  comparado com 110  $\mu\text{m}$ ). O material em questão neste estudo, arabinoxilanos - fibra insolúvel do farelo de trigo, possui tamanho de partícula em torno de 150  $\mu\text{m}$ , maior que proteína e amido de origem vegetal. Portanto, a moagem com tamanho de partícula nessa ordem de grandeza não é eficiente para separação de proteína vegetal. Visto que seu tamanho é menor que 150  $\mu\text{m}$ , então não haveria rompimento entre proteína e amido durante a moagem.

A separação eletrostática possui suas limitações como a presença de componentes com carregamentos similares sob certas condições, reduzindo a

pureza. Por exemplo se ocorrer um carregamento elétrico muito elevado, as partículas ricas em carboidratos podem obter uma alta densidade de carga e contaminar a fração rica em proteína. Outra limitação ocorre devido a força gravitacional que pode causar a queda da partícula antes da mesma ser atraída pela placa (ASSATORY *et al.*, 2019).

## **DIFERENÇA ENTRE OS MÉTODOS DE EXTRAÇÕES**

A principal diferença entre os métodos de separação de amido e proteína, fracionamento a seco e fracionamento úmido, é a quantidade de água e reagentes utilizados. O fracionamento úmido consiste em alto gasto de energia e água no processo. Apresenta alterações na estrutura das frações obtidas e conseqüentemente em suas propriedades tecnológicas e valores nutricionais. Além da produção de subproduto, os quais devem ser estudados para serem reduzidos e valorizados para aplicação em outros produtos (MOLLER *et al.*, 2021).

Entretanto, o fracionamento úmido produz uma farinha com alta pureza em seus componentes. E o fracionamento a seco produz uma farinha com menor pureza, porém reduz o consumo de água e não utiliza reagentes no seu processo (SCHUTYSER *et al.*, 2015; FERNANDO, 2021). Dessa forma, essa metodologia não altera a estrutura dos componentes.

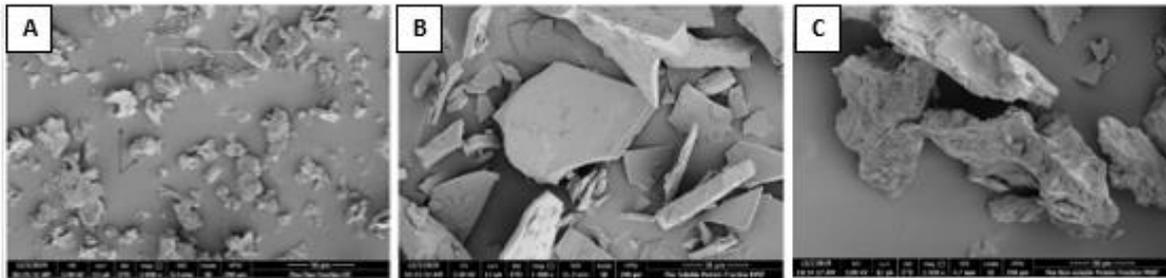
No estudo de Jafari *et al.* (2016) é comprovado que pelo método úmido, as proteínas possuem suas estruturas alteradas, devido a desnaturação. Na análise de aminoácidos observou-se que a fração proteica obtida por método úmido apresentou menor quantidade de cisteína e aminoácidos essenciais sulfurados comparado com a fração obtida pelo método seco. Também foi observado que proteínas, como albumina, são solúveis em água no ponto isoelétrico, portanto foram perdidas no método úmido (JAFARI *et al.*, 2016).

Por outro lado, a digestibilidade da proteína pode aumentar quando é obtida pelo fracionamento úmido, pois alguns compostos anti-nutricionais são removidos. Enquanto, a digestibilidade das frações obtidas por fracionamento seco, são baixas, devido a presença da parede celular que se mantém intacta (FERNANDO, 2021).

Entretanto, em outro estudo, com quinoa, o fracionamento úmido diminuiu a digestibilidade, pois formou-se agregado de proteína devido ao aquecimento e

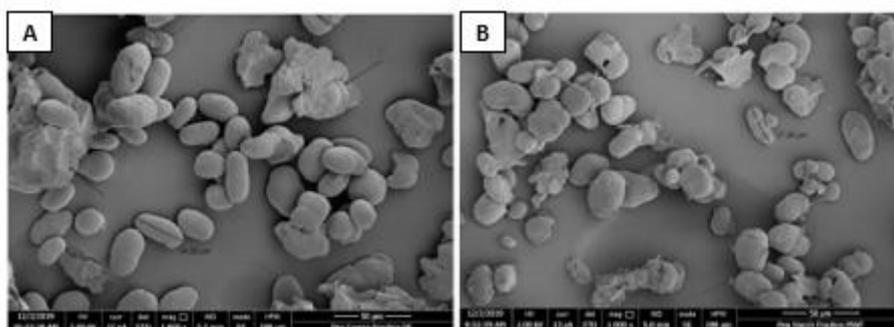
alteração do pH durante a extração, dificultando o acesso das enzimas digestivas à proteína (FERNANDO, 2021).

Analizando a morfologia dos componentes obtidos pelo fracionamento seco e úmido é identificada uma grande diferença entre as frações ricas em proteína. Na Figura 8, observa-se que a fração proteica obtida pelo fracionamento úmido apresenta sua estrutura alterada. A solubilização da proteína em água e o processo de liofilização afetaram a estrutura da proteína.



**Figura 8.** Frações ricas em proteínas. (A) Fracionamento seco, (B) Fracionamento úmido – fração de proteína solúvel, (C) Fracionamento úmido – fração de proteína insolúvel. Fonte: MOLLER *et al.* 2021.

Nas frações ricas em amido (Figura 9), observa-se que os grânulos de amido, no fracionamento úmido e seco, são arredondados e alongados com 30  $\mu\text{m}$ . No fracionamento a seco observa-se a presença de estruturas que não foram suficientemente quebradas durante a moagem, apresentadas pela flecha preta (Figura 9,A). Esta metodologia é limitada pelas variações do método de moagem.



**Figura 9.** Frações ricas em amido. (A) Fracionamento seco, (B) Fracionamento úmido. Fonte: MOLLER *et al.* 2021.

Neste estudo em que os dois métodos de fracionamento foram comparados, o método úmido se apresentou mais eficiente na separação, obtendo-se uma fração de amido 8% mais enriquecida em amido e fração de proteína com

10% a mais de proteína. A melhor separação com o fracionamento úmido pode ser explicada pela solubilização de componentes na água. Mesmo com moagem insuficiente a água pode dissolver componentes solúveis e melhorar a separação entre proteína e amido. A limitação dessa metodologia ocorre pelas limitação da solubilidade dos componentes (MOLLER *et al.* 2021).

Para selecionar a melhor metodologia de separação é necessário conhecer as propriedades dos grãos, como tamanho dos grânulos de amido e corpos proteicos, dureza, densidade, composição, propriedades dielétrica e características físico-químicas (PELGROM *et al.*, 2015).

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

##### MATERIAL

Para os testes do **sistema modelo** foi utilizada uma mistura de amido de milho comercial (Maizena®) da empresa Unilever Brasil Industrial LTDA (lote G7F) e concentrado proteico de soro de leite (Lacprodan 80 Instant - Arla Foods).

Para os testes com a **farinha micronizada de grão de bico** foi utilizado o grão de bico variedade kabuli (Cordoba, Vila Maria – Argentina).

Os reagentes utilizados para as análises de lipídeos e proteína foram de grau analítico (P.A.), sendo eles clorofórmio, metanol, sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), ácido sulfúrico,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , catalizador ( $\text{CuSO}_4$  e  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (ácido bórico), HCl, NaOH, indicador (vermelho de metila e azul de metileno em etanol), reagente Bradford (Coomassie Brilliant Blue G-250) e pó liofilizado de BSA (*Bovine serum albumin*) da Sigma-Aldrich.

Também utilizou-se HCl e NaOH para o fracionamento a seco e para análise de solubilidade.

##### MÉTODOS

Foram realizados testes de separação triboeletrostática com duas amostras diferentes:

- Sistema modelo: mistura de amido de milho e concentrado proteico de soro de leite. Para esse sistema foi realizado um planejamento experimental a partir

da metodologia de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) com duas variáveis independentes: fluxo de ar ( $\text{m}^3/\text{h}$ ) e voltagem (kV).

- Farinha micronizada de grão de bico: os parâmetros utilizados na separação dessa amostra foram do ponto central e da faixa ótima obtida na superfície de resposta do sistema modelo.

- **Preparação das amostras**

### ***Sistema Modelo (Mistura)***

Foi realizada uma mistura com 25% de concentrado proteico de soro e 75% de amido de milho. Entretanto, o soro consiste em 80% de proteína, dessa forma a mistura contém 20% de proteína. Esse valor foi definido para se aproximar a porcentagem de proteína na farinha de grão de bico.

Após a pesagem em balança eletrônica BG2000 semi-analítica (Ind. e Com. Eletro Eletrônica Gehaka, São Paulo, Brasil), foi realizada agitação manual em saco plástico por 3 minutos. Uma parte da mistura foi armazenada em dessecador com sílica para secagem da farinha até 7,19% de umidade em base úmida e a outra parte armazenada em temperatura ambiente em saco plástico fechado.

### ***Moagem e Micronização (Farinha grão de bico)***

Para a moagem do grão de bico foi utilizado um moinho granulador de facas e martelos (Treu S.A., Rio de Janeiro, Brasil), processado duas vezes no equipamento. A primeira moagem foi realizada com abertura da peneira de 3,2 mm e a segunda moagem com abertura de 1,25 mm.

O processo foi realizado em 30,8 kg de grão de bico, obtendo-se uma farinha com partículas de diâmetro médio de  $94,52 \mu\text{m}$  ( $D_{43} = 201,17 \mu\text{m}$ ;  $D_{10} = 13,93 \mu\text{m}$ ;  $D_{90} = 505,58 \mu\text{m}$ ).

Essa farinha foi separada em 6 sacos de 5 kg aproximadamente para ser micronizada em duas granulometrias diferentes no moinho *Jet Mill*\*. O processo foi realizado em triplicata, para cada uma das duas granulometrias, sendo a menor com diâmetro médio de  $5,60 \mu\text{m}$  ( $D_{43} = 7,82 \mu\text{m}$ ;  $D_{10} = 3,39 \mu\text{m}$ ;  $D_{90} = 9,16 \mu\text{m}$ ) e a

maior com diâmetro médio de 11,82  $\mu\text{m}$  ( $D_{43} = 15,41 \mu\text{m}$ ;  $D_{10} = 3,11 \mu\text{m}$ ;  $D_{90} = 18,82 \mu\text{m}$ ).

\**Jet Mill*: Micronização realizada na empresa Microservice pelo choque entre as partículas através de ar comprimido, com velocidades de até 500m/s. Empresa não disponibilizou marca e modelo do equipamento.

- ***Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)***

A estrutura da mistura do sistema modelo e da farinha micronizada de grão de bico foram analisadas através do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) TM4000Plus Tabletop Microscope (Hitachi High Technologies Inc., Tokio, Japão). Na mistura do sistema modelo foi analisada a disposição dos componentes. Enquanto, na farinha micronizada de grão de bico foi verificado se a moagem foi suficiente para desaglomerar a proteína e o amido.

Uma pequena quantidade de amostra foi depositada na fita de carbono colada no centro de *stubs*. Em seguida foi utilizado um soprador de ar para remover o excesso da farinha para evitar a sobreposição do material dificultando a visualização da imagem. Dessa forma, a fina camada de material homogêneo sobre a fita condutora é analisada no microscópio.

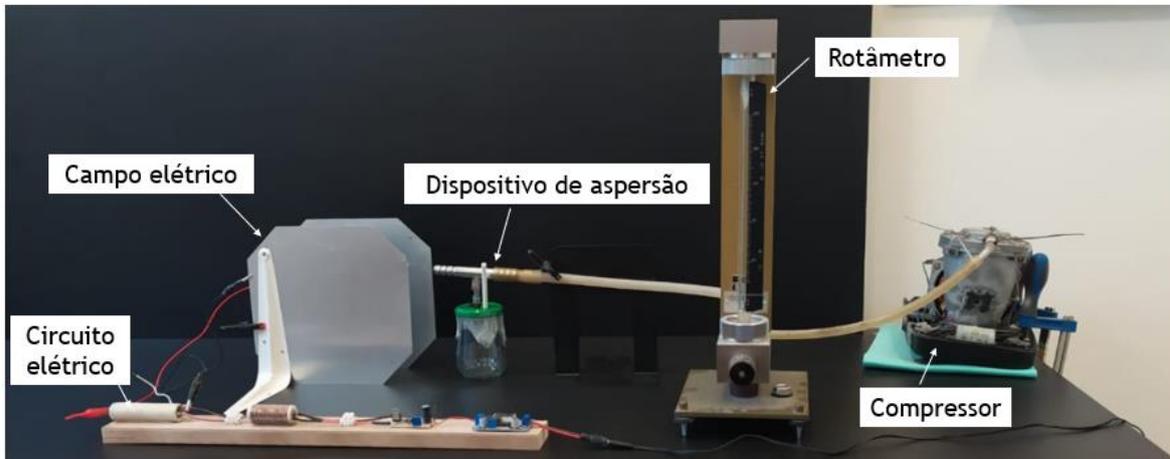
A programação utilizada no MEV para obtenção das imagens foi tensão de aceleração de 5kV e vácuo baixo (chg-up Red. – L). A tensão de aceleração está relacionada a eletrização e carregamento dos elétrons e o vácuo com a incidência dos elétrons bombardeados na amostra. Como a amostra não foi recoberta com ouro, foram utilizados os parâmetros mais baixos do programa para que não houvesse um carregamento muito alto na amostra e possíveis falhas na imagem.

- ***Secagem***

Antes de realizar a separação eletrostática, as duas amostras (mistura do sistema modelo e farinha micronizada do grão de bico) foram colocadas em placas de petri em dessecador com sílica por pelo menos 1 semana para reduzir a umidade.

- **Separação eletrostática**

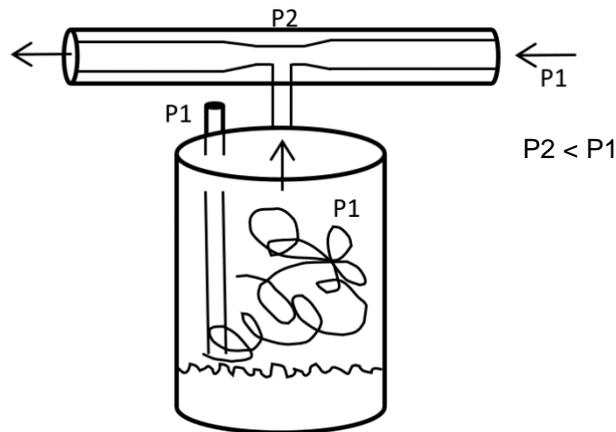
Os testes com a mistura do sistema modelo e com a farinha micronizada de grão de bico foram realizadas no sistema de separação triboeletrostática, conforme esquema apresentado na Figura 10.



**Figura 10.** Esquema do sistema de separação triboeletrostática.

O protótipo foi construído pela autora Daniela com auxílio do Dr. Alfredo de Almeida Vitali e pesquisador Ademir Chaim da Embrapa. O sistema consiste em um gerador de alta voltagem (doação de Ademir Chaim), circuito PWM constituído de capacitor, potenciômetro, transistor, diodos, resistências e bobina (esquema Figura 15), placas de alumínio, soprador (venture e pote de vidro), mangueiras, rotâmetro, ar comprimido.

O sistema de aspersão do pó funciona através do ar comprimido que passa pelo rotâmetro, onde o fluxo de ar é controlado e ajustado, sendo direcionado para o tubo de Venturi (Figura 11).



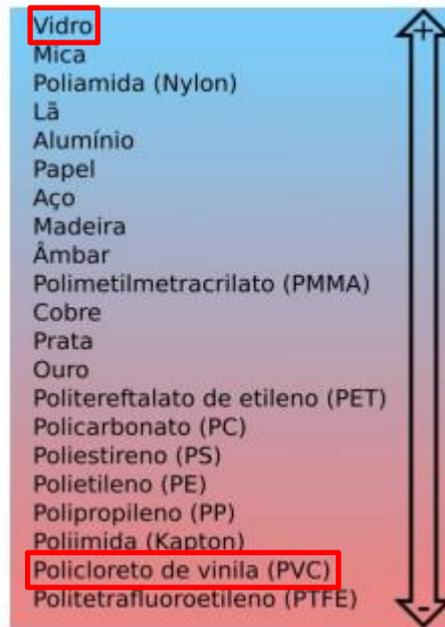
**Figura 11.** Funcionamento da aspersão do pó.

Ao passar pelo estreitamento do tubo a pressão do ar diminui, aspirando o pó de dentro do pote, devido a diferença de pressão. Foi inserido ao pote um tubo que mantém a pressão interna igual a pressão atmosférica do ar ( $P_1$ ).

Foi inserido dentro do pote de vidro um filme de PVC transparente (Figura 12) para auxiliar no carregamento da proteína. O tribocarregamento consiste em transferência de elétrons pelo atrito, dessa forma a proteína tende a perder elétrons para o PVC que se carrega negativamente, enquanto a proteína torna-se positiva. O PVC está próximo ao carregamento eletronegativo na série tribo elétrica (Figura 13) e a proteína tende a perder elétrons, devido aos seus grupos ionizáveis (MAYR *et al.*, 2006; JAFARI *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2021).



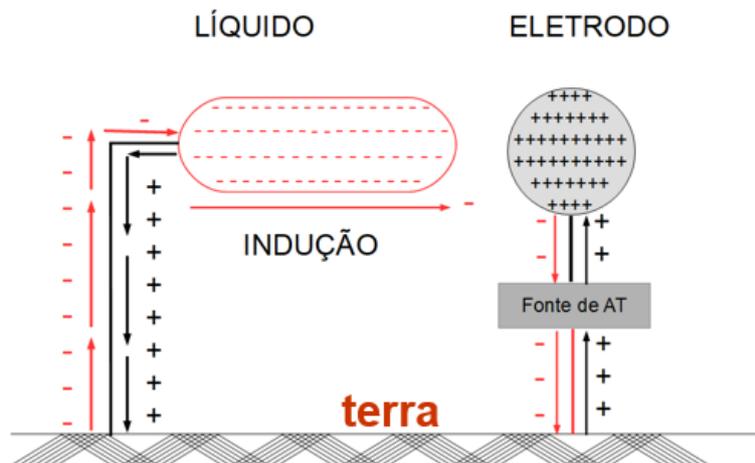
**Figura 12.** Pote de alimentação no sistema.



**Figura 13.** Série tribo elétrica dos materiais.

Fonte: Moreira, 2018

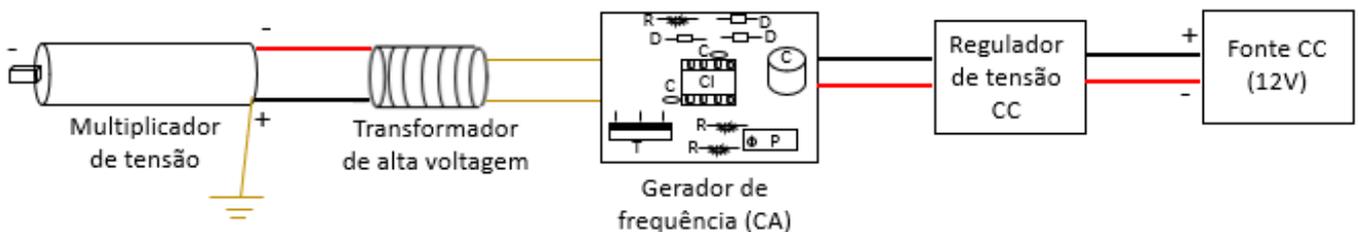
O carregamento elétrico das partículas ocorre através da agitação do pó dentro do pote em contato com o PVC, antes de ser aspirado pelo tubo. Após seu carregamento, o pó entra no campo elétrico gerado pelas placas que recebem alta voltagem, sendo uma carregada negativamente e a outra positivamente, devido a indução de carga. Pois, como uma placa está carregada negativamente ela irá atrair cargas opostas, positivas, na outra placa que está aterrada, conduzindo as cargas negativas para fora da placa, conforme Figura 14.



**Figura 15.** Sistema de indução de cargas.

Fonte: CHAIM, 2022.

A alta voltagem foi gerada a partir do circuito elétrico (apresentado na Figura 15). Onde, R: resistência, D: diodo, T: transistor, C: capacitor, P: potenciômetro e CI: circuito integrado.



**Figura 16.** Circuito elétrico para geração de alta voltagem.

Após a separação dos componentes nas placas, o pó foi coletado com auxílio de escovas identificadas, uma para a placa negativa e outra para placa positiva. A amostra foi armazenada em sacos pré pesados para pesagem da amostra posteriormente.

A seguir estão apresentadas as variáveis independentes do planejamento experimental.

### **Sistema Modelo - Mistura (Pré-testes e Planejamento Experimental)**

Antes de iniciar o planejamento experimental com a mistura do sistema modelo, foram realizados pré-testes para fixação de alguns parâmetros não contemplados nas variáveis independentes do DCCR.

#### **Pré-testes**

Para análise dos parâmetros que foram fixados no planejamento experimental utilizou se um teste base que foi comparado com cada pré-teste, sendo possível analisar um parâmetro por vez.

No teste base foram fixados os parâmetros: 50 mm de distância entre as placas, 20 minutos de processo, 5g de amostra no pote de alimentação e atividade de água (Aw) de 0,2047, medida em equipamento Aqua Lab 4TEV (Decagon Devices Inc., São José dos Campos, Brasil).

Todos os pré-testes foram realizados com as variáveis independentes do planejamento experimental fixadas: fluxo de ar em 20,9 l/min e voltagem em 11,1 kV. Com exceção do teste 2 onde a voltagem foi elevada para 13,5kV para compensar o aumento da distância entre as placas. A Tabela 7 apresenta um resumo dos pré-testes.

**Tabela 7. Pré-testes.**

<b>Testes</b>	<b>Voltagem (kV)</b>	<b>Fluxo de ar (l/min)</b>	<b>Distância entre as placas (mm)</b>	<b>Tempo de processo (min)</b>	<b>Massa amostra pote alimentação (g)</b>	<b>Aw</b>
Base	11,1	20	50	20	5	0,2047
1	11,1	20	50	20	5	<b>0,4262</b>
2	<b>13,5</b>	20	<b>70</b>	20	5	0,4262
3	11,1	20	50	20	<b>10</b>	0,4262
4	11,1	20	50	<b>10</b>	5	0,4262
5	11,1	20	50	20	<b>5 + 0,5% de sílica</b>	0,4262

Aw: atividade de água.

O primeiro fator avaliado foi umidade, pois é um parâmetro que pode influenciar na aglomeração das partículas. Portanto, foi realizado o **teste - 1** com a mistura armazenada em saco plástico (**Aw: 0,4262**) em comparação com o teste base (Aw: 0,2047) mantida em dessecador com sílica.

Depois, foi realizado o **teste - 2** alterando a distância entre as placas para **70mm**. Nesse teste a voltagem foi alterada para 13,5kV para que o campo elétrico fosse mantido próximo ao do teste base (Campo elétrico = Voltagem/distância). Dessa forma, somente o tempo de residência no campo elétrico foi alterado. O aumento do tempo de residência também é um parâmetro que pode influenciar na aglomeração das partículas.

Outro fator analisado foi o efeito de carregamento, que a concentração de partículas pode causar. Para isso, no **teste - 3** aumentou-se a quantidade de massa de amostra no pote de alimentação para **10g**.

Também foi analisado o efeito de carga espacial, que é um efeito de blindagem causado por partículas carregadas. Quando uma partícula carregada se aproxima de um eletrodo, a carga dessa placa é "blindada" pela carga da partícula, ou seja, diminui a intensidade do campo elétrico. Para analisar esse fator diminuiu-se o tempo de processo no **teste - 4** de 20 minutos para **10 minutos**. Sempre mantendo os outros parâmetros iguais.

Por último, realizou-se o **teste - 5** com **0,5% de sílica** adicionada a mistura, com o intuito de diminuir a adesão entre os componentes e assim melhorar a separação.

### ***Planejamento experimental***

A partir dos resultados dos pré-testes foram fixados os parâmetros: farinha micronizada com Aw de 0,4262, menor distância entre as placas 50mm, maior massa no pote (10g), menor tempo de processo (10 min) e sem adição de sílica.

Dessa forma, seguiu-se com o planejamento experimental, um delineamento composto central rotacional – DCCR (fatorial 2<sup>2</sup> com 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições no ponto central) totalizando 11 ensaios (Tabela 8) (RODRIGUES & IEMMA, 2005) para avaliar o efeito do fluxo de ar e a voltagem na concentração de proteína por separação eletrostática. Os resultados foram

avaliados estatisticamente pela análise de ANOVA e obtidos modelos de segunda ordem.

**Tabela 8. Valores das variáveis independentes no DCCR.**

Variáveis Independentes	- $\alpha$ (-1,41)	-1	0	1	$\alpha$ (1,41)
Fluxo de ar (l/min)	15,0	16,7	20,9	25,0	26,7
Voltagem (kV)	8,8	9,4	11,1	12,8	13,5

### ***Farinha grão de bico***

A partir dos resultados do planejamento experimental com a mistura do sistema modelo, foram selecionados o ponto central (20,9 l/min e 11,1 kV) e a condição ótima que maximiza o teor proteico (25 l/min e 9,4 kV) para realização dos testes em triplicata com a farinha micronizada de grão de bico.

No ponto central foram realizados testes com a farinha de diâmetro médio de 11,82  $\mu\text{m}$ , sem secagem, e farinha de 5,60  $\mu\text{m}$  sem secagem e com secagem em dessecador com sílica.

Como o melhor resultado foi com a farinha de 5,60  $\mu\text{m}$  seca em dessecador com sílica, realizou-se o teste da mesma nos parâmetros da condição ótima.

Os testes descritos acima estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9. Testes com a farinha de grão de bico.**

Ensaio	Fluxo de ar (l/min)	Voltagem (kV)
Farinha - 11,82 $\mu\text{m}$ (Sem secagem)	20,9	11,1
Farinha - 5,60 $\mu\text{m}$ (Sem secagem)	20,9	11,1
Farinha - 5,60 $\mu\text{m}$ (Com secagem)	20,9	11,1
Farinha - 5,60 $\mu\text{m}$ (Com secagem)	25,0	9,4

- ***Análises de Proteína***

As amostras coletadas nos testes de separação triboeletrostática foram analisadas quanto ao teor de proteína pela metodologia de Bradford.

Para uso da metodologia de Bradford foi necessário construir uma curva de calibração conforme descrito por Bradford (1976) onde foi utilizado como padrão BSA (*Bovine serum albumin*). Essa curva foi utilizada para analisar os resultados dos testes com a mistura do sistema modelo.

Para os resultados dos testes com a farinha de grão de bico, foi construída uma curva com a própria farinha, para obter resultados mais próximos do real. Para construção da curva foi utilizada uma farinha com quantidade conhecida de proteína. Analisada pelo método oficial de análise da A.O.A.C de Kjeldahl 2001.11.

O processo para construção das duas curvas foi o mesmo, através da elaboração de várias soluções com concentrações de proteína conhecidas e análise de absorvância no espectrofotômetro UV-3100PC (VWR International Company Profile, Leuven – Bélgica). As curvas e os detalhes da metodologia estão apresentados no tópico 5 do Anexo (Figuras A11 e A12).

Na análise de Bradford o resultado apresenta a quantidade de proteína solúvel, que reage com o Bradford, alterando a coloração da solução. Dessa forma, é necessário obter uma solução com a maior quantidade possível de proteína solúvel. Para isso, foi realizada uma curva de solubilidade em pHs de 3 a 11 (Figura A2 - Anexo), através da metodologia Embrapa, 2022.

Foi identificado que acima do pH 11 tem-se a maior porcentagem de solubilidade da proteína. Portanto, para as análises de Bradford a proteína foi solubilizada em uma solução de 1% de farinha em NaOH 0,1 M. A solução foi misturada em agitador rotativo TE-165 (Tecnal Ind. Com. Imp. e Exp. de Equip. para Lab. LTDA, Piracicaba, Brasil), por 30 minutos e depois centrifugada por 15 minutos a 5000 RPM.

A solução de 1% de farinha foi diluída 40 vezes e realizada a leitura da absorvância em espectrofotômetro.

A análise de Kjeldahl, seguiu a metodologia oficial de análise da A.O.A.C de 2001.11, em triplicata, utilizando o fator de correção de nitrogênio de 6,25. A análise foi realizada na caracterização do grão de bico e na mistura do sistema modelo.

- **Análise de Umidade**

A umidade das amostras foi obtida secando 2 g de amostra pesada em Balança analítica UniBloc (Shimadzu Do Brasil Com. LTDA, Barueri, Brasil) por 8 h em estufa com circulação e renovação de ar MA 035 (Marconi, Piracicaba, SP - Brasil) a 105°C em triplicata (A.O.A.C. 1997).

- **Análise de lipídeos e cinza**

Para caracterização do grão de bico foi analisado lipídeos pelo Método de Bligh and Dyer (1959) e cinzas através da secagem em mufla (Fornitec Ind. e Com. LTDA, São Paulo, Brasil) a 550°C por 8 horas em triplicata (A.O.A.C. 1997).

- **Análise do tamanho de partícula**

A distribuição de tamanho de partícula das amostras foi realizada no equipamento Laser Scattering Particle Size Distribution Analyzer (modelo LA-960 e LA-950V2, Horiba Instruments Brasil Ltda, Quioto, Japão) e a metodologia utilizada foi a USP 429. As análises foram realizadas em amostras dispersas em álcool etílico absoluto (99,5%), dentro da faixa aceitável de transmitância. Foram realizadas 6 leituras onde os coeficientes de variação (CV) foram aceitáveis de acordo com a metodologia (CV do  $D_{50}$  menor que 10%).

Neste trabalho, estão apresentados os valores do diâmetro médio da partícula ( $D_{50}$ ), junto com o desvio padrão e a dispersibilidade. O diâmetro médio da partícula corresponde ao ponto médio de distribuição, ou seja, metade do tamanho das partículas são maiores que esse ponto e a outra metade menor. O desvio padrão apresenta a dispersão das seis leituras do diâmetro médio. A dispersibilidade, também chamada de span, apresenta a dispersão do tamanho das partículas, sendo calculada pela diferença entre  $D_{90}$  e  $D_{10}$ , dividido pelo  $D_{50}$ . O  $D_{90}$  e  $D_{10}$  indicam que 90% e 10% da distribuição de tamanho das partículas apresentam diâmetros menores, respectivamente.

- **Análise estatística**

Os resultados do planejamento experimental com a mistura do sistema modelo foram analisados pelo programa Protimiza Experimental Design para análise da ANOVA com nível de 10% de significância.

Os resultados dos testes com a farinha micronizada de grão de bico foram analisados através do programa SASM-Agri para ANOVA com delineamento inteiramente casualizado. A diferença entre as médias foram analisadas estatisticamente pelo teste de Tukey (Tukey Honest Significant Difference) ( $p < 0,05$ ).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### CARACTERIZAÇÃO DO GRÃO DE BICO

O grão de bico utilizado durante o estudo foi caracterizado quanto ao teor de proteína, carboidratos, lipídeos, cinzas e umidade (Tabela 10).

**Tabela 10. Caracterização da matéria prima (massa %, base úmida).**

<b>Proteínas</b>	<b>Carboidratos</b>	<b>Lipídeos</b>	<b>Cinzas</b>	<b>Umidade</b>
20,97 ± 0,17	60,04 ± 0,37	4,04 ± 0,17	3,26 ± 0,05	11,70 ± 0,08

Média ± Desvio Padrão; n = 3, sendo n = número de repetições utilizadas.

As análises de proteína, lipídeos, cinzas e umidade foram realizadas de acordo com a metodologia descrita no tópico métodos e o valor de carboidratos foi obtido por diferença. Dessa forma, as fibras estão inclusas na fração de 60% da composição por carboidratos.

A composição do grão de bico está de acordo com valores encontrados na literatura, sendo a 20,47% a fração de proteína, 62,95% fração de carboidrato e 6,04% de lipídeos encontrados no grão de bico (U.S. Department of Agriculture, 2018). Somente a fração de lipídeos está um pouco abaixo, entretanto é um ponto

positivo, pois a menor quantidade de lipídeo reduz a aglomeração das partículas da farinha, melhorando a separação.

## PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS: MISTURA, MOAGEM E MICRONIZAÇÃO

### *Mistura*

A mistura de isolado proteico de soro de leite e amido de milho, foi analisada quanto ao seu teor proteico pelo método de Kjeldahl e distribuição de tamanho de partícula (Tabela 11).

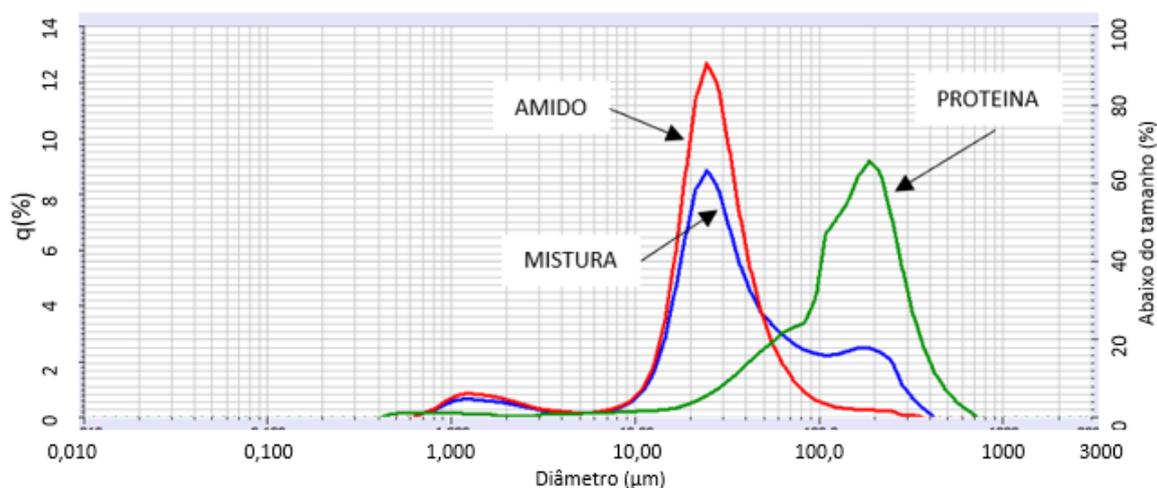
**Tabela 11. Teor proteico e diâmetro médio da mistura e componentes isolados.**

	Proteína (%)	D <sub>50</sub> (µm)
Mistura	18,0 ± 0,36	31,21 ± 0,58
Proteína	80,0	148,90 ± 3,05
Amido	-	25,36 ± 0,14

Média ± Desvio Padrão; n = 3 (proteína) e n = 6 (diâmetro), sendo n = número de repetições utilizadas. D<sub>50</sub>: diâmetro médio.

A mistura foi calculada para um valor próximo de 20% de proteína para se aproximar do valor proteico do grão de bico.

A Figura 16 apresenta o gráfico de distribuição de tamanho de partícula da mistura. **6**



**Figura 16.** Distribuição de tamanho de partícula do amido, proteína e mistura do sistema modelo.

Também foi analisado visualmente os componentes da mistura em MEV que estão apresentados na Figura 21, no tópico de separação.

### **Moagem e Micronização**

Para o grão de bico moído e depois micronizado foram analisados o teor proteico e a distribuição de tamanho de partícula, resultados apresentados na Tabela 12. Para o grão de bico moído a análise de proteínas foi realizada por Kjeldahl e para as farinhas micronizadas utilizou-se o método de Bradford.

**Tabela 12. Teor de proteína e diâmetro médio farinhas.**

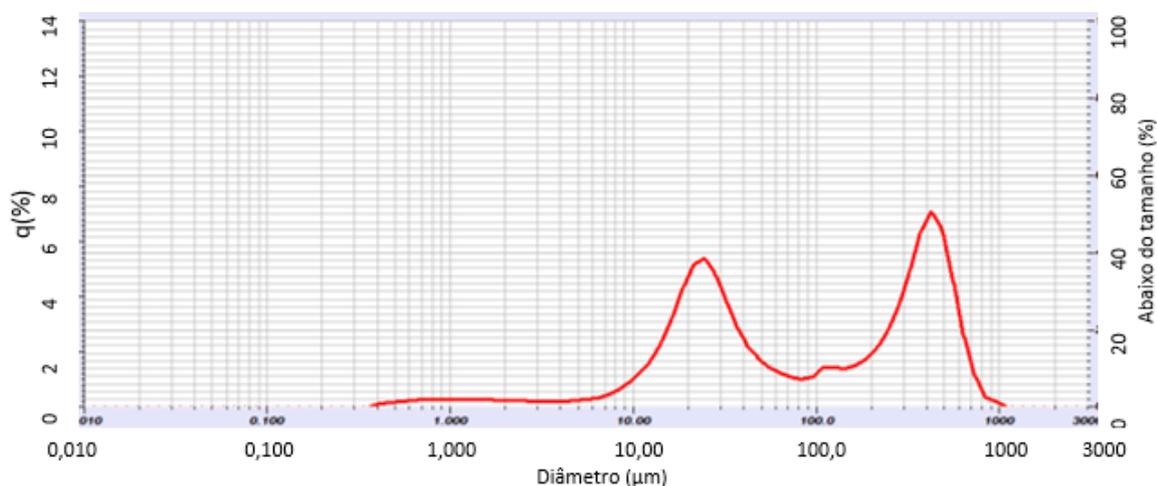
	<b>Proteína (g/100g matéria seca)</b>	<b>D<sub>50</sub> (μm)</b>	<b>Ubu(%)</b>
Farinha moída	23,74 ± 0,19	94,52 ± 9,51	11,70 ± 0,08
Farinha micronizada - 1	26,65 ± 3,01	5,60 ± 0,12	7,14±0,02
Farinha micronizada - 2	23,43 ± 1,83	11,82 ± 0,17	8,83±0,14

Média ± Desvio Padrão; n = 3, sendo n = número de repetições utilizadas.

Ubu = umidade base úmida.

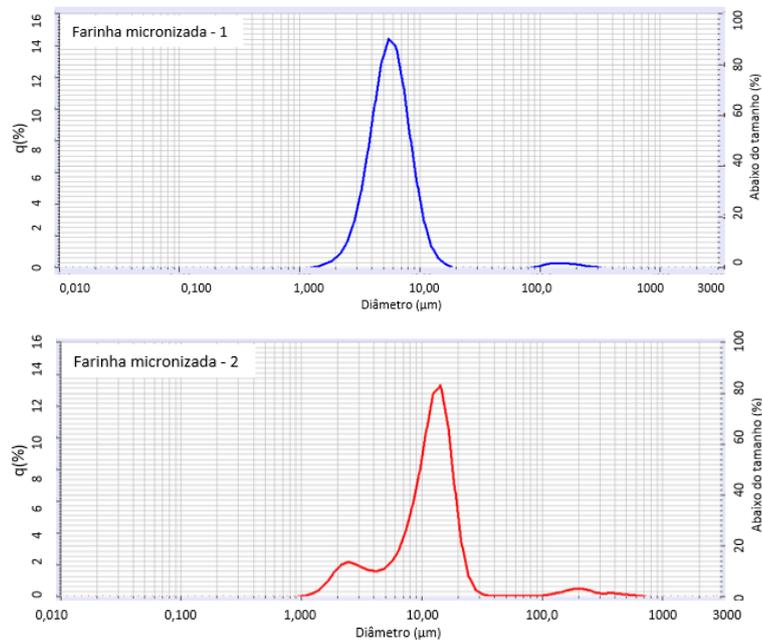
D<sub>50</sub>: diâmetro médio.

A Figura 17 apresenta o gráfico de distribuição de tamanho de partícula do grão de bico moído.



**Figura 17.** Distribuição de tamanho de partícula - Grão de bico moído no moinho Treu.

A Figura 18 apresenta o gráfico de distribuição de tamanho de partícula da farinha de grão de bico micronizada. Sendo a média da triplicada da Farinha micronizada 1 e 2.



**Figura 18.** Distribuição de tamanho de partícula – Grão de bico micronizado. Farinha micronizada - 1 com  $D_{50} = 5,60\mu\text{m}$ . Farinha micronizada - 2 com  $D_{50} = 11,82\mu\text{m}$ .

As farinhas também foram analisadas visualmente no MEV e estão apresentados na Figura 23, no tópico de separação eletrostática.

## SEPARAÇÃO ELETROSTÁTICA

### *Mistura – Sistema Modelo*

Os resultados dos pré-testes estão apresentados na Tabela 13.

**Tabela 13. Umidade e teor de proteína dos pré- testes com os sistema modelo.**

Testes	Voltagem (kV)	Fluxo de ar (l/min)	Distância entre as placas (mm)	Tempo de processo (min)	Massa amostra pote alimentação (g)	Aw	Proteína (g/100g matéria seca)
Base	11,1	20	50	20	5	0,2047	42,1 ± 8,82
1	11,1	20	50	20	5	<b>0,4262</b>	51,1 ± 1,50
2	<b>13,5</b>	20	<b>70</b>	20	5	0,4262	39,9 ± 0,83
3	11,1	20	50	20	<b>10</b>	0,4262	54,1 ± 2,82
4	11,1	20	50	<b>10</b>	5	0,4262	49,6 ± 1,84
5	11,1	20	50	20	<b>5 + 0,5% de sílica</b>	0,4262	28,7 ± 0,58

Média ± Desvio Padrão; n = 3, sendo n = número de repetições na análise de Bradford.

Ubu (Umidade base úmida): Teste Base = 7,19 ± 0,02; Testes 1 a 5 = 9,84 ± 0,07.

Aw: atividade de água.

A porcentagem de proteína apresentada na Tabela 13 é referente a amostra coletada na placa negativa. Conforme abordado em outros estudos (LANDAUER *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2016) a proteína se carrega positivamente pelo atrito com PVC, um material eletronegativo, portanto é atraída para a placa negativa.

Observa-se no primeiro teste, onde somente a umidade é alterada para um valor maior, que a porcentagem de proteína coletada aumentou com relação ao teste base (Tabela 13). Esse resultado pode ser explicado pela formação de agregados em umidade mais baixa. Pois, ambientes mais secos favorecem o carregamento elétrico, aumentando a força de atração entre os componentes (WANG *et al.*, 2015a). Provavelmente, uma umidade muito elevada não terá um resultado favorável para concentração de proteína, pois irá influenciar negativamente no carregamento. É necessário que as partículas se carreguem para

que haja a separação, porém esse carregamento não pode ser muito elevado para que elas não se atraiam antes de entrar no campo elétrico.

No segundo teste em que a distância entre as placas foi aumentada, houve uma redução na quantidade de proteína coletada. O intuito deste teste era analisar o maior tempo de residência, pois as partículas irão percorrer uma maior distância para atingirem as placas quando as mesmas estão mais distantes. Esse maior tempo de residência diminuiu a concentração de proteínas, devido a formação de agregados antes da sua atração pelas placas.

No teste três houve um aumento da massa da mistura no pote de alimentação. Com o aumento da massa, maior o número de partículas para se chocarem e trocarem elétrons, isso fez com que elas ficassem mais carregadas. Neste sistema modelo, a massa de 10g fornece uma boa quantidade de partículas para se tribo eletrificarem. Provavelmente, uma massa muito maior pode trazer um efeito contrário, carregando demasiadamente as partículas e fazendo com que elas se agreguem antes de entrar no campo elétrico.

No quarto teste o tempo de processo foi reduzido, o que também trouxe um resultado mais favorável para a separação de proteína. Esse resultado pode ser explicado pelo efeito de carga espacial, onde uma alta quantidade de material agregado leva a blindagem da carga da placa. Esse efeito pode diminuir a carga do campo elétrico, e quanto maior o tempo de processo, maior a quantidade de partículas aderidas a placas aumentando as chances de causar o efeito de carga espacial.

O quinto teste com a adição de Dióxido de Silício (Aerosil) resultou em efeito negativo na separação com relação ao teste base. Provavelmente, a sílica afeta o carregamento elétrico das partículas. Foi realizado um teste de separação somente com a sílica para avaliar seu comportamento no carregamento e atração nos eletrodos (placas). Verificou-se que ela é atraída nas duas placas, porém com uma massa maior na placa positiva. Pode-se concluir que grande parte da sílica é carregada negativamente e atraída para placa positiva e uma pequena parte é carregada positivamente. Esse comportamento pode afetar na separação da mistura, pois a proteína ligada a sílica pode ser carregada para a placa positiva, devido ao seu carregamento negativo. Outra explicação para a influência da sílica na separação é que como a mesma se carrega positivamente e negativamente,

pode acabar se agregando com os componentes, levando-os para eletrodos opostos ao que supostamente eles iriam.

### ***Planejamento Experimental***

O planejamento experimental foi realizado na mistura do sistema modelo ( $A_w$ : 0,4262), o teor proteico foi analisado por Bradford, apresentado na Tabela 14.

**Tabela 14. Teor de proteína dos testes do planejamento experimental.**

<b>Experimentos</b>	<b>Fluxo de ar (l/min) – <math>X_1</math></b>	<b>Voltagem (kV) – <math>X_2</math></b>	<b>Proteína (%) – <math>Y_1</math></b>
1	-1 (16,7)	-1 (9,4)	48,8 ± 0,04
2	1 (25,0)	-1 (9,4)	55,4 ± 0,01
3	-1 (16,7)	1 (12,8)	41,1 ± 0,01
4	1 (25,0)	1 (12,8)	45,8 ± 0,01
5	-1,41 (15,0)	0 (11,1)	47,0 ± 0,04
6	1,41 (26,7)	0 (11,1)	52,7 ± 0,03
7	0 (20,9)	-1,41 (8,8)	51,8 ± 0,02
8	0 (20,9)	1,41 (13,5)	44,7 ± 0,004
9	0 (20,9)	0 (11,1)	50,1 ± 0,01
10	0 (20,9)	0 (11,1)	50,3 ± 0,004
11	0 (20,9)	0 (11,1)	49,7 ± 0,01

Média ± Desvio Padrão; n = 3, sendo n = número de repetições utilizadas.

O teor de proteína apresentado na Tabela 14 se refere a amostra coletada na placa negativa do sistema de separação eletrostática, pois a concentração proteica é de maior interesse neste estudo.

A partir dos resultados da Tabela 14 foi possível processar os dados no software Protimiza Experimental Design, próprio para análise de planejamento experimental, onde foi utilizada a metodologia DCCR.

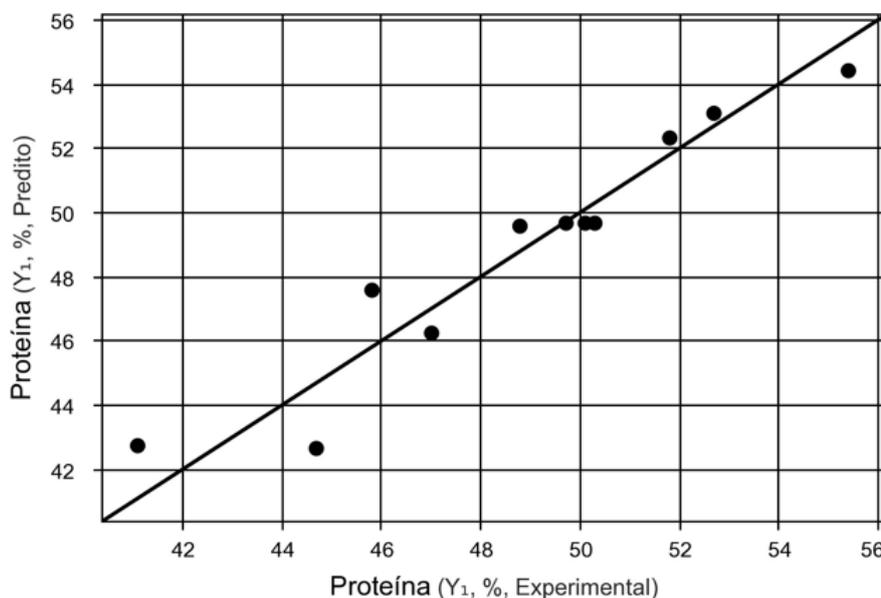
Os resultados variaram de 41,1 – 55,4% de proteína, sendo essa resposta significativamente afetada pelas variáveis independentes.

Os resultados avaliados estatisticamente pela ANOVA geraram o F calculado do resíduo (26,10) maior que o F tabelado (3,07) para 10% de significância e a porcentagem de variação explicada ( $R^2$ ) de 91,8. Portanto, podemos concluir que o modelo se ajusta bem aos dados experimentais, sendo adequados para obter o modelo de segunda ordem conforme Equação 1.

$$Y_1 = 49,65 + 2,42 x_1 - 3,42 x_2 - 1,09 x_2^2 \quad (\text{Equação 1})$$

Devido à variabilidade inerente ao processo, foram considerados significativos os parâmetros com p-valores menores que 0,1 (10%).

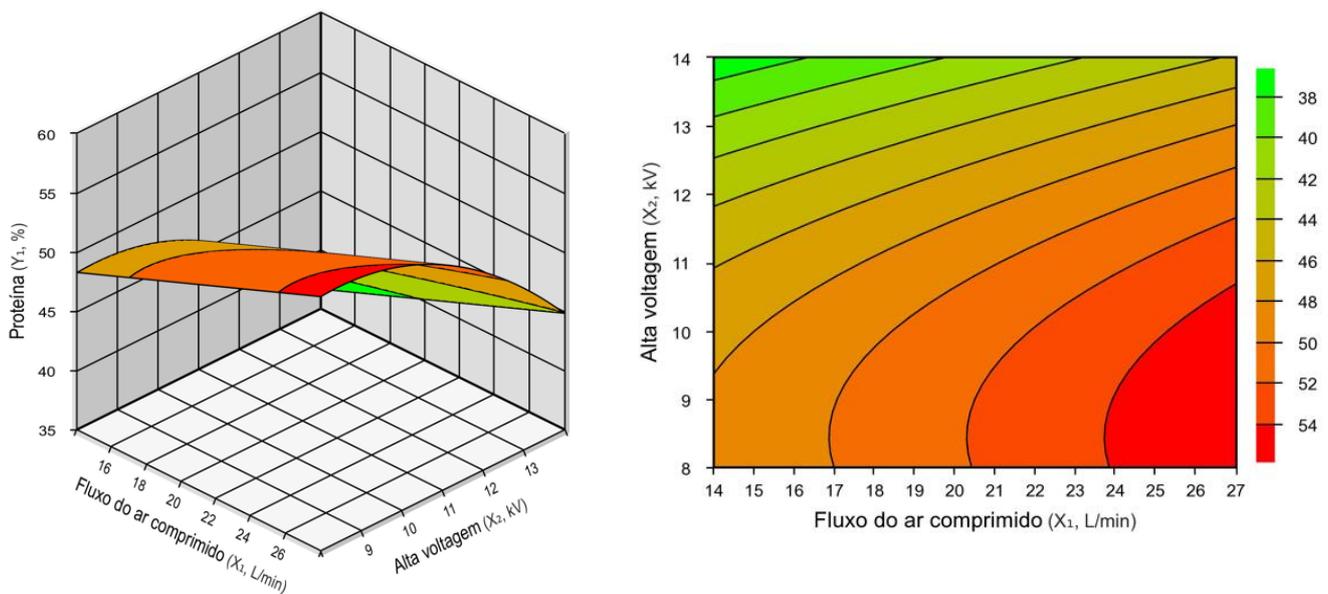
A Figura 19 apresenta os valores experimentais obtidos e os valores preditos pelo modelo.



**Figura 19.** Gráfico valores preditos versus experimentais.

Observa-se que os pontos (resultados experimentais) estão próximos a linha que representa os valores preditos.

A partir da Equação 1 foi possível gerar a superfície de resposta e a curva de contorno apresentadas na Figura 20. Onde, o teor de proteína aumenta com o aumento do fluxo de ar e com a redução da voltagem na faixa estudada de  $-\alpha$  a  $\alpha$  conforme valores na Tabela 8.

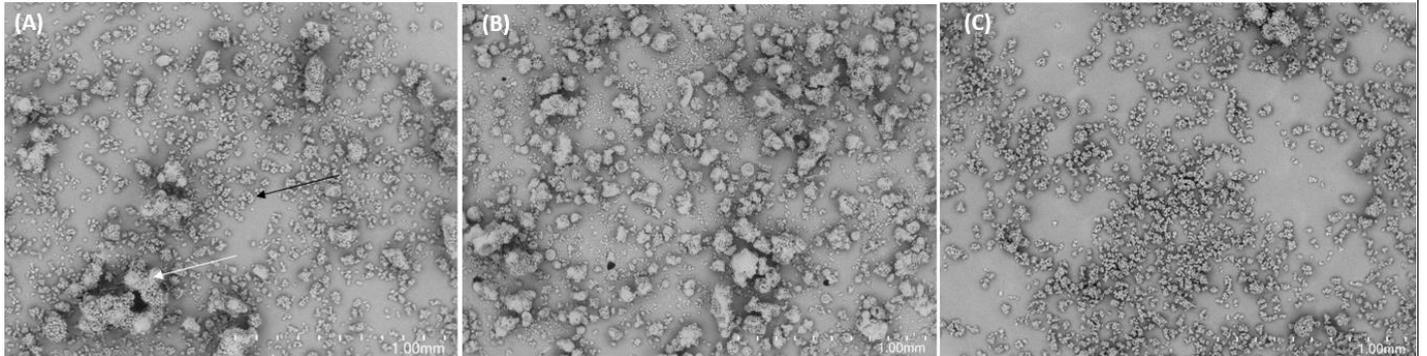


**Figura 21.** Superfície de resposta e Curva de contorno.

Analisando a variável independente, fluxo de ar, observa-se que seu aumento gera uma maior agitação das partículas no pote, conseqüentemente elas se carregam mais. Além disso, o maior fluxo de ar diminui o tempo das partículas no campo elétrico, reduzindo as chances das mesmas se agregarem antes de serem atraídas pelas placas.

Com relação a variável independente, voltagem, verifica-se que é necessário um mínimo de carga para atração das partículas, porém quando se utiliza uma voltagem muito elevada as partículas fracamente carregadas, como o amido, são carregados juntamente com a proteína. Dessa forma, é necessário uma voltagem mínima que gere um campo elétrico suficiente para atrair somente as partículas mais carregadas. O mesmo resultado ocorreu no estudo de Tabatabaei *et al.*, 2016 com o feijão, a voltagem desejável não foi a mais elevada devido ao arraste de partículas fracamente carregadas, reduzindo a pureza de proteína na fração coletada.

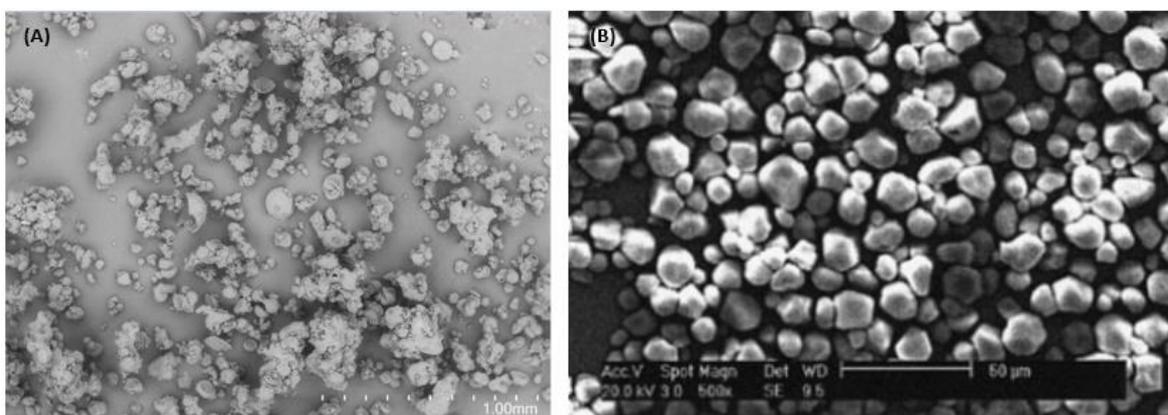
A Figura 21 apresenta imagens do sistema modelo antes da separação (A), onde a proteína do soro do leite está indicada pela seta branca e o amido de milho pela seta preta. Foi selecionada a placa negativa (B) e positiva (C) do teste 10 (20,9 l/min e 11,1 kV) onde foi obtida uma concentração de 50,3% de proteína.



**Figura 21.** Mistura modelo antes e após separação. (A) Mistura modelo, (B) Placa Negativa, (C) Placa Positiva. Seta branca: Proteína, Seta preta: Amido.

Observa-se na placa negativa (B) uma maior quantidade de partículas maiores que são as proteínas e na placa positiva (C) partículas menores que são os amidos de milho.

Foi analisada no MEV a proteína do soro de leite, sem mistura, para verificação do seu formado e assim sua identificação na mistura. Para avaliação do amido de milho foi verificada sua imagem na literatura (HUANG *et al.*, 2005) (Figura 22).

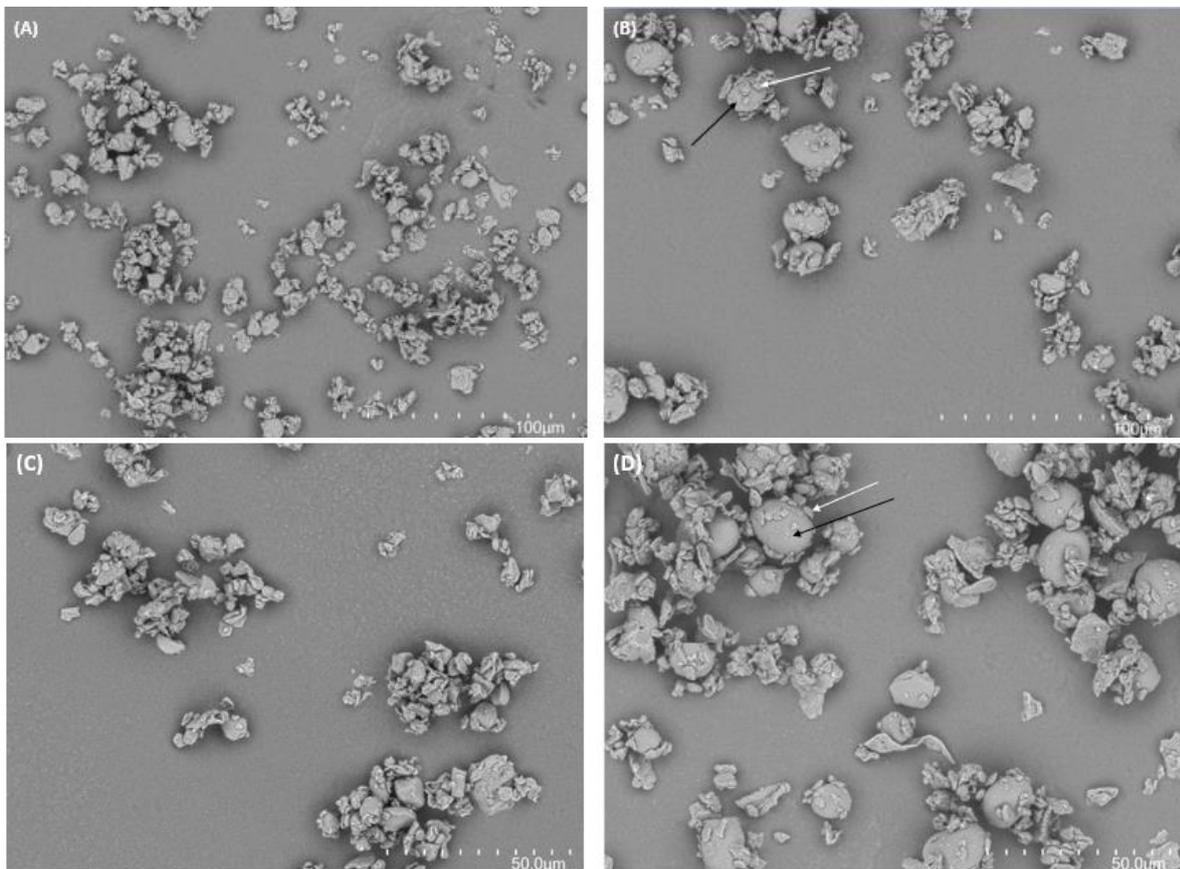


**Figura 22.** (A) Proteína do soro de leite. (B) Amido de milho. Fonte: HUANG *et al.*, 2005.

Com as imagens dos componentes, proteína e amido, é possível identificar a estrutura dos mesmos na mistura. Sendo a proteína uma partícula mais arredondada e maior e o amido menor e formato mais próximo de cubos.

### ***Farinha grão de bico***

A Figura 23 apresenta a farinha de grão de bico micronizada nas duas granulometrias (5,60  $\mu\text{m}$  e 11,82  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 23.** Farinha micronizada de grão de bico. (A) Granulometria 5,60  $\mu\text{m}$  com 500x aumento. (B) Granulometria 11,82  $\mu\text{m}$  com 500x aumento. (C) Granulometria 5,60  $\mu\text{m}$  com 800x aumento. (D) Granulometria 11,82  $\mu\text{m}$  com 800x aumento. Seta branca: Proteína, Seta preta: A

Observa-se que na farinha micronizada com granulometria de 11,82  $\mu\text{m}$  a proteína (identificada pela seta branca) ainda está aderida ao amido (identificado pela seta preta). Na farinha com granulometria de 5,60  $\mu\text{m}$  a identificação da proteína e do amido é dificultada, pois como essa micronização foi mais intensa o amido foi mais danificado (Farinha de 11,82  $\mu\text{m}$  com AACCC 76-314 de 8,19% e

farinha de 5,60  $\mu\text{m}$  com AACCC 76-314 de 12,81%, resultados em Anexos – Tabelas A1 e A2).

Para o método de fracionamento a seco por classificação com ar, essa micronização intensa dificultaria a separação, pois é uma metodologia baseada em diferença de tamanho e densidade, e nessa granulometria (5,60 $\mu\text{m}$ ) a diferença de tamanho entre os componentes é menor. Enquanto a separação triboeletrostática se baseia na diferença de carregamento elétrico das partículas.

A partir do planejamento experimental realizado com a mistura do sistema modelo foram definidos testes com a farinha micronizada do grão de bico. Como foram obtidos bons resultados nos pré-testes para a mistura que não estava seca, foram definidos os testes com a farinha micronizada nas duas granulometrias (11,82  $\mu\text{m}$  e 5,60  $\mu\text{m}$ ) sem secagem. Também realizou-se testes com a farinha micronizada na granulometria de 5,60  $\mu\text{m}$  seca em dessecador com sílica, pois a partir das imagens no MEV essa granulometria teria maior probabilidade de separação. Analisando os resultados desses testes no ponto central, o melhor resultado foi para a farinha micronizada de 5,60  $\mu\text{m}$  seca, dessa forma analisou-se essa farinha nas condições da faixa otimizada.

As umidades dos testes realizados com a farinha de grão de bico estão apresentadas na Tabela 15.

**Tabela 15. Umidade farinhas de grão de bico.**

Testes	Aw	Ubu (%)
Farinha - 11,82 $\mu\text{m}$ (Sem secagem)	0,4353	8,83 $\pm$ 0,14
Farinha - 5,60 $\mu\text{m}$ (Sem secagem)	0,3121	7,14 $\pm$ 0,02
Farinha - 5,60 $\mu\text{m}$ (Com secagem)	0,1733	5,79 $\pm$ 0,06

Média  $\pm$  Desvio Padrão; n = 3, sendo n = número de repetições utilizadas.

Ubu: umidade base úmida.

Os resultados dos testes estão apresentados na Tabela 16, com as médias das triplicatas e o teste de Tukey aplicado.

**Tabela 16. Teor proteico do material aderido a placa negativa.**

Testes	Voltagem (kV)	Vazão (l/min)	Proteína (g/100g matéria seca)
Farinha - 5,60 µm (Com secagem)	9,4	25	17,87 <sup>a</sup> ± 1,16
Farinha - 5,60 µm (Com secagem)	11,1	20,9	17,03 <sup>ab</sup> ± 2,95
Farinha - 11,82 µm (Sem secagem)	11,1	20,9	14,79 <sup>ab</sup> ± 1,10
Farinha - 5,60 µm (Sem secagem)	11,1	20,9	12,99 <sup>b</sup> ± 1,10

Média ± Desvio Padrão; n = 3, sendo n = número de repetições utilizadas.

Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente entre si a  $p < 0,10$  pelo Teste de Tukey.

A Anova dos testes está apresentada na Tabela 17.

**Tabela 17. Tabela ANOVA para a resposta de teor proteico.**

Causa da variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F <sub>calculado</sub>	F <sub>tabelado (5%)</sub>
Tratamentos	3	44,38	14,79	5,63	4,07
Resíduo	8	21,00	2,63		
Total	11	65,39			
C.V.		11,10%			

Observa-se que o teste com maior concentração de proteína (16,83%) foi com a farinha micronizada de 5,60 µm seca com os parâmetros da faixa otimizada. Pela análise das médias por Tukey, pode-se concluir que a mesma é diferente do teste com a farinha micronizada na mesma granulometria sem secagem e com variáveis independentes diferentes. Portanto, a umidade e as variáveis independentes influenciam nos resultados.

O resultado da farinha micronizada com maior granulometria (11,82 µm), não se diferenciou estatisticamente dos outros testes. Entretanto, deve-se ter cautela ao analisar os resultados, pois nenhum dos testes foi suficiente para concentrar a proteína. Portanto, mesmo que a granulometria não tenha significância

nos testes realizados, caso a desaglomeração fosse efetiva os resultados seriam diferentes, e a granulometria poderia ter sido considerada significativa.

Os resultados esperados não foram atingidos, porém foi possível identificar que a umidade influencia na separação triboeletrostática. Diferente dos testes com a mistura do sistema modelo, onde a secagem não foi a melhor opção, nos testes com a farinha micronizada de grão de bico a secagem auxiliou na dispersão da farinha. Isso se deve ao alto teor de gordura da mesma, porém ainda assim, somente a secagem da farinha micronizada não foi o suficiente para concentrar proteína.

Além disso, a granulometria menor dá origem a partículas muito pequenas que são facilmente carregadas e com alta atração entre elas formando agregados. Deve ser realizado um estudo de otimização da moagem para que haja a desaglomeração entre proteína e amido, mas ao mesmo tempo não seja tão intensa formando partículas pequenas que se agregam facilmente.

No estudo de Wang *et al.*, 2015a na separação com glúten (proteína) e amido do trigo observou-se que partículas maiores tendem a se aglomerar menos, influenciando positivamente a separação. O mesmo coincide com o teste na mistura do sistema modelo, onde a proteína possui 148,90 µm, muito acima do tamanho da proteína na farinha de grão de bico.

## **6. CONCLUSÃO**

A partir do planejamento experimental com a mistura do sistema modelo pode-se concluir que o protótipo construído de separação triboeletrostática teve um bom desempenho na concentração da proteína. Resultando, na faixa otimizada do planejamento experimental, apresentando uma concentração de 55,4% de proteína, ou seja, 207% a mais com relação a mistura original que continha 18% de proteína.

A etapa de moagem não foi necessária no sistema modelo, pois os componentes estavam separados antes da mistura. Para matérias-primas mais complexas, como a farinha micronizada de grão de bico, deve-se estudar a etapa de moagem, pois ela é fundamental para que a metodologia de separação triboeletrostática apresente uma concentração de proteína maior.

No grão de bico, os corpos proteicos e os grânulos de amido possuem tamanho muito similares, o que requer uma moagem intensa, gerando partículas pequenas. As partículas menores possuem maior tendência a se aglomerarem, pois o carregamento elétrico é maior. Além disso, o grão de bico possui outro agravante, o seu alto teor de lipídeos. Dessa forma, dificilmente seria possível o fracionamento a seco do mesmo sem etapa de desengorduramento.

Dessa forma, outro ponto a ser explorado é a secagem do grão de bico antes da moagem para auxiliar na desaglomeração de proteína e amido. Possivelmente com uma secagem adequada poderia se utilizar uma moagem menos intensa. Neste estudo a secagem foi realizada na farinha após micronização, resultando em uma melhora na concentração de proteína no processo triboeletrostático. Porém, o estudo da secagem antes da moagem também pode trazer efeitos significativos no aumento do teor proteico.

Como a matéria prima possui grande influência no processo de separação triboeletrostática é necessário realizar um planejamento experimental para o grão de bico, pois as faixas das variáveis independentes utilizadas podem variar. O processo depende muito das características intrínsecas do material, dessa forma, um estudo aprofundado com a matéria prima de interesse pode resultar em um aumento na concentração de proteína pelo processo de separação triboeletrostática.

No estudo com a mistura do sistema modelo a formação de agregados foi minimizada, devido ao tamanho maior da proteína, com superfície irregular que reduz a força de coesão entre as partículas. Essa menor força de atração entre os componentes é fundamental para a separação dos mesmos.

Portanto, pode-se concluir através do sistema modelo que é possível realizar uma separação triboeletrostática do amido e proteína para o protótipo construído.

## **REFERÊNCIAS**

AACC International, Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Method 76-33.01. Damaged Starch-Amperometric Method by SDmatic Methods Approved October 103, 2007. Cereals & Greains Association, ST. Paul, MN, U.S.A., 2010.

AMARAL, E. Separação triboeletrostática dos polímeros ABS, HIPS, PE, PET, PVC e das misturas binárias ABS/PE e HIPS/PE. Trabalho de conclusão de curso apresentado à Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. Lorena, 2017.

AOAC. Association of Official Methods Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International. 16th edition. AOAC, Arlington, 1997.

ASSATORY, A., VITELLI, M., RAJABZADEH, A. R., LEGGE, R. L. Dry fractionation methods for plant protein, starch and fiber enrichment: A Review. Trends in Food Science & Technology, v. 86, p. 340-351, 2019.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of A.O.A.C. International. 20th ed, 2016. Kjeldahl Method 2001.11 – Protein (crude) in animal feed, forage (plant tissue), grain, and oilseeds (4.2.11).

BERGHOUT, J. A. M., PELGROM, P. J. M., SCHUTYSER, M. A. I., BOOM, R. M., & VAN DER GOOT, A. J. Sustainability assessment of lupin fractionation processes. Journal of Food Engineering, v.150, p.117 - 124. 2015.

BESSADA, S. M., BARREIRA, J. C., & OLIVEIRA, M. B. P. Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. Trends in Food Science & Technology, v. 93, p. 53-68. 2019.

BETANCUR-ANCONA, D., GALLEGOS-TINTORÉ, S., CHEL-GUERRERO, L. Wet-fractionation of Phaseolus lunatus seeds: partial characterization of starch and protein. Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 84, p. 1193 – 1201. 2004.

BOYE J., ZARE, F., PLETCH, A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. Food Research International, v. 43, p. 414-431, 2010.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, v. 37, p. 911-917, 1959.

CARMO, S, C. SILVENTOINEN, P., NORDGARD, T., POUDDROUX, C., et al. Is dehulling of peas and faba beans necessary prior to dry fractionation for the production of protein- and starch-rich fractions? Impact on physical properties, chemical composition and techno-functional properties. Journal of Food Engineering, v. 278, p.109-937, 2020.

CELIK, S., BASMAN, A., YALSIN, E., & KOSKEL, H. Effect of irradiation on protein electrophoretic properties, water absorption and, cooking quality of dry bean and chickpea. *Food Science and Technology Research*, v. 10, p. 410–415. 2004.

CONAB. Produção de grãos no Brasil deve ser de 238,9 milhões de toneladas. Disponível em:

< <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/2933-producao-de-graos-no-brasil-deve-ser-de-238-9-milhoes-detoneladas>>. Acesso em: 15 ago. 2020.

CHAIM, Aldemir. Pulverização Eletrostática. Apresentação do Power Point. 30 maio. 2022.

CHALLA, R., SRINIVASAN, R., TO, F. Fractionation of soybean meal, cottonseed meal and wheat middlings using combination of sieving and air classification. *Animal Feed Science and Technology*, v. 159, p. 72 – 78. 2010.

CHITRA, U., VIMALA, V., SINGH, U., GEERVANI, P. Variability in phytic acid content and protein digestibility of grain legumes. *Plant Foods for Human Nutrition*, v.47, p. 163–172, 1995.

DIGITAL JOURNAL. Fruit and Vegetable Ingredients Market Latest Trends, Growth Opportunities, Emerging Trends by 2028 | Study by TIP. Publicado 23 de junho de 2022. Disponível em: <<https://www.digitaljournal.com/pr/fruit-and-vegetable-ingredients-market-latest-trends-growth-opportunities-emerging-trends-by-2028-study-by-tip>>. Acesso em 23 de junho de 2022.

EMAMI, S., TABIL, L., TYLER, R., CRERAR, W. Starch-Protein Separation from Chickpea Flour Using a Hydrocyclone. *La société canadienne de génie agroalimentaire et biologique*, paper n° 05-085. 2005.

EMBRAPA. Produtores de semente começam a receber grão-de-bico BRS Aleppo, 2018. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/33453969/produtores-de-semente-comecam-a-receber-grao-de-bico-brs-aleppo>> Acesso em: 24 maio 2020.

FAOSTAT. Crops and livestock products. 2020. Disponível em: < <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>>. Acesso em: 17 maio 2022.

FAO. As leguminosas contribuem para a segurança alimentar. 2016a. Disponível em:[http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/faoweb/As\\_leguminosas\\_contribuem\\_para\\_a\\_Seguran%C3%A7a\\_Alimentar.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/faoweb/As_leguminosas_contribuem_para_a_Seguran%C3%A7a_Alimentar.pdf).. Acesso em: 05 set. 2020.

FAO. Pulses and Biodiversity. 2016b. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i5389e.pdf>. Acesso em: 19 set. 2020.

FAO. Pulses: Surprising facts about pulses you might not know. 2016c. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-bc435e.pdf>. Acesso em: 05 set. 2020.

FERNANDO, S. Production of protein-rich pulse ingredients through dry fractionation: A review. *LWT - Food Science and Technology*, v.141, p 110-961. 2021.

FENNEMA, O. R., PARKIN, K. L., DAMODARAN, S. *Química de Alimentos de Fennema*. 4ª edição. Editora Artmed. 2010.

FI. Food Ingredients. E-book Plant based: Cenário e Perspectiva no Brasil. 2020.

GHRIBI, A., GAFSI, I., BLECKER, C., DANTHINE, S., ATTIA, H., BESBES, S. Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, v. 165, p. 179 – 188, 2015.

HUANG, M., YU, J. Structure and Properties of Thermoplastic Corn Starch/Montmorillonite Biodegradable Composites. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 99, p. 170 –176. 2005.

INNOVEST STRATEGIC VALUE ADVISORS. Relatório sobre Riscos para Investidores da Monsanto. Disponível em: [http://greenpeace.org.br/transgenicos/pdf/relatorioMonsanto\\_april2003-sumexec.pdf](http://greenpeace.org.br/transgenicos/pdf/relatorioMonsanto_april2003-sumexec.pdf). Acesso em: 05 set. 2020.

JAFARI, M., RAJABZADEH, A, R., TABTABAEI, S., MARSOLAIS, F., LEGGE, L, R. Physicochemical characterization of a navy bean (*Phaseolus vulgaris*) protein fraction produced using a solvent-free method. *Food Chemistry*, v. 208, p.35–41, 2016.

KAUR, M., SINGH, N. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, v. 102, p. 366-374, 2007.

KANTAR. Mudança de hábito do consumidor brasileiro. Disponível em: <https://www.kantarworldpanel.com/br/Releases/Mudana-de-hbito-do-consumidor-brasileiro>. Acesso em: 25 ago. 2020.

KDIDI. S., VACA-MEDINA, G., PEYDECASTAING, J., OUKARROUM. A., FAYOUD, N., BARAKAT, A. Electrostatic separation for sustainable production of

rapeseed oil cake protein concentrate: Effect of mechanical disruption on protein and lignocellulosic fiber separation. Powder Technology. 2019.

KIM, B. F., SANTO, R. E., SCATTERDAY, A. P., FRY, J. P., SYNK, C. M., et al. Country-specific dietary shifts to mitigate climate and water crises. Global Environmental Change. 2019.

LUNDGREN, M. Composition of Fractions from air-classified wheat flour (diploma work). Uppsala, Sweden: Swedish University of Agricultural Sciences. 2011.

LANDAUER, J., & FOERST, P. Influence of Particle Charge and Size Distribution on Triboelectric Separation—New Evidence Revealed by In Situ Particle Size Measurements. Processes, v.7. 2019.

MAYR, M. B., BARRINGER, S. A. Corona compared with triboelectric charging for electronic powder coating. Journal of Food Science, v. 71, p. 171–177, 2006.

MA, Z., BOYE, J., SIMPSON, B., PRASHER, S., MONPETIT, D., MALCOLMSON, L. Thermal processing effects on the functional properties and microstructure of lentil, chickpea, and pea flours. Food Research International, v. 44, p. 2534 – 2544, 2011.

MAAROUFI, C., MELCION, J. P., DE MONREDON, F., GIBOULOT, B., GUIBERT, D., & LE GUEN, M. P. Fractionation of pea flour with pilot scale sieving. I. Physical and chemical characteristics of pea seed fractions. Animal Feed Science and Technology, v. 85, p. 61 - 78. 2000.

MAYER-LAIGLE, C., BARAKAT, A., BARRON, C., DELENNE, J. Y., FRANK, X., MABILLE, F., ET AL. Dry biorefineries: Multiscale modeling studies and innovative processing. Innovative Food Science & Emerging Technologies, v. 46, p.131–139. 2018.

MOLLER, A. C., PADT, A., GOOT, A. J. From raw material to mildly refined ingredient – Linking structure to composition to understand fractionation processes. Journal of Food Engineering, v. 291. 2021.

Nações Unidas. População mundial deve chegar a 9,7 bilhões de pessoas em 2050, diz relatório da ONU. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/populacao-mundial-deve-chegar-a-97-bilhoes-de-pessoas-em-2050-diz-relatorio-da-onu/#:~:text=Close%20the%20sidebar,Popula%C3%A7%C3%A3o%20mundial%20deve%20chegar%20a%209%2C7%20bilh%C3%B5es%20de%20pessoas,2050%2C%20diz%20relat%C3%B3rio%20d>

[a%20ONU&text=A%20popula%C3%A7%C3%A3o%20mundial%20deve%20crescer,segunda%2Dfeira%20\(17\).Acesso em: 23 mar. 2020.](#)

Notícias Agrícolas. Rejeição de consumidor da China a transgênicos começa a afetar indústria de soja. 2017. Disponível em: <<https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/soja/190817-rejeicao-de-consumidor-da-china-a-transgenicos-comeca-a-afetar-industria-de-soja.html#.X1PPXHkIU>>. Acesso em: 05 set. 2020.

OECD (2022), Household disposable income (indicator). doi: 10.1787/dd50eddd-en Disponível em: <https://data.oecd.org/hha/household-disposable-income.htm>. Acesso em 23 de junho de 2022.

OTTO, T., BAIK, B., CZUCHAJOWSKA, Z. Microstructure of Seeds, Flours, and Starches of Legumes. American Association of Cereal Chemists, v. 74, n° 4, p. 445–451, 1997.

PLANO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA CADEIA DO FEIJÃO E PULSES (PNDCFP). Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018.

PAREDES-LÓPEZ, O., ORDORICA-FALOMIR, C., OLIVARES-VÁZQUEZ. Chickpea protein Isolates: Physicochemical, Functional and Nutritional Characterization. Journal of Food Science, v. 56, p. 726-729, 1991.

PELGROM, P. J. M., VISSERS, A. M., BOOM, R. M., & SCHUTYSER, M. A. I. Dry fractionation for production of functional pea protein concentrates. Food Research International, v. 53, p. 232–239. 2013.

PELGROM, P. J. M., BERGHOUT, J. A. A., VAN DER GOOT, A. J., BOOM, R. M., SCHUTYSER, M. A. I. Preparation of functional lupine protein fractions by dry separation. LWT - Food Science and Technology, v. 59, p. 680 – 688. 2014.

PELGROM, P. J., BOOM, R. M., SCHUTYSER, M. A. Method Development to Increase Protein Enrichment During Dry Fractionation of Starch-Rich Legumes. Food and Bioprocess Technology, v. 8, p. 1495–1502, 2015a.

PELGROM, P. J., WANG, J., BOOM, R. M., SCHUTYSER, M. A. Pre- and post-treatment enhance the protein enrichment from milling. Journal of Food Engineering , v. 155, p. 53 -61, 2015b.

PELGROM, P. J. M., BOOM, R. M., & SCHUTYSER, M. A. I. Functional analysis of mildly refined fractions from yellow pea. Food Hydrocolloids, v. 44, p.12 - 22. 2015c.

RODRIGUES, M. I., IEMMA, A., F. Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos. Editora Casa do Pão. 2005.

RUEDA, D. R., SECAL, T., BAYER, R. K. Differences in the interaction of water with starch and chitosan films as revealed by infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. *Carbohydrate Polymers*, v. 20, p. 49 – 56. 1999.

ROUILLY A, ORLIAC O, SILVESTRE F AND RIGAL L, DSC study on the thermal properties of sunflower proteins according to their water content. *Polymer* v. 42, p. 10111–10117. 2001.

RICCI, L., UMILTÀ, E., RIGHETTI, M, C., MESSINA, T., ZURLINI C., MONTANARI, A., BRONCO, S., BERTOLDO, M. On the thermal behavior of protein isolated from different legumes investigated by DSC and TGA. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 98, p. 5368 – 5377, 2018.

SAIO, K., MONMA, M. Microstructural approach to legume seeds for food uses. *Food Structure*, v. 12, p. 333-341, 1993.

SCHUTYSER, M., VAN DER GOOT, A. The potential of dry fractionation processes for sustainable plant protein production. *Trends in food science & technology*, v. 22, p. 154– 164, 2011.

SCHUTYSER, M., PELGROM, P., VAN DER GOOT, A., BOOM, R. Dry fractionation for sustainable production of functional legume protein concentrates. *Trends in food science & technology*, v. 22, p. 1–11, 2015.

SOSULSKI, F., YOUNGS, C. Yield and Functional Properties of Air-Classified Protein and Starch Fractions from Eight Legume Flours. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 56, p. 292 – 295, 1979.

SOUSA, G., C., S. Diversidade fenotípica de linhagens de grão de bico (*Cicer arietinum* L.) do tipo “Desi” em condições de campo no Brasil central. Dissertação de mestrado em agronomia. Brasília. 2021.

SOUZA. C., V., A. Características agronômicas e qualidade fisiológica de sementes de grão-de-bico em função da densidade de plantas. Dissertação de mestrado em agronomia. Brasília. 2019.

Statista. Production volume of field peas worldwide from 2013 to 2017, by country. Disponível em: <<https://www.statista.com/statistics/722160/field-peas-production-volume-by-country-worldwide/>> Acesso em: 15 ago. 2020.

SVAROVSKY, L. Hydrocyclones. In Solid-Liquid Separation, 3rd Ed. (L. Svarovsky, ed.) pp. 202–250, Butterworths, London, U.K. 1990.

SWANSON, B. G. Pea and lentil protein extraction and functionality. Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 67, p. 276–280, 1990.

TABTABAEI, S., KONAKBAYEVAA. D., RAJABZADEHB, A., LEGGEC, R. Functional properties of navy bean (*Phaseolus vulgaris*) protein concentrates obtained by pneumatic tribo-electrostatic separation. Food Chemistry, v. 283, p. 101-110. 2019.

TABTABAEI, S., JAFARI, M., RAJABZADEH, A. M., LEGGE, R. L. Development and optimization of a triboelectrification bioseparation process for dry fractionation of legume flours. Separation and Purification Technology. v. 163, p. 48-58. 2016.

United Nation, Department of Economic and Social Affairs. 68% of the world population projected to live in urban areas by 2050, says UN. New York, 16 May 2018. Disponível em : <<https://www.un.org/development/desa/en/news/population/2018-revision-of-world-urbanization-prospects.html#:~:text=News-.68%25%20of%20the%20world%20population%20projected%20to%20live%20in,areas%20by%202050%2C%20says%20UN&text=Today%2C%2055%25%20of%20the%20world's,increase%20to%2068%25%20by%202050>>. Acesso em 23 de junho de 2022.

THE GOOD FOOD INSTITUTE (GFI). Mercado de alternativas vegetais: Pesquisa exclusiva no Brasil. Disponível em: <<https://gfi.org.br/2018/10/02/mercado-de-alternativas-vegetais-pesquisa-exclusiva-no-brasil/>> Acesso em: 20 ago. 2020.

TYLER, R. T., YOUNGS, C.G., SOSULSKI, F.W. Air classification of legumes. i: Separation efficiency, yield, and composition of the starch and protein fractions. Cereal Chemistry, 1981.

TYLER, R. T. Impact Milling Quality of Grain Legumes. Journal of Food Science, v.49, p.925- 930, 1984.

VEGAZETA. Demanda por proteína à base de vegetais eleva produção de ervilhas em 20%. Disponível em: <https://vegazeta.com.br/demanda-por-proteina-eleva-producao-de-ervilhas/>>. Acesso em: 05 set. 2020.

U.S Department of Agriculture. Disponível em: <https://fdc.nal.usda.gov/>. Acesso em 10 de outubro de 2020.

XING, Q., UTAMI, D. P., DEMATTEY, M. B., KYRIAKOPOULOU, K., WIT, M., BOOM, R. M., SCHUTYSER, M. A. I. A two-step air classification and electrostatic separation process for protein enrichment of starch-containing legumes *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. v. 66, 2020.

XING, Q., WIT, M., KYRIAKOPOULOU, K., BOOM, R. M., SCHUTYSER, M. Protein enrichment of defatted soybean flour by fine milling and electrostatic separation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 50, p. 42-49, 2018.

WANG, J., SMITS, E., BOOM, R. M., & SCHUTYSER, M. A. I. Arabinoxylans concentrates from wheat bran by electrostatic separation. *Journal of Food Engineering*, v. 155, p. 29–36. 2015a.

WANG, J., WIT, M., BOOM, R., SCHUTYSER, M. Charging and separation behavior of gluten–starch mixtures assessed with a custom-built electrostatic separator. *Separation and Purification Technology*, v. 152, p. 164 – 171. 2015b.

WANG, J., ZHAO, J., WIT, M., BOOM, R., SCHUTYSER, M. A. I. Lupine protein enrichment by milling and electrostatic separation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 33, p. 596 – 602. 2016.

WOOD, J. A., KNIGHTS, E., CHOCT, M. Morphology of chickpea seeds (*cicer arietinum* L.): comparison of desi and kabuli types. *International Journal of Plant Sciences*, v. 172, p. 632–643, 2011.

WU VICTOR, Y., NICHOLS, N. N. Fine Grinding and Air Classification of Field Pea. *Cereal Chemistry*, v. 82, p. 341-344, 2005.

ZHANG, TAO; JIANG, BO; WANG, ZHANG. Gelation properties of chickpea protein isolates. *Food Hydrocolloids*, v. 21, n. 2, p. 280-286, 2007.

ZHU, H., TANG, H., CHENG, Y., LI, Z., TONG, L. Electrostatic separation technology for obtaining plant protein concentrates: A review. *Trends in Food Science and Technology*, v. 113, p. 66 – 76, 2021.

ZION MARKET RESEARCH. Global Nutraceuticals Market Will Reach USD 317.3 Billion by 2024: Zion Market Research. Publicação 25 de junho de 2018. Disponível em: <https://www.globenewswire.com/news-release/2018/06/25/1528968/0/en/Global-Nutraceuticals-Market-Will-Reach-USD-317-3-Billion-by-2024-Zion-Market-Research.html>. Acesso em 24 de junho de 2022.

## APÊNDICES I - TESTES PRELIMINARES

### 1) ANÁLISE DSC

As análises no DSC 250 (Differential Scanning Calorimetry, Discovery - TA Instruments, New Castle – Estados Unidos) foram realizados com o intuito de identificar a região de transição vítrea de cada componente, proteína e amido. Dessa forma, realizou-se o fracionamento úmido da farinha de grão de bico e obteve-se uma fração proteica com  $43,3\% \pm 0,66$  de proteína e uma fração de amido com  $1,5\% \pm 0,04$  de proteína. Essa duas frações obtidas pelo fracionamento úmido que foram utilizadas na análise no DSC.

A região de transição vítrea é caracterizada pela mudança de estado de um material vítreo, onde o componente está mais rígido, para um estado gomoso, componente mais maleável. No DSC é possível encontrar a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) que é detectada pela mudança do calor específico, onde ocorre uma alteração da linha de base no programa. As imagens obtidas para cada farinha estão apresentadas no Anexo.

A  $T_g$  irá variar com a umidade da farinha, dessa forma, como explicado anteriormente, os componentes foram submetidos a diferentes umidificações.

Para as análises no equipamento foi realizada a calibração com índio e panelinha de alumínio vazio usado como referência. As panelinhas utilizadas foram da marca PANS Tzero aluminum, Waters Technologies do Brasil Ltda, São Paulo, SP – Brasil) e as tampas herméticas (LID Tzero HERMETIC, Waters Technologies do Brasil Ltda, São Paulo, SP – Brasil). Para equilibrar a temperatura da amostra, o equipamento manteve a mesma a  $25^\circ\text{C}$  por 30 minutos. A taxa de aquecimento utilizado foi de  $20^\circ\text{C}/\text{min}$  e a faixa de temperatura foi de  $25 - 200^\circ\text{C}$ .

Geralmente, as análises de proteína no DSC são realizadas com taxas de aquecimento de  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  ou  $10^\circ\text{C}/\text{min}$ , mas o deslocamento de base da transição vítrea em proteínas vegetais é pouco íngreme. Portanto, quando aumentada a taxa de aquecimento para  $20^\circ\text{C}/\text{min}$ , a distância entre os pontos da curva é maior possibilitando uma mudança de base mais aparente e detectável. Além disso, alguns estudos reportam que a taxa de aquecimento elevada minimiza a evaporação da água na amostra (ROUILLY, *et al.*, 2001).

Testes preliminares do DSC com taxas de aquecimento menores, apresentaram curva endotérmica de evaporação da água, com o aumento da taxa essa curva se estreitou e permitindo a identificação da faixa de transição vítrea.

No estudo de RICCI *et al.* (2018) foram utilizadas amostras com umidades baixas para que não ocorresse a abertura da panelinha hermética de alumínio, como nesse estudo utilizou-se várias umidades, foi necessário pesar pouca amostra (1 - 2 mg). A pouca quantidade de amostra permitiu que a evaporação da água não rompesse a panelinha.

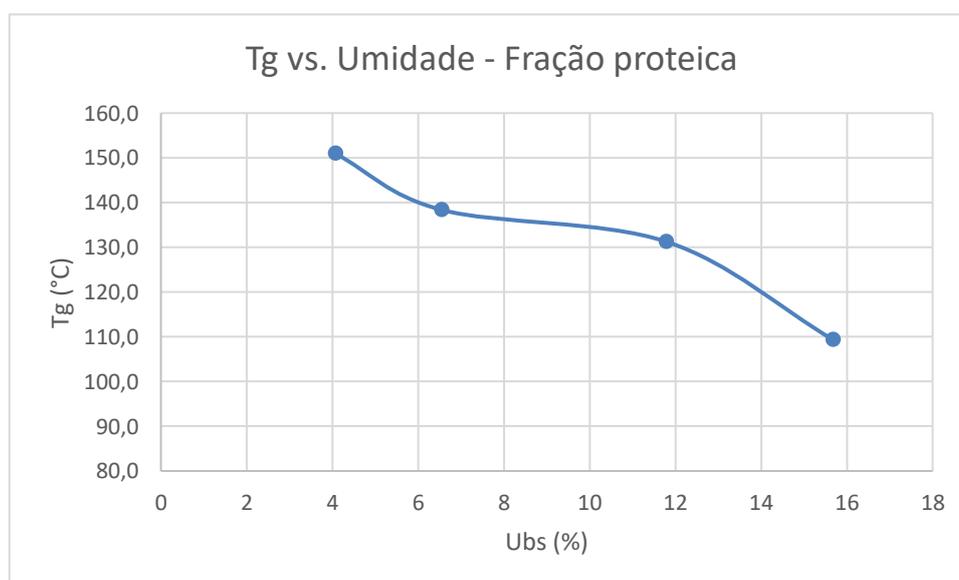
A Tabela 18 e Figura 24 apresentam a temperatura de transição vítrea da fração de proteína para cada umidade analisada.

**Tabela 18. Umidade e Temperatura de transição vítrea (Tg) da fração proteica.**

Ubs (%)	Tg
4,08	150,9 ± 1,92
6,55 ± 0,06	138,4 ± 4,11
11,79 ± 0,10	131,2 ± 2,85
15,68 ± 0,15	109,3 ± 4,64

Média ± Desvio Padrão; n = 3 (umidade); n = 2 (Tg), sendo n = número de repetições utilizadas.

Ubs: umidade base seca.



**Figura 24.** Gráfico temperatura de transição vítrea versus umidade – fração proteica.

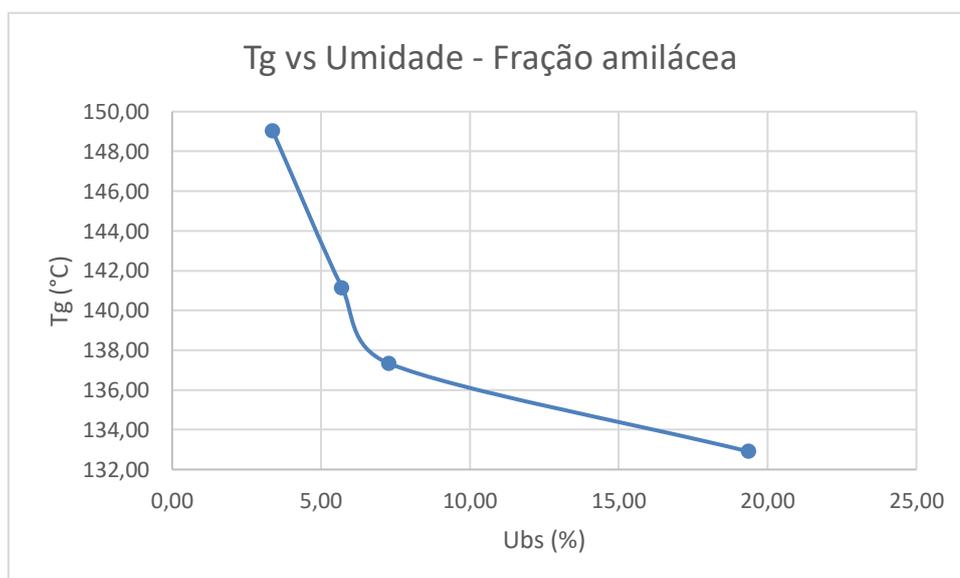
A Tabela 19 e Figura 25 apresentam a temperatura de transição vítrea da fração de amido para cada umidade analisada.

**Tabela 19. Umidade e Temperatura de transição vítrea (Tg) da fração de amido.**

Ubs (%)	Tg
3,37 ± 0,14	149,04
5,71 ± 0,13	141,14 ± 6,93
7,29 ± 0,11	137,33 ± 2,01
19,37 ± 0,36	132,91 ± 0,13

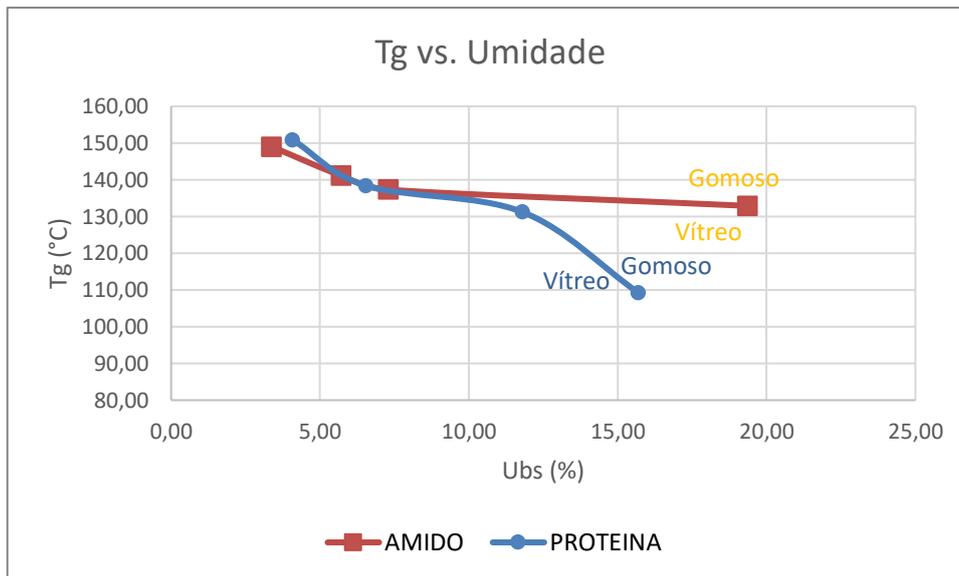
Média ± Desvio Padrão; n = 3 (umidade); n = 2 (Tg), sendo n = número de repetições utilizadas.

Ubs: umidade base seca.



**Figura 25.** Gráfico temperatura de transição vítrea versus umidade – fração amilácea.

A partir das curvas obtidas para cada componente foi plotada a Figura 26.



**Figura 26.** Gráfico temperatura de transição vítrea versus umidade.

Observa-se que em umidades mais baixas é necessário uma temperatura maior para que o material no estado vítreo passe para o estado gomoso e em umidades mais altas a temperatura de transição vítrea é menor.

O intuito desse estudo era encontrar uma região intermediária onde o amido estivesse na sua forma vítrea e a proteína no seu estado gomoso. Pois, o estudo de Pelgrom et al., 2013 indica que supostamente essa seria uma boa região para moagem de ervilha. Levando em consideração que o material no estado gomoso aumenta a energia necessária para moagem quando comparado no estado vítreo que é mais quebradiço, por outro lado no estado vítreo os componentes estão fortemente aglomerados, dificultando a separação. Dessa forma, em uma região intermediária teria se uma melhor eficiência energética e desaglomeração do amido e proteína seria facilitada. Entretanto, a temperatura de transição vítrea encontrada foi bastante elevada, não sendo possível prosseguir com o experimento.

A temperatura de transição vítrea depende do grau de pureza dos componentes, além de sua origem e dos processos aplicados (RICCI et al., 2018). Dessa forma, para futuros estudos o ideal seria utilização de uma fração proteica com grau de pureza maior e utilizando um processo de obtenção que não afete a estrutura do componente. No estudo em questão, Foi observado através de microscópio eletrônico de varredura que a estrutura da proteína nativa foi alterada

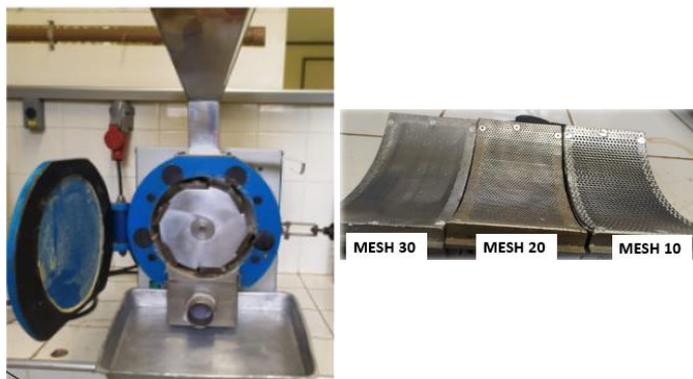
e seu tamanho aumentou ( $D_{50} = 109,05\mu\text{m} \pm 1,04$ ), mesmo utilizando um pH mais baixo do que o otimizado no estudo de Betancur-Ancona *et al.*, (2004). Além disso, provavelmente pela utilização de pH mais baixo o grau de pureza foi reduzido, portanto a Tg foi afetada.

As curvas obtidas no DSC estão apresentadas no Anexo (Figuras A3 a A10).

## 2) TESTES COM DIFERENTES MOINHOS

Conforme apresentado no Moagem e Moinhos da revisão bibliográfica o tipo de moinho utilizado e a granulometria média final da farinha possuem uma grande influência na separação da proteína e do amido. Dessa forma, foram estudados vários tipos de moinhos, através da distribuição de tamanho de partícula e das suas estruturas das farinhas obtidas em cada moinho.

O primeiro moinho utilizado foi o de facas tipo croton modelo MA 580 (Sinergia científica LTDA) (Campinas, Brasil) (Figura 27) com peneira de 10 mesh (1,7mm). Foi realizada a moagem com 200 g do grão de bico inteiro por 2 minutos, obtendo-se um rendimento de 93,05%.



**Figura 27.** Moinho de facas.

Com o mesmo moinho de facas (Figura 27) foi realizada a moagem com peneira de 30 mesh (600  $\mu\text{m}$ ). Utilizando a mesma metodologia, obteve-se um rendimento de 56,05%. O rendimento foi menor, pois o mesh da peneira foi reduzido, originando-se partículas menores com maior quantidade de amido danificado. Durante a moagem ocorreu uma adesão maior da farinha no

equipamento, devido ao aquecimento originado pelo atrito no processo, obtendo-se maiores perdas e menor rendimento.

Para o estudo no moinho granulador de facas e martelos (Treu S.A., Rio de Janeiro, Brasil) (Figura 28) foi utilizado 30 kg de grão de bico inteiro, sendo o rendimento nesse processo de 99,3%. A moagem foi realizado a partir de 2 passagens por peneiras, a primeira com 3,2 mm e a segunda com 1,25 mm.



**Figura 28.** Moinho de facas e martelo.

Depois da moagem, foi estudada a micronização no moinho de anéis constituído de aço e cromo (Fritsch GmbH - Mahlen und Messen, Idar-Oberstein Alemanha) (Figura 29) utilizando se a farinha moída no moinho de facas com peneira de 10 mesh. O moinho foi preenchido com cerca de 70g de farinha e a micronização foi realizada pela movimentação dos anéis por 5 minutos (Rendimento não foi calculado).



**Figura 29.** Moinho de anéis.

Também foi analisada a micronização pelo moinho de bolas CT-242 (Servitech Serviços Técnicos e Representações LTDA, Tubarão, Brasil) (Figura 30) com a farinha moída em moinho de facas e martelos Treu. A micronização ocorreu com 200g de farinha por 60 horas de agitação. A metodologia é similar ao moinho de anéis, através da movimentação das esferas que realizam a quebra das partículas (Rendimento não foi calculado).



**Figura 30.** Moinho de bolas.

As farinhas obtidas nas diferentes moagens e micronizações foram analisadas quanto a distribuição de tamanho de partículas. A análise foi realizada pelo Laser Scattering Particle Size Distribution Analyzer (modelo LA-950V2, Horiba Instruments Brasil Ltda, Quioto, Japão), sendo a média de 6 leituras de cada amostra apresentada na Tabela 20.

**Tabela 20. Parâmetros para avaliação do tamanho de partícula das farinhas.**

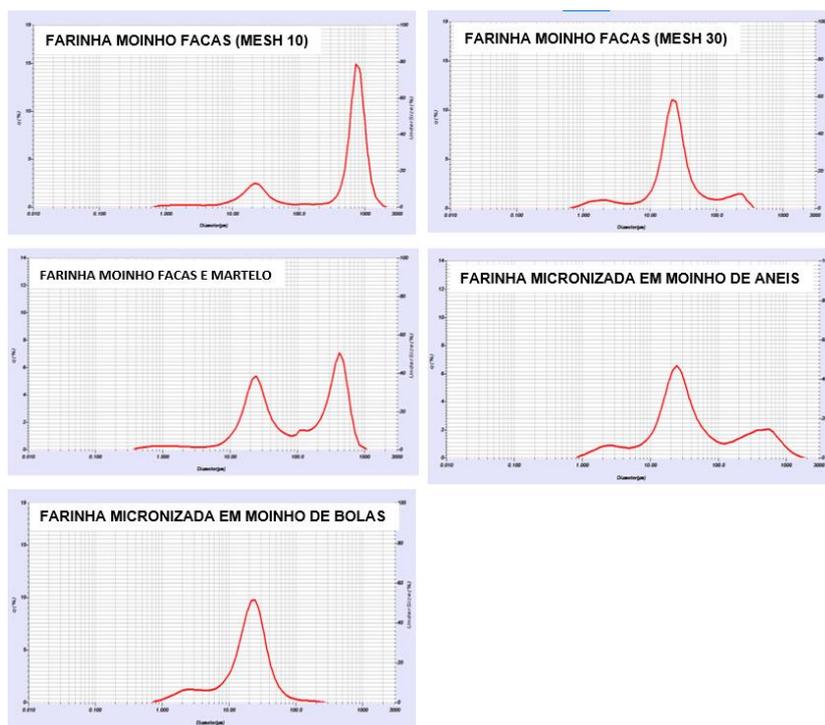
	<b>D<sub>50</sub> (µm)</b>	<b>D<sub>90</sub> (µm)</b>	<b>D<sub>10</sub> (µm)</b>	<b>Span</b>
Farinha moinho de facas – 10 mesh	670,65 ± 21,20	1019,35 ± 57,16	18,60 ± 0,45	1,49
Farinha moinho de facas – 30 mesh	22,92 ± 0,07	94,32 ± 5,05	7,72 ± 0,09	3,78
Farinha moinho de facas e martelos	94,52 ± 9,51	505,58 ± 18,16	13,93 ± 0,31	5,23
Farinha micronizada em moinho de anéis	30,59 ± 2,14	567,84 ± 92,52	7,14 ± 0,59	15,19
Farinha micronizada em moinho de bolas	20,22 ± 0,15	40,29 ± 0,84	4,07 ± 0,04	1,79

Média ± Desvio Padrão; n = 6, sendo n = número de repetições utilizadas.

D<sub>50</sub>: diâmetro médio.

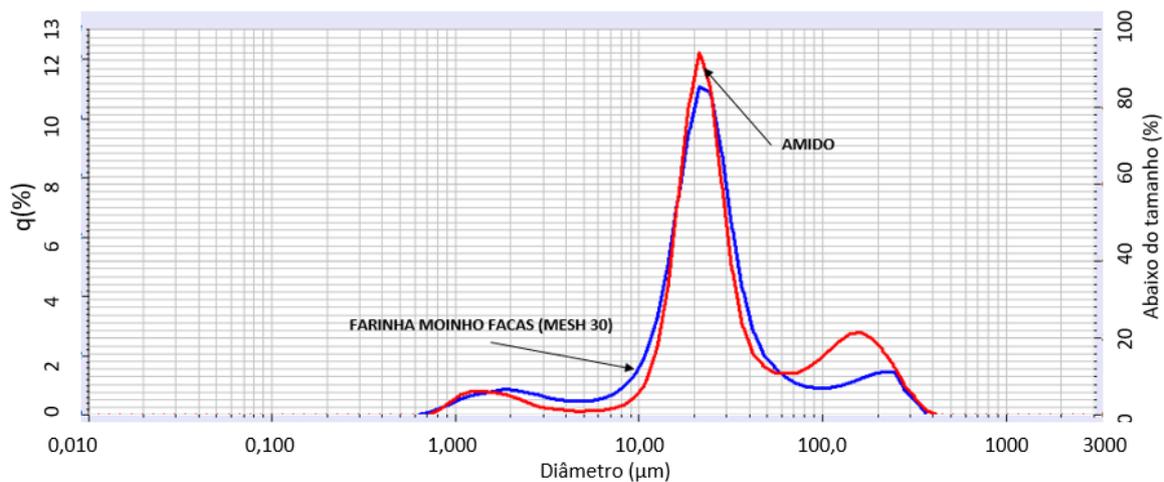
D<sub>10</sub> e D<sub>90</sub> : diâmetros de corte da curva de distribuição acumulada em 10% e 90%.

Os gráficos das análises de distribuição de partículas estão apresentadas na Figura 31.



**Figura 31.** Distribuição de tamanho de partícula das farinha em diferentes moinhos

A farinha obtida pelo moinho de facas com peneira de mesh 30 apresentou um  $D_{50}$  de 22,92  $\mu\text{m}$ , próximo ao  $D_{50}$  do amido do grão de bico (24,57 $\mu\text{m}$ ) obtido no fracionamento úmido. Sobrepondo os gráficos de distribuição de tamanho de partícula obtém-se a Figura 32, onde as curvas são muito próximas.

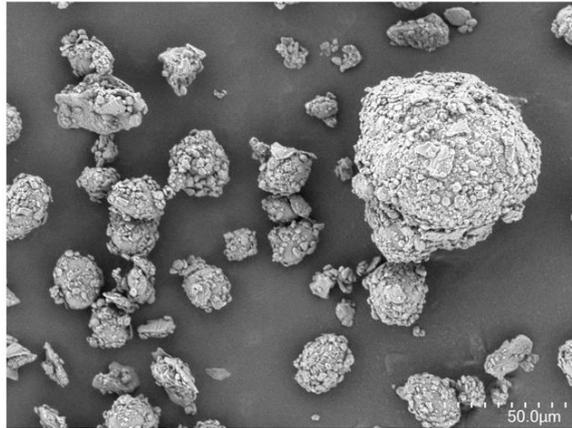


**Figura 32.** Distribuição de tamanho de partícula das farinha do moinho de facas (mesh 30) e do amido obtido por fracionamento úmido.

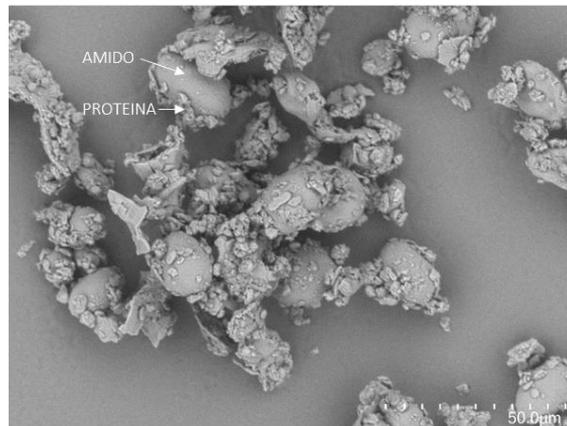
De acordo com Pelgrom *et al.* (2015a), a separação dos componentes da farinha de ervilha, feijão, lentilha e grão de bico são otimizadas quando a curva de distribuição de partículas da farinha se sobrepõe a curva do amido isolado. Portanto, o moinho de facas com peneira de mesh 30 foi selecionado para os testes preliminares de separação triboeletrostática no equipamento da USP Lorena, apresentado no tópico 4 dos Testes Preliminares.

Como será observado, não foi possível separar os componentes nos testes preliminares na USP Lorena. Portanto, para melhor compreensão das estruturas dessas farinhas, posteriormente, foram realizadas análises em MEV.

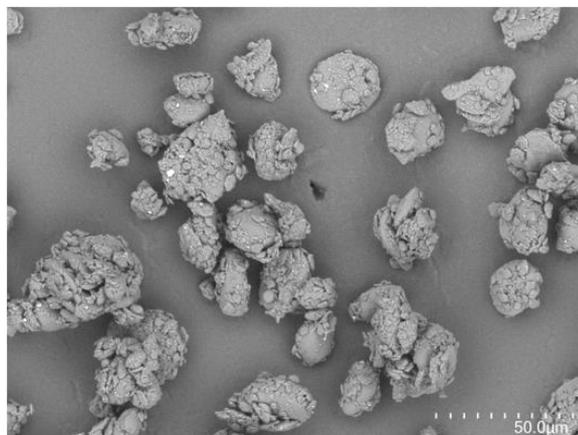
As Figuras 33, 34 e 35, apresentam as farinhas moídas em moinho de facas (mesh 30), micronizada em moinho de anéis e de bolas, respectivamente.



**Figura 33.** Imagem MEV - Farinha micronizada em moinho de anéis.



**Figura 35.** Imagem MEV — Farinha moída em moinho de facas (mesh 30).



**Figura 34.** Imagem MEV – Farinha micronizada em moinho de bolas.

A partir das imagens no MEV, observa-se que nenhuma moagem e micronização foram adequadas, pois o amido e a proteína não foram separados.

Além disso, na micronização com moinho de anéis e bolas as estruturas foram deformadas por conta da colisão entre as esferas e anéis. Dessa forma, os aglomerados ficaram mais compactos. Conclui-se que esses métodos não foram os ideais para fracionamento a seco, pois não ocorre a separação dos componentes amido e proteína.

### **3) TESTE COM PENEIRA**

O primeiro teste de fracionamento a seco foi realizado com peneira (Bertel Ind. Metalúrgica LTDA, Caieiras, Brasil) e equipamento vibratório Produtest (Santana de Parnaíba, SP - Brasil). Para esse teste não tinham sido analisadas as imagens em MEV das farinhas, portanto acreditava-se que a farinha moída em moinho granulador de facas e martelos (Treu S.A., Rio de Janeiro, Brasil) e depois micronizada em moinho de bolas estaria com os componentes desaglomerados, pois o diâmetro médio ( $D_{50}$ ) dessa farinha foi de 20,22  $\mu\text{m}$ . De acordo com a literatura o amido teria em torno de 17  $\mu\text{m}$  (AGUILERA *et al.*, 2009) e o diâmetro médio da fração de amido obtida na fracionamento úmido foi 24,57  $\mu\text{m}$ . Dessa forma, acreditou-se que uma farinha com valor aproximado de 20  $\mu\text{m}$  seria o suficiente para separar o amido da proteína.

O teste foi realizado com peneira de 88  $\mu\text{m}$  e 74  $\mu\text{m}$ , entretanto, com esta abertura menor a farinha obstruiu as passagens, o que não permitiu a separação da mesma. A peneira com 88  $\mu\text{m}$  foi a abertura mínima que possibilitou a passagem da farinha, permitindo um teste inicial para avaliação da possibilidade de separação por peneira. Foi realizada a separação de 50,13 g de farinha na vibração máxima do equipamento em 5 etapas de 5 minutos cada, entre as etapas a farinha era empurrada cuidadosamente para o centro da peneira com pincel. A massa de cada fração e o rendimento do processo estão apresentados na Tabela 21.

**Tabela 21. Rendimento da separação com peneira.**

	<b>Massa (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>	<b>Rendimento total (%)</b>
Fração coletada abaixo da peneira	17,33	34,40	97,70
Fração retida na peneira	31,66	63,15	

A porcentagem de proteína em cada fração foi analisada por Kjeldahl e está apresentada na Tabela 22.

**Tabela 22. Teor de proteína.**

	<b>Proteína (%)</b>
Fração coletada abaixo da peneira	17,98 ± 0,09
Fração retida na peneira	18,06 ± 0,45

Média ± Desvio Padrão; n = 4, sendo n = número de repetições utilizadas.

A análise de proteína foi realizada em quadruplicada com fator de correção da conversão de nitrogênio em proteína de 6,25. Conforme apresentado na Tabela 22 a proteína não foi concentrada. Aparentemente, a farinha foi somente dividida em duas frações com concentrações de proteína próximas. O resultado foi o esperado após análise da farinha micronizada no microscópio (MEV) (Figura 35) onde foi possível verificar que a proteína e o amido não tinham sido desagregados na moagem, portanto não seria possível a separação com peneira.

#### **4) TESTE SEPARAÇÃO TRIBOELETRÓSTATICA EM LORENA USP**

Para os testes preliminares de separação triboeletrostática foi utilizado o equipamento construído em trabalho de conclusão de curso por aluna de graduação na Universidade de São Paulo (USP - Lorena) no curso de engenharia de materiais. A aluna obteve resultado positivo utilizando essa metodologia para separação de diferentes materiais poliméricos para posterior reciclagem. Materiais utilizados na construção do equipamento foram: poliestireno, placas de alumínio e gerador de alta voltagem marca Instrum (Hipot Tester) (São Paulo, SP – Brasil).

Dessa forma, foi utilizado o mesmo equipamento para separação de farinha de grão de bico. No teste, utilizou-se o grão de bico seco e sem secagem.

possibilitando avaliar a influência da umidade na separação. Para a secagem, utilizou-se 4 bandejas com total de 4,02 kg de grão de bico com umidade inicial de 12,01% (Ubs). As bandejas foram posicionadas na estufa a 60°C por 5 horas, obtendo-se 3,81 kg de grão de bico com 6,2% de umidade (Ubs) (Curva de secagem apresentada no Anexo – Figura A1).

Conforme citado no tópico 2 dos Testes Preliminares, a farinha utilizada foi moída em moinho de facas (mesh 30, abertura de 0,6 mm). Pois, a curva de distribuição de tamanho da farinha se sobrepunha a curva do amido de grão de bico isolado (Figura 32), o qual era um indício de boa desaglomeração entre os componentes (PELGROM *et al.*, 2015a).

O moinho foi alimentado com 200g de grão de bico (seco e sem secagem) e a moagem foi realizada por 2 minutos com rotação fixa do moinho de 1200 rpm. Dessa forma, ocorreu a passagem das partículas mais finas (cotilédone) e a casca ficou retida na peneira.

Após a moagem, ocorreu uma alteração na umidade da farinha, apresentada na Tabela 23.

**Tabela 23. Umidade em base seca antes e após moagem do grão de bico.**

	Umidade grão de bico sem secagem (%)	Umidade grão de bico seco
Grão de bico inteiro	12,01 ± 0,12	6,20 ± 0,17
Grão de bico após moagem	11,69 ± 0,01	6,93 ± 0,20

Média ± Desvio Padrão; n = 3, sendo n = número de repetições utilizadas.

Provavelmente a amostra seca ganhou um pouco de umidade devido a sua maior capacidade de absorção de água e a amostra sem secagem perdeu umidade devido a maior área superficial que facilita a evaporação da água durante a moagem.

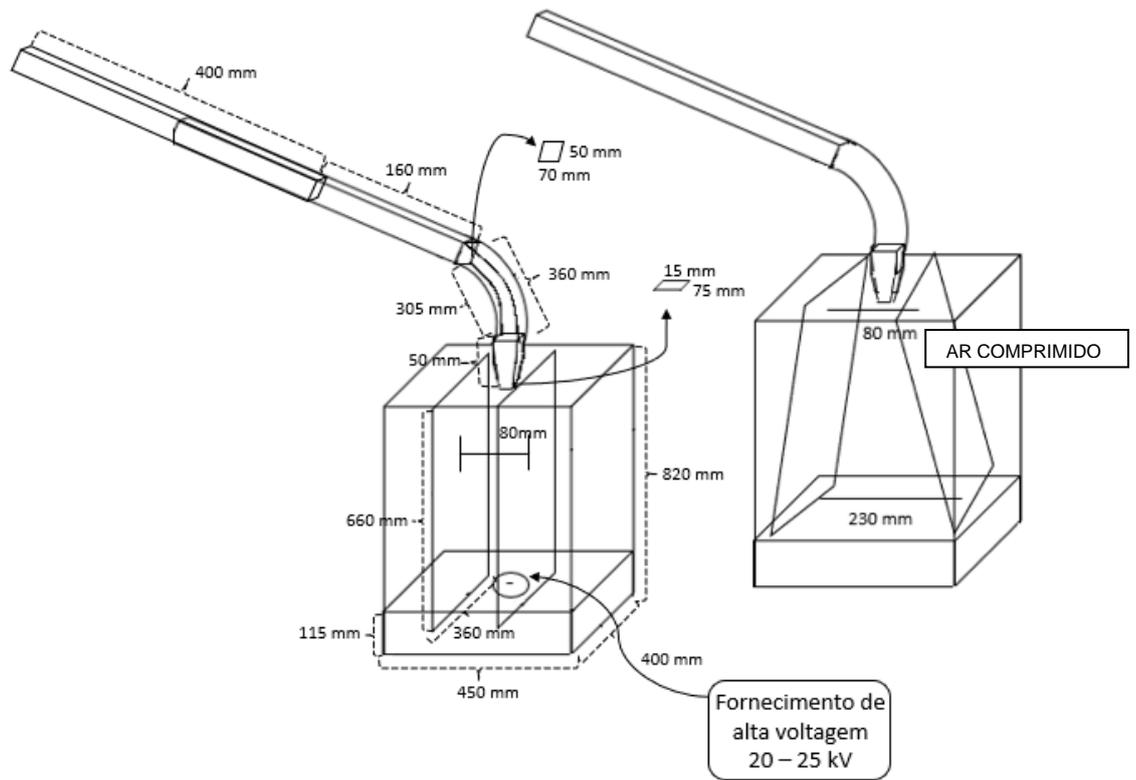
Na etapa de separação triboeletrostática, foram pesados aproximadamente 180g de grão de bico moído sem secagem e seco separados em 6 embalagens metalizadas com 30g. Foi realizado 1 processo para cada porção de 30 g onde a amostra foi recirculada 5 vezes.

O ar comprimido utilizado para a triboeletrificação da amostra foi ajustado em uma fluxo de 5.000 l/h. A fonte de alta tensão gerou uma voltagem de 25 kV, sendo a distância entre as placas de 80mm, dessa forma o campo elétrico gerado foi de 312,5 kV/m. Porém, para a farinha moída de grão de bico sem secagem foi utilizada a voltagem de 20 kV, pois a umidade relativa do ar aumentou no dia do teste, sendo o campo elétrico de 250 kV/m.

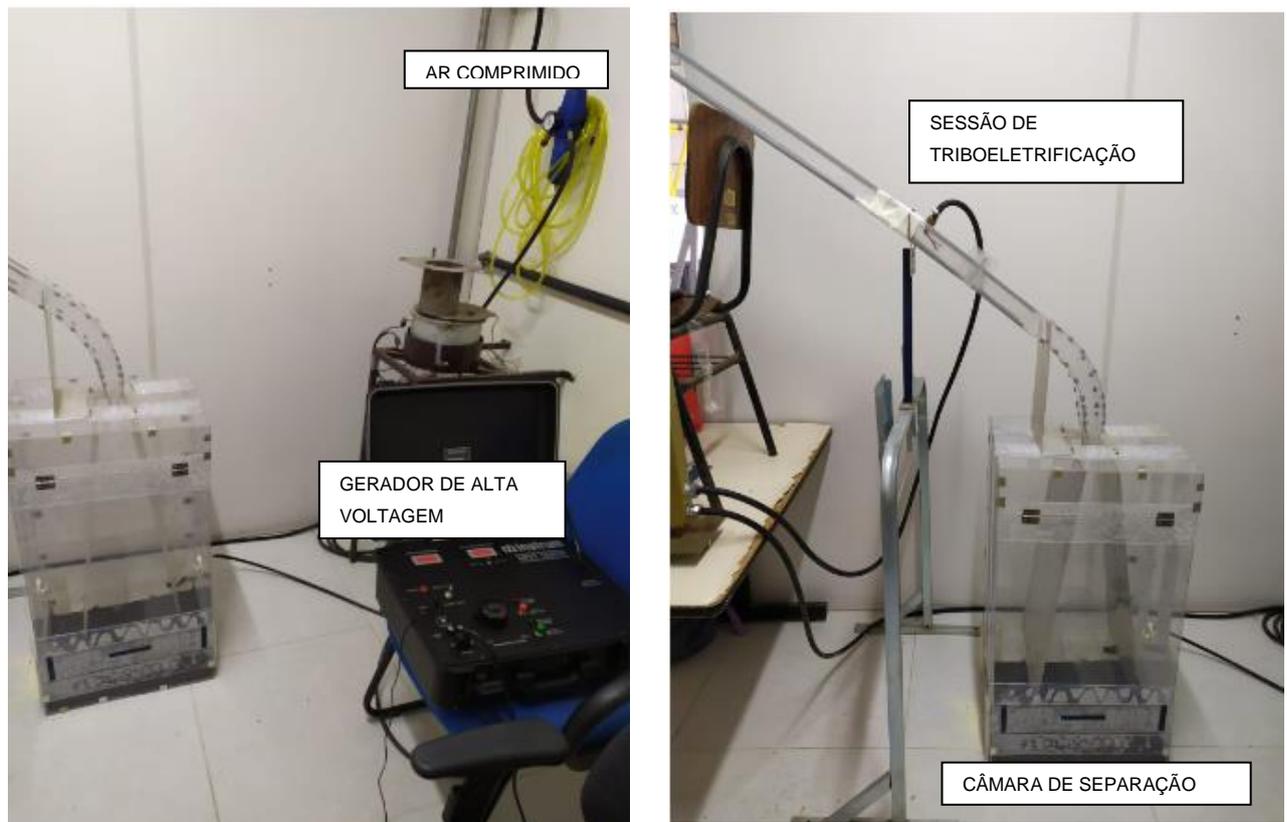
No teste com a farinha de grão de bico seco (Ubs 6,9%), a umidade relativa do ar estava 64%. Para o teste com a farinha de grão de bico sem secagem (Ubs 11,7%), a umidade relativa do ar foi de 76%, afetando a corrente elétrica entre as placas. Pois, com o aumento da umidade relativa ocorreu a diminuição da constante dielétrica do ar fechando o circuito entre as placas, perdendo suas cargas.

Foi realizado um pré-teste com as placas inclinadas e em paralelo para analisar qual opção coletava maior quantidade de material na placa. No teste com as placas inclinadas em apenas em um ciclo foi coletado 0,1968 g de material na placa negativa e 0,081 g na placa positiva. Enquanto, no teste com as placas não inclinadas em apenas 1 ciclo foi coletado 0,7675 g de material na placa negativa e 0,4036 g na placa positiva. Portanto, foi utilizada a conformação das placas em paralelo para os testes. Provavelmente, a maior quantidade de material coletado se deve a menor distância entre as placas e consequente maior corrente elétrica.

A Figura 36 apresenta um desenho com as dimensões do equipamento utilizado para separação triboeletrostática e a Figura 37 uma imagem real do equipamento. O material utilizado na construção do equipamento foi o poliestireno (PS).



**Figura 36.** Dimensões equipamento de separação triboeletrostática.



**Figura 37.** Equipamento de separação eletrostática.

A farinha moída foi inserida na sessão de triboeletrificação, onde o ar comprimido também é alimentado para agitação da amostra no tubo. O tribocarregamento resulta do atrito entre as partículas e paredes de poliestireno (PS), material com tendência a se carregar negativamente de acordo com a serie tribo eletrostática (Figura 13). O atrito entre as partículas de proteína e o PS carregam a proteína positivamente, pois ela perde elétrons para o PS que se carrega negativamente.

Após o carregamento elétrico, a farinha é transportada para a câmara de separação onde as placas de alumínio estão ligadas ao gerador de alta voltagem. Sendo a proteína coletada na placa negativa, devido seu carregamento positivo.

Os resultados de rendimento do processo de separação estão apresentados nas Tabelas 24 e 25. A massa inicial é a soma dos 6 sacos de 30g e a massa coletada na placa positiva e negativa é a soma dos 6 testes reciclados 5 vezes. A massa do resíduo foi a farinha coletada no fundo do equipamento que não se aderiu as placas.

**Tabela 24. Massa e rendimento do processo com farinha de grão de bico natural (Ubs 11,7%).**

	<b>Peso (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
Massa inicial	183,91	-
Massa placa positiva	8,5729	4,7
Massa placa negativa	20,9186	11,4
Massa resíduo	38,6238	21,0

Ubs: umidade base seca.

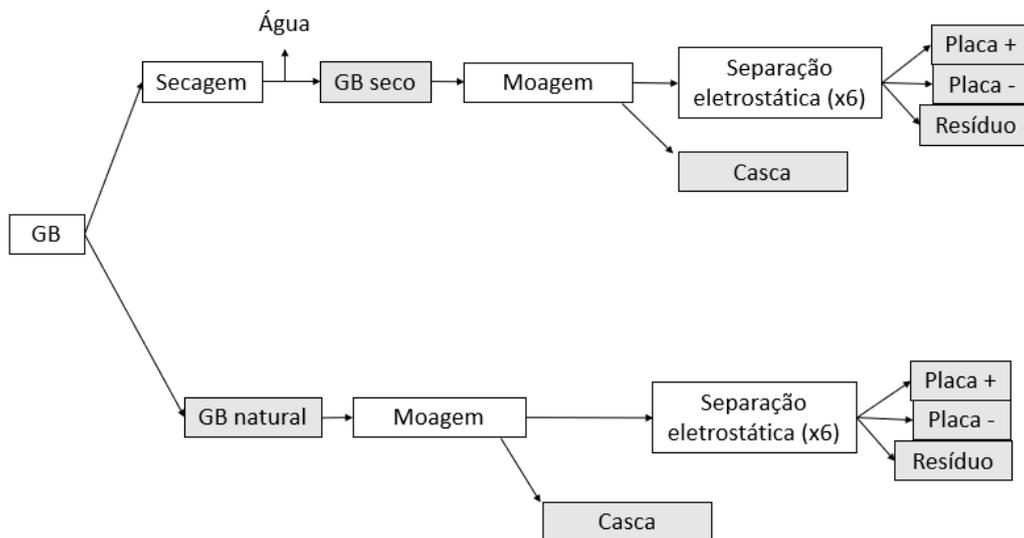
**Tabela 25. Massa e rendimento do processo com farinha de grão de bico seca (Ubs 6,9%).**

	<b>Peso (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
Massa inicial	184,86	-
Massa placa positiva	8,7826	4,8
Massa placa negativa	16,8969	9,1
Massa resíduo	35,5087	19,2

Ubs: umidade base seca.

O rendimento foi baixo, pois grande parte da farinha foi perdida no ar devido as aberturas contidas no equipamento. O mesmo foi construído para separação de material polimérico, ou seja, pedaços grande de material, dessa forma as aberturas não influenciavam no processo. Para a farinha essas aberturas no equipamento não foram adequadas.

Analisou-se também a composição proteica e umidade de cada fração destacada em cinza no processo esquematizado na Figura 38: Grão de bico moído, grão de bico moído seco, casca separada na moagem, casca seca separada na moagem, placa positiva, negativa e resíduo coletados no processo com farinha seca e natural.



**Figura 38.** Esquema processo separação eletrostática.

O resultado de composição das frações está apresentado na Tabela 26.

**Tabela 26. Composição das frações.**

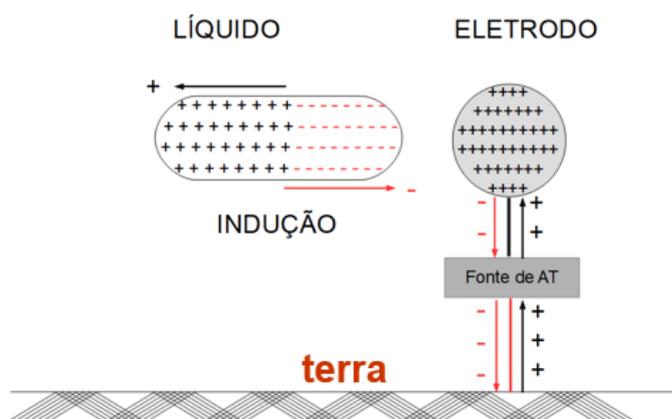
		Ubs (%)	Proteína (%)	Cinzas (%)	Lipídeos (%)	Carboidratos (%)
Processo farinha sem secagem	GB moído	11,59 ± 0,05	19,3 ± 0,00	2,82 ± 0,02	4,49 ± 0,02	61,80
	Casca	11,34 ± 0,09	22,1 ± 0,31	3,39 ± 0,02	3,48 ± 0,10	59,68
	Placa positiva	11,78 ± 0,33	18,2 ± 0,04	-	-	-
	Placa negativa	12,74 ± 0,38	18,2 ± 0,18	-	-	-
	Resíduo	12,26 ± 0,22	22,0 ± 0,00	-	-	-
Processo farinha seca	GB moído	7,74 ± 0,06	19,4 ± 0,18	2,88 ± 0,03	4,11 ± 0,16	65,91
	Casca	8,04 ± 0,06	23,0 ± 0,13	3,30 ± 0,01	3,17 ± 0,06	62,49
	Placa positiva	11,81 ± 0,47	18,4 ± 0,00	-	-	-
	Placa negativa	11,58 ± 0,30	18,3 ± 0,09	-	-	-
	Resíduo	10,76 ± 0,36	20,4 ± 0,13	-	-	-

Média ± Desvio Padrão; n = 3, sendo n = número de repetições utilizadas.

Ubs: unidade base seca.

Esse primeiro teste de separação triboeletrostática não concentrou a proteína em nenhuma das frações. Pode-se concluir novamente que a moagem não foi suficiente para separação dos componentes, amido e proteína, portanto a moagem não foi adequada.

Além disso, foi verificado alguns pontos de melhoria no equipamento utilizado, não havia aterramento na placa onde foi induzida a carga positiva. Dessa forma, conforme a placa foi somente polarizada, conforme Figura 39, pois sem o aterramento não é possível transferir a carga negativa do material, deixando o corpo neutro polarizado.

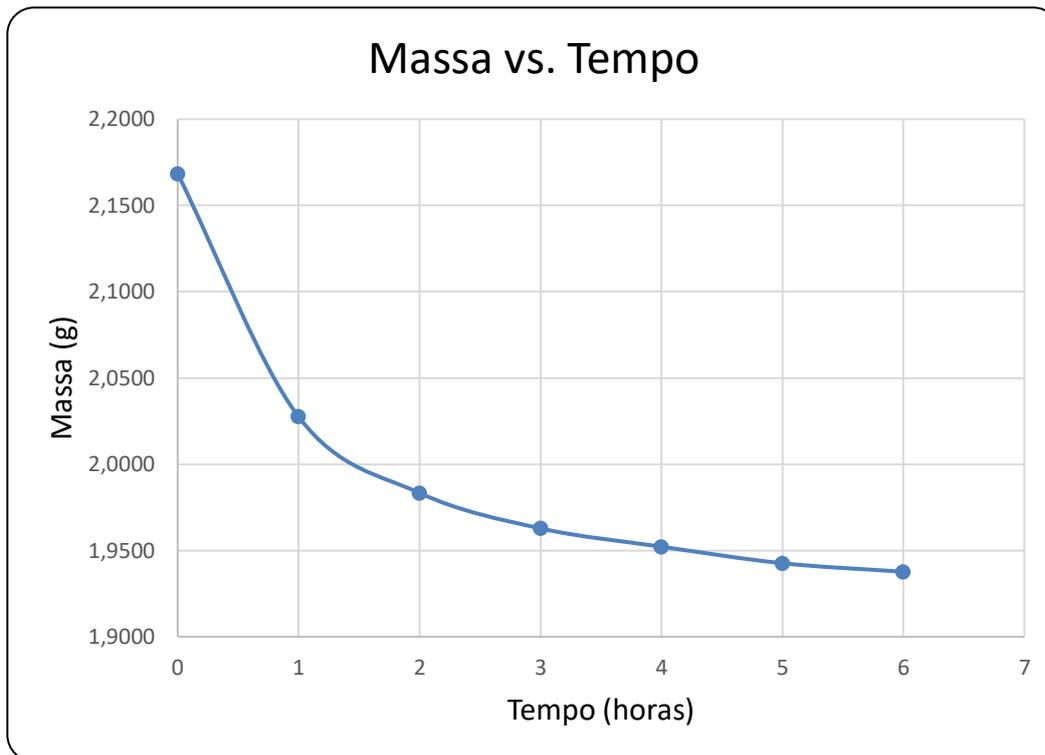


**Figura 40.** Sistema de indução de cargas - Polarização.

Fonte: CHAIM, 2022.

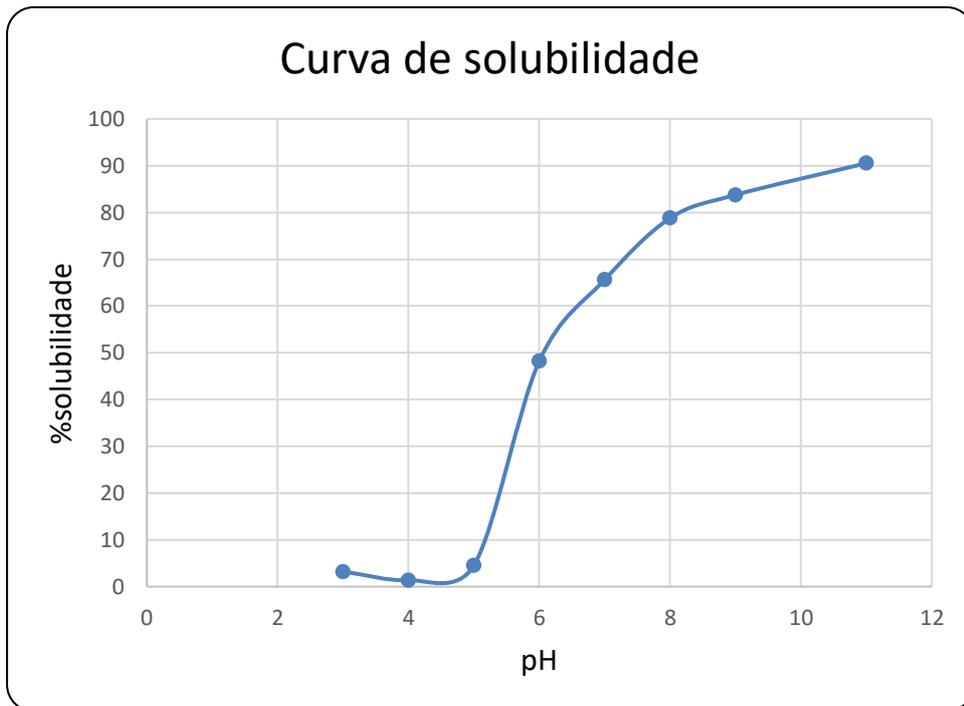
## ANEXO I - ANÁLISES COMPLEMENTARES

### 1) CURVA SECAGEM GRÃO DE BICO



**Figura A 1.** Curva de secagem do grão de bico (Média triplicata).

## 2) CURVA SOLUBILIDADE FARINHA DE GRÃO DE BICO



**Figura A 2.** Curva de solubilidade da farinha de grão de bico (Média triplicata).

### 3) AMIDO DANIFICADO

**Tabela A 1. Amido danificado farinha micronizada de 5,60 µm.**

n	Massa da amostra (g)	Vabs p/ 80% (s)	Ai (%)	UCD	UCDC	AACC 76-314	Farrand
1	1,00	41,0	99,78	36,3	37,1	12,79	87,23
2	1,00	40,0	99,85	36,5	37,3	12,89	88,22
3	1,00	41,0	99,76	36,3	37,1	12,76	86,94
<b>média</b>	<b>1,00</b>	<b>40,7</b>	<b>99,80</b>	<b>36,4</b>	<b>37,2</b>	<b>12,81</b>	<b>87,46</b>
<b>desvio</b>	<b>0,00</b>	<b>0,58</b>	<b>0,05</b>	<b>0,1</b>	<b>0,1</b>	<b>0,07</b>	<b>0,67</b>
CV (%)	0%	1%	0%	0%	0%	1%	1%

**Tabela A 2. Amido danificado farinha micronizada de 11,82 µm.**

n	Massa da amostra (g)	Vabs p/ 80% (s)	Ai (%)	UCD	UCDC	AACC 76-314	Farrand
1	1,00	63,0	96,17	26,7	27,3	8,11	43,36
2	1,00	61,0	96,30	27,0	27,6	8,26	44,66
3	1,00	61,0	96,26	26,9	27,5	8,21	44,26
<b>média</b>	<b>1,00</b>	<b>61,7</b>	<b>96,24</b>	<b>26,9</b>	<b>27,5</b>	<b>8,19</b>	<b>44,09</b>
<b>desvio</b>	<b>0,00</b>	<b>1,15</b>	<b>0,07</b>	<b>0,2</b>	<b>0,2</b>	<b>0,08</b>	<b>0,67</b>
CV (%)	0%	2%	0%	1%	1%	1%	2%

#### 4) CURVAS DSC – TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VITREA

Fração proteica – Ubs 4,08%

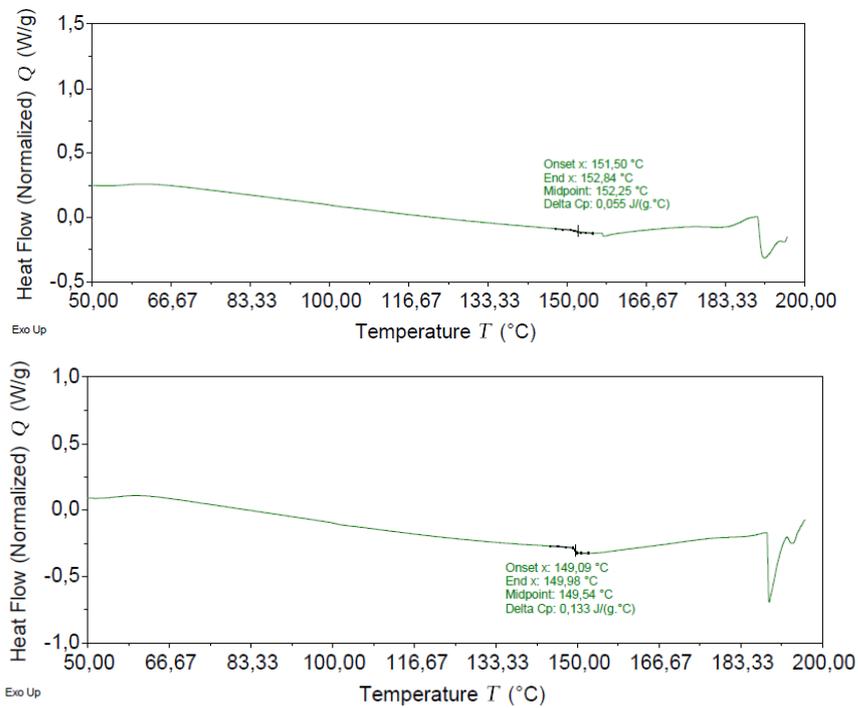


Figura A 3. Curva Tg fração proteica Ubs 4,08%.

### Fração proteica – Ubs 6,55%

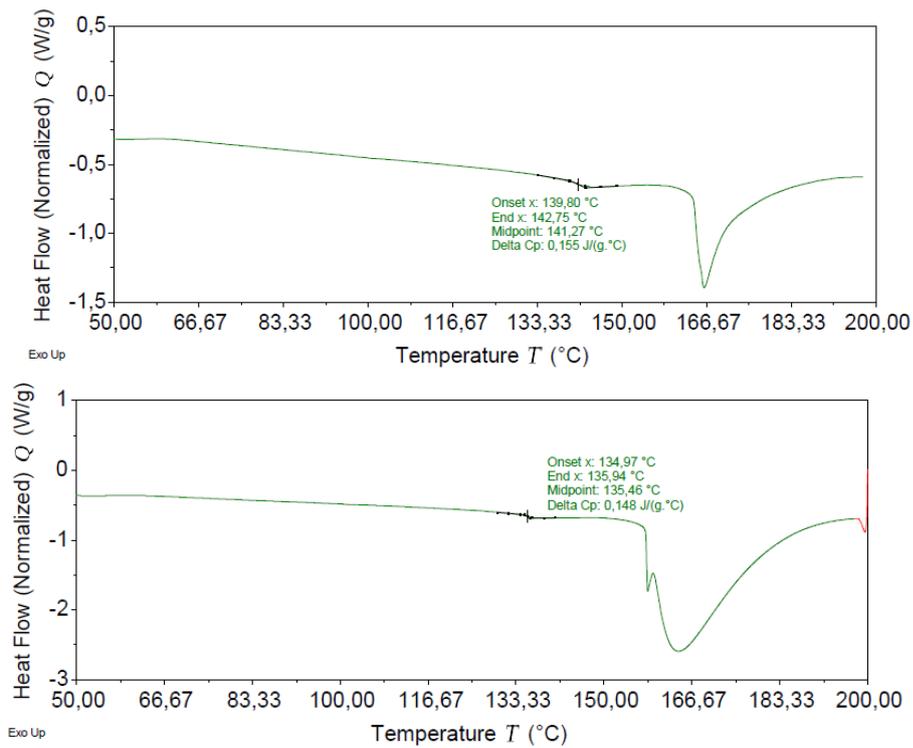


Figura A 4. Curva Tg fração proteica Ubs 6,55%.

### Fração proteica – Ubs 11,79%

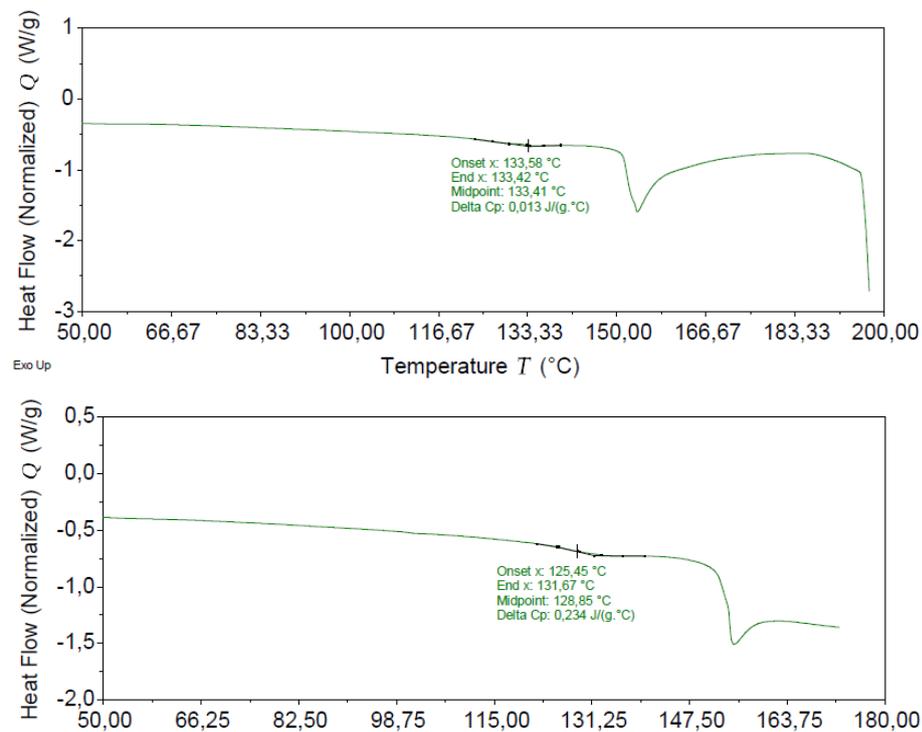


Figura A 5. Curva Tg fração proteica Ubs 11,79%.

### Fração proteica – Ubs 15,68%

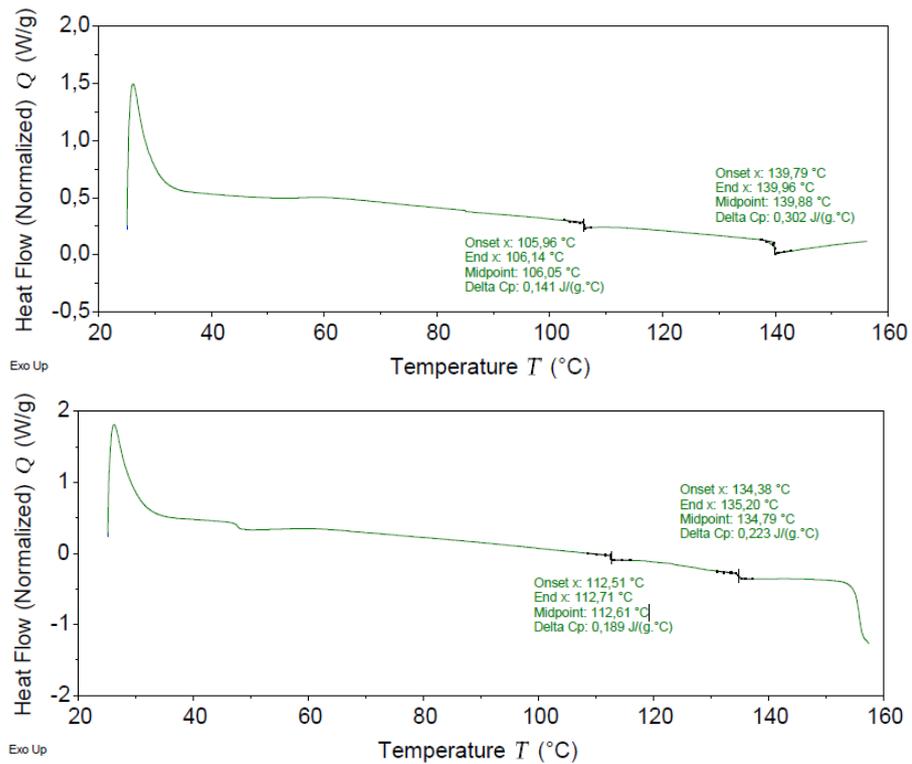


Figura A 6. Curva Tg fração proteica Ubs 15,68%.

### Fração amilácea – Ubs 3,37%

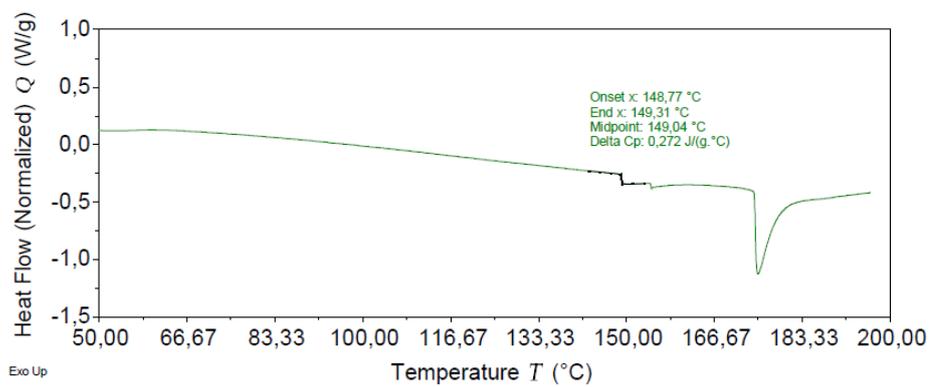


Figura A 7. Curva Tg fração amilácea Ubs 3,37%.

### Fração amilácea – Ubs 5,71%

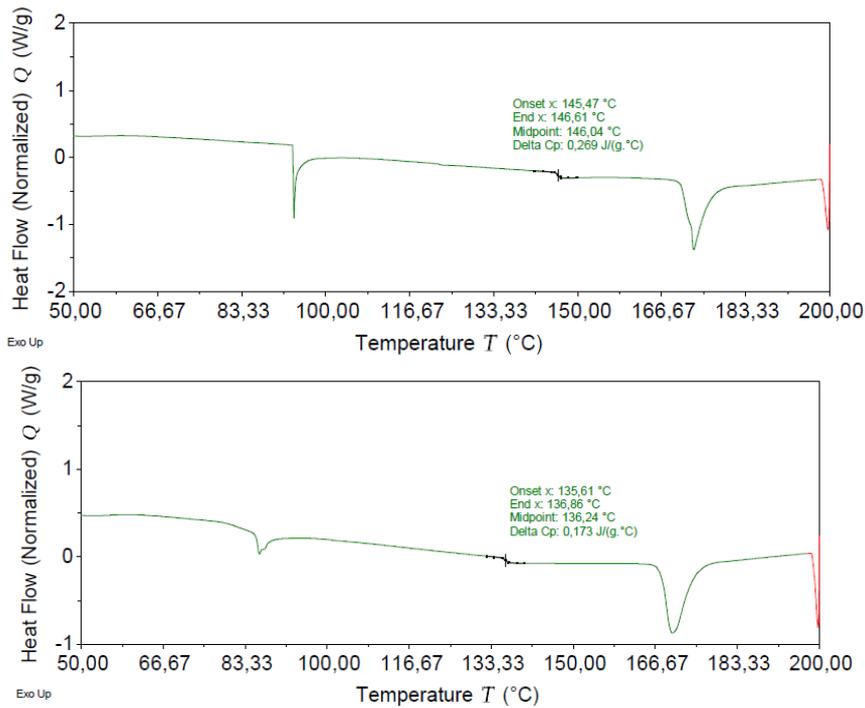


Figura A 8. Curva Tg fração amilácea Ubs 5,71%.

### Fração amilácea – Ubs 7,29%

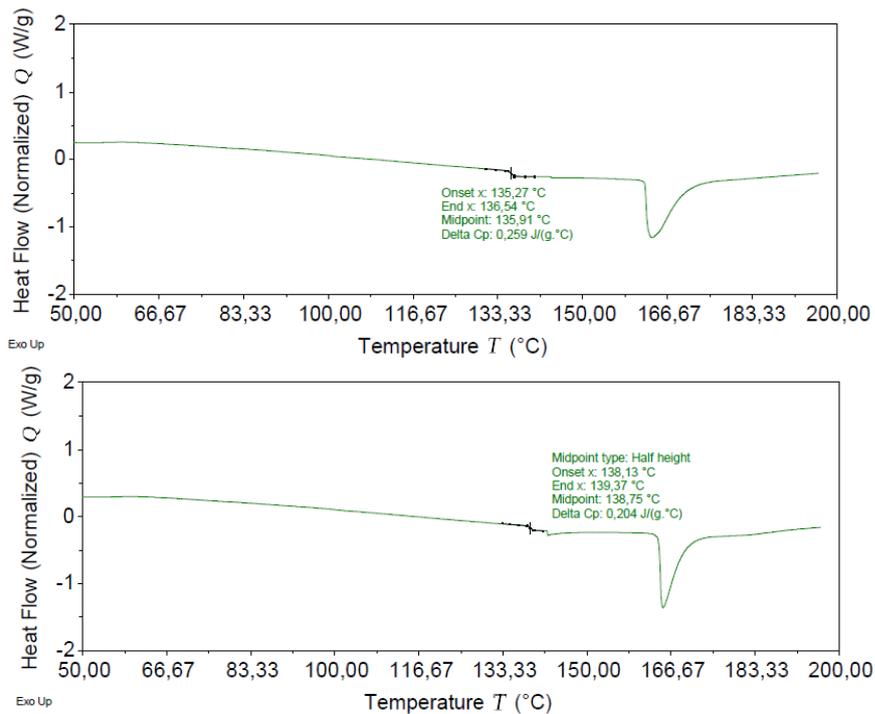


Figura A 9. Curva Tg fração amilácea Ubs 7,29%.

## Fração amilácea – Ubs 19,37%

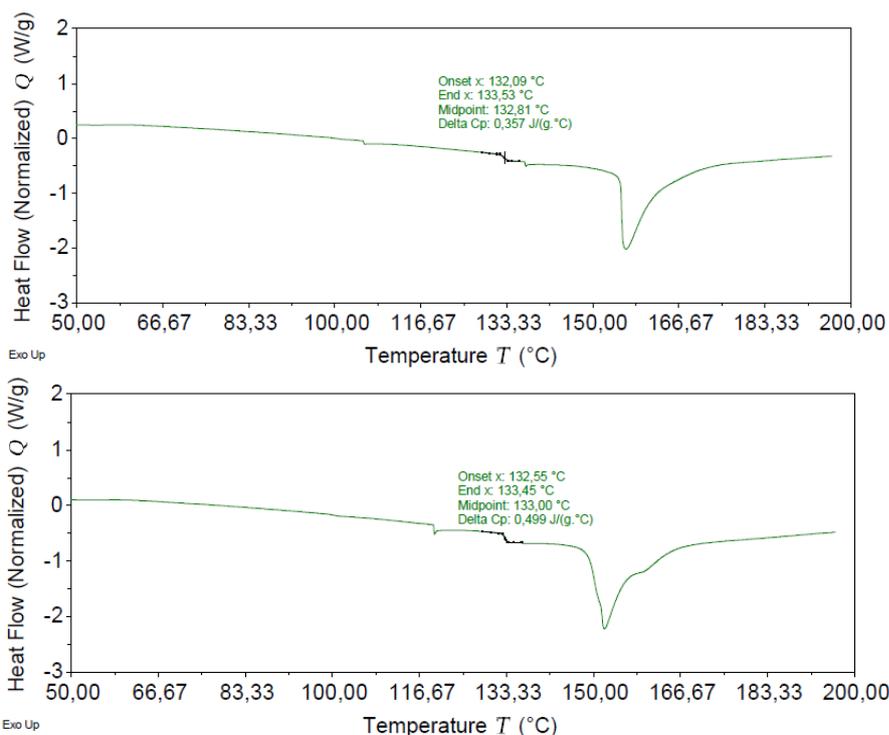


Figura A 10. Curva Tg fração amilácea Ubs 19,37%.

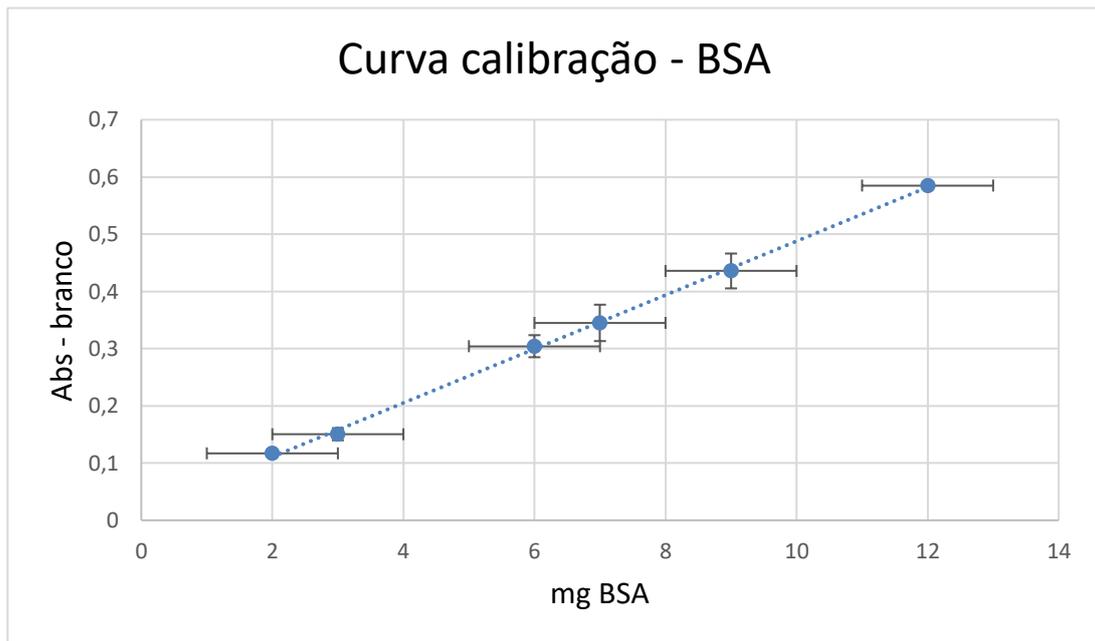
## 5) METODOLOGIA ANÁLISE BRADFORD

### - Teor proteico da mistura modelo (amido de milho + proteína do soro de leite):

Para análise proteica da mistura foi realizada uma curva de calibração com BSA (*Bovine serum albumin*) composto 100% de albumina. Foi pesado 10,9 mg de BSA em 2 ml de NaOH (0,1M), dessa forma obteve-se uma solução mãe de 5,45mg BSA/mlNaOH. Essa solução foi diluída 109 vezes obtendo 0,05 mg/ml.

A partir da solução mãe foram preparados 4 soluções com a quantidade de BSA (proteína) conhecida: (1): 3mg, (2): 6mg, (3): 7mg, (4): 9mg. 2 e 12 mg de BSA.

Foi realizada a leitura de absorvância em espectrofotômetro para cada solução com o comprimento de onda definido em 595 nm. Foram realizadas no mínimo 3 repetições de cada solução e uma leitura dos pontos adicionados e obteve-se a curva abaixo:



**Figura A 11.** Curva calibração BSA.

A partir da regressão linear, obteve-se a equação:

$$y = 0,0475x + 0,0127$$

Sendo, y o valor da absorvância lida no espectrofotômetro menos a leitura da branco e o x a quantidade de mg de BSA.

Essa equação foi utilizada para obter o teor proteico através da multiplicação da quantidade de proteína pela diluição da solução, esse valor dividido pela alíquota de solução misturada com o reagente Bradford e por último a divisão desse valor pela concentração da solução.

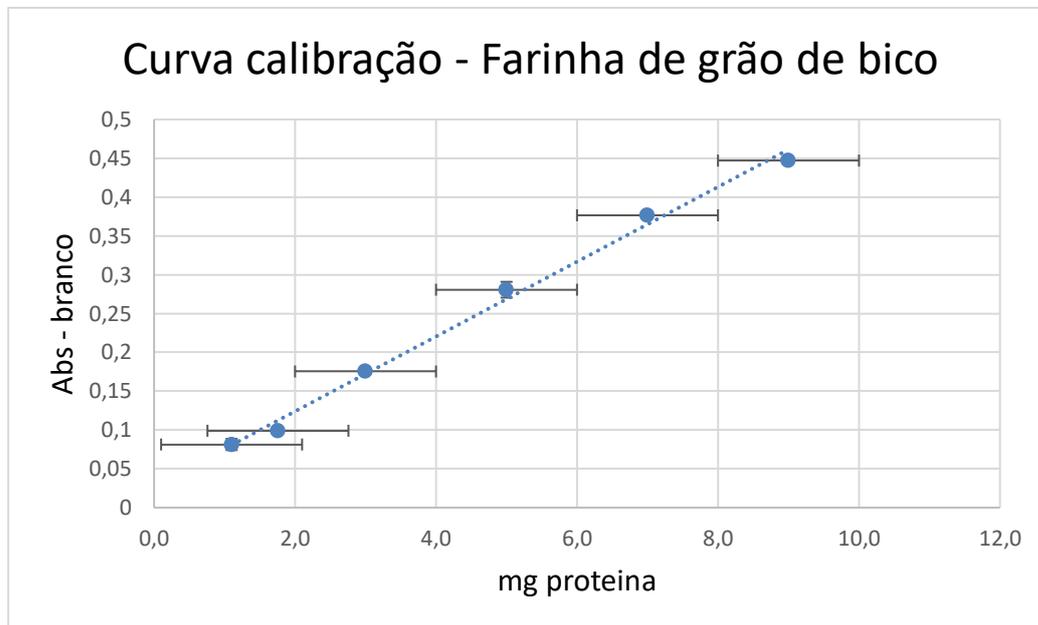
#### **- Teor proteico da farinha de grão de bico:**

Para análise proteica das frações obtidas da farinha de grão de bico, foi realizada uma curva de calibração com a própria farinha de grão de bico.

O princípio é o mesmo da curva obtida pelo BSA, porém neste caso a concentração de proteína na farinha era de 20,97%. Dessa forma a concentração da solução em NaOH foi de 2,097 mg de proteína/ml NaOH. Essa solução mãe foi diluída 40 vezes e obteve-se uma solução de 0,0524 mg/ml.

A partir da solução foram preparados 3 soluções com a quantidade de proteína conhecida: (1): 1,1mg, (2): 3mg, (3): 5mg. 1,8, 7 e 9 mg de BSA.

Foi realizada a leitura de absorvância em espectrofotômetro para cada solução com o comprimento de onda definido em 595 nm. Foram realizadas no mínimo 3 repetições de cada solução e uma leitura dos pontos adicionados e obteve-se a curva abaixo:



**Figura A 12.** Curva calibração farinha moída de grão de bico.

A partir da regressão linear, obteve-se a equação:

$$y = 0,0488x + 0,0285$$

Sendo, y o valor da absorvância lida no espectrofotômetro menos a leitura da branco e o x a quantidade de mg de proteína.