

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JOELLINGTON MARINHO DE ALMEIDA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AQUAFABA DE
GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietnum* L.): PROPRIEDADES
TECNOLÓGICAS E BIOLÓGICAS

JOÃO PESSOA

2020

JOELLINGTON MARINHO DE ALMEIDA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AQUAFABA DE
GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietnum* L.): PROPRIEDADES
TECNOLÓGICAS E BIOLÓGICAS

JOÃO PESSOA

2020

JOELLINGTON MARINHO DE ALMEIDA

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AQUAFABA DE
GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietnum* L.): PROPRIEDADES
TECNOLÓGICAS E BIOLÓGICAS

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Ciência e Tecnologia de
Alimentos, do Centro de
Tecnologia, Universidade Federal
da Paraíba em cumprimento aos
requisitos para obtenção do título
de Mestre em Ciência e
Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Tatiane Santi Gadelha

JOÃO PESSOA

2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A447o Almeida, Joellington Marinho de.

Obtenção e caracterização de aquafaba de grão-de-bico
(*Cicer arietinum* L.) : propriedades tecnológicas e
biológicas / Joellington Marinho de Almeida. - João
Pessoa, 2020.

83 f. : il.

Orientação: Tatiane Santi Gadelha.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Leguminosas - Grão-de-bico. 2. Águas de conserva. 3.
Subproduto alternativo. 4. Proteínas funcionais. 5.
Atividade biológica - Proteínas. I. Gadelha, Tatiane
Santi. II. Título.

UFPB/BC

CDU 635.657(043)

JOELLINGTON MARINHO DE ALMEIDA

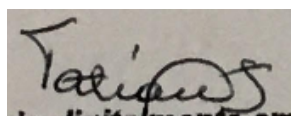
**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AQUAFABA DE GRÃO-DE-BICO
(*Cicer arietinum* L.): PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS E BIOLÓGICAS**

Dissertação:

APROVADA

em 29/ 06/ 2021

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a. Dr.^a. Tatiane Santi-Gadelha – PPGCTA/ CCEN/ UFPB

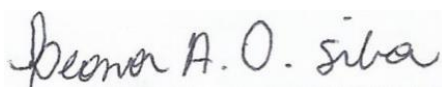
Coordenadora da Banca Examinadora



Prof.^a. Dr.^a. Ângela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro – PPGCTA/ CTDR/

UFPB

Examinador Interno



Prof.^a Dr.^a. Leonor Alves de Oliveira da Silva

Examinador Externo

*A Deus que me manteve de pé durante
esta caminhada.*

*Aos meus pais, Almaiza Marinho
Pachêco e José Antônio de Almeida,
pelo amor que a mim sempre foi dado.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por todo cuidado e zelo durante a caminhada, e seu amor a mim ofertado!

Aos meus pais, Almaiza Marinho Pachêco e José Antônio de Almeida, por sempre desejarem meu sucesso profissional, ao amor a mim atribuído...

As minhas irmãs, Joseane Marinho de Almeida e Josemary Marinho de Almeida, por toda solidariedade, companheirismo e amor.

A minha sobrinha, Alícia Almeida, por todos beijinhos e amor mais puro que titio tanto ama.

As minhas amigas, Thálita Oliveira, Amanda Carmo, Maeli Avelino e Paula Perazzo por todo carinho, amor, companheirismo, alegrias, sorrisos.... Vocês são maravilhosas e as amo muito.

Aos amigos, Matheus Arthur, Valter Souto e Joanderson Candido, por todas as gargalhadas, amo vocês.

A minha amiga irmã, Amanda da Silva Gomes – Ameixa (*In memoriam*), por todo amor incondicional emanado enquanto vida, por todos saberes compartilhados, todas risadas, todos os nossos passeios à praia e viagens, amarei sempre você e nos encontraremos um dia no céu! Te amo muito amiga...

À Prof^a Dra. Maria Elieidy, Prof^a Dra. Ângela e Prof^a Dra. Leonor por todo carinho e contribuições em minha dissertação.

À Prof^a Dra. Tatiane Santi Gadelha, por toda paciência, ensinamentos, compartilhamento de saberes.

À equipe do BioGer e LAPROTE, Isabel, Karol, Raquel, Eugênia, Samuel, David, Renato e Seu Bené, por todo coleguismo.

À equipe do Laboratório de *Flavor* e a Prof^a Dra. Marta Madruga.

À coordenação do PPGCTA e a secretária Fernanda, por estar sempre solícita e ser sempre gentil.

À CAPES pelo financiamento da pesquisa.

A todos que colaborarão de forma direta ou indiretamente na realização e conclusão de mais uma etapa em minha vida acadêmica.

RESUMO

Aquafaba é o líquido viscoso, subproduto da cocção de grão de leguminosas, obtido da conserva de leguminosa, em especial do grão-de-bico, geralmente descartado. Este produto possui alta concentração de proteínas com capacidade de produção de espumas e de emulsão estável, propriedades que permitem funcionar como estabilizantes na elaboração de novos produtos alimentícios, explorados para fins comerciais. Diante do exposto, buscou-se elaborar um processamento viável para a obtenção da aquafaba (com pressão – CP, e sem pressão – SP) que otimize e mantenha suas propriedades tecnológicas. Para tanto, foram avaliados as suas características tecnológicas, perfil proteico e de carboidratos e o potencial antibacteriano proteico frente a cepas patogênicas: *S. aureus*, *Salmonella* e *E. coli*. As informações obtidas pelas análises confirmam a adequação do processamento e demonstraram que a cocção com pressão no tempo de 15 minutos (CP15), e sem pressão, no tempo de 20 minutos (SP20), foram mais promissoras com relação aos parâmetros de formação e estabilidade de espumas, capacidade e estabilidade emulsificantes, e fração da fase gasosa, com relação aos demais tempos de cocção (CP10, CP20, SP10, SP15). A melhor estabilidade durante a cinética de drenagem (% DR) foi verificada para a amostra CP15 e o tempo de meia vida (TMV) para a SP20. As estruturas das espumas nos tempos de *overrun* inicial e máximo demonstram que a amostra CP15 possui bolhas mais desordenadas com fragmentação no decorrer do tempo SP20 possui bolhas com predominância menor e mais estáveis. A solubilidade proteica correspondeu a valores de pH 7,0 para CP15 e 8,0 para SP20. As amostras CP15 e SP20 possui alta taxa de sacarose e proteínas que possui massa moleculares com variação de 76 kDa a 38 kDa identificadas como albuminas e gltelinas. A atividade antibacteriana foi verificada para *S. aureus* e *S. typhi*, nas concentrações de 7,812 (CP15) e 15,625 µg/mL (SP20) respectivamente, não havendo inibição para *E. coli*. Os procedimentos adotados neste trabalho mostram que o tempo de 15 min de cocção com pressão e 20 minutos sem pressão foram indicados para a produção de aquafaba com melhores propriedades tecnológicas funcionais. Os tratamentos aplicados para a obtenção da aquafaba confirmaram que o tempo e a forma de cocção devem ser levadas em consideração para obter melhores características emulsificantes e estabilizantes demonstrando a viabilidade de aplicação da aquafaba como potencial alimento alternativo para veganos e vegetarianos. Além disso, o conteúdo proteico da aquafaba pode ser aplicado como agente antimicrobiano.

Palavras-chave: subproduto alternativo, águas de conserva; leguminosas; proteínas funcionais; atividade biológica de proteínas, potencial inovador

ABSTRACT

Aquafaba is the viscous liquid, a by-product of cooking leguminous grains, obtained from canned legumes or through the cooking process, especially chickpeas, which are usually discarded. This product has a high concentration of proteins with the capacity to produce foams and a stable emulsion, properties that allow it to function as stabilizers in the preparation of new food products, exploited for commercial purposes. In view of the above, sought to develop a viable processing to obtain aquafaba (with pressure - CP, and without pressure - SP) that optimizes and maintains its technological properties. For this, their technological characteristics, protein and carbohydrate profile and the antibacterial protein potential against *S. aureus*, *Salmonella* and *E. coli* strains were evaluated. The information obtained by the analyzes confirmed the adequacy of the processing and showed that cooking with pressure in 15 minutes (CP15), and without pressure in 20 minutes (SP20), were more promising in relation to the parameters of formation and stability of foams, emulsifying capacity and stability, and fraction of the gas phase, in relation to the other cooking times (CP10, CP20, SP10, SP15). The best stability during drainage kinetics (% DR) was verified for the CP15 sample and the half-life (TMV) for the SP20. The foam structures in the initial and maximum overrun times demonstrate that the CP15 sample has more disordered bubbles with fragmentation over time SP20 has smaller and more stable bubbles. The protein solubility corresponded to pH values 7.0 for CP15 and 8.0 for SP20. The CP15 and SP20 samples have a high rate of sucrose and proteins that have molecular mass ranging from 76 kDa to 38 kDa, identified as albumin and glutelin. The antibacterial activity was verified for *S. aureus* and *S. typhi*, at concentrations of 7.812 (CP15) and 15.625 µg / mL (SP20) respectively, with no inhibition for *E. coli*. The procedures adopted in this work show us that the time of 15 min of cooking with pressure and 20 minutes without pressure were indicated for the production of aquafaba with better functional technological properties. The treatments applied to obtain aquafaba confirmed that the time and form of cooking must be taken into account to obtain better emulsifying and stabilizing characteristics, demonstrating the feasibility of applying aquafaba as a potential alternative food for vegans and vegetarians. In addition, the protein content of aquafaba can be applied as an antimicrobial agent.

Keywords: alternative by-product, canned water; legumes; functional proteins; biological activity of proteins, innovative potential

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: <i>Cicer arietinum</i> L. - Grão-de-bico	20
Figura 2: Imagem do Grão-de-bico Desi e Kabuli, respectivamente.	21
Figura 3: (a) Semente do grão-de-bico e sua constituição e (b) o embrião sem revestimento.	23
Figura 4: Estrutura da espuma da clara de ovo.....	27
Figura 5: Movimento da proteína a interface.	28
Figura 6: Configuração polipeptídica da cadeia proteica.	29
Figura 7: Esquema de formação de espumas a partir de uma solução proteica (1) e a homogeneização das bolhas (5).....	31
Figura 8: Ilustração das espumas em função da fração da fase gasosa	31
Figura 9: Formação de emulsão: (a) rompimento das gotas; (b) interface formada; (c) recoalescência; (d) gotas com cobertura suficiente de surfactantes.	34
Figura 10: Estabilização eletrostática em emulsões.	35
Figura 11: Interação espacial entre proteínas adsorvidas	35
Figura 12: Delineamento experimental de análises da aquafaba de grão-de-bico	Erro!
Indicador não definido.	
Figura 13: Grão-de-bico adquirido do mercado local de João Pessoa – PB.....	38
Figura 14: Fluxograma de obtenção da aquafaba de grão-de-bico.....	39
Figura 15: Aquafaba processada sem e com pressão nos tempos 20 e 15 minutos, respectivamente.	40
Figura 16: Esquema de drenagem da espuma em um intervalo de repouso.....	43

ARTIGO

Figura 1 – Cinética de estabilidade das percentagens de drenado (%DR) das espumas de aquafaba com pressão e sem pressão.....	87
Figura 2 – Tempo de meia vida (TMV) da amostra de aquafaba obtida com pressão no tempo de 15 minutos.....	88
Figura 3 – Tempo de meia vida (TMV) da amostra de aquafaba obtida sem pressão no tempo de 20 minutos.....	88
Figura 4 – Micrografia das espumas da aquafaba CP15 no tempo inicial de <i>overrun</i> máximo.....	89

Figura 5 – Micrografia das espumas da aquafaba CP15 após 30 minutos.....	90
Figura 6 – Micrografia das espumas da aquafaba SP20 no tempo inicial de <i>overrun</i> máximo.....	91
Figura 7 – micrografia das espumas da aquafaba SP20 após 30 minutos.....	91
Figura 8 – Relação pH x solubilidade das proteínas das amostras de aquafaba e farinha de grão-de-bico.....	93
Figura 9 – SDS-PAGE (12,5%) das amostras de aquafaba CP15 e SP20 com marcador (P).....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição de aminoácidos no grão-de-bico.....	25
---	----

ARTIGO

Tabela 01: Formação de espuma (FE), estabilidade espumante (EE), atividade emulsionante (AE), estabilidade emulsionante (ES) e fração gasosa (ϕ).....	86
Tabela 02: Percentagem de drenado de aquafaba com e sem pressão.....	86
Tabela 03: Variação de solubilidade proteica em diferentes pH das proteínas da aquafaba e farinha de grão-de-bico.....	86
Tabela 04: Avaliação da cor da farinha e do grão-de-bico <i>in natura</i>	96
Tabela 05: Composição proximal e física da aquafaba de grão-de-bico obtida com e sem pressão.....	96
Tabela 06: Perfil de açúcares das amostras de aquafaba obtidas com e sem pressão nos melhores tratamentos.....	98
Tabela 07: Avaliação da atividade antibacteriana das amostras CP15, SP20 e FGB frente a <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>S. typhi</i>	101

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

° C – Graus Celsius

AE – Atividade Emulsionante

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BE – *Beef Extract*

BHA – Hidroxianosil de Butila

BHI – *Brain Heart Infusion*

BHT – Hidroxitolueno de Butila

BSA – Albumina Sérica Bovina

C- - Ausência de Crescimento Bacteriano

C+ - Presença de Crescimento Bacteriano

CAO – Capacidade de Absorção de Óleo

CE – Camada Emulsificada

CFG – Capacidade de Formação de Gel

CMI – Concentração Mínima Inibitória

C_{proteína} – Porcentagem do Teor de Proteína da Amostra

CP – Com Pressão

DR – Drenagem

EE – Estabilidade da Espuma

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária

ERO – Espécies Reativas ao Oxigênio

ES – Estabilidade Emulsionante

FE – Formação de Espuma

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

FGB – Farinha de Grão-de-bico

g - Gramas

Gly – Glicina

H₂O – Fórmula Molecular da Água

IAA – Índice de Absorção de Água

ICARDA – *International Center for Agricultural Research in the Dry Area*

IE – Índice de Escurecimento

kDa – Kilodalton

mA – Miliampere

Md(t) – Massa do Drenado no Tempo

mg - Miligrama

MHB – *Muller Hinton Broth*

mL – Mililitro

Ms – Massa da Solução Inicial de Aquafaba

NaCl – Fórmula Molecular do Cloreto de Sódio

o/w – Óleo em água

P – Padrão

PCA – *Plate Count Agar*

pH – Potencial Hidrogeniônico

rpm – Rotação por Minuto

SDS – Dodecil Sulfato de Sódio

SP – Sem Pressão

SP_{proteína} – Solubilidade Proteica

TCA – Ácido Tricloracético

TMV – Tempo de Meia Vida

Tris-HCl – Tris Hidroclorídrico

UFC – Unidade Formadora de Colônia

V_{amostra} – Volume da Amostra ou Volume da Fase Aquosa

Vb – Volume de Aquafaba antes da homogeneização

Ve – Volume da Espuma

VTB – Volume Total do Tubo

Wc – Peso da Amostra

w/o – Água em óleo

µL – Microlitro

µm - micrômetro

LISTA DE SÍMBOLOS

Φ – Fração da fase gasosa

Δ - Delta

% - Percentagem

β - Beta

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 GRÃO-DE-BICO (<i>Cicer arietnum</i> L.), CONSUMO E IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL	20
2.2 AQUAFABA	25
2.3 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE PROTEÍNAS.....	26
2.3.1 Atividade de Superfície das Proteínas na Formação de Espumas.....	27
2.3.2 Capacidade Emulsificante	32
2.3.3 Solubilidade Proteica.....	35
2.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	36
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1 DELINEAMENTO DE ANÁLISES	38
3.1 AMOSTRAS.....	39
3.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	40
3.2.1 Processamento da aquafaba.....	40
3.3 CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA DA AQUAFABA E DA FARINHA DE GRÃO-DE-BICO.....	42
3.3.1 Capacidade Espumante e Estabilidade das Espumas da Aquafaba.....	42
3.3.2 Capacidade Emulsionante	44
3.3.3 Estabilidade Emulsionante	44
3.3.4 Percentagem de Drenado e Tempo de Meia Vida (TMV)	45
3.3.5 Análise de Estrutura das Espumas por Micrografia	46
3.3.6 Solubilidade do Conteúdo Proteico.....	47
3.4 CARACTERIZAÇÃO PROXIMAL E FÍSICA DA AQUAFABA E DA FARINHA DE GRÃO-DE-BICO	47
3.4.1 Proteínas	48
3.4.2 Medida de pH.....	48
3.4.4 Quantificação do teor de lipídios	48
3.4.5 Matéria Mineral (Cinzas)	48
3.4.7 Análise colorimétrica (cor).....	49
3.5 PERFIL DE AÇÚCARES DAS AMOSTRAS DE AQUAFABA	50
3.6 EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS E DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO PROTEICO.....	50
3.6.1 Extração de Proteínas Solúveis das Amostras.....	50

3.6.2 Determinação do Teor de Proteínas Solúveis	51
3.7 ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA EM PRESENÇA DE SDS E β -MERCAPTOETANOL.....	51
3.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	52
3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	52
REFERÊNCIAS	53
4 RESULTADOS	60
Artigo	59
5 CONCLUSÃO GERAL	86

1 INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma leguminosa e proteagínosa que para ser consumida passa por diversos processos, tais como imersão, cozimento, torrefação, germinação e vapor, que ocasionam modificações ultra estruturais que influenciam nas suas propriedades nutricionais, físicas e funcionais (AGUILERA et al., 2009; MITTAL et al., 2012). Sua comercialização pode ser realizada de diversas formas, além de *in natura*, em conservas e farinha, requerendo hidratação ou branqueamento antes do processamento. Pré-tratamentos como a lavagem e hidratação do grão garantem maciez e menor tempo de cocção devido à absorção de água pelo grão, auxiliando na manutenção da qualidade nutricional e melhoria da digestão das proteínas (SIMONI, 2017).

No entanto, diversos compostos caracterizados como antinutricionais, podem ser encontrados em matérias-primas de origem vegetal, que promovem a redução do seu valor nutritivo, interferindo na biodisponibilidade de proteínas e outras biomoléculas quando ingeridas. Estas substâncias podem migrar para as águas de conserva desses produtos quando embalados, havendo troca entre a matéria-prima e a solução despejada, dificultando a absorção de diversos minerais e ocorrendo inibição de enzimas proteolíticas, como tripsina, ou interferindo no metabolismo de vitaminas (BENEVIDES et al., 2011).

Mustafa et al. (2018) indicaram que as águas de conservas de leguminosas possuem propriedades tecnológicas passíveis de uso pela indústria de alimentos. O líquido viscoso obtido da conserva ou a partir da cocção do grão-de-bico, conhecido por “aquafaba”, possui propriedades emulsificantes, podendo ser utilizado como substituto do ovo e leite em produtos alimentícios, para obtenção de potenciais produtos vegetarianos (RÉVOLUTION VÉGÉTALE, 2014). No entanto, as propriedades

funcionais da aquafaba podem variar de acordo com a composição da semente de grão-de-bico, genótipo, tempo de cozedura e pressão (SHIM et al., 2018).

A aquafaba possui proteínas com propriedades nutricionais e funcionais, que são afetadas pela tecnologia durante o seu processamento. As modificações podem ser ocasionadas por alterações no pH como acidificação, tratamentos químicos, fermentação, entre outros (TOLDRÁ et al., 2017). Propriedades tecnológicas são atribuídas a aquafaba, quando utilizadas na elaboração de produtos, atuando como substituto de proteínas de origem animal, como a capacidade de formação e estabilidade de espumas ou estabilidade de emulsões. A aplicação do novo produto vem sendo reconhecido principalmente na comunidade vegana, mas, podendo ser utilizado também, por pessoas que possuem intolerância a lactose ou alergia a proteína do ovo (KEMP, 2007; MUSTAFA et al., 2018).

Assim, objetiva-se verificar a influência do processamento da aquafaba sob duas formas de cozimento, com pressão (CP) e sem pressão (SP) em tempos distintos de 10, 15 e 20 minutos, verificando suas propriedades tecnológicas, perfil de proteínas, açúcares e atividade antibacteriana.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 GRÃO-DE-BICO (*Cicer arietinum* L.), CONSUMO E IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é a terceira leguminosa mais consumida no mundo, após feijão e ervilha, devido à sua resistência à seca e aos insumos agrônômicos e econômicos comparativamente mais baixos, necessários para sua produção. Em 2014, o noroeste do México produziu 171.665 toneladas, que representava 1,20% do grão de bico no mundo (FAO, 2014). Sendo cultivado em regiões quentes, servindo como fonte de nutrição humana ao longo da história (ABBO et al., 2003).

Figura 1: *Cicer arietinum* L. - Grão-de-bico



Fonte: <http://www.adplda.com/pt/212/grao-de-bico>

No Brasil, o grão-de-bico ainda é desconhecido em diversas regiões, pelo seu cultivo ainda pouco difundido, o início do seu plantio começou em 2013, Cristalina – GO, que conta com a contribuição de agrônomos da Empresa Brasileira de Pesquisa

Agropecuária - Embrapa, que colaboram com o desenvolvimento da leguminosa. A demanda de produção é dedicada a exportação para países como Colômbia e Emirados Árabes, além da Índia que demonstrou interesse em importar o grão-de-bico produzido no Brasil. A Embrapa ainda realiza testes para expandir a produção do grão-de-bico em outros estados brasileiros como Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Distrito Federal, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (SANTOS, 2017).

A espécie *Cicer arietinum* L. se divide em dois grupos de acordo com o tamanho do grão, em Desi e Kabuli (VAN der MAESEN, 1972). O tipo Desi pode ser encontrado nas colorações marrom, amarelo, verde e preto, sendo seu consumo na forma de farinhas e grãos quebrados. Já, o Kabuli possui folhas, vagens e grãos maiores em comparação com o Desi, e também maiores concentrações de sacarose, com melhor valor de mercado (GAUR et al., 2010).

Também pertencente ao grupo Kabuli, a cultivar Cícero que se desenvolve em ambientes secos e de altas altitudes. Apesar de não ser exigente com relação a água, necessita de uma irrigação complementar (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2014).

As cultivares Aleppo e Cícero são disponibilizadas pela Embrapa Hortaliças para Universidades, Instituições de Pesquisa, agricultores, Empresas de Planejamento e Órgãos Governamentais (SIMONI, 2017).

Figura 2: Imagem do Grão-de-bico Desi e Kabuli, respectivamente.



Fonte: DREAMSTIME, 2017; CARVALHO, 2015.

No ICARDA (*International Center for Agricultural Research in the Dry Area*), localizado na Síria, foi desenvolvida através da junção de duas linhagens X99TH104/FLIP84-11 x S95082, a cultivar Aleppo, que faz parte do grupo Kabuli. O cultivar chegou ao Brasil através da Embrapa Hortaliças no ano de 2010, onde foram efetuados estudos referentes a sua produção em áreas irrigáveis para cultivo comercial. Os resultados do plantio das sementes foram satisfatórios, de modo que o grão-de-bico demonstrou ótima qualidade, além de suportar os fungos de solo. Dessa forma, a cultivar BRS Aleppo possui grande potencial para comercialização em conservas e consumo na sua forma seca (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2014).

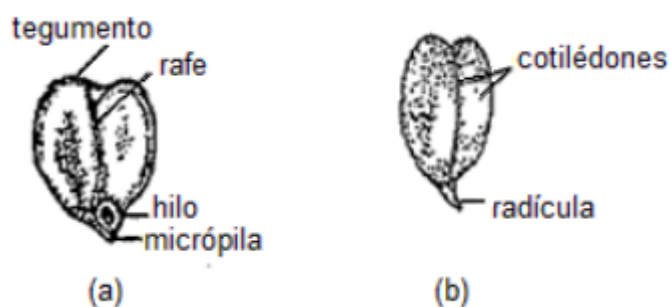
As indústrias buscam melhorar a situação econômica no desenvolvimento de produtos, evitando perdas, minimizando o tempo de processo e de baixo custo, e dessa forma reduzir os preços para o consumidor final. Como alternativa alimentar os subprodutos gerados durante o processamento têm sido fonte para suprir a demanda e viabilizar novos produtos. Subprodutos de origem vegetal são excelentes fontes de nutrientes que se encontram presentes nas sementes como fonte alternativa de minerais, proteínas, lipídeos e carboidratos na dieta humana.

A semente do grão-de-bico possui em sua estrutura duas camadas de revestimento, denominadas de testa exterior e tégmen interior, e dois cotilédones que formam o embrião. O embrião é protegido pelo tegumento contra a ação de agentes exteriores, que quando danificado influencia na germinação e conservação durante armazenamento do grão (KOBLITZ, 2011).

Existe uma abertura na base do grão denominada de micrópila, logo acima o hilo que permite a ligação da semente a vagem (FIGURA 3a) e uma crista formada pelo folículo chamada de rafe. Os dois cotilédones formam o maior eixo embrionário no embrião, local onde se acumulam substâncias de reserva, amido e proteínas, que

auxiliam na absorção de nutrientes, através da plúmula e radícula situadas na extremidade do bico (FIGURA 3b) (SINGH; DIWACAR, 1995).

Figura 3: (a) Semente do grão-de-bico e sua constituição e (b) o embrião sem revestimento.



Fonte: Adaptado de Singh e Diwacar (1995).

O grão-de-bico como uso medicinal é conhecido como o grão da felicidade, por possuir um aminoácido essencial na produção de serotonina, o triptofano que causa sensação de bem-estar. Em sua composição também é possível ser encontrados compostos como o ômega-3, capaz de combater o colesterol (LDL) e prevenindo doenças cardiovasculares. Podendo auxiliar no tratamento da obesidade e diabetes, devido ao seu teor de fibras e carboidratos fazendo com que o metabolismo atue de forma lenta. O seu uso também se torna bastante comum na reposição hormonal pelo acúmulo de fitoestrógenos (MAITI, 2001).

As principais proteínas presentes na semente são globulinas (56%), glutelinas (18%), albuminas (12%), prolamina (3%), fazendo com que o grão se destaque entre outras leguminosas, como a soja e lentilha, principalmente pelo teor de glutelinas (CHANG et al., 2012). Segundo Wood e Grusak (2007), o índice de energia/caloria fornecida pelas duas variedades de grão-de-bico, Kabuli e Desi, são diferenciadas. A energia oriunda pela ingestão do grão tipo Kabuli pode girar em torno de 357-446

Kcal/100 g e do tipo Desi, 334-437 Kcal/100 g, mesmo quando cultivados nas mesmas condições.

As proteínas encontradas em sua composição são de alto valor nutricional, quando comparado com outras leguminosas. Fazem parte de sua estrutura oito dos nove aminoácidos essenciais: fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, triptofano, metionina, valina e treonina, apresentando também, arginina e os ácidos aspártico e glutâmico; vitaminas e minerais (Tabela 1). Além do mais, seu baixo índice glicêmico auxilia no controle de açúcar no sangue. Contribuindo para uma alimentação saudável e equilibrada para milhões de pessoas, fazendo com que aumente a procura do grão (CHAVAN et al., 2009; FERREIRA; BRAZACA; ARTHUR; 2006; KAUR; SINGH, 2007; JUKANTI et al., 2012).

Tabela 1: Composição de aminoácidos no grão-de-bico

Aminoácido	Concentração (g.100g⁻¹ de grão-de-bico úmido)
Isoleucina	0,36
Leucina	0,48
Lisina	0,91
Metionina	0,12
Fenilalanina	0,42
Treonina	0,06
Valina	0,38
Arginina	0,48
Histidina	0,24
Alanina	0,26
Ácido aspártico	0,58
Ácido glutâmico	1,67
Glicina	0,26
Prolina	0,24
Serina	0,12
Tirosina	0,19

Fonte: BOYE; ZARE; PLETCH, 2010

O grão-de-bico é ótima fonte de minerais, como potássio (1250 mg/100 g), fósforo (402 mg/100 g), magnésio (136 mg/100 g) e outros de menor teor (FERREIRA;

BRAZACA; ARTHUR, 2006). O conteúdo de minerais apresentado pelo grão-de-bico é capaz de suprir a deficiência em seres humanos, além do conteúdo de vitamina C, E, K, complexo B (B1, B2, B3, B5, B6 e B9) e carotenóides (WOOD; GRUSAK, 2007).

2.2 AQUAFABA

A aquafaba é o líquido obtido através da cocção dos grãos-de-bico ou durante o processo de sua conserva (RÉVOLUTION VÉGÉTALE, 2014) que geralmente é descartado após o processo. Algumas análises como eletroforese e de expressão de peptídeos em aquafaba, revelaram que as proteínas presentes possuem baixo peso molecular (≤ 25 kDa), sendo provavelmente albuminas com propriedades funcionais espumantes (KAPP & BAMFORTH, 2002; SINGH et al., 2008).

A busca por novas fontes de alimentos e reutilização de subprodutos gerados durante o processamento atraem a atenção sob aspectos tecnológicos que podem estar presentes pelo resíduo obtido. As águas de conservas alimentícias utilizadas em produtos muitas vezes de origem vegetal, são desperdiçadas e jogadas ao ambiente, por não se ter conhecimento dos compostos que são gerados quando entram em contato com a matéria-prima, como ervilha, milho, grão-de-bico, entre outras.

Muitas formulações de alimentos, particularmente produtos de panificação, sobremesas lácteas, macarrão e massas, incluem ovo para proporcionar maciez, cor e textura (SADAHIRA et al., 2018). A clara de ovo tem excelentes propriedades de superfície ativa que permitem a capacidade de formação de espuma e emulsificação, agindo como ligante entre diversos ingredientes. Por exemplo, a capacidade de formação de espuma do ovo é usada na preparação de mousses e aplicações no setor de panificação, especialmente suspiros e bolos (STADELMAN & SCHMEIDER, 2002).

Estudos que viabilizaram o uso da aquafaba como ingrediente em produtos alimentícios vem sendo desenvolvidos, como abordado por Mustafa et al., (2018), que utilizaram aquafaba como substituto do ovo em pão-de-ló. Diversas características foram observadas, dentre elas capacidade de formação e estabilidade de espuma, estabilidade de emulsão e a textura do produto após processado.

2.3 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE PROTEÍNAS

A proteína é um macronutriente constituído por unidades de aminoácidos ligados por ligações peptídicas, que estabelecem diversas funções nos seres vivos, como constituintes das formações musculares, que promovem seu crescimento e a reconstrução dos tecidos (NETO; VANDESMET, 2016). As funções estabelecidas pelas proteínas permitem que executem combinações diversas dos fenômenos básicos de difusão, ligações, reações químicas e mudanças conformacionais (SCHAVEMAKER; POOLMAN, 2018).

Nos alimentos as proteínas, além da função estrutural, também são responsáveis por características sensoriais da matéria-prima e disponibilidade de aminoácidos essenciais (FARIAS, 2017). Dessa forma, as proteínas têm sido estudadas em suas frações, avaliando seus peptídeos e aminoácidos, que são utilizados deliberadamente em outros produtos alimentícios como forma de enriquecimento proteico. Além da nutrição básica, as proteínas obtidas de alimentos fornecem benefícios à saúde pela liberação de peptídeos bioativos. Em geral, os peptídeos bioativos são oligopeptídeos que não possuem atividade no segmento da molécula proteica, podendo ser liberados por fermentação, hidrólise enzimática e digestão

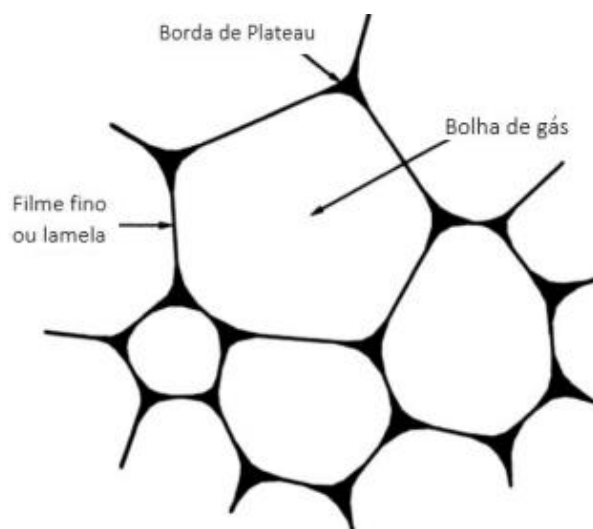
gastrointestinal (BHAT et al., 2015; CHALAMAIAH et al., 2012; GARCIA et al., 2013; HE et al., 2015).

Além das bioatividades, os peptídeos obtidos de hidrolisados proteicos provenientes de alimentos possuem propriedades de solubilidade, físico-químicas, ligação a lipídios e formação de espuma e emulsificação (CHO et al., 2014; POKORA et al., 2013). Os peptídeos contribuem para o aumento do teor de proteínas de produtos e subprodutos de baixo conteúdo proteico, o que torna-se de grande valor para as indústrias de alimentos (CHALAMAIAH et al, 2018).

2.3.1 Atividade de Superfície das Proteínas na Formação de Espumas

As proteínas são as principais macromoléculas responsáveis pela estabilidade e formação de espumas proporcionando propriedades sensoriais peculiares a vários alimentos. As espumas são estruturas formadas pela dispersão de gás em sólidos líquidos, delimitadas por filmes finos ou lamelas, onde seus conjuntos formam redes das chamadas bordas de *Plateau* (Figura 4) (FOEGEDING; DAVIS, 2011; HALL, 1996). Na indústria alimentícia, possuem uma gama de aplicações no setor de confeitaria, panificação, cervejarias e diversos produtos que passam pelo processo de chicoteamento para incorporação de ar na sua estrutura.

Figura 4: Estrutura da espuma da clara de ovo.



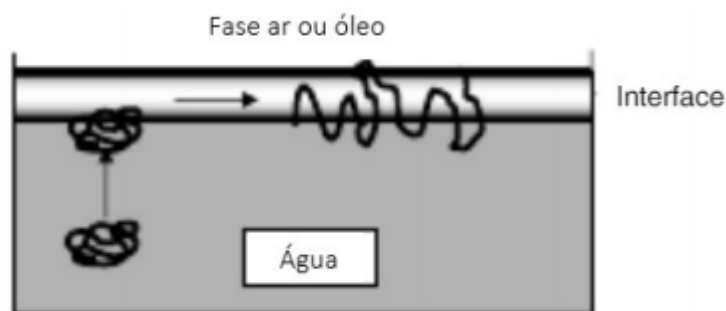
Fonte: Hall, 1996.

A capacidade espumante atribuída as proteínas está diretamente relacionada a sua característica anfifílica, com zonas hidrofílicas (que possuem afinidade com a água, polar) e hidrofóbicas (que não possuem interação com a água, apolar). Assim, as proteínas conseguem modificar a interface ar-água, estabelecendo uma película protetora em sua interface, altamente viscoelástica e capaz de suportar choques mecânicos durante sua estocagem e armazenamento, diferente das formadas por surfactantes de peso molar baixo como os fosfolipídios (HALL, 1996; SUNDE; PHAM; KWAN, 2017).

Para que ocorra a formação de espumas estáveis, uma solução proteica é agitada, ocasionando no envolvimento da proteína com a interface gás-líquido, criando a película altamente resistente e o maior número de bolhas possíveis. As etapas de sua formação são: geração da nata, floculação, coalescência e desproporção (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; FOEGEDING; DAVIS, 2011). Sendo desejáveis as propriedades surfactantes das proteínas, para que possua a capacidade de adsorção à interface (Figura 5), ou seja, modificam sua estrutura e se reorientam em

uma interface. Uma vez formada a interface, as mesmas devem interagir com outras moléculas ao redor, formando uma película viscoelástica, suportando trações mecânicas e térmicas (HALL, 1996; MAEDA et al., 1991).

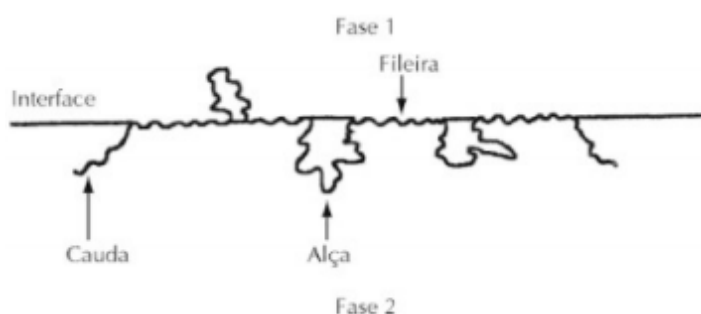
Figura 5: Movimento da proteína a interface.



Fonte: DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010.

O segmento hidrofóbico e hidrofílico na superfície proteica, afeta a adsorção na interface ar-água, ou seja, proteínas altamente hidrofílicas e com poucas ou sem arranjo hidrofóbico, se torna improvável, pois terá menor energia livre na correlação superfície-interface. No entanto, quando os segmentos hidrofóbicos aumentam a adsorção, além de se tornar espontânea, é mais viável. As configurações na interface da cadeia proteica, podem ser observadas na Figura 6, em: fileira, alça e cauda (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 1996).

Figura 6: Configuração polipeptídica da cadeia proteica.



Fonte: DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010.

Após a determinação da capacidade espumante, é necessário verificar a estabilidade das espumas, acompanhado de parâmetros como o tempo, volume e temperatura (WENZEL, 2010; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Outros fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam na formação e estabilidade das espumas, podem ser observados no Quadro 1.

Quadro 1: Fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam e/ou afetam a formação e estabilidade de espumas.

pH	• Película interfacial mais viscosa e resistente; • A insolubilização de algumas proteínas no ponto isoelétrico, ocasiona a não formação de espumas.
Sais	• O aumento da concentração de NaCl melhora a capacidade espumante da albumina do ovo e proteínas da soja;
Açúcares	• Aumento da estabilidade; • Diminui a espumabilidade.
Lipídios	• Altas concentrações ocasionam em propriedades viscoelásticas precárias; • Liberação de conteúdo aquoso.
Concentração Proteica	• Boa concentração reflete em espumas mais firmes e estáveis; • Boa viscoelasticidade; • Maior conteúdo de bolhas.
Desnaturação	• Aumento de temperatura, ocasionando na polimerização da proteína;
Aspersão	• Expansão do líquido por um diafragma, criando bolhas e espumas.
Batimento	• Incorporação do ar atmosférico na formação de espumas; • Denaturação das proteínas por cisalhamento.
Derramamento	• Formação de espuma de maneira não controlada.
Agitação	• Baixo índice de formação de espumas devido a desnaturação proteica.

Fonte: Adaptado pelo autor; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; NAKAI; MODLER, 1996; YU; DAMODARAN; 1991; COKE et al., 1990; HALL, 1996.

Proteínas que possuem boa capacidade espumante, necessariamente não possuem boa estabilidade, devido as características moleculares de flexibilidade, hidrofobicidade e distribuição das cargas. Afetando as propriedades reológicas de

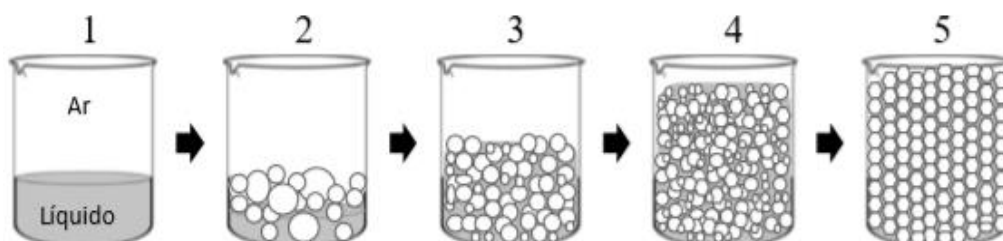
interface das proteínas e as interações intermoleculares (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HALL, 1996; BANIEL et al., 1992).

2.3.1.1 Fração da Fase Gasosa

A fração da fase gasosa ou fração do volume de gás incorporado (ϕ) está diretamente interligada a capacidade de formação de espuma, interferindo na geometria e distribuição das bolhas e, conseqüentemente, na sua estabilidade. Inicialmente as bolhas são maiores devido a maior interação com ar, mas, devido as forças de cisalhamento ocasionadas com o aumento da velocidade as bolhas se tornam menores.

No início da formação das espumas (Figura 7), a fração gasosa é aproximadamente zero. Durante as etapas de agitação ocorre uma gradativa incorporação de ar, com bolhas maiores que ficam suspensas na solução pela diferença de densidade entre a solução proteica inicial e as bolhas formadas. O aumento da velocidade ocasiona na desnaturação das proteínas que diminuem o diâmetro das bolhas e ocasiona no aumento da sua quantidade, as tornando inicialmente mais homogêneas e lamelas de superfície mais finas (WALSTRA, 1989).

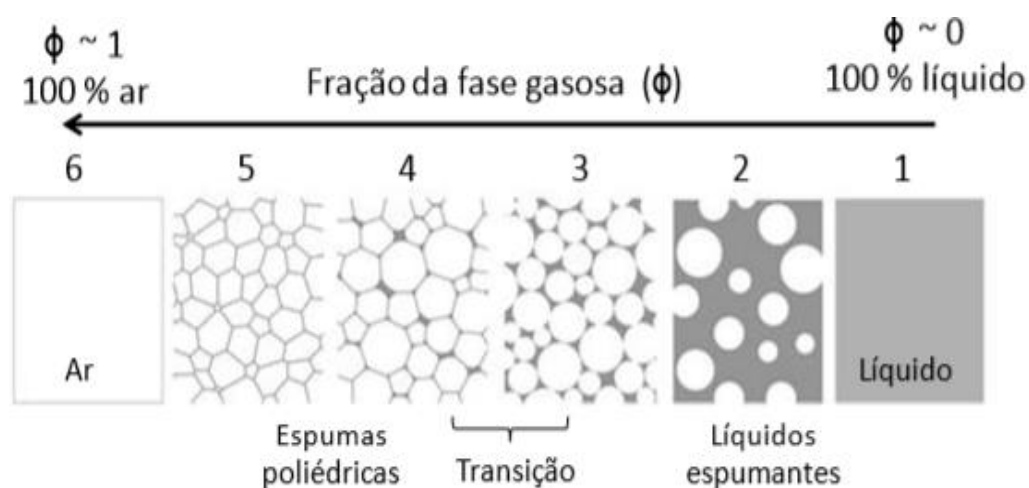
Figura 7: Esquema de formação de espumas a partir de uma solução proteica (1) e a homogeneização das bolhas (5)



Fonte: Santana (2017), adaptado de Mason (1999) e Langevin (2017).

A fração da fase gasosa está correlacionada com a formação e morfologia das espumas, definido pela quantidade de ar incorporado pela bolha. Sendo seu valor aferido de forma adimensional e variando entre $0 \leq \phi \leq 1$. Com baixo valor de ϕ na solução inicial pela maior concentração do conteúdo proteico, porém com a formação de bolhas e incorporação de ar, os valores podem chegar a 0,64 ou maiores, informando bolhas mais comprimidas, com baixa umidade e morfologia poliédrica (Figura 8) (MASON, 1999).

Figura 8: Ilustração das espumas em função da fração da fase gasosa



Fonte: Adaptado de Langevin (2017).

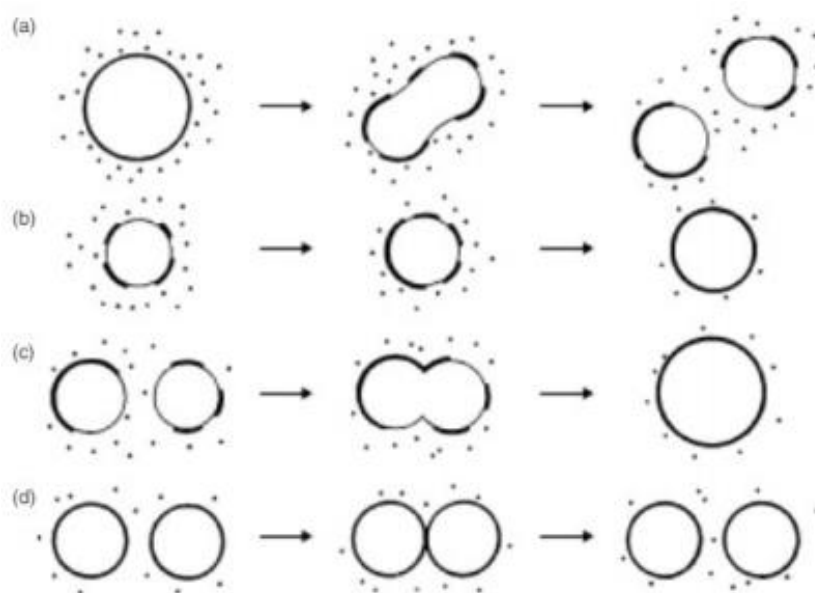
2.3.2 Capacidade Emulsificante

Uma emulsão pode ser definida como a dispersão de líquidos imiscíveis. Podendo ser variável a partir do líquido que a forma, como óleo em água (o/w), ou água em óleo (w/o). Os molhos e sopas, são os exemplos mais comuns de emulsões o/w, sendo comumente mais difíceis encontrar as do tipo w/o, explicado através da Regra de *Bancroft* que estabelece que a fase contínua de uma emulsão é aquela onde se tem maior estabilidade do surfactante (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Outras variáveis que influenciam em uma emulsão é a dispersão das bolhas, ou seja, quanto menor seu tamanho, maior a sua estabilidade. Afetando a viscosidade do produto final, devido da fração de volume da fase dispersa (ϕ). Logo, uma emulsão será pouco viscosa, quando apresentar valores abaixo de ϕ , ou bastante viscosa, com ϕ elevado, por exemplo a maionese com valor de ϕ de 0,08. As forças de interações coloidais, determinadas pela camada superficial das gotículas, afetam a capacidade emulsificante e a sua estabilidade, que por sua vez sofrem interferência do pH, força iônica e surfactantes (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; McCLEMENTS, 2016).

Durante o processo de emulsificação, as bolhas ou gotas são rompidas e ocorre a formação de uma nova interface através do transporte por convecção do emulsificante. A constante aplicação do cisalhamento, através dos choques entre as gotas, pode se recoalescerem caso não haja cobertura do surfactante sob elas (Figura 9). A emulsão pode se tornar instável com o passar do tempo, onde as gotículas da fase dispersa se atraem, ocasionando na separação das fases. Desta forma, a adição de surfactantes (como as proteínas), proporciona uma emulsão mais estável e evita-se a recoalescência. (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; McCLEMENTS, 2016).

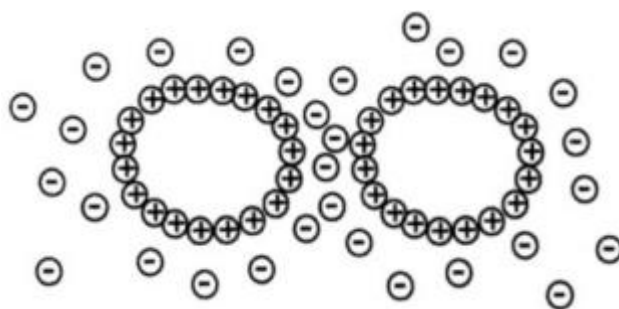
Figura 9: Formação de emulsão: (a) rompimento das gotas; (b) interface formada; (c) recoalescência; (d) gotas com cobertura suficiente de surfactantes.



Fonte: DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010.

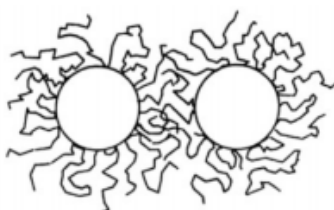
No processo de estabilização de emulsões, forças intermoleculares, como as de *Van der Waals* (força de atração entre partículas próximas), estabelecem um balanceamento para que não ocorra coalescência das gotículas. No caso de surfactantes proteicos ou emulsificações iônicas, existem contra-íons (presentes na fase dispersa), que se juntam a gotícula carregada formando uma película dupla altamente resistente. Uma vez que são utilizadas altas concentrações de sais no processamento de alimentos para fins de controle de pH, microbiano e de sabor, estão envolvidas altas forças iônicas, como no esquema de estabilização dos íons da emulsão (Figura 10). Forças estéricas, também estão envolvidas na emulsão, a dependerem da conformação da proteína durante sua dispersão na interface *o/w*, com regiões hidrofóbicas (apolar) e hidrofílicas (polar) (Figura 11). Fazendo com que as gotículas não se aproximem, ocasionando na restrição dos seus volumes, diretamente ligado ao tamanho do segmento proteico, as quais estabelecem ligações maiores que a distância existente nas forças de *Van der Waals* (BAI et al., 2017).

Figura 10: Estabilização eletrostática em emulsões.



Fonte: HALL, 1996.

Figura 11: Interação espacial entre proteínas adsorvidas



Fonte: Hall, 1996.

2.3.3 Solubilidade Proteica

A solubilidade proteica se torna necessária em alimentos que passam por processos de gelificação, emulsificação e capacidade espumante, nos quais são desejáveis a presença de proteínas altamente solúveis. No ponto isoelétrico, onde as cargas se anulam, as proteínas se tornam menos solúveis, afetando sua funcionalidade e as características tecnológicas atribuídas aos alimentos durante suas interações com outras moléculas (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

A desnaturação e agregação das proteínas, pode ser verificada através de sua solubilidade. Proteínas que se apresentam pouco agregadas, em início de desnaturação, possuem sua funcionalidade prejudicada ao participarem de processos como formação de espumas e emulsões. Deste modo, a solubilidade das proteínas pode ser definida

como as interações proteína-proteína e proteína-solvente, em determinadas condições de temperatura, pH e força iônica (JAMBRAK et al., 2008).

Segundo Osborne (1907), as proteínas podem ser divididas quanto a sua solubilidade em albuminas (solúveis em soluções levemente ácidas e/ou alcalinas e em água); globulinas (quase insolúveis em água e solúveis em soluções de sais neutros); glutelinas (solúveis em soluções diluídas de base e ácido e insolúveis em água e/ou solventes neutros); e, prolamínas (insolúveis em água e/ou álcool absoluto e solúveis em álcool etílico entre 50% e 80%).

A temperatura, força iônica e pH, são parâmetros que interferem na solubilidade proteica. Quanto a temperatura, a solubilidade tende a aumentar até valores próximos de 50 °C, contendo pH e força iônica constantes, podendo ocorrer desnaturação proteica com aumentos exorbitantes. Ocasionalmente na exposição de grupos polares, diminuindo a solubilidade da proteína. Na força iônica, onde estão correlacionados a concentração e o íon de valência, ocasiona-se na neutralidade das cargas dos íons na superfície proteica. Afetando a solubilidade das proteínas pela exteriorização das suas partes não polares. Já com relação ao pH, em valores que correspondem ao ponto isoelétrico a solubilidade se torna mínima, fazendo com que as proteínas se reorganizem e haja precipitação em função das interações hidrofóbicas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

2.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

As bactérias podem ser distintas quanto a sua sensibilidade e resistência aos antimicrobianos. De forma geral, são classificadas em resistentes as que crescem “*in vitro*”, em concentrações que os antimicrobianos alcancem o sangue quando ingeridos.

E sensíveis, quando não consigam crescer nestas concentrações (TRABULSI; TOLEDO, 1989).

Concentração Mínima Inibitória (CMI) é determinada como a quantidade mínima de substância necessária para inibir o crescimento microbiano. Quando essa concentração se relaciona aos extratos vegetais, parâmetros como aspectos toxicológicos devem ser legalmente significativos aos compostos naturais ou do uso de suas combinações (PINTO et al., 2003).

Tais particularidades têm impulsionado grupos de pesquisas a estudarem a atividade biológica de plantas. Visto que, microrganismos patogênicos que causam danos à saúde humana estarem se mostrando resistentes aos antimicrobianos existentes, incentivando a busca por novos antibióticos de origem natural (DUARTE, 2006).

Diversas especiarias, como ervas aromáticas e derivados, possuem em sua composição óleos essenciais, extratos vegetais e constituintes químicos, que demonstram resultados aceitáveis quando relacionados a inibição de microrganismos patogênicos, deteriorantes e na produção de toxinas de origem microbiana (MACHADO et al., 2013). A aplicação dos extratos e óleos essenciais visam a inibição de bactérias responsáveis por causarem surtos veiculados de alimentos, tais como *S. aureus*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli O157:H7* e *Listeria monocytogenes* (BURT, 2004).

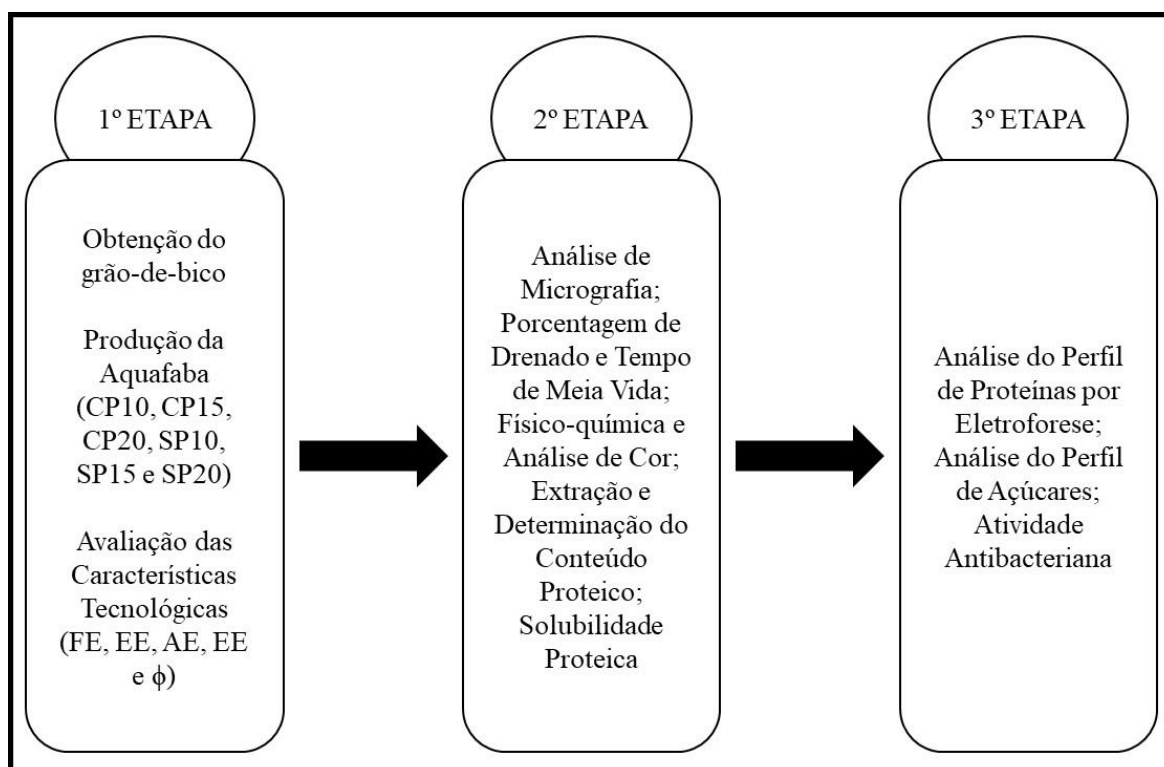
3 MATERIAL E MÉTODOS

Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Genética e Radiobiologia – BioGer, Departamento de Biologia Molecular – DBM, Centro de Ciências Exatas e da Natureza – CCEN, em colaboração com o Laboratório de Proteômica – LAPROTE, Centro de Ciências Exatas e da Natureza – CCEN, e Laboratório de *Flavor*, Centro de Tecnologia – CT da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, *Campus I*.

3.1 DELINEAMENTO DE ANÁLISES

A pesquisa foi realizada conforme demonstrado na Figura 12.

Figura 12: Delineamento experimental de análises da aquafaba de grão-de-bico



Fonte: Autor, 2020.

Inicialmente foram obtidas amostras de grão-de-bico para produção da aquafaba em tipos de cozimentos e tempos diferentes, com pressão (CP) e sem pressão (SP) por 10, 15 e 20 minutos, e posteriormente realizadas análises tecnológicas de formação de espuma (FE), estabilidade de espuma (EE), atividade emulsionante (AE), estabilidade de emulsão (EE) e fração da fase gasosa (ϕ). Sendo selecionado dois parâmetros para escolha do melhor tratamento de aquafaba, a atividade de espuma e estabilidade emulsionante para seguimento das demais análises tecnológicas e de caracterização da amostra da Figura 12. Posteriormente, foram realizadas a caracterização proximal e física das amostras de acordo com o teor de proteínas, lipídios, cinzas, pH, cor e perfil de açúcares

A extração de proteínas solúveis da aquafaba (água obtida após cocção do grão-de-bico) foi realizada por diálise em membranas de 14 kDa com 12 trocas consecutivas a cada 60 minutos. As proteínas da farinha de grão-de-bico foram extraídas a partir de soluções de extração de H₂O, NaCl 0,5 M e glicina 0,1 M pH 9,0 e após o tempo de 03 horas foram centrifugadas seguidos de diálise e posterior liofilização até obtenção de um concentrado proteico em pó para determinação de proteínas e realização das atividades biológicas, solubilidade proteica e perfil eletroforético.

3.1 AMOSTRAS

O grão-de-bico (*Cicer arietnum* L.), variedade kabuli e lote 008/18E10, seco foi adquirido no mercado local da cidade de João Pessoa – PB, observando previamente a data de validade, lote do produto, integridade dos grãos e ausência de violação das embalagens (Figura 15).

Figura 13: Grão-de-bico da variedade Kabuli adquirido do mercado local de João Pessoa - PB

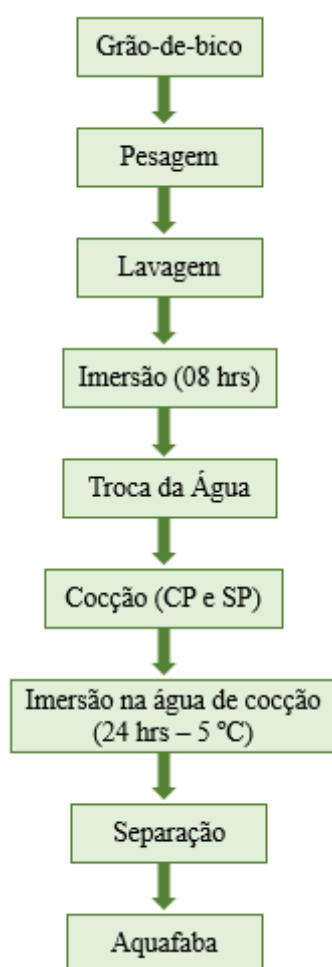


Fonte: Autor, 2019.

3.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

3.2.1 Processamento da aquafaba

A aquafaba de grão-de-bico foi processada em tratamentos distintos de cocção do grão, com e sem pressão como demonstrado na Figura 16.

Figura 14: Fluxograma de obtenção da aquafaba de grão-de-bico

Fonte: Autor, 2019.

O tempo de hidratação do grão-de-bico foi de 8 horas com 500 mL água destilada sob refrigeração de 15 ± 1 °C. Realizada a hidratação o conteúdo líquido inicial foi descartado, adicionado novamente outros 500 mL, para realização do cozimento do grão. Após a cocção foi aferido o volume de água no interior da panela com auxílio de uma proveta, obtendo-se 100 mL, para as amostras cozidas com pressão (CP) e sem pressão (SP). Os grãos e a água de cocção foram deixados em repouso por 24 horas à 15 ± 1 °C, seguindo posteriormente de filtração (separação da água e do grão-de-bico), obtendo-se a aquafaba (Figura 17) que foi congelada a uma temperatura de -2 ± 1 °C.

Figura 14: Aquafaba processada sem e com pressão nos tempos 20 e 15 minutos, respectivamente.



Fonte: Autor, 2019.

3.3 CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA DA AQUAFABA E DA FARINHA DE GRÃO-DE-BICO

Os parâmetros de estabilidade de espumas e atividade emulsionante foram selecionados como variáveis de respostas para escolha do melhor tratamento com pressão (CP) e sem pressão (SP).

3.3.1 Capacidade Espumante e Estabilidade das Espumas da Aquafaba

3.3.1.1 Overrun

A capacidade de formação de espuma (FE) e a estabilidade da espuma (EE) foram determinadas de acordo com Martinez et al., (2016) e Shim et al., (2018) para aquafaba. Utilizando-se 5 mL de aquafaba diluída em 10 mL de água em um copo graduado de 150 mL, onde foram submetidos ao processo de chicoteamento em um misturador Plan1000b (Planetária Black & Decker) acoplada a um béquer de 500 mL. O volume da amostra obtida após o chicoteamento foi medido em proveta de 500 mL no

tempo 0 (VE0) e após 30 minutos (VE30), e FE e EE calculados de acordo com as equações (01) e (02), respectivamente. Comparadas com uma amostra controle de clara de ovo nas mesmas proporções.

$$\%FE = \frac{V_{e0}}{V_{amostra}} \times 100 \quad (01)$$

$$\%EE = \frac{V_{e30}}{V_{e0}} \times 100 \quad (02)$$

Sendo:

%FE = Formação de espuma ou *overrun*;

Ve0 = Volume inicial da espuma no tempo zero;

Vamostra = Volume da amostra;

%EE = Estabilidade das espumas;

Ve30= Volume final das espumas no tempo de 30 minutos.

3.3.1.2 Fração da fase gasosa

A fração da fase gasosa das espumas de aquafaba obtidas CP e SP, foram determinadas de acordo com Davis e Foegeding (2007) (Equação 03), a partir dos valores de *overrun*, conforme no item 3.3.1.1.

$$(\phi) = \frac{\%Overrun}{\%Overrun (+100)} \quad (03)$$

Sendo:

Φ = Fração da fase gasosa (%)

% *Overrun* = Capacidade de formação de espuma (%)

3.3.2 Capacidade Emulsionante

A atividade emulsionante da aquafaba foi determinada com modificações segundo a metodologia descrita por Yasumatsu et al. (1972), procedendo-se a homogeneização de 5 mL da amostra com 5 mL de óleo de soja em um misturador Plan1000b (Planetária Black & Decker) acoplada um béquer de 500 mL. Após completa homogeneização por 10 minutos, o conteúdo do béquer foi transferido para uma proveta de 100 mL e deixado em repouso por 30 minutos. A atividade emulsionante foi calculada de acordo com a Equação 04.

$$AE = \frac{CE \text{ (mL)}}{VTB \text{ (mL)}} \times 100 \quad (04)$$

Sendo:

AE = Atividade Emulsificante;

CE = Camada Emulsificada;

VTB = Volume Total do Tubo.

3.3.3 Estabilidade Emulsionante

A estabilidade da emulsão de aquafaba (ES) foi medida segundo Martinez et al., (2016). Utilizando 5 mL de aquafaba e homogeneizando com 5 mL de óleo de soja, em um aparelho Plan1000b (Planetária Black & Decker) por 2 minutos. Será realizada a transferência da emulsão para um cilindro graduado de 10 mL e verificado a fase aquosa da emulsão após 30 minutos. A estabilidade da emulsão foi calculada seguindo a equação (05).

$$\%ES = \frac{V_b - V_a}{V_b} \times 100 \quad (05)$$

Sendo:

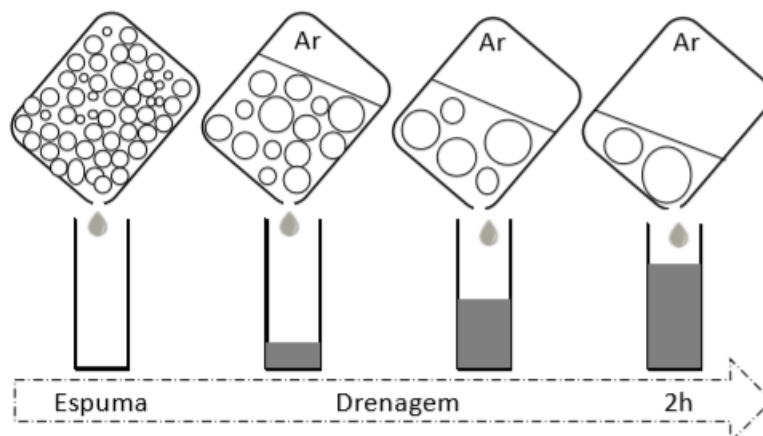
V_a = Volume da fase aquosa após 30 minutos;

V_b = Volume de aquafaba antes da homogeneização (5 mL).

3.3.4 Percentagem de Drenado e Tempo de Meia Vida (TMV)

As medidas de percentagem de drenado (% DR) das espumas de aquafaba obtidas CP e SP, foram realizadas com modificações a partir da metodologia estabelecida por Phillips, Haque e Kinsella (1987), utilizando-se uma massa de 145 g de aquafaba. Em seguida as espumas foram filtradas e transferidas para uma proveta de 100 mL que recebia o conteúdo drenado. Em intervalos de 10 minutos, durante 2 horas, a proveta foi pesada em balança eletrônica de precisão Gehaka (Modelo BG 2000) e a razão de drenagem (% DR) em função do tempo foi determinada pela Equação (06). Sendo todas as medidas realizadas em triplicata. O esquema de drenagem pode ser observado na Figura 20.

Figura 15: Esquema de drenagem da espuma em um intervalo de repouso



Fonte: SANTANA, 2017.

$$\% DR = \frac{Md(t)}{Ms} \times 100 \quad (06)$$

Sendo:

% DR = Percentagem de drenado;

Md (t) = Massa (g) do drenado no tempo;

Ms = Massa (g) da solução inicial (aquafaba).

O tempo de meia vida (TMV) foi definido como o tempo necessário para que o fluido drenado correspondesse a metade do valor inicial realizado na percentagem de drenado, seguindo a metodologia estabelecida por Yang, Berry e Foegeding (2009). O tempo foi acompanhado através do drenado da espuma de aquafaba por uma proveta de 100 mL e fotografado com auxílio de uma câmera AI DUAL CAMERA BY XIOMI (Modelo M1901F7G).

3.3.5 Análise de Estrutura das Espumas por Micrografia

A análise de micrografia foi realizada no microscópio ótico (OLYMPUS BX 51) com interface com um computador, utilizando porções das espumas das amostras de aquafaba, CP15 e SP20, aplicadas em lâminas para visualização em objetiva de 5x nos tempos de *overrun* máximo e de 30 minutos, como estabelecido no item 4.3.1.1. Durante os ensaios foram realizadas 2 fotos para cada um dos tempos para cada preparo de aquafaba e observado a distância entre as lamelas de superfície e a circunferência de algumas bolhas, no sistema de análise de imagens (Leica Quantimet 500 MC), que possui o *software* usado para medições dos espaçamentos dendríticos secundários.

Foram utilizadas zonas diferentes das lamelas de superfície das espumas para garantir uma melhor amostragem entre as bolhas formadas no tempo inicial e final das espumas.

3.3.6 Solubilidade do Conteúdo Proteico

Amostras de 150 mg de proteínas, SP20 e CP15, foram dissolvidas em 15 mL de água destilada com pH ajustado para a faixa de 4 a 9, com auxílio das soluções de HCl 3 M e Na₃PO₄ 0,7 M. Seguidas de agitação em Shaker à temperatura de 25 ° ± 2 °C durante 60 minutos e posterior centrifugação à 3500 g/20 minutos, sendo o teor proteico do sobrenadante adaptado para ser avaliado pelo método de Bradford (1976). A solubilidade proteica pôde ser avaliada segundo a Equação 07 (RADSAMRAN; SOTHORNVIT, 2018).

$$\text{Solubilidade Proteica (\%)} = SP \frac{\text{proteína}}{WC \times C_{\text{proteína}}} \times 100 \quad (07)$$

Sendo:

SP proteína = Teor de proteína do sobrenadante;

WC = Peso da amostra;

C proteína = Porcentagem do teor de proteína da amostra.

3.4 CARACTERIZAÇÃO PROXIMAL E FÍSICA DA AQUAFABA E DA FARINHA DE GRÃO-DE-BICO

3.4.1 Proteínas

A determinação de proteínas total de CP15 e SP20 foi realizada em triplicata conforme a AOAC (2012).

3.4.2 Medida de pH

O pH das amostras SP20 e CP15 foram aferidas logo após o seu preparo, seguindo a metodologia descrita pelo AOAC (2012), leitura direta para amostras líquidas e homogeneização da amostra da farinha (5 g – 30 mL) seguido de repouso. As medidas foram conduzidas com as amostras na temperatura de 25 ± 2 °C.

3.3.4 Quantificação do teor de lipídios

A determinação de lipídios totais das amostras de CP15 e SP20 foi realizada em triplicata de acordo com Folch e Stanley (1957).

3.3.5 Matéria Mineral (Cinzas)

Os minerais da amostra foram determinados a partir da triplicata das amostras segundo metodologia descrita pela AOAC (1998). Amostras pesando 1 g foram acondicionados em cadinhos de porcelana e levados ao forno mufla (Quimis, Modelo

Q-318m24) e calcinizados à temperatura de 600 °C por 4 h. O valor de matéria mineral foi determinado pela diferença entre o peso inicial e final.

3.3.7 Análise colorimétrica (cor)

Foram utilizadas 100 mL de amostra de aquafaba (CP15 e SP20) previamente homogeneizadas em agitador magnético TE-089 (Tecnal) e 100 g da farinha e sementes de grão-de-bico, para análise de cor. Alíquotas de 12 mL das amostras líquidas foram retiradas para leitura no suporte colorimétrico e para as amostras sólidas realizadas em placas de petri para determinação da cor utilizando colorímetro Konica Minolta Chroma Meter (modelo CR-400) (Osaka, Japão). O equipamento foi ajustado para determinar com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, previamente calibrado e a cor de cada amostra realizada em triplicata.

Os parâmetros L^* , a^* e b^* , foram calculados através da escala de cor CIELab. Onde o parâmetro L^* varia entre 0 e 100, indicando a variação de cor do preto para o branco; a^* , variação de vermelho ($+a^*$) para verde ($-a^*$); e b^* , variação de amarelo ($+b^*$) para azul ($-b^*$). A partir das variações de L^* , a^* e b^* foi possível determinar o índice de escurecimento das amostras (IE), conforme Palou et al. (1999) e a diferença total (ΔE) (OKPALA; PIGGOTT; SCHASCHKE, 2010), utilizando as Equações 10 e 11.

$$IE = \frac{100 (x-0,31)}{0,172} \quad (\text{Equação 10})$$

Onde:

$$x = \frac{(a+1,75L)}{5,645L+(a-3,012b)}$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (\text{Equação 11})$$

3.5 PERFIL DE AÇÚCARES DAS AMOSTRAS DE AQUAFABA

Realizado em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (VARIAN, Waters, Califórnia, USA), equipado com sistema isocrático de solvente, válvula “Rheodyne” com alça de 20 µL, acoplado com uma coluna *Agilent Hi-Plex Ca* (7,7 x 300 mm, 8µ), a uma temperatura de 85 °C, detector de índice de refração (VARIAN), e Software de processamento *GALAXIE Chromatography Data System*. Com fase móvel de água ultra pura, a um fluxo de 0,6 mL/min. e tempo de corrida de 30 minutos.

3.6 EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS SOLÚVEIS E DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO PROTEICO

3.6.1 Extração de Proteínas Solúveis das Amostras

As proteínas presentes na aquafaba SP20 e CP15 foram dialisados em membrana de 14 kDa com doze trocas consecutivas de água destilada em provetas de 1000 mL para retirada de compostos não proteicos e com tamanho menores que 14 kDa. Para a farinha de grão-de-bico (FGB) foram utilizadas três soluções: água destilada (H₂O), glicina 0,1 M pH 9,0 (Gly 0,1 M pH 9,0) e cloreto de sódio 0,5 M (NaCl 0,5 M), nas proporções de 1:10 (p/v), seguido de centrifugação a 2730 g (4500 rpm) por 20 minutos diálise e liofilização até a retirada completa de água e a obtenção de um pó, nas mesmas condições das amostras de aquafaba para quantificação de proteínas solúveis.

3.6.2 Determinação do Teor de Proteínas Solúveis

As amostras SP20 e CP15 de aquafaba, e do extrato da farinha de grão-de-bico (FGB) foram dialisadas em membrana de diálise (14 kDa), com doze trocas consecutivas a cada uma hora. O teor de proteínas solúveis presentes na aquafaba de grão-de-bico foi determinado segundo o método descrito por Bradford (1976). A cada 100 μ L de amostra foram adicionados 2,5 mL de reagente de Bradford. Após a agitação, seguido de repouso por 10 minutos, será realizada a leitura a 595 nm em espectrofotômetro, utilizando como padrão a Albumina Sérica Bovina (BSA).

3.7 ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA EM PRESENÇA DE SDS E β -MERCAPTOETANOL

O experimento foi realizado utilizando-se a técnica descrita por Laemmli (1970). O gel de aplicação foi preparado na concentração de 3,5% de poliacrilamida em tampão Tris-HCl 0,5M, pH 6,8 e SDS a 1%, enquanto que o gel de separação preparado na concentração de 12,5% de poliacrilamida em tampão Tris-HCl 3M, pH 8,8 e SDS a 1%. As amostras oriundas do extratos proteico FGB, SP20 e CP15 foram dissolvidas em tampão Tris-HCl 0,625M, pH 6,7, contendo SDS a 2%, glicerol a 10% e β -mercaptoetanol 5%, e aquecidas em estufa a 100 °C durante 10 minutos, centrifugadas por 5 minutos, e em seguida adicionado 10 μ L de azul de bromofenol 0,02%. A corrida seguiu-se com amperagem constante (25mA) e ao final da corrida, o gel foi retirado da placa e fixado em TCA 12,5% por uma hora, sendo então corado com Cromassie brilliant blue R-250 a 0,005%. A remoção do excesso de corante foi realizada com o auxílio de uma solução descorante de metanol, ácido acético e água (1:3, 5:8, v/v/v).

3.8 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Foram selecionadas 03 bactérias patogênicas veiculadas por alimentos doadas pelo acervo da Fiocruz: *Escherichia coli* CBAM 0001, *Salmonella typhi* CBAM 0015 e *Staphylococcus aureus* ATCC 23235. As bactérias foram repicadas em placas petri em meio BHI (*Brain Heart Infusion*) e PCA (*Plate Count Agar*), um meio de cultura representando a replicação do outro e reincubadas em estufa bacteriológica. Em seguida as colônias foram transferidas para tubos contendo 05 mL de solução salina 0,90% esterilizados e ajustado sua densidade para 0,5 da escala Mc Faland. Na placa de 96 poços foram adicionados 80 µL de meio MHB (*Mueller Hinton Broth*) e alíquotas de 80 µL da amostra foram adicionadas a primeira coluna da placa com concentração de 125 µg/mL, realizando diluição seriada a concentração de 1,95 µg/mL. Após a diluição foi adicionado 20 µL das suspensões bacterianas, totalizando um volume final de 100 µL e incubadas em estufa bacteriológica à 37 °C/24 horas. Por fim, em cada poço foram adicionados 20 µL de resazurina 0,02% (sigma) como indicador do crescimento bacteriano e observando após 03 horas de reincubação. A presença de cor azul representou a ausência e a cor rosa a presença de crescimento bacteriano adaptado do CLSI, 2003.

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os testes estatísticos foram realizados no programa SPSS versão 23, com um nível de significância de 5% pelos testes de Tukey e t student com e sem padrão.

REFERÊNCIAS

ABBO, S.; SHTIENBERG, D.; LICHTENZVEIG, J.; LEV-YADUN, S.; GOPHER, A. The chickpea, summer cropping, and a new model for pulse domestication in the ancient near east. **The Quarterly Review of Biology**, 78, 435–448, 2003.

AGUILERA, Y.; ESTEBAN, R. M.; BENITEZ, V.; MOLIA, E.; MARTIN-CABREJAS, M. Starch, functional properties, and microstructural characteristics in chickpea and lentils as affected by thermal processing. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 57, 10682– 10688, 2009.

ALENCAR, R. B.; BIONDI, M. M.; PAIVA, P. M. G.; VIEIRA, V. L. A.; CARVALHO JUNIOR, L. B.; BEZERRA, R. S. Alkaline Proteases from the Digestive Tract of Four Tropical Fishes. **Brazilian Journal of Food Technology**, 6, 279-284, 2003.

AOAC- Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis the of AOAC International**. 18. ed. Washington.

BANIEL, A. et al. Functional properties of glycosylated derivatives of the 11S storage protein from pea (*Pisum sativum* L.). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 40, n. 2, p. 200-205, 1992.

BARROSO, M. R.; MAGALHÃES, M. J.; CARNIDE, V.; MARTINS, S.; VEGAS, C. A.; CACHÓN, M. R. CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE DIFERENTES ESPÉCIES DE LEGUMINOSAS GRÃO NA REGIÃO DE TRÁS-OS-MONTES. **DIRECÇÃO REGIONAL DE AGRICULTURA E PESCAS DO NORTE**, 500, p. 11, 2007.

BAI, L. et al. Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: gum arabic, beet pectin, and corn fiber gum. **Food Hydrocolloids**. v. 66, p. 144-153, 2017.

BENEVIDES, C. M. J.; SOUZA, M. V.; SOUZA, R. D. B.; LOPES, M. V. Fatores Antinutricionais em Alimentos: Revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, 18(2): 67-79, 2011.

BHAT, Z. F.; SUNIL K.; BHAT, H. F. Bioactive peptides of animal origin: a review. **Journal of Food Science and Technology**, 52, 5377–5392, 2015.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.72, n.5, p.248-254, 1976.

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223–253, 2004.

CHALAMAIAH, M.; DINESH KUMAR, B.; HEMALATHA, R.; JYOTHIRMAYI, T. Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. **Food Chemistry**, 135, 3020–3038, 2012.

CHALAMAIAH, M.; YU, W.; WU, J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review. **Food Chemistry**, 245, 205-222, 2018.

CHANG, Y. W.; ALLI, I.; MOLINA, A. T.; KONISHI, Y.; BOYE, J. I. Isolation and characterization of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed protein fractions. **Food Bioprocess Technology**, 5, 618–625, 2012.

CHAVAN, J. K.; KADAM, S. S.; SALUNKHE, D. K.; BEUCHAT, L. R. Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 25, n. 2, p. 107-158, 2009.

CHO, D.; JO, K.; YOUNG CHO, S.; MAN KIM, J.; LIM, K.; JOO SUH, H.; & OH, S. Antioxidant effect and functional properties of hydrolysates derived from egg-white protein. **Korean Journal of Food Science and Animal Resources**, 34, 362–371, 2014.

DASH, P., GHOSH, G. Amino acid composition, antioxidant and functional properties of protein hydrolysates from Cucurbitaceae seeds. **J Food Sci Technol** 54, 4162–4172 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2855-6>

COKE, M. et al. The influence of surface composition and molecular diffusion on the stability of foams formed from protein/surfactant mixture. **Journal of Colloid and Interfacial Science**. v. 138, n. 2, p. 489-503, 1990.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. LL.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos**. 4^a ed. São Paulo: Artmed, 2010. p. 211-272.

DAVIS, J. P.; FOEGEDING, E. A. Comparisons of the foaming and interfacial properties of whey protein isolate and egg white proteins. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 54, n. 2, p. 200-210, 2007.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Multiciência**, Campinas, n. 7, 16p, 2006.

EMBRAPA HORTALIÇAS. **BRS Aleppo: grão-de-bico**. 2014. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/134623/1/digitalizar0025.pdf>>. Acesso em: 30 set. 2018.

FAO, FAOSTAT. **Chickpea world production in 2014**. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/home/E>>. Acessado: 20 de maio de 2018.

FARIAS, T. C. **OBTENÇÃO ENZIMÁTICA DE HIDROLISADO PROTÉICO DE SOJA COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PARA USO EM ALIMENTOS**. 81f.

Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

FERREIRA, A. C. P.; BRAZACA, S. G. C.; ARTHUR, V. Alterações químicas e nutricionais do grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) cru irradiado e submetido à cocção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n.1, p. 80-88, 2006.

FERREIRA, H. **Avaliação da atividade antibacteriana de extratos de plantas medicinais**: Significância sanitária em região de tríplice fronteira. 147 f., Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Enfermagem em Saúde Pública. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

FOEGEDING, E. A.; DAVIS, J. P. Food protein functionality: a comprehensive approach. **Food Hydrocolloids**. v. 25, p. 1853-1864, 2011.

FOLCH J, L. M.; STANLEY, G. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497–509, 1957.

GARCIA, M. C.; PUCHALSKA, P.; ESTEVE, C.; MARINA, M. L. Vegetable foods: A cheap source of proteins and peptides with antihypertensive, antioxidant, and other less occurrence bioactivities. **Talanta**, 106, 328–349, 2013.

GAUR, P.M.; TRIPATHI, S.; GOWDA, C.L.L.; RANGA RAO G.V.; SHARMA, H.C.; PANDE, S; SHARMA M. Chickpea seed production manual. Andhra Pradesh, Índia, **ICRISAT**. 28 p., 2010.

GAVA, A. J; SILVA, C. A. B; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos**: princípios e aplicações. São Paulo: Nobel, 2008.

HE, X. Q.; CAO, W. H.; PAN, G. K.; YANG, L.; ZHANG, C. H. Enzymatic hydrolysis optimization of *Paphia undulata* and lymphocyte proliferation activity of the isolated peptide fractions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 95, 1544–1553, 2015.

HALL, G. M. **Methods of Testing Protein Functionality**. Londres: Blackie Academic & Professional. 1st ed, 1996. p. 166-180.

HARRISON, R. G. **Purification process engineering**. Ney York: Marcel Deker, 1994, p. 147.

JAMBRAK, A. R. et al. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. **Journal of Food Engineering**. v. 86, p. 281-287, 2008.

JANSEN A. M.; SCHEFFER J. J. C.; BAERHEIM S. A. Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis species*, **Pharmazie** 45: 70, 1987.

JUKANTI, A. K.; GAUR, P. M.; GOWDA, C. L. L.; CHIBBAR, R. N. Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. **British Journal of Nutrition**, v. 108, n. 1, p. 11-26, 2012.

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

KAPP, G. R.; BAMFORTH, C. W. The foaming properties of proteins isolated from barley. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 82, 1276–1281, 2002.

KEMP, A. S. Egg allergy. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 18, p. 696 – 702, 2007.

KINSELLA, J.E.; MELACHOURIS, N. Functional properties of proteins in foods. A survey. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 7, n. 3, p. 219-280, 1976.

KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

LAEMMILI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, 227, 680-685, 1970.

LANGEVIN, D. Aqueous foams and foam films stabilised by surfactants. Gravity-free studies. **C. R. Mecanique**, v. 11, n. 1519, p. 47 – 55, 2017.

LEIGHTON, T. J.; DOI, R. H.; WARREN, R. A. J.; KELLN, R. A. The Relationship of serine protease activity to RNA polymerase modification and sporulation in *Bacillus subtilis*. **Journal of Molecular Biology**, 76, 103-122, 1973.

MACHADO, B. A. S.; RIBEIRO, D. S.; DRUZIAN, J. I. ESTUDO PROSPECTIVO RELATIVO À ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ALGUMAS PLANTAS AROMÁTICAS. **Cadernos de Prospecção**, vol.6, n.1, p.97-105, 2013.

MACPHERSON, R. E.; RAMOS, S. V.; VANDENBOOM, R.; ROY, B. D. PETERS, S. J. Skeletal muscle PLIN proteins, ATGL and CGI-58, interactions at rest and following stimulated contraction. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.** 304, 644-650, 2013.

MAEDA, K. et al. Foam stability and physicochemical proprieties of beer. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**. v. 49, n. 1, p. 14-18, 1991.

- MAITI, R.K. The chickpea crop. In: MAITI, R., WESCHE-EBELING, P. (Ed). *Advances in Chickpea Science*. **Science Publishers Inc.** p.1-32, 2001.
- MARTINEZ, M.; STONE, A. K.; YOVCHEV, A. G.; PETER, R.; VANDENBERG, A.; NICKERSON, M. T. Effect of genotype and environment on the surface characteristics and functionality of air-classified faba bean protein concentrates. **European Food Research and Technology**, 242, 903–1911, 2016.
- MASON, T. G. New fundamental concepts in emulsion rheology [Review]. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 4, n. 3, , p. 231 – 238, 1999.
- McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions: principles, practices, and techniques**. 3rd ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2016. p. 1-24.
- MUSTAFA, R.; HE, Y.; SHIM, Y. Y.; REANEY, M. J. T. Aquafaba, wastewater from chickpea cannin, functions are an egg replacer in sponge cake. **International Journal of Food Science and Technology**, 53, 2247-2255, 2018.
- MITTAL, R.; NAGI, H. P. S.; SHARMA, P.; SHARMA, S. Effect of processing on chemical composition and antinutritional factors in chickpea flour. **Journal of Food Science and Engineering**, 2, 180 – 186, 2012.
- NAKAI, S.; MODLER, H. W. **Food proprieties: proteins and characterization**. New York: Wiley-VCH, 1996, p. 168-222.
- NETO, J. T. S.; VANDESMET, L. C. S. A importância da proteína no exercício físico: uma revisão literária. Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC), 12, 2016, Quixadá. Anais. Quixadá: **Centro Universitário Católica de Quixadá**, 2016. ISSN: 24466042
- OSBORNE, T. B. **The proteins of wheat kernel**. Washington: Carnegie Institute Publication, v. 84, 1907.
- OKEZIE, B. O.; BELLO, A. B. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 2, p. 450-454, 1988.
- OKPALA, C. O. R.; PIGGOTT, J. R.; SCHASCHKE, C. J. Influence of high-pressure processing (HPP) on physico-chemical properties of fresh cheese. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 1, p. 61–67, 2010.
- PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B. G. Polyphenoloxidase Activity and Color of Blanched and High Hydrostatic Pressure Treated Banana Puree. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1, p. 42–45, 1999.

PHILLIPS, L. G.; HAQUE, Z.; KINSELLA, J. E. A method of the measurement of foam formation and stability. **Journal of Food Science**. V. 53, n. 4, p. 1074 – 1077, 1987.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA M. T. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 325 p, 2003.

POKORA, M.; ECKERT, E.; ZAMBROWICZ, A.; BOBAK, L.; SZOŁTYSIK, M.; DĄBROWSKA, A.; TRZISZKA, T. Biological and functional properties of proteolytic enzymemodified egg protein by-products. **Food Science and Nutrition**, 1, 184–195, 2013.

RÉVOLUTION VÉGÉTALE (2014). **Mousses–Isolats de protéines** (last visited 24 March, 2018). <https://web.archive.org/web/20150227013130/http://www.revolutionvegetale.com/fr/non-classe/mousses-isolats-deproteines/>.

RODSAMRAN, P.; SOTHORNVIT, R. Physicochemical and functional properties of protein concentrate from by-product of coconut processing. **Food Chemistry**, v. 241, p. 364 – 371, 2018.

SADAHIRA, M.S.; RODRIGUES, M.I.; AKHTAR, M.; MURRAY, B.S.; NETTO, F.M. Influence of pH on foaming and rheological properties of aerated high sugar system with egg white protein and hydroxypropylmethylcellulose. **LWT-Food Science and Technology**, 89, 350–357, 2018

SANTANA, F. C. O. **Caracterização, Capacidade Espumante e Estabilidade de Espumas de Claras de ovos frescas, pasteurizadas e desidratadas**. 2017. 194 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

SANTOS, T. **Grão-de-bico produzido em GO conquista o mercado internacional**. 2017. Disponível em: <<http://g1.globo.com/economia/agronegocios/globo-rural/noticia/2017/09/grao-de-bico-produzido-em-go-conquista-o-mercado-internacional.html>>. Acesso em: 30 set. 2018.

SHIM, Y. Y.; MUSTAFA, R.; SHEN, J.; RATANAPARIYANUCH, K.; REANEY, M. J. T. Composition and properties of aquafaba: water recovered from commercially canned chickpeas. **Journal of Visualized Experiments**, 132(e56305), 1–14, 2018.

SIMONI, R. C. **HIDRATAÇÃO DE GRÃO-DE-BICO (Cicer arietinum L.): ESTUDO CINÉTICO E INFLUÊNCIA NA QUALIDADE TECNOLÓGICA DO GRÃO**. 2017. 134 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

- SINGH, F.; DIWAKAR, B. **Chickpea botany and production practices**. Skill development series. Patancheru e Andhra Pradesh: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1995.
- SINGH, G. D.; WANI, A. A.; KAUR, K.; SOGI, D. S. Characterization and functional properties of proteins of some Indian chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 13, 125–135, 2008.
- STADELMAN, W. & SCHMEIDER, H. Functional uses of eggs: An overview. In: **Eggs and Health Promotion**. (edited by R.R. Watson), IA: Iowa State University Press, 3–8 Ames, 2002.
- SUNDE, M.; PHAM, C. L. L.; KWAN, A. H. Molecular characteristics and biological functions of surface-active and surfactant proteins. **Annual Review of Biochemistry**. v. 86, p. 585–608, 2017.
- TOLDRÁ, F., REIG, M., ARISTOY, M-C., MORA, L., Generation of bioactive peptides during food processing, **Food Chemistry** (2017), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.119>
- TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. Resistência Bacteriana a Droga. In: TRABULSI, L. R. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, cap. 13, p. 86-89, 1989.
- VAN DER MAESEN, L.J.G. **Cicer l., a monograph of the genus, with special reference to the chickpea (Cicer arietinum l.), its ecology and cultivation**. 354p., 1972.
- WALSTRA, P. **Principles of foam formation and stability**. In: WILSON, A. J. Foams: physics, chemistry and structure. Springer: New York, 1989.
- WENZEL, G. E. **Bioquímica experimental dos alimentos**. São Leopoldo: Editora Unisinos. 2ª ed, 2010, p. 146-151.
- WOOD, J. A.; GRUSAK, M. A. Nutricional value of chickpea. In: **Chickpea Breeding and Management**, Capítulo 5. CAB International, p.101-142, 2007.
- YANG, X.; BERRY, T. K.; FOEGEDING, E. A. Foams prepared from whey protein isolate and egg white protein: 1. Physical, microstructural, and interfacial properties. **Journal of food Science**, v. 74, n. 5, p. E259-68, 2009.
- YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; Moritaka, S.; MISAKI, M.; TODA, J.; WADA, T.; ISHII, K. Whipping and emulsifying properties of soy bean products. **Journal of Agriculture and Biology Chemistry**, Nagoya, v. 36, n. 5, p. 719-727, 1972.
- YU, M. A.; DAMODARAN, S. Kinetics of protein foam destabilization: evaluation of a method using bovine serum albumin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v. 39, p. 3078-3091, 1991.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta Dissertação são apresentados em forma de Artigo Científico o qual foi submetido ao Periódico **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, de Qualis A1 na área de Ciência de Alimentos.

INNOVATION AND TECHNOFUNCTIONAL POTENTIAL OF CHICKPEA AQUAFABA (*Cicer arietinum* L.): AN ALTERNATIVE VEGAN AND VEGETARIAN FOOD

Joellington Marinho de Almeida⁽¹⁾; Joanderson Pereira Cândido da Silva⁽²⁾; Paula Perazzo de Souza Barbosa⁽¹⁾; Lorena Lucena de Medeiros⁽¹⁾; Carlos Alberto de Almeida Gadelha⁽¹⁾, Tatiane Santi Gadelha^(1,2)

⁽¹⁾ Federal University of Paraíba, Program in Food Science and Technology, Campus I - Lot. City Universitaria, PB, CEP 58051-900, João Pessoa, Brazil. E-mail: joellingtonalmeida@gmail.com, paulabio05@hotmail.com, lorenalucena@live.com.

⁽²⁾ Federal University of Paraíba, Department of Molecular Biology, Campus I - Lot. City Universitaria, PB, CEP 58051-900, João Pessoa, Brazil. E-mail: joandersonpereiracs@gmail.com, santi.tatiane@gmail.com.

Corresponding author: santi.tatiane@gmail.com

Abstract

It was observed that cooking with pressure in 15 minutes (WP15), and without pressure, within 20 minutes (SWP20) were more promising regarding the formation and stability of foams, emulsifying capacity and stability and gas phase fraction. The best stability during drainage kinetics was verified for the cooked sample WP15 and the half-life for the elaborated sample SWP20. WP15 has more disordered bubbles with fragmentation over time, and SP20 has smaller and more stable bubbles. Protein solubility corresponded to pH values 7.0 for WP15 and 8.0 for SWP20. The samples have a high sucrose rate, and proteins with molecular masses ranging from 76 to 38 kDa, identified as albumins and glutelin. Antibacterial activity was verified for *S. aureus* and *S. typhi*,

at concentrations of 7.812 (WP15) and 15.625 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (SWP20) respectively. Thus, cooking WP15 and SWP20 produce aquafaba with better functional technological properties and can be applied as an antimicrobial agent.

Key words: alternative by-product, wastewater from canning, legumes, functional proteins; biological activity of proteins, innovative potential

1.Introduction

Over recent years, proteins from animals used in the manufacture of food products have been replaced by proteins of plant origin, which stand out as substitutes for presenting functional properties similar to animal protein sources, making it a condition for increasing their production (Sharif et al., 2018). Chickpeas have seen a steady increase in production over the years (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016), and this position is attributed to a more conscious consumer, due to the different nutritional properties, to an industry with more modern perspective about sustainable values, with the use of waste products as pickled chickpeas water – aquafaba (Buhl et al., 2019).

Mainly used as an egg substitute in the preparation of meringues and cakes, several functional properties are being attributed to aquafaba (Meurer et al., 2020; Mustafa et al., 2018), whose properties have the potential to be applied in food formulas, being a valuable product in promoting health due to the presence of polyphenols and soluble proteins from chickpeas that migrate to aquafaba through the immersion process carried out at the end of obtaining the product (Lafarga et al., 2019).

The applicability of aquafaba is related to its technological properties of foaming, emulsifications, water absorption capacity, gelation, among others, which make proteins from vegetables a key factors in the replacement of animal protein in the bread making, confectionery and in the processing of animal products, favoring a low allergenic risk, accompanied by more sustainable manufacturing, favoring the use of legume proteins (Buhl et al., 2019). A study conducted by He et al., (2021) demonstrates the great versatility of using aquafaba in food production due to its rheological characteristics and has become popularly known in the vegan and vegetarian community.

In view of that, the aim of this study was to investigate the technological-functional properties of aquafaba proteins in different cooking methods, with and without pressure, at different cooking times; to assess its potential for use by the food industry; and to analyze the antimicrobial capacity of constituents against pathogenic bacteria foodborne, as a way of propagating the quality of food products that come from the use of aquafaba as an ingredient.

2.Material and methods

2.1.Sample Processing: Obtaining Aquafaba

Dry chickpeas (*Cicer arietinum* L.), kabuli variety and batch 008/18E10, was acquired in the local market in João Pessoa – PB, previously observing the expiration date, grain integrity and no tampering with packaging. In order to obtain aquafaba, 200 g of chickpeas were washed in ultrapure water and hydrated for a period of 8 hours with 500 mL of distilled water, under refrigeration at 15 ± 1 °C, followed by filtration of the

liquid content, and addition of more 500 mL of water for cooking under two conditions: with and without pressure (WP and SWP), at times of 10, 15 and 20 minutes (WP10, WCP15, WP20, SWP10, SWP15 and SWP20), without adding any condiments. After cooking period, the chickpeas were transferred with the residual water to a sealed flask and kept under refrigeration at 15 ± 1 °C for 24 hours. After that time, the content of flask was passed in filter paper in order to separate it from the chickpeas and to get the aquafaba.

2.2. Technological Characterization of Aquafaba

The technological parameters of aquafaba were evaluated according to foam formation (FA), foam stability (FS), emulsion activity (EA), emulsion stability (ES) and gas phase fraction, compared to a standard sample of egg white, with FS and EA response variables for choosing the best treatments for cooking chickpeas without pressure (SWP) and with pressure (WP) to accompany the other analyzes (Davis & Foegeding, 2007; Martinez et al., 2016; Shim et al., 2018; Yasumatsu et al., 1972).

The measures of percentage of drain (% DR) of the obtained aquafaba foams in the mixer (WP15 and SWP20) were carried out with modifications (Phillips et al., 1987). The half-life (HL) was defined as the time necessary for the drained fluid to correspond to half of the initial value realized in the percentage of drained (Yang et al., 2009). The time was monitored by draining the aquafaba foam through a 100 mL beaker and photographed with an AI DUAL CAMERA BY XIOMI camera (Model M1901F7G).

2.3. Micrograph Foam Structure Analysis

The micrograph analysis was performed in an optical microscope (OLYMPUS BX 51) with a computer interface, using portions of the foam from the samples WP15 and SWP20 of aquafaba, applied on slides for viewing in 5x objective at times of maximum overrun and 30 minutes. During the tests, 2 photos were taken in each time for each preparation of aquafaba and it was observed the distance between the surface lamellae and the circumference of some bubbles, in the image analysis system (Leica Quantimet 500 MC), which has the software used for measurements of secondary dendritic spacing. Different areas of the foam surface lamellae were used to ensure the best sampling between the bubbles formed in the initial and final foam times.

2.4. Physical and Physical-Chemical Characterization of Aquafaba

The pH, minerals, total proteins and total lipids of the samples SWP20 and WP15 was measured right after their preparation (AOAC, 2012; Folch et al., 1957).

In colorimetric analysis, around 100 mL of WP15 and SWP20 were previously homogenized in a TE-089 magnetic stirrer (Tecnal, Piracicaba, Brazil), and 12 mL aliquots of the liquid samples were taken for reading on the colorimetric support and for the solid samples performed in petri dishes for color determination using Konica Minolta Chroma Meter colorimeter (model CR-400) (Osaka, Japan). The parameters L^* , a^* and b^* were calculated using the CIELab color scale. From the variations of L^* , a^* and b^* it was possible to determine the darkening index of the samples (IE), according to Palou et al. (1999), and the total difference (ΔE) (Okpala et al., 2010).

In order to quantify of Aquafaba Sugar, 5 mL of WP15 and SWP20 were centrifuged tubes at 9000 rpm for 20 minutes, collecting the supernatant and discarding

the precipitate. The supernatant was centrifuged (Hettick, Universal 320R) at 12000 rpm for 15 minutes and filtered through a 22 μ m filter and reserved. The detection and quantification of the sugars present in the aquafaba sample (WP15 and SWP20) was performed in an Agilent Hi-Plex Ca column (7.7 x 300 mm, 8 μ) coupled to the High Efficiency Liquid Chromatograph (VARIAN, Waters, California, USA). The run was carried out in an isocratic solvent system, a “Rheodyne” valve with a 20 μ L handle, with a constant temperature of 85 °C and a flow rate of 0.6 mL / min. with mobile phase of ultrapure water and running time of 30 minutes, 15 μ L of samples were applied. The chromatograms were obtained by a refractive index detector (VARIAN), and GALAXIE Chromatography Data System processing software. The results were obtained by crossing with high purity sugar standards and performed in duplicate, averaging each replicate.

2.5.Extraction of Soluble Proteins and Determination of Protein Content

The proteins present in SWP20 and WP15 were dialyzed on a 14 kDa membrane with twelve consecutive changes of distilled water in 1000 mL cups to remove non-protein compounds. For chickpea extract (EGB) three solutions were used in the proportions of 1:10 (w/v) for the extraction of its proteins for providing: distilled water (H₂O), 0.1 M glycine pH 9.0 (Gly 0.1 M pH 9.0) and 0.5 M sodium chloride (0.5 M NaCl).The samples were centrifuged at 2730 g (4500 rpm) for 20 minutes, added in freezing vials and lyophilized in a freeze dry until complete removal of the water and obtain a powder for analysis. Subsequently, being verified the content of soluble proteins present in aquafaba (WP15 and SWP20) and in the extract of chickpeas (EGB) using Bovine Serum Albumin (BSA) as standard (Bradford, 1976). The proteins were

analyzed by SDS-PAGE, the stacking gel was prepared at a concentration of 3.5% polyacrylamide, while the separation gel at a concentration of 12.5% polyacrylamide (Laemmli, 1970).

2.6. Protein Content Solubility

Samples of 150 mg of proteins, SWP20, WP15 and CE (chickpeas extract as standard) were dissolved in 15 mL of distilled water with an initial pH of 4 to 9, with the aid of 3 M HCl solutions and Na₃PO₄ at 0.7 M, followed by shaking in Shaker at 25 ± 2 °C for 60 minutes and subsequent centrifugation at 3500 g for 20 minutes, the protein content of the supernatant being adapted to be evaluated by the method of Bradford (Bradford, 1976).

2.7. Antibacterial activity

Three pathogenic bacteria carried by food donated by the Fiocruz collection were selected: *Escherichia coli* CBAM 0001, *Salmonella typhi* CBAM 0015 and *Staphylococcus aureus* ATCC 23235. The bacteria were grown in petri dishes in BHI (Brain Heart Infusion) and PCA (Plate Count Agar), one culture medium representing the replication of the other and re-incubated in a bacteriological incubator. Then the colonies were transferred to tubes containing 0.5 mL of sterile 0.90% saline and their density adjusted to 0.5 on the Mc Faland scale. In the 96 well plate, 80 µL of MHB medium (Mueller Hinton Broth) was added and aliquots of 80 µL of the sample were added to the first column of the plate with a concentration of 125 µg / mL, performing a serial dilution at a concentration of 1.95 µg / mL. After dilution, 20 µL of the bacterial

suspensions were added, totaling a final volume of 100 μL and incubated in a bacteriological oven at 37 °C / 24 hours. Finally, 20 μL of 0.02% resazurin were added to each well as an indicator of bacterial growth and observed after 3 hours of reincubation. The presence of blue color represented the absence and the pink color the presence of bacterial growth adapted from (Ferreira, 2018).

3.Results and discussion

3.1.Technological Characterization of Chickpea Aquafaba

3.1.1.Foam Formation and Stability, Activity and Emulsifying Stability and Gas Fraction

Aquafaba samples obtained by cooking at different times and ways, with and without pressure, were compared in the same proportions as a standard egg cudgel sample (Table 1). It was observed that there was a significant difference between the samples WP, SWP and ST for FA. However, when the SWP were compared to each other, a similar behavior was observed among their foams.

For the foam stability parameter (FS), the sample WP15 and the standard (ST) did not differ statistically from each other, however they were statistically different in relation to the others. In EA (emulsifying activity), with the exception of WP20, the treatments maintained similar behaviors when compared to ST. The analyzes show that the values of ES (emulsion stability) were not statistically different among treatments SWP10, SWP15, WP10 e WP15, being statistically different for SWP20, better treatment.

Foam is formed because proteins have bonds that can be broken, changing their rotational conformation, depending on the treatments they are subjected. Temperature is also a factor that influences the process so that products obtained at high temperatures and caused by agitation, vibrations and pressures can promote protein changes that can improve or add value to the products in which they are applied. The fraction of the gas phase for all times of the WP and SWP treatments showed difference in relation to ST. The foaming parameter for all treatments, except WP20, were established within the values verified by Mustafa et al., (2018). In that study, the percentages from 182.22% to 480.00% were analyzed for the ten we treated the residual water from the chickpeas preserves analyzed. The authors also observed that the results of aquafaba emulsion stability were between 60.00% and 80.00%, lower than their standard egg white sample, which can be compared with the study of different processing conditions with and without pressure.

Meurer, Souza and Marczark (2020) observed FA values of 259.00% in aquafaba in natura and with the use of ultrasound at different intensities (50% and 100%) and time (10, 20 and 30 min), 361.11% to 548.15%, something which favors an increase foaming capacity ranging from 40% to 82%. Morales et al., (2015) verified the behavior of the soy protein isolate in the formation of foams, obtaining variable values of 153.30% and 202.00%. Martínez-Velasco et al., (2018) tested the ability of fava bean protein in foaming and found an increase in formation with increasing ultrasound intensity.

According to Galazka et al., (2000) pressure causes changes in protein conformation, in its hydrophobic bonds and ionic parts, directly interfering in the dimensioning of volume when they react with other molecules. The volume is affected by the presence of new hydrogen bonds that are insensitive to pressure, but that cause

changes in the interface of the protein. Justifying the resulting values for the treatment of aquafaba WP that suffered the action of pressure and high temperature, when compared to SWP that was obtained by cooking process with influence only of temperature.

Finally, after the overrun tests (FA), it was possible to obtain the values of the gas phase fraction (ϕ) of aquafaba foams, corresponding to the measure of the amount of air present inside the foam in a fixed volume. The gas phase fraction is related to the foaming capacity, that is, the greater the overrun, the greater the value of ϕ .

The values of the gas phase fraction of the WP samples showed a significant difference between the three treatments (WP10, WP15 and WP20), with values ranging from 0.00 to 0.77. For the samples of aquafaba SWP, the treatments SWP10, SWP15 and SWP20 did not present differences between them, however, all treatments differed from the standard sample of egg white.

According to Schramm, (2014) the bubble structure can be altered according to the incorporation of air, causing an increase in the value of ϕ . Values of the fraction of the gas phase that are below 0.83, as is the case of the samples of aquafaba WP and SWP, are characterized by wet foams, of incompressible and uniform formation. However, values of ϕ close to 1, sample of egg white for example, have more compressed bubble shapes, polyhedral structure and less humid.

After analyzing the data contained in table 1, the experiments were performed for the WP15 and SWP20 samples.

3.1.2. Percentage of Drained (% DR) and Half-Life (HL) of Aquafaba Foams

The stability kinetics of the foams formed during the drainage process can be seen in Figure 1. The difference between the stability of the WP15 and SWP20 analyzed samples from 10 to 120 minutes is demonstrated graphically, where there is an increase in the loss of liquid at from the initial 10 to 30 minutes for the SWP20 sample in relation to WP15. However, SWP20 (from 40 minutes) demonstrates a smaller loss in later times, remaining more stable, when compared to WP15 which came to show stability of the content loss around 90 minutes of drainage.

These results corroborate with the works of Daltin, (2011) who explains that the destabilization of foams with a protein content depends on several factors that influence their stability, such as the gravitational force and the pressure difference that are exerted on the sample. Justifying the greater initial drainage of SWP20 foams compared to WP15, due to possible protein changes influenced by processing. The author still reports that the drained liquid content during the early times can be explained by the force of gravity exerted on the more hydrated (wetter) foams, thus presenting a greater density of fluid before the amount of bubbles that structure the foam. The greater hydration of the foams at the beginning of the drainage is related to thicker lamellae due to the lower concentration of air inside (Rosen & Kunjappu, 2012).

Regarding the half-life of the aquafaba samples (HL), it was found that for SWP20 it occurred in the initial time of 10 minutes, while WP15, after 50 minutes of drainage. This indicates that destabilizing factors affect more the SWP20 sample when compared to WP15. Yang, Berry and Foegeding, (2009) report that the stability of the foam is related to its viscosity and interfacial elasticity, directly influencing the structure and stability of the foam.

3.1.3. Analysis of Aquafaba Foam Structure

Aquafaba foams demonstrate different behaviors in the way they are processed. With variable changes in volume, resulting from the time of contact with air and the shear force that occurred during the whipping process to form bubbles, causing protein denaturation and decreasing protein-protein and protein-air interactions. In this way, it is possible to analyze visually the distribution of the overrun bubbles and their inclusion in the air particles through Figure 2 (a, b, c, d).

The temperature and pressure variables influenced the spherical structure of the bubbles of the aquafaba foam, where we observed for the WP15 treatment (Figure 2a and 2b) the predominance of larger bubbles and for the SWP20 treatment (Figure 2c and 2d) the predominance of smaller bubbles.

In the WP15 treatment (Figure 2a), there is a more uneven distribution of the bubbles, between large, medium and small, with more fragile structures due to the large proportion of air inside the bubble caused by the protein-air interaction. However, with similarity between their structures and an aqueous aspect, as highlighted by Shcramm (2014) about the influence of the amount of gas within the foam structure, corresponding to the values of ϕ . According to Dutta et al., (2004) fine bubbles with a stable size produce a product with good texture, bubbles with variation in size and the presence of large bubbles generate instability in the mixture, uneven and coarse texture of the product.

In Figure 2a, it is still possible to see the distance between the bubbles that become clearly variable from the size of the same and the spaces that demonstrate wateriness, configuring a wet bubble (quite humid). The distance between the lamella of one bubble and another becomes quite dynamic with values from 32.69 μm to 157, 58 μm theoretically. After 30 minutes, the foams from the CP15 aquafaba sample were

analyzed to observe their bubble dimensions and compliance during the stability time (Figure 2b). It is possible to verify that the distance between the lamellae remains practically the same, however a greater visibility of the shape of the foams with a spherical geometry of their bubbles.

The figures 2c and 2d show that the spaces between the slides of the SWP20 sample were smaller, with variations between 26.62 μm and 93.55 μm at the initial time and 30.95 μm and 123.89 μm after 30 minutes, in addition to better uniformity. Yang, Berry and Foegeding (2009), analyzed with a confocal microscope the structure of reconstituted dehydrated egg white foams, and observed bubbles with almost spherical shapes and with variation in size, which corroborate with the data of this study.

The forces exerted in the process of obtaining the bubbles cause them to break into smaller ones. Daltin (2011) states that the morphological difference between the bubbles of foam is attributed to the forces of attraction present in the protein solution, causing them to attract, together with the surface tension that one bubble exerts on the other. According to Langevin, (2017) the amount of liquid present in the formation and remaining in the foam has a direct influence on the bubble structure. The volume of this liquid can vary from 1% to 10%, characterizing the foam in dry (polyhedral) or wet (spherical). As observed in the bubbles of foam WP15 and SWP20, being wet foam and with independent movements because they have liquid medium to get around. It is observed that during the micrographic analysis there was the incorporation of air, which implies the values of the fraction of the gas phase, characterizing foam with more humid, incompressible and uniform bubbles (Schramm, 2014).

3.1.4. Protein Solubility of Aquafaba Proteins

The protein content of aquafaba obtained from two treatments WP15 and SWP20 were evaluated according to their solubility at different pH values, which ranged from 4.0 to 9.0, as shown in Table 2. The two aquafaba treatments remained with different values in all pH values, except for pH 5.0 at a significance level of 5%, when compared to the standard sample CE.

Through protein solubility it is possible to identify the protein isoelectric point of the material under study. Therefore, it is observed that the isoelectric point (IP) of the sample WP15 and SWP20 is at pH 5.0 and 6.0 respectively, whereas, the IP of CE is around pH 7.0, corresponding to the point that has the lowest solubility value. The pH 8.0, 7.0 and 5.0 showed the highest protein solubility and for WP15, SWP20 and CE respectively, demonstrating better technological properties to protein when applied in the preparation of food products.

Rodsamran & Sothornvit, (2018) obtained minimum solubility values from their coconut extract samples with pH 4.0 with the high solubility evident under acidic or alkaline conditions. In addition, some samples of aquafaba demonstrated greater solubility in more acidic or more basic pH. When the pH is far from the IP, the protein starts to have negative or positive liquid charges, causing the repulsion between molecules of similar charges and their hydration which results in protein solubilization (El Nasri & El Tinay, 2007).

3.2. Physical Chemistry of Aquafaba Samples

The results of the proximal composition of protein, lipid, ash and pH contents of aquafaba samples obtained from treatments WP15 and SWP20 are shown in Table 3. We observed that the centesimal parameters of aquafaba WP15 and SWP20 differed

statistically in terms of protein values and ashes, but not with respect to lipid and pH parameters, respectively.

Bird et al., (2017) and Stantiall et al., (2018) found no significant values for the content of lipids in aquafaba. This can happen due to the type of processing attributed to its obtaining, which causes its insolubility in water. According to Liu et al., (2013) when subjecting grains to cooking processes, there was an increase in the amount of lipids in their composition. Other studies have pointed out that after the chickpea cooking process to obtain aquafaba, its physical-chemical aspects changed, with a decrease, for example, in the ash content as observed by Alajaji & El-Adawy, (2006).

The aquafaba color parameters, which differed statistically only for the variables L^* and b^* , remaining at a^* at a significance level of 5%, can be seen in Table 3. The variable L^* showed low luminosity results due to the opacity of the product and deposit of sediments from the chickpeas during the cooking, immersion and residues after filtration. Chroma value a^* , which denote negative variation ($-a^*$) when the product tends to a green and positive color ($+a^*$) with a tendency to a red variation, it showed results for WP15 and SWP20, with a tendency to a green color tone. For chroma b^* , with variation from yellow ($+b^*$) to blue ($-b^*$), demonstrated results tending to the yellow variety in both treatments. The tendency to yellow and or green by the samples WP15 and SWP20 in chroma a^* and b^* may be related to the content of riboflavin (vitamin B2) in high quantity, since the chickpeas are a raw material source of this vitamin (Oliveira et al., 2017).

With the results of L^* , a^* and b^* of the aquafaba values (WP15 and SWP20), two other colorimetry variables were obtained: IE (Darkening Index) and ΔE (total color difference). It was observed that the darkening index of the aquafaba samples without pressure was lower in relation to pressure, due to the lesser damage to the chickpeas

during cooking. The result of the total color difference of the correlation between samples WP15 and SWP20, corresponded to a value 28.48.

3.3. Aquafaba sugar profile

The sugar profiles of the aquafaba samples obtained with and without pressure in 15 and 20 minutes were analyzed and in both we verify the presence of disaccharides and monosaccharides (Table 4).

When the results were compared at a significance level of 5% ($p < 0.05$), it was observed that there was a statistical difference between the sugars found in the aquafaba WP15 and SWP20 treatments. As the concentrations of glucose and fructose are likely responses to the hydrolysis of sucrose (glucose + fructose) this was due to the high processing temperatures that reached around 100 °C, causing the breakdown of glycosidic bonds. Kaur & Prasad, (2021) carried out a survey on the carbohydrates present in chickpeas, corresponding to 60-65% of the composition of the seeds.

In a review on the nutritional profile of chickpeas - aquafaba He et al., (2021) observed the presence of reducing and non-reducing oligosaccharides and sugars, such as fructose, glucose, sucrose, raffinose and stachyose. The difference in the concentrations of sugar in seeds to that of aquafaba becomes very evident, since the residual water of the chickpeas contains its macronutrients from the grain. The studies of sugars present in aquafaba are still unknown or inconclusive, as well as of other compounds present in its composition.

3.4. SDS-PAGE electrophoresis of chickpea aquafaba

The SDS-PAGE electrophoresis of the WP15 and SWP20 samples can be analyzed in Figure 3. We observed that there are protein bands in three distinct sections, varying the mass (kDa) of each one. The weight of the protein fractions found in aquafaba (WP15 and SWP20), varied from 76 kDa to 38 kDa. It is possible to verify that both treatments have a similar protein profile despite the time, temperature and pressure exerted on the processing being different. It is noteworthy the presence of a set of bands with molecular weight around 38 kDa, present for both WP and SWP.

Some authors report through the results of electrophoresis and fingerprint of peptides the presence of even smaller proteins with molecular weight ≤ 25 kDa and identified as albumins and with well-defined technological properties (Mustafa et al., 2018). Shim et al., (2018) also identified by performing protein separation by membrane followed by SDS-PAGE and fingerprint that aquafaba has strictly hydrophilic and heat-sensitive proteins.

Thus, albumin and glutelin are proteins that have good aeration capacity, responsible for texture, appearance, final volume and guarantee stabilization of foams (Raikos et al., 2007).

3.5. Antibacterial activity of aquafaba proteins

We noted that among the three strains of bacteria, only *E. coli* was resistant in all concentrations of aquafaba as an antibacterial agent. At minimum concentrations, was observed inhibition of bacteria by the proteins of aquafaba, WP and SWP, proceeding up to the concentration of 7.812 and 15.625 $\mu\text{g} / \text{mL}$ for *S. aureus* and *S. typhi*, respectively.

Several studies point to the use of proteins as antibacterial agents, with the aim of controlling and / or inhibiting the development of pathogenic bacteria that cause diseases in humans (Souza, 2020). An analysis related to the chickpea protein profile, identified a total of 21 peptides with antimicrobial potential, with Leg1 and Leg2 being prominent against 16 strains of bacteria including as used in this study (Heymich et al., 2020).

Sitohy & Osman, (2010) found a better antibacterial activity of proteins from soybean, bean and chickpea seeds when concentrated at pH 6.0 and 8.0 which resulted in changes in their isoelectric points. Observing these values, it becomes possible to interconnect the results obtained here when it is verified that the pH and IP of aquafaba proteins are related to better biological activity during antibacterial activity.

4.Conclusions

The best techno-functional analyzes were found in the WP15 and SWP20 treatments for aquafaba production. The aquafaba foam structures behaved differently, characterizing a greater disorder among the WP15 sample compared to SWP20. The best functionality for elaborating pH processes where the samples showed greater solubility. Samples WP15 and SWP20 showed high content of sucrose and prevalence of albumin and glutelin in their protein content. The WP15 and SWP20 samples proved to be good antimicrobial agents against strains of *S. aureus* and *S. typhi*, bacteria responsible for causing food outbreaks and that grow in bakery and confectionery products, potential branches of the use of aquafaba. Finally, despite the different types of processing applied, they validate the adequacy of the methods in predicting the functionality of aquafaba, the CP15 treatment sample proved to have better applicability

with soluble properties of its proteins and stability that become of greater interest in products. In addition, the chickpeas cooking water obtained in an optimized way can be used for the development of food products for vegans and vegetarians.

References

- AOAC. (2012). *Official methods of analysis of AOAC international* (18th ed.) Gaithersburg: Association of Official Analysis Chemists international.
- Alajaji, S. A., & El-Adawy, T. A. (2006). Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(8), 806–812.
- Bird, L. G., Pilkington, C. L., Saputra, A., & Serventi, L. (2017). Products of chickpea processing as texture improvers in gluten-free bread. *Food Science and Technology International*, 23(8), 690–698.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254.
- Buhl, T. F., Christensen, C. H., & Hammershøj, M. (2019). Aquafaba as an egg white substitute in food foams and emulsions: Protein composition and functional behavior. *Food Hydrocolloids*, 96, 354–364.
- Daltin, D. (2011). *Tensoativos: química, propriedades e aplicações*. Editora Blucher.
- Davis, J. P., & Foegeding, E. A. (2007). Comparisons of the foaming and interfacial properties of whey protein isolate and egg white proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 54(2), 200–210.
- Dutta, A., Chengara, A., Nikolov, A. D., Wasan, D. T., Chen, K., & Campbell, B. (2004). Texture and stability of aerated food emulsions—effects of buoyancy and

- Ostwald ripening. *Journal of Food Engineering*, 62(2), 169–175.
- El Nasri, N. A., & El Tinay, A. H. (2007). Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food Chemistry*, 103(2), 582–589.
- FAO. (2016). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Retrieved November 10, 2020. www.FAO.org
- Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.
- Galazka, V. B., Dickinson, E., & Ledward, D. A. (2000). Influence of high pressure on interactions of 11S globulin *Vicia faba* with ι -carrageenan in bulk solution and at interfaces. *Food Hydrocolloids*, 14(6), 551–560.
- Heymich, M.-L., Friedlein, U., Trollmann, M., Schwaiger, K., Böckmann, R. A., & Pischetsrieder, M. (2020). Generation of antimicrobial peptides Leg1 and Leg2 from chickpea storage protein, active against food spoilage bacteria and foodborne pathogens. *Food Chemistry*, 128917.
- Kaur, R., & Prasad, K. (2021). Technological, processing and nutritional aspects of chickpea (*Cicer arietinum*)-A review. *Trends in Food Science & Technology*.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685.
- Lafarga, T., Gallagher, E., Bademunt, A., Bobo, G., Echeverria, G., Viñas, I., & Aguiló-Aguayo, I. (2019). Physiochemical and nutritional characteristics, bioaccessibility and sensory acceptance of baked crackers containing broccoli co-products. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(3), 634–640.
- Langevin, D. (2017). Aqueous foams and foam films stabilised by surfactants. Gravity-free studies. *Comptes Rendus Mécanique*, 345(1), 47–55.

- Liu, L., Waters, D. L. E., Rose, T. J., Bao, J., & King, G. J. (2013). Phospholipids in rice: significance in grain quality and health benefits: a review. *Food Chemistry*, 139(1–4), 1133–1145.
- Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, B. E., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2018). High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44, 97–105.
- Martinez, M., Stone, A. K., Yovchev, A. G., Peter, R., Vandenberg, A., & Nickerson, M. T. (2016). Effect of genotype and environment on the surface characteristics and functionality of air-classified faba bean protein concentrates. *European Food Research and Technology*, 242(11), 1903–1911.
- Meurer, M. C., de Souza, D., & Marczak, L. D. F. (2020). Effects of ultrasound on technological properties of chickpea cooking water (aquafaba). *Journal of Food Engineering*, 265, 109688.
- Morales, R., Martínez, K. D., Ruiz-Henestrosa, V. M. P., & Pilosof, A. M. R. (2015). Modification of foaming properties of soy protein isolate by high ultrasound intensity: Particle size effect. *Ultrasonics Sonochemistry*, 26, 48–55.
- Mustafa, R., He, Y., Shim, Y. Y., & Reaney, M. J. T. (2018). Aquafaba, wastewater from chickpea canning, functions as an egg replacer in sponge cake. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(10), 2247–2255.
- Okpala, C. O. R., Piggott, J. R., & Schaschke, C. J. (2010). Influence of high-pressure processing (HPP) on physico-chemical properties of fresh cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 61–67.
- Oliveira, L. C., Schmiele, M., & Steel, C. J. (2017). Development of whole grain wheat

- flour extruded cereal and process impacts on color, expansion, and dry and bowl-life texture. *LWT*, 75, 261–270.
- Phillips, L. G., Haque, Z., & Kinsella, J. E. (1987). A method for the measurement of foam formation and stability. *Journal of Food Science*, 52(4), 1074–1077.
- Rodsamran, P., & Sothornvit, R. (2018). Physicochemical and functional properties of protein concentrate from by-product of coconut processing. *Food Chemistry*, 241, 364–371.
- Rosen, M. J., & Kunjappu, J. T. (2012). *Surfactants and interfacial phenomena*. John Wiley & Sons.
- Schramm, L. L. (2014). *Emulsions, foams, suspensions, and aerosols: microscience and applications*. John Wiley & Sons.
- Sharif, H. R., Williams, P. A., Sharif, M. K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K. G., Safdar, W., & Zhong, F. (2018). Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants—A review. *Food Hydrocolloids*, 76, 2–16.
- Shim, Y. Y., Mustafa, R., Shen, J., Ratanapariyanuch, K., & Reaney, M. J. T. (2018). Composition and properties of aquafaba: Water recovered from commercially canned chickpeas. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 132, e56305.
- Sitohy, M., & Osman, A. (2010). Antimicrobial activity of native and esterified legume proteins against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Food Chemistry*, 120(1), 66–73.
- Souza, P. F. N. (2020). The forgotten 2S albumin proteins: Importance, structure, and biotechnological application in agriculture and human health. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Stantiall, S. E., Dale, K. J., Calizo, F. S., & Serventi, L. (2018). Application of pulses

cooking water as functional ingredients: the foaming and gelling abilities.

European Food Research and Technology, 244(1), 97–104.

Yang, X., Berry, T. K., & Foegeding, E. A. (2009). Foams prepared from whey protein isolate and egg white protein: 1. Physical, microstructural, and interfacial properties. *Journal of Food Science*, 74(5), E259–E268.

Yasumatsu, K., Sawada, K., Moritaka, S., Misaki, M., Toda, J., Wada, T., & Ishii, K. (1972). Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agricultural and Biological Chemistry*, 36(5), 719–727.

Table 1: Foam Formation (FE), foaming stability (EE), emulsifying activity (AE), emulsifying stability (ES) and gas fraction (ϕ)

Variables	CP10	CP15	CP20	SP10	SP15	SP20	P
FE (%)	333,33±0,00 ^d	251,85±6,41 ^a	0,00±0,00 ^f	392,59±6,42 ^{bc}	374,07±6,41 ^{bc}	377,77±12,83 ^{bc}	651,85±12,83 ^a
EE (%)	66,66±0,00 ^b	92,22±0,38 ^a	0,00±0,00 ^f	51,98±8,94 ^c	33,34±5,26 ^a	77,84±2,37 ^b	91,47±0,16 ^a
AE (%)	69,62±7,21 ^{ab}	82,78±15,16 ^{ab}	48,88±5,77 ^c	69,83±2,75 ^{abc}	66,86±4,46 ^{abc}	83,33±0,00 ^a	62,50±12,70 ^{abc}
ES (%)	63,33±5,77 ^b	54,00±3,46 ^b	0,00±0,00 ^d	56,67±5,77 ^b	53,33±5,77 ^b	80,00±0,00 ^a	40,00±0,00 ^c
ϕ	0,77±0,01 ^c	0,72±0,01 ^b	0,00±0,00 ^d	0,79±0,00 ^b	0,79±0,00 ^b	0,79±0,00 ^b	0,86±0,01 ^a

CP 10, 15, 20 – With pressure in minutes; SP 10, 15, 20 – Without pressure in minutes; P – Standard. Different letters on the same line indicate statistical difference between treatments at a significance level of 5% by the Tukey's test.

Source: Author, 2020.

Table 02: Variation of protein solubility at different pH of aquafaba proteins and chickpea flour

pH	CP15	SP20	EGB
pH 4,0	6,30±0,89 ^b	1,32±0,29 ^c	10,75±0,49 ^a
pH 5,0	1,15±0,03 ^b	1,20±2,58 ^b	19,94±3,58 ^a
pH 6,0	5,08±1,43 ^b	0,96±0,01 ^c	12,30±3,44 ^a
pH 7,0	8,16±1,72 ^a	1,33±0,07 ^c	5,52±0,43 ^b
pH 8,0	12,81±1,42 ^a	1,04±0,09 ^c	9,76±0,00 ^b
pH 9,0	10,78±1,70 ^a	1,28±0,13 ^c	6,85±4,41 ^b

* Different letters in the horizontal signify statistical difference between treatments, with a 5% significance level.

Source: Author, 2020.

Table 03: Proximal and physical composition of chickpea aquafaba obtained with and without pressure

Parameters	CP15	SP20	Value (p)
L*	16,80±0,11	18,5±0,50	<0,05
a*	-0,29±0,75	-0,33±0,05	0,611
b*	2,13±0,18	0,15±0,19	<0,001
Proteins	0,79±0,01	0,91±0,04	<0,05
Lipids	0,82±0,03	0,80±0,16	0,839
Ashes	0,54±0,02	0,65±0,05	<0,05
pH	6,11±0,10	5,95±0,05	0,062

CP15: Sample obtained with pressure for 15 minutes; SP20: Sample obtained without pressure for 20 minutes; Value (p): Values less than 0.05 have a significant difference, while higher values have no difference.

Source: Author, 2020.

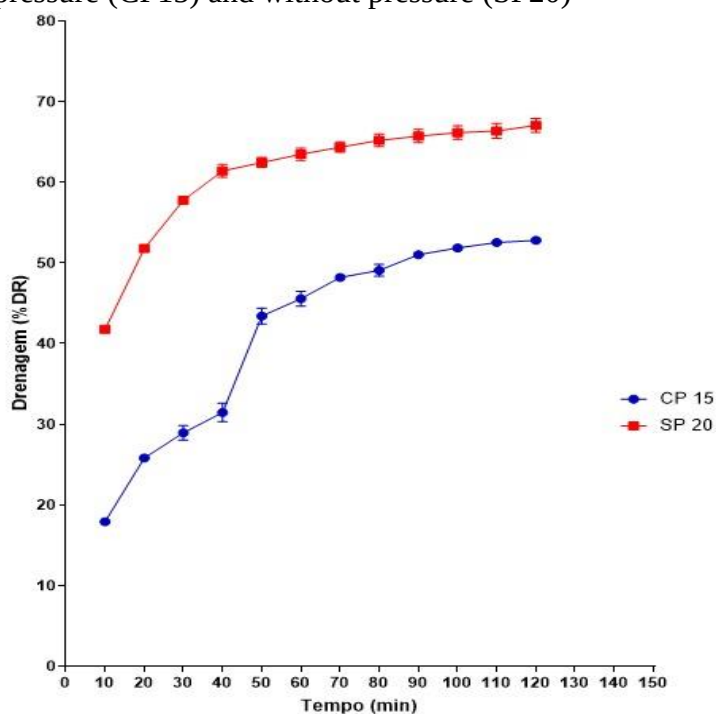
Table 04: Sugar profile of aquafaba samples obtained in the best treatments.

Sugars (mg/ g)	CP15	SP20	Value (p)
Sucrose	1,88±0,05	2,60±0,28	<0,05
Glucose	0,29±0,03	0,46±0,02	<0,05
Xylose	0,26±0,02	0,40±0,02	<0,05
Fructose	0,02±0,00	0,28±0,02	<0,05

CP15: Sample obtained with pressure for 15 minutes; SP20: Sample obtained without pressure for 20 minutes; Value (p): Values less than 0.05 have a significant difference, while higher values have no difference.

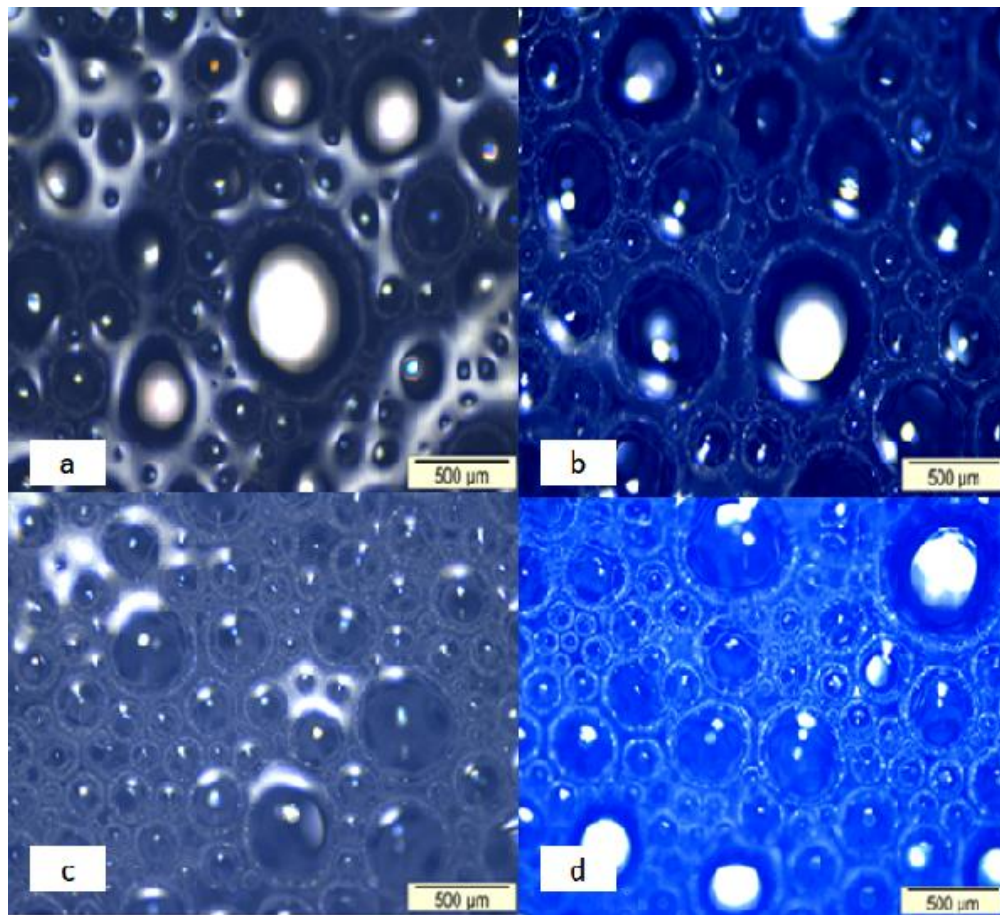
Source: Author, 2020.

Figure 1: Stability kinetics of drainage percentages (% DR) of aquafaba foams with pressure (CP15) and without pressure (SP20)



Source: Author, 2020.

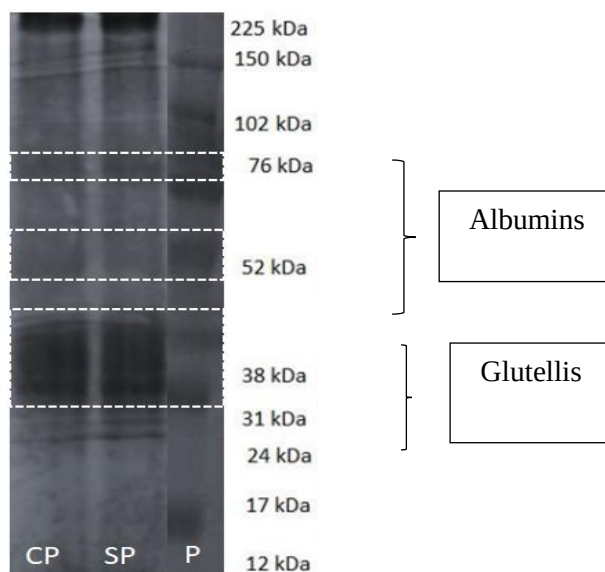
Figure 02: Micrograph of aquafaba foam CP15 and SP20 in the initial maximum overrum time



a – CP15 in zero time; b – CP15 in maximum time (30 minutes); c – SP20 in zero time; d – SP20 in maximum time (30 minutes)

Source: Author, 2020.

Figure 03: SDS-PAGE (12.5%) of aquafaba samples CP15 and SP20 with the marker (P)



Source: Author, 2020.

5 CONCLUSÃO GERAL

Obtiveram-se propriedades tecnofuncionais satisfatórias para ambos os tratamentos de aquafaba obtidas com pressão e sem pressão.

- Os tempos de 15 e 20 minutos das amostras de aquafaba obtidas com pressão e sem pressão, respectivamente, demonstraram melhores habilidades de formação de espuma e estabilidade quando comparadas com os demais parâmetros tecnológicos das amostras subsequentes.
- A aquafaba demonstrou perfil de açúcares com predominância em ambos os tratamentos de sacarose. No entanto, sendo necessário uma repetição com um maior número de padrões devido a picos demonstrados no HPLC que não foram identificados, sendo prováveis rafinose e estaquiase.
- O perfil eletroforético das amostras de aquafaba demonstraram frações proteicas compreendidas entre albuminas e glutelinas com propriedades tecnológicas e biológicas derivadas de suas quebras.
- As proteínas da aquafaba CP e SP se mostraram eficientes como agentes antibacterianos frente a cepas de *S. aureus* e *S. typhi*. Além de ser observado que em suas menores concentrações as proteínas exerciam melhor atividade antibacteriana.