



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

ADRIANA GADIOLI TARONE

**INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE SECAGEM NAS PROPRIEDADES
GELIFICANTE E EMULSIFICANTE DAS FRAÇÕES 7S E 11S DA PROTEÍNA
DE SOJA.**

Dissertação de mestrado apresentada à
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Unicamp para a obtenção do Título de
Mestre em Engenharia de Alimentos.

Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha

Orientadora

Este exemplar corresponde à redação final da dissertação defendida por Adriana Gadioli Tarone, aprovada pela comissão julgadora em ___/___/___ e orientada pela Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha.

Assinatura do orientador

Campinas – 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
LUCIANA P. MILLA – CRB8/8129- BIBLIOTECA DA FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

T176i Tarone, Adriana Gadioli
Influência das condições de secagem nas
propriedades gelificante e emulsificante das frações 7s e
11s da proteína de soja / Adriana Gadioli Tarone. --
Campinas, SP: [s.n], 2012.

Orientador: Rosiane Lopes da Cunha.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Proteína de soja. 2. Beta-conglicinina. 3.
Glicinina. 4. Emulsão. 5. Gelificação. I. Cunha,
Rosiane Lopes da. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.
Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Influence of drying condition on the gelling and emulsifying
properties of soy protein fractions 7S and 11S

Palavras-chave em inglês (Keywords):

Soy protein

Beta-conglycinin

Glycinin

Emulsion

Gelation

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Rosiane Lopes da Cunha [Orientador]

Miriam Dupas Hubinger

Gustavo César Dacanal

Data da defesa: 24/02/2012

Programa de Pós Graduação: Engenharia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha
Orientadora – DEA – FEA – UNICAMP

Profa. Dra. Míriam Dupas Hubinger
Titular – DEA – FEA – UNICAMP

Prof. Dr. Gustavo César Dacanal
Titular – FZEA – USP

Prof. Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri
Suplente – EA – UFG

Prof. Dr. Celso Costa Lopes
Suplente – DEA – FEA – UNICAMP

“Vire o rosto em direção ao sol e as sombras ficaram para trás.”
Jan Golstein

Dedico aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

À querida Profa. Dra. Maria de Fátima Pícolo Barcelos da Universidade Federal de Lavras, por ter me iniciado (e ensinado) neste caminho, me despertando o gosto pela pesquisa.

À UNICAMP, à Faculdade de Engenharia de Alimentos e seus funcionários.

À Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha pelo apoio e pela dedicada orientação. Obrigada pela paciência e persistência!

Aos meus amigos da turma de pós-graduação DEA 2009, pelas muitas horas de estudos e explicações. Mas também pelos momentos de diversão e amizade. À Franciele, pelas longas conversas no laboratório e pelo apoio nas decisões mais difíceis.

À Dona Ana e a Joice, pela grande ajuda no laboratório.

Aos amigos do LEP. Ao Luiz, pela ajuda, caronas noturnas e por ser meu dedicado correspondente. À Fabi, pela orientação ao longo das minhas análises. À Carol, pela ajuda com meus géis. À Aninha, Kátia, Lise e Rejane, pela ajuda e conselhos.

Aos meus amigos Rodrigo, Mário e Bebel, por terem me recebido de braços abertos! Obrigada pela amizade, pelas caronas, marmitas noturnas e por terem me apoiado e incentivado nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, pelo apoio emocional e financeiro. Obrigada por terem acreditado em mim! Sem vocês eu não teria chegado tão longe...

Ao Diego, meu grande amor, por me ajudar a tornar isso possível. Obrigada pelo apoio, carinho e dedicação, e por tornar o meu caminho um pouco mais fácil. Te amo!

E a todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	vii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
NOMENCLATURA / ABREVIACÕES	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1. Introdução.....	2
1.2. Objetivos.....	3
1.2.1. Objetivo geral.....	3
1.2.2. Objetivos específicos.....	3
CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Proteína de Soja.....	6
2.2. Emulsões.....	8
2.3. Gelificação	11
CAPÍTULO 3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. Materiais	14
3.2. Métodos	14
3.2.1. Fracionamento do isolado protéico de soja	14
3.2.2. Preparo das emulsões O/A.....	17
3.2.3. Preparo dos Géis	17
3.3. Análises.....	17
3.3.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida.....	18
3.3.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	18
3.3.3. Potencial Zeta.....	19
3.3.4. Isotermas de sorção	19
3.3.5. Densidade aparente e real	21
3.3.6. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	21
3.3.7. Distribuição do tamanho de partículas e gotas	21
3.3.8. Análise de cor	22
3.3.9. Análises físico-químicas.....	22
3.3.10. Estabilidade à cremeação	23
3.3.11. Medidas Reológicas.....	23
3.3.11.1. Curvas de escoamento das emulsões	24

3.3.11.2.	Espectros mecânicos das emulsões.....	24
3.3.11.3.	Varredura de temperatura.....	25
3.3.12.	Propriedades Mecânicas.....	25
3.3.13.	Capacidade de Retenção de Água (WHC).....	26
3.3.14.	Microscopia Confocal (CSLM).....	26
3.3.15.	Análise Estatística.....	27
CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....		28
4.1.	Caracterização dos isolados protéicos de soja fracionados.....	29
4.1.1.	Análises Químicas.....	29
4.1.2.	Colorimetria.....	30
4.1.3.	Densidade real e aparente.....	31
4.1.4.	Distribuição do tamanho de partículas.....	32
4.1.5.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	34
4.1.6.	Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	35
4.1.7.	Eletroforese em gel de poliacrilamida.....	37
4.1.8.	Isotermas de sorção.....	39
4.2.	Caracterização dos géis obtidos a partir da fração 7s e 11s da proteína de soja.....	46
4.2.1.	Ensaio Reológico Oscilatório.....	46
4.2.2.	Propriedades Mecânicas.....	54
4.2.2.1.	Tensão de Ruptura (σ_R).....	54
4.2.2.2.	Deformação na Ruptura (ϵ_R).....	57
4.2.3.	Módulo de Elasticidade (E).....	59
4.2.4.	Capacidade de Retenção de Água (WHC).....	61
4.3.	Caracterização das emulsões obtidas a partir da fração 7s e 11s da proteína de soja. 63	
4.3.1.	Estabilidade à cremeação.....	63
4.3.2.	Potencial Zeta (ζ).....	69
4.3.3.	Distribuição da Proteína nas Fases.....	71
4.3.4.	Distribuição do Tamanho de Gotas.....	72
4.3.5.	Medidas Reológicas.....	74
4.3.5.1.	Estado Estacionário (Curvas de Escoamento).....	74
4.3.5.2.	Ensaio oscilatório.....	79
CAPÍTULO 5. CONCLUSÃO.....		83
CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....		86

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Características das frações protéicas hidrossolúveis da soja.....	6
Tabela 3.1. Atividade de água das soluções salinas saturadas a 25°C.....	19
Tabela 3.2. Modelos para ajuste de isotermas de sorção.	20
Tabela 4.1. Teor médio de umidade, proteína e cinzas das frações 7S e 11S da proteína de soja secas por liofilização ou “spray dryer” (SD).....	29
Tabela 4.2. Parâmetros de cor das dispersões das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” (SD).	30
Tabela 4.3. Densidade real (ρ_{real}) e aparente (ρ_{aparente}) das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” (SD).	31
Tabela 4.4. Diâmetro médio das partículas D _{3,2} (μm) das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” (SD).	32
Tabela 4.5. Efeito do tratamento térmico sobre a entalpia de desnaturação total (ΔH_T) e temperaturas de desnaturação, T_0 e T_{pico} , nas frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” (SD).	35
Tabela 4.6. Umidade de equilíbrio (X_e) da fração protéica 7S, armazenada sob diferentes condições de atividade de água a 25°C. SD: “spray dryer”.	40
Tabela 4.7. Umidade de equilíbrio (X_e) da fração protéica 11S, armazenada sob diferentes condições de atividade de água a 25°C. SD: “spray dryer”.	41
Tabela 4.8. Parâmetros de ajuste da isoterma da fração protéica 7S. SD: “spray dryer”. ..	42
Tabela 4.9. Parâmetros de ajuste da isoterma da fração protéica 11S. SD: “spray dryer”. ..	43
Tabela 4.10. Temperaturas de cruze (°C) de G' e G'' das frações enriquecidas em 7S e 11S da proteína de soja secas por liofilização ou “spray dryer” (SD) em 120, 150 ou 180°C e solubilizadas em pH 3 e 7.....	50
Tabela 4.11. Teor de proteína das fases separadas das emulsões após 7 dias de estocagem. SD: “spray dryer”.....	71
Tabela 4.12. Diâmetro médio das gotas D _{3,2} (μm) das emulsões obtidas a partir das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizadas ou secas em “spray dryer” (SD) a 120, 150 ou 180°C solubilizadas em valores de pH 3 e 7.	72
Tabela 4.13. Efeito das diferentes condições de secagem nas propriedades reológicas das emulsões estabilizadas pelas frações ricas em 7S e 11S da proteína da soja em pH 3 e 7. Índice de consistência (k), índice de comportamento (n), tensão residual (σ_0) e viscosidade (η) a 100 s ⁻¹ da fase superior dessas emulsões. SD: “spray dryer”.....	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Representação esquemática dos mecanismos de instabilidade das emulsões. Fonte: MCCLEMENTS (2005).	10
Figura 3.1. Fluxograma do processo de isolamento das frações protéicas 7S e 11S da proteína da soja.	16
Figura 3.2. Esquema para medição de cores CIELAB (1976), L* (escuro-claro), a* (verde-vermelha) e b* (azul-amarelo). Fonte: Flexomagazine (2010).	22
Figura 4.1. Curvas de distribuição de tamanho das partículas das frações 7S (A) e 11S (B) da proteína de soja.	33
Figura 4.2. Microscopia eletrônica de varredura das frações 7S e 11S da proteína de soja. As figuras (A) e (E) representam as amostras liofilizadas das frações 7S e 11S, respectivamente, e possuem um aumento de 500x. As Figuras (B), (C), (D), (F), (G) e (H) representam as amostras secas em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C das frações 7S e 11S, respectivamente, e possuem um aumento de 6000x.	34
Figura 4.3. Termogramas referentes às frações ricas em 7S (A) e 11(B).	36
Figura 4.4. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS PAGE), em condições redutoras, das frações 7S e 11S da proteína de soja. A linha 1 (MM) corresponde ao marcador molecular; as linhas 2 a 5 correspondem à fração 11S liofilizada e seca em “spray dryer” (SD) a 120, 150 ou 180°C, respectivamente, e as linhas 6 a 9 correspondem à fração 7S liofilizada (L) e seca em “spray dryer” (SD) a 120, 150 ou 180°C, respectivamente.	38
Figura 4.5. Isotermas de sorção obtidas para as frações 7S (A) e 11S (A) da proteína de soja. SD: “spray dryer” e L: liofilizada.	45
Figura 4.6. Variação dos módulos de armazenamento (G') e de dissipação (G'') durante o aquecimento da fração enriquecida em 7S nos valores de pH 3 (A, B, C e D) e 7 (E, F, G e H) nas formas de secagem: liofilização (A e E) e secagem em “spray dryer” a 120 (B e F), 150 (C e G) e 180°C (D e H).	47
Figura 4.7. Variação dos módulos de armazenamento (G') e de dissipação (G'') durante o aquecimento da fração enriquecida em 11S nos valores de pH 3 (A, B, C e D) e 7 (E, F, G e H) nas formas de secagem: liofilização (A e E) e secagem em “spray dryer” a 120 (B e F), 150 (C e G) e 180°C (D e H).	48
Figura 4.8. Microscopia confocal de géis de fração enriquecida em 7S liofilizada ou seca em “spray dryer” em 120, 150 ou 180°C em pH 3 (A,B,C e D) e pH 7 (E, F, G, H) respectivamente.	52
Figura 4.9. Microscopia confocal de géis de fração enriquecida em 11S liofilizada ou seca em “spray dryer” em 120, 150 ou 180°C em pH 3 (A,B,C e D) e pH 7 (E, F, G, H) respectivamente.	53
Figura 4.10. Tensão na ruptura dos géis obtidos a partir da fração enriquecida em 7S da proteína de soja em pH 3 e 7. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.	55
Figura 4.11. Tensão na ruptura dos géis obtidos a partir da fração enriquecida em 11S da proteína de soja em pH 3 e 7. NG significa a não formação de gel auto-sustentável. * Letras	

iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.	55
Figura 4.12. Deformação na ruptura (ϵ_R) dos géis obtidos a partir da fração rica em 7S da proteína de soja em pH 3 e 7. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.	57
Figura 4.13. Deformação na ruptura dos géis obtidos a partir da fração rica em 11S em pH 3 e 7. NG significa a não formação de gel auto-sustentável. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.	58
Figura 4.14. Módulo de elasticidade (E) dos géis obtidos a partir da fração rica em 7S da proteína de soja em pH 3 e 7. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.	60
Figura 4.15. Módulo de elasticidade (E) dos géis obtidos a partir da fração rica em 11S da proteína de soja em pH 3 e 7. NG significa a não formação de gel auto-sustentável. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.	60
Figura 4.16. Capacidade de retenção de água (WHC) das frações 7 e 11S da proteína de soja em pH 3. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.	62
Figura 4.17. Perfil de cremeação das emulsões obtidas a partir da fração rica em 7S da proteína de soja liofilizada e seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C após 7 dias de estocagem. Emulsões preparadas em pH 3 e 7.	64
Figura 4.18. Perfil de cremeação das emulsões obtidas a partir da fração rica em 11S da proteína de soja liofilizada e seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C após 7 dias de estocagem. Emulsões preparadas em pH 3 e 7.	65
Figura 4.19. Índice de cremeação das emulsões obtidas a partir da fração rica em 7S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C, ao longo dos 7 dias de estocagem.	66
Figura 4.20. Índice de cremeação das emulsões obtidas a partir da fração rica em 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C, ao longo dos 7 dias de estocagem.	67
Figura 4.21. Perfil do potencial zeta das frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C em função do pH.	70
Figura 4.22. Curvas de distribuição de tamanho de partícula das emulsões obtidas a partir da fração 7S da proteína de soja em pH 3 e 7.	74
Figura 4.23. Curvas de distribuição de tamanho de partícula das emulsões obtidas a partir da fração 11S da proteína de soja em pH 3 e 7.	74

Figura 4.24. Propriedades reológicas das emulsões estabilizadas pela fração rica em 7S da proteína da soja em pH 3 e 7: curvas de escoamento da segunda subida da fase superior das emulsões. Detalhes: curvas de escoamento da emulsão em pH 7 da fração seca em “spray dryer” a 150°C (1) e a 180°C (2).....	75
Figura 4.25. Propriedades reológicas das emulsões estabilizadas pela fração rica em 11S da proteína da soja em pH 3 e 7: curvas de escoamento da segunda subida da fase superior das emulsões. Detalhes: curvas de escoamento da emulsão em pH 7 da fração liofilizada (1) e seca em “spray dryer” a 120°C (2), 150°C (3) e a 180°C (4).....	76
Figura 4.26. Espectro mecânico da fase superior das emulsões estabilizadas pela fração rica em 7S da proteína de soja em pH 3 e 7.	80
Figura 4.27. Espectro mecânico da fase superior das emulsões estabilizadas pela fração rica em 11S da proteína de soja em pH 3 e 7.	81
Figura 4.28. Tangente do ângulo de fase ($\tan \delta$) em relação à frequência para as frações 7S (A e B) e 11S (C e D) em diferentes condições de secagem (liofilizadas e secas em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C).....	82

NOMENCLATURA / ABREVIACÕES

A_0	Área inicial do gel (m^2)
A_w	Atividade de água
a^*	Cromaticidade vermelho-verde
A/O	Emulsão água – óleo
b^*	Cromaticidade amarelo-azul
CSLM	Microscopia confocal
DR	Desvio relativo médio
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
$D_{3,2}$	Diâmetro médio superficial das partículas e gotas (μm)
E	Módulo de elasticidade (KPa)
F	Força (N)
G'	Módulo elástico ou de armazenamento (Pa)
G''	Módulo viscoso ou de dissipação de energia (Pa)
H	Altura da fase inferior das emulsões
H(t)	Altura da amostra no tempo t (m)
H_0	Altura inicial das emulsões e géis (m)
IC	Índice de cremeação (%)
k	Índice de consistência ($Pa.s^n$)
L^*	Grau de luminosidade
m	Massa
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
n	Índice de comportamento
NG	Não formação de gel auto-sustentável
O/A	Emulsão óleo – água
pI	Ponto isoelétrico
R^2	Coefficiente de determinação
SD	“spray dryer”
SDS PAGE	Eletroforese em gel de poliacrilamida
SPI	Isolado protéico de soja
$\tan \delta$	Tangente do ângulo de fases

T_0	Temperatura de início de desnaturação
T_{pico}	Temperatura de pico de desnaturação
v	Volume
X_e	Umidade de equilíbrio
X_m	Umidade da monocamada
WHC	Capacidade de retenção de água (%)
ΔH_T	Entalpia de desnaturação total
ϵ_H	Deformação de Hencky na ruptura (Pa)
ϵ_R	Deformação na ruptura
ζ	Potencial zeta (mV)
η	Viscosidade (Pa.s)
η_{100}	Viscosidade aparente à taxa de deformação de 100 s^{-1} (Pa.s)
ρ_{real}	Densidade real (kg/m^3)
ρ_{aparente}	Densidade aparente (kg/m^3)
σ	Tensão (Pa)
σ_o	Tensão residual (Pa)
σ_H	Tensão de Hencky na ruptura (Pa)
σ_R	Tensão na ruptura (Pa)
$\dot{\gamma}$	Taxa de deformação (s^{-1})
γ	

RESUMO

Dietas a base de vegetais e suas proteínas têm se tornado cada vez mais populares visando saúde e bem-estar. Dentre as proteínas vegetais, a de soja é a mais utilizada como ingrediente na indústria de alimentos, atuando inclusive como estabilizante de emulsões e agente gelificante. As globulinas 7S (β – conglucina) e 11S (glicina) são as principais frações protéicas da soja, sendo que a primeira possui boa capacidade emulsificante e a segunda tem alto poder gelificante. Em função de condições de processo, como temperatura e pressão, as propriedades funcionais das frações protéicas de soja podem ser modificadas, dado que estas possuem diferente susceptibilidade ao calor e cisalhamento. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar a capacidade emulsificante e gelificante das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizadas ou secas em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C. Estas foram caracterizadas por eletroforese em gel de poli(acrilamida), potencial zeta, isotermas de sorção, microscopia ótica, cor, distribuição de tamanho de partícula, densidades real e aparente e calorimetria diferencial de varredura. Quanto à cor, as amostras secas em “spray dryer” foram as mais claras, principalmente as secas em maior temperatura, que também apresentaram as menores umidade e densidade aparente. A capacidade gelificante das frações protéicas foram estudadas em pH 3 e 7 a partir de ensaios oscilatórios, propriedades mecânicas e capacidade de retenção de água. Os ensaios reológicos oscilatórios mostraram que o comportamento elástico predominou sobre o viscoso nas amostras em pH 3, ocorrendo o inverso em pH 7. Este comportamento foi mais acentuado na fração rica em 11S que na rica em 7S, devido à sua capacidade de formar géis mais fortes. O aumento da temperatura de secagem levou a um deslocamento do ponto de gel a temperaturas mais elevadas, porém diminuiu o módulo de elasticidade ou a capacidade de gelificação. Estes resultados foram confirmados pelas propriedades mecânicas, pois a maiores temperaturas de secagem, os géis eram mais frágeis e quebradiços, especialmente quando formados em pH 7. Emulsões O/A foram preparadas pela mistura de óleo de soja com uma dispersão aquosa contendo uma das frações protéicas em pH 3 e 7. As emulsões obtidas foram avaliadas com relação à estabilidade a cremação, distribuição do tamanho de gota, medidas reológicas e quantidade de proteínas na fase superior. As emulsões estabilizadas pela fração 7S foram mais estáveis em pH 7, enquanto que a 11S se mostrou mais estável em pH 3. O aumento da temperatura de secagem aumentou o poder emulsificante das frações 7S e 11S em pH 7 e 3, respectivamente. Portanto, a partir dos resultados obtidos foi possível verificar que, dependendo da condição de secagem utilizada, podem-se obter ingredientes com propriedades tecnológicas que sejam mais adequadas ao produto em que será aplicado e às suas características de qualidade.

Palavras chave: proteína de soja, β -conglucina, glicina, emulsão, gelificação.

ABSTRACT

Diets based on vegetables and their proteins have become increasingly popular for health and welfare. Among the vegetable proteins, the soy is the most widely used as an ingredient in the food industry, including acting as emulsion stabilizers and gelling agents. The 7S (β -conglycinin) and 11S (glycinin) globulins are the main soy protein fractions, with the former having good emulsifying capacity and the second, a high gelling power. Due to the process conditions, such as temperature and pressure, the functional properties of soy protein fractions can be modified, since they have different susceptibility to heat and shear. Thus, the main objective of this study is to evaluate the emulsifying and gelling capacity of the soy protein fractions (7S and 11S) lyophilized and spray-dried at 120, 150 or 180 ° C. These were characterized by polyacrylamide gel electrophoresis, zeta potential, sorption isotherms, optical microscopy, color, particle size distribution, real and apparent densities and differential scanning calorimetry. The spray-dried samples were clearer, especially the ones dried at higher temperatures, which also had lower moisture content and bulk density. The gelling ability of the protein fractions were studied at pH 3 and 7, based on the oscillatory tests, mechanical properties and water holding capacity. The oscillatory rheological tests showed that the elastic behavior predominated upon the viscous for the pH 3 samples, occurring the opposite for the pH 7. This behavior was more accentuated for the 11S-rich fractions than for the 7S -rich, due to their ability to form strong gels. The drying temperature increase led to a displacement of the gelling point to higher temperatures, but decreased the elasticity module or the gelling ability. These results were confirmed by the mechanical properties, because when exposed to higher drying temperatures, the gels were more brittle and fragile, especially when prepared at pH 7. O/A emulsions were prepared by mixing soy oil with an aqueous dispersion containing one of protein fractions at pH 3 and 7. The obtained emulsions were evaluated for creaming stability, droplet size distribution, rheological measurements and amount of protein at the top phase. Emulsions stabilized by 7S fraction were more stable at pH 7, while the 11S were more stable at pH 3. The drying temperature increase raised the emulsifying power of 7S and 11S fractions at pH 7 and 3, respectively. Therefore, based on the results, was identified that depending on the drying condition used, it is possible to obtain ingredients with technology that are more appropriate to the product and their quality characteristics.

Keywords: soy protein, β -conglycinin, glycinin, emulsion, gelation.

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1.Introdução

Dietas a base de vegetais têm se tornado cada vez mais populares visando saúde e bem-estar (SANDERS, 2009). Dessa forma, o uso de proteínas vegetais na formulação de novos produtos alimentícios como uma alternativa às proteínas de origem animal levou a um aumento de pesquisas sobre fontes de proteína vegetal (ALUKO & YADA, 1995). Nos países em desenvolvimento, as proteínas vegetais já desempenham um papel significativo na nutrição humana, dado que a ingestão média de proteína animal é inferior a de países desenvolvidos (RAGAB et. al., 2004).

As proteínas, devido a sua importância nutricional e suas características físico-químicas, contribuem para a produção de uma grande variedade de produtos alimentícios, inclusive como estabilizantes de emulsões (MAKRI & DOXASTAKIS, 2006c) e agentes gelificantes (TORRES et. al., 2010). As proteínas vegetais são usadas como ingredientes funcionais em alimentos, porém, estas aplicações são quase limitadas às proteínas de soja, enquanto que outras fontes vegetais são menos utilizadas (MAKRI et.al., 2005).

Um percentual significativo dos produtos alimentícios é comercializado na forma de emulsão, como manteiga, margarina, molhos, sopas, sorvetes, sobremesas e bebidas (THANASUKARNA et. al., 2004). Em geral, as proteínas são consideradas bons agentes emulsificantes porque possuem numa mesma molécula regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, possuindo a capacidade de reduzir a tensão superficial e interagir na interface da emulsão (ELIAS et. al., 2006). Os géis estão presentes em alimentos como sobremesas lácteas, gelatinas, produtos lácteos e tofu e, cada vez mais, proteínas globulares vegetais são usadas como agentes gelificantes para substituir total ou parcialmente o uso de proteínas de origem animal e ingredientes sintéticos (BATISTA et. al., 2005). A propriedade de formação de gel é uma das mais importantes propriedades funcionais da proteínas de soja, e é a proteína vegetal mais utilizada para este fim (HUA et. al., 2005).

No entanto, essas propriedades podem ser modificadas através da aplicação de tratamento térmico (LIU et. al., 1999). Por isso, o método de secagem utilizado para transformar a proteína em pó é de extrema importância, visto que, em função da temperatura de secagem, as propriedades funcionais destas podem ser alteradas.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja atrás apenas dos EUA. Na safra 2009/2010, a cultura ocupou uma área de 23,6 milhões de hectares, o que totalizou uma produção de 68,7 milhões de toneladas. A produtividade média da soja brasileira foi de 2941 kg por hectare (EMBRAPA, 2011). As proteínas de soja são amplamente utilizadas como matérias-primas alimentares sendo que as frações 7S β - conglucina e 11S - glicina representam aproximadamente 70% da composição protéica do grão (MAKRI & DOXASTAKIS, 2006a).

As globulinas 7S e 11S são as principais frações protéicas das sementes de leguminosas. Estas globulinas correspondem a 30-80% da proteína total das leguminosas, enquanto que as albuminas constituem o restante (LAWAL et. al., 2005). Estudos mostram que a fração 7S possui uma maior solubilidade e uma melhor capacidade emulsificante do que a fração 11S. Por outro lado, a fração 11S forma géis mais fortes (MANION & CORREDIG, 2006). O uso de proteínas vegetais como ingredientes em emulsões está baseado em suas propriedades funcionais e, com a melhoria dessas propriedades por meio de determinadas condições de processamento, estas proteínas podem ser mais amplamente utilizadas na indústria de alimentos (GUERRERO et. al., 2002).

1.2.Objetivos

1.2.1. Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo geral estudar as propriedades emulsificantes e gelificantes de frações ricas em globulinas 7S e 11S da proteína da soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a diferentes temperaturas.

1.2.2. Objetivos específicos

→ Caracterizar as frações protéicas 7S e 11S da proteína soja secas por liofilização ou atomização por eletroforese em gel de poliacrilamida, calorimetria diferencial de varredura, potencial zeta, isotermas de sorção, densidades real e aparente, microscopia eletrônica de

varredura, distribuição do tamanho de partículas, cor e análises físico-químicas (umidade, proteína e cinzas);

→ Verificar a capacidade emulsificante das frações 7S e 11S secas em diferentes condições através de medidas reológicas, distribuição do tamanho de gota e estabilidade à cremação;

→ Avaliar a capacidade gelificante das frações 7S e 11S secas em diferentes condições a partir de ensaios reológicos oscilatórios, medidas de propriedades mecânicas, capacidade de retenção de água e microscopia confocal.

CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Proteína de Soja

Dietas vegetarianas têm se tornado cada vez mais populares visando saúde, bem-estar e razões ecológicas (SANDERS, 2009). Dessa forma, o uso de proteínas vegetais na formulação de novos produtos alimentícios vem sendo estudado como uma alternativa às proteínas de origem animal, como carne, leite e ovos (ALUKO & YADA, 1995). Leguminosas são consideradas como a mais barata fonte de proteína vegetal e são de primordial importância na nutrição humana devido ao seu elevado teor de proteínas (20-50%), que é o dobro do encontrado nos cereais e significativamente maior do que o conteúdo nos tubérculos (MAKRI et.al., 2005). No setor agrícola, a soja é um dos produtos de maior valor econômico, em razão da sua composição química, que é única, possuindo maior teor de proteína que os cereais e outras leguminosas.

A soja possui 47% de proteína em sua composição e a semelhança entre os componentes da proteína da soja e de outras leguminosas sugere que eles podem ter funções e aplicações semelhantes. A maior parte das proteínas da soja são globulinas e tem massa molar acima de 100 kDa. Essas globulinas têm solubilidade mínima em valores de pH entre 3,7 e 5,2 e máxima em pH entre 1,5 e 2,5 e acima de 6,3, sendo que seu ponto isoelétrico está situado entre pH 4,2 e 4,6. A proteína da soja tem maior valor nutricional que outras fontes de proteína vegetal destinadas à alimentação humana, apresentando alto teor de lisina (SAIDU, 2005).

As proteínas da soja, solúveis em água, são caracterizadas de acordo com a sua massa molar ou por seus coeficientes de sedimentação, sendo classificadas em quatro grupos denominados 2S, 7S, 11S e 15S (MCKLEM, 2002). A Tabela 2.1 mostra as características dessas frações.

Tabela 2.1. Características das frações protéicas hidrossolúveis da soja.

Fração	2S	7S	11S	15S
Proporção (m/m), %	15	35	40	10
Massas Moleculares (kDa)	7,8 – 21,5	12 - 175	320 - 350	600

Fonte: MCKLEM, 2005

As proteínas 7S β - conglucina e 11S - glicina são as principais proteínas da soja e juntas representam mais que 70% da composição protéica desta leguminosa (MAKRI & DOXASTAKIS, 2006a). Essas globulinas são compostas pela união de duas ou mais subunidades, as quais são formadas por pequenas cadeias polipeptídicas. Globulinas 7S são glico-proteínas triméricas compostas de seis diferentes combinações de três subunidades α (57 kDa), α' (58 kDa) e β (42 kDa) associadas via interações hidrofóbicas. Por outro lado, globulinas 11S são constituídas por dois anéis hexagonais sobrepostos, cada um contendo três pares dissulfeto hidrofobicamente associados e ligados a subunidades ácidas (35-37 kDa) e básicas (20 kDa) (UTSUMI & KINSELLA, 1985).

As proteínas, devido a sua importância nutricional e suas características físico-químicas, contribuem para a produção de uma grande variedade de produtos alimentícios, inclusive como estabilizantes de emulsões (MAKRI & DOXASTAKIS, 2006c). A atividade e estabilidade emulsificante de proteínas de leguminosas estão relacionadas à complexidade das estruturas terciária e quaternária das globulinas 7S e 11S (MOLINA et. al., 2001). Estudos mostram que a fração 7S possui uma maior solubilidade e uma melhor capacidade emulsificante do que a fração 11S. Por outro lado, a fração 11S forma géis mais fortes e tende a ser mais eficiente na formação de filmes na interface ar/água (MANION & CORREDIG, 2006). No entanto, as propriedades destas proteínas podem ser modificadas através da aplicação de tratamento térmico. O aquecimento das proteínas leva a uma perda das estruturas terciárias e quaternárias, expondo os grupos hidrofóbicos, e melhorando a sua propriedade emulsificante (LIU et. al., 1999). A fração 11S apresenta uma maior temperatura de transição térmica (92°C) enquanto que a fração 7S desnatura em menores temperaturas (72°C) (GERMAN et. al., 1982).

Com a modificação das propriedades funcionais dos isolados protéicos de leguminosas por meio do processamento, as proteínas vegetais poderiam ser mais amplamente utilizadas na indústria de alimentos (GUERRERO et. al., 2002). Recentes trabalhos mostraram que a adição de pequenas quantidades de uma proteína em uma emulsão já estabilizada por outra proteína pode levar ao aumento da estabilidade dessa emulsão, devido a um efeito sinérgico no sistema. As propriedades físico-químicas de emulsões contendo uma combinação de proteínas dependem de diversos fatores, como a ordem de adição das proteínas, a composição das proteínas, o histórico de temperatura e a

concentração dos ingredientes na emulsão (PARKINSON & DICKINSON, 2007; PARKINSON & DICKINSON, 2004; MANION & CORREDIG, 2006). Outra forma de melhorar a capacidade emulsificante das proteínas vegetais de leguminosas é alterar a razão entre as frações 7S e 11S, já que estas apresentam diferentes propriedades funcionais e estruturais (RAMOS, 2009).

Além da capacidade emulsificante, outra propriedade muito importante para a indústria de alimentos e que também está relacionada à complexidade das estruturas terciária e quaternária das proteínas é a habilidade de formação de gel. Recentes estudos referem-se ao uso generalizado da proteína da soja em muitos produtos alimentícios industrializados devido ao seu comportamento gelificante (ALVAREZ et. al., 2008; MOLINA et. al., 2001). O mecanismo de formação do gel protéico é o mesmo para as duas globulinas mais importantes da soja (7S e 11S) e depende da agregação das partículas de proteína. No entanto, o tamanho dos agregados formados depende do tamanho e da forma das moléculas de proteína, da temperatura de aquecimento, do pH e do rearranjo molecular antes da formação do gel (KINSELLA & SOUCIE, 1989). A fração 11S forma géis mais firmes e elásticos que a 7S devido às diferenças na estrutura da rede protéica formada, bem como pelas numerosas ligações dissulfeto existentes na molécula da glicina (CHEFTEL, et. al., 1989), mesmo em temperaturas acima de 75°C. Isso pode ser explicado pelo fato de que altas temperaturas geram mais sítios reativos na superfície da molécula de proteína, principalmente sítios hidrofóbicos, formando um gel mais desordenado (NAGANO et. al., 1992).

2.2.Emulsões

Uma proporção significativa dos produtos alimentícios é comercializada na forma de emulsão, como manteiga, margarina, molhos, sopas, sorvetes, algumas sobremesas e bebidas. Uma emulsão consiste numa mistura de dois líquidos imiscíveis, sendo que um dos líquidos fica disperso no outro na forma de pequenas gotas esféricas. A substância ou solução que compõe as gotas é chamada de fase dispersa, enquanto que aquela que compõe o meio é chamada de fase contínua. Emulsões alimentares são geralmente classificadas como óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O), dependendo se o óleo forma a fase dispersa ou a fase contínua, respectivamente (MCCLEMENTS, 2005).

Tradicionalmente, a grande maioria das emulsões alimentares é preparada pela homogeneização do óleo em uma fase aquosa (KIM et. al., 2006). A homogeneização pode ser dividida em duas categorias: primária e secundária. A homogeneização primária é definida como a produção de uma emulsão diretamente a partir de dois líquidos imiscíveis, enquanto que a homogeneização secundária consiste na redução dos tamanhos de gotas já existentes em uma emulsão primária. Dependendo do produto desejado, deve-se utilizar a homogeneização primária ou uma combinação dos dois tipos de homogeneização (PERRECHIL, 2008). As propriedades físico-químicas e estabilidade das emulsões formadas são em grande parte determinadas pelo tipo e concentração dos diferentes ingredientes utilizados para preparar as emulsões, bem como a homogeneização e outras condições de processamento empregadas (KIM et. al., 2006).

Todas as emulsões são termodinamicamente instáveis e tendem a se romper com o tempo, resultando em duas fases líquidas separadas. Existem diversos mecanismos de desestabilização, sendo os principais a floculação, coalescência das gotas, cremação gravitacional e sedimentação (MAKRI & DOXASTAKIS, 2006b). A floculação é um processo no qual as gotas emulsificadas se associam em flocos sem a destruição das gotas individuais. Já a coalescência ocorre se o filme interfacial se rompe, levando à fusão das gotas de óleo, que aumentam de tamanho. A cremação ocorre quando a densidade da fase dispersa é menor do que a da fase contínua, porém não existe coalescência. A cremação se acentua pela floculação quando a fração volumétrica das gotas é baixa ou média (MAKRI & DOXASTAKIS, 2006a; DICKINSON & STANSBY, 1988). Já em emulsões concentradas, a viscosidade da emulsão é maior e a estabilidade à cremação aumenta devido ao movimento restrito da gota, dificultando sua agregação (KULMYRZAEV, et. al., 2000). Na sedimentação, a fase dispersa é mais densa do que o meio contínuo, ocorrendo a sua precipitação (MAKRI & DOXASTAKIS, 2006a).

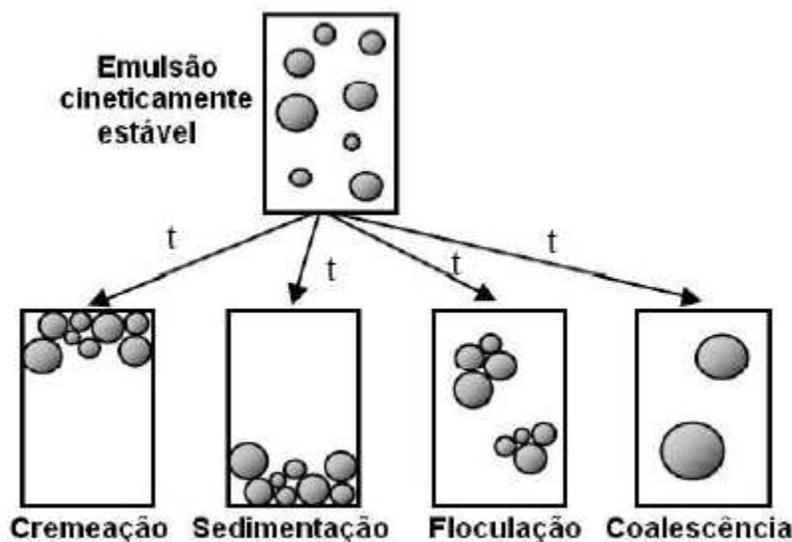


Figura 2.1. Representação esquemática dos mecanismos de instabilidade das emulsões.
Fonte: MCCLEMENTS (2005).

A estabilidade cinética das emulsões é geralmente conseguida através da formação de uma camada protetora interfacial ao redor das gotas de emulsão promovida por um agente emulsificante. As propriedades do filme interfacial dependem da composição e estrutura do material adsorvido (PATINO et. al., 2003). Uma emulsão estável é aquela que não apresenta alteração perceptível na distribuição do tamanho das gotas, no seu estado de agregação ou no arranjo espacial dentro do recipiente da amostra, em uma determinada escala de tempo de observação. Esta escala de tempo pode variar de horas a meses, dependendo da composição da emulsão e condições de processo (DICKINSON, 2003).

Dois tipos de emulsificantes são utilizados em alimentos, a saber: surfactantes de baixa massa molecular (principalmente mono e diglicerídeos, fosfolipídios, etc.) e emulsificantes macromoleculares (usualmente proteínas). Essas duas classes de emulsificantes apresentam uma importante propriedade física em comum, a sua natureza anfifílica. Essa propriedade permite a associação e adsorção na interface entre as fases dispersa e contínua. Surfactantes de baixa massa molecular se adsorvem fortemente à interface, estabilizando a dispersão de gotículas pela formação de uma camada densa, mas pouco rígida, e com baixa tensão superficial e interfacial. Em contraste, as proteínas agem como emulsificantes poliméricos com vários sítios de ligação na interface que, juntamente com o desdobraimento da molécula de proteína no processo de adsorção, levam à estabilização cinética da camada interfacial. Esse comportamento contribui

significativamente às propriedades reológicas na interface devido à imobilização das proteínas na camada adsorvida (SÁNCHEZ et. al., 2005).

Muitos surfactantes de baixa massa molecular são utilizados na produção de emulsões devido à sua significativa atividade superficial. Entretanto, muitas dessas moléculas são limitadas em seus níveis de utilização ou são restritas a determinados alimentos. Apenas alguns poucos emulsificantes, tais como lecitina ou mono - diglicerídeos, são reconhecidos como seguros e podem ser utilizados sem qualquer limitação. Neste contexto, as proteínas surgem como alternativa, já que o seu uso como aditivo alimentício ou como ingrediente em alimentos é permitido sem restrições. Como exemplo pode-se citar o caseinato de sódio, a β -lactoglobulina, albumina e ovalbumina como fonte de proteína animal, e proteínas da soja, ervilha e feijão de origem vegetal (GARTI & LESER, 2001).

Assim, a capacidade das proteínas para gerar interações repulsivas (estéricas e eletrostáticas) entre gotículas de óleo e formar uma membrana interfacial que é resistente à ruptura desempenha um papel importante na estabilização das gotas contra a floculação e coalescência durante o armazenamento a longo prazo (MCCLEMENTS, 2004). Os requisitos para uma proteína ter propriedades emulsificantes satisfatórias incluem a habilidade das moléculas para adsorver rapidamente à interface óleo-água criada durante o processo de emulsificação, submeter-se a mudanças estruturais e rearranjo na interface, seguido pela formação de um filme aderente com propriedades viscoelásticas devido às interações intermoleculares (URUAKPA & ARNTFIELD, 2005). No entanto, a aplicação de proteínas como emulsificantes é limitada, porque a maioria apresenta uma redução ou perda da atividade emulsificante em regiões de pH próximo ao seu ponto isoelétrico, onde a carga líquida e a solubilidade são reduzidas (ELIAS et. al., 2006). Além disso, as proteínas também são geralmente susceptíveis ao aquecimento, presença de solventes orgânicos e à proteólise (RAGAB et. al., 2004).

2.3. Gelificação

Géis de proteína consistem de uma rede tridimensional em que a água é encapsulada e, frequentemente, possuem uma fase intermediária entre um sólido e um líquido. A gelificação ocorre quando as moléculas são desnaturadas por algum fator externo e se

agregam para formar uma rede protéica orientada. Temperaturas elevadas, alta pressão ou adição de sal são fatores desnaturantes, porém o mais comum na gelificação de alimentos é a desnaturação induzida pelo calor (MATSUMURA & MORI, 1996). O pH, a presença de espécies iônicas, a temperatura de aquecimento e taxa de aquecimento/resfriamento são fatores que afetam a formação da rede de gel, visto que todos afetam as interações proteína-água ou proteína-proteína (MATSUMURA & MORI, 1996).

A formação das redes de proteína é considerada como o resultado de um equilíbrio entre interações proteína-proteína e proteína-água, bem como de forças de atração e repulsão que ocorrem entre as cadeias polipeptídicas adjacentes (CHEFTEL et. al., 1993). Entre as forças de atração, pode-se encontrar interações hidrofóbicas (favorecidas a altas temperaturas), eletrostáticas (adição de sais ou modificação do pH), ligações de hidrogênio (reforçadas a baixas temperaturas), e pontes dissulfeto. A contribuição de cada tipo de ligação depende da natureza da proteína e do estágio do processo de gelificação, bem como do pH e da força iônica do meio (UTSUMI & KINSELLA, 1985; NAKAMURA et. al., 1986; DAMODARAN, 1988; PUPPO & AÑÓN, 1998). As forças de repulsão que atuam especialmente no pH longe do ponto isoelétrico (pI) da proteína e as interações entre água-proteína ajudam a manter as cadeias polipeptídicas separadas, favorecendo a formação de uma matriz homogênea (HEERTJE, 1993). A formação de pontes dissulfeto no aquecimento faz com que o processo de gelificação seja irreversível, como, por exemplo, em géis de ovalbumina (VAN KLEEF, 1986) e β -lactoglobulina (DUMAY, 1988). Em contraste, géis de gelatina são estabilizados principalmente por pontes de hidrogênio (LEDWARD, 1986) e fundem no aquecimento, porém este processo é termoreversível.

Muitos géis possuem estruturas hidratadas e, além de água, são capazes de reter outros componentes alimentares. Alguns géis de proteína retém até 95% de água (m/m), sendo esta fisicamente imobilizada pela estrutura da proteína e não pode ser liberada por pressão, apenas por centrifugação ou sinerese (PUPPO & AÑÓN, 1998).

CAPÍTULO 3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Materiais

Os ingredientes utilizados para o preparo dos sistemas foram farinha desengordurada de soja adquirida da Solae (Solae do Brasil, Brasil) e óleo de soja (Soya, Bunge Alimentos S.A., Brasil) comprado em um supermercado local. Azida sódica adquirida da Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, EUA) foi usada como agente antimicrobiano. Os demais reagentes utilizados foram de grau analítico.

3.2. Métodos

3.2.1. Fracionamento do isolado protéico de soja

O procedimento de isolamento das frações protéicas foi realizado conforme metodologia proposta por Deak et.al. (2007). A farinha desengordurada de soja foi diluída em água deionizada (proporção 1:15) e o pH foi ajustado para 8,5 através do uso de NaOH 2 M. Após agitação por uma hora, as soluções foram centrifugadas a 14000 rpm por 30 minutos em uma temperatura de 15°C. No sobrenadante foi adicionado NaHSO₃ e CaCl₂ suficientes para obter 5 mM SO₂ e 5 mM Ca²⁺ na solução, e o pH foi ajustado para 6,4 com HCl 2 M. A mistura foi agitada por uma hora a 25°C e centrifugada a 14000 rpm por 30 minutos na mesma temperatura. A fração rica em globulina 11S foi obtida a partir do precipitado, enquanto que a fração rica em globulina 7S foi extraída a partir do sobrenadante. Para a produção da fração rica em 11S, o precipitado foi dissolvido em água deionizada (proporção 1:1) e neutralizado com adição de NaOH 2 M. Já para a produção da fração rica em 7S, o sobrenadante teve o pH ajustado para 4,8 com o uso de HCl 2 M e foi agitado por uma hora. Essa solução foi centrifugada a 14000 rpm por 30 minutos a 4°C. O precipitado foi dissolvido em água deionizada (proporção 1:1) e neutralizado. As duas dispersões protéicas de soja foram secas por nebulização (“spray dryer”) em três temperaturas diferentes (120, 150 ou 180°C) ou liofilização, totalizando 8 isolados protéicos (4 isolados de cada fração). A Figura 3.1 mostra o fluxograma do processo. Para a atomização, foi utilizado um secador laboratorial com sistema de atomização (mini “spray dryer”) marca LABMAQ, modelo MSD1 (Ribeirão Preto, Brasil), que possui uma câmara de secagem de 500 mm × 150 mm, bico atomizador do tipo duplo fluido com orifício de 1,2

mm de diâmetro, fluxo de ar de 2,4 m³/h e pressão do ar de 0,25 MPa. A alimentação do secador foi realizada através de uma bomba peristáltica, com vazão de 0,7 litro/hora. A temperatura de saída do ar foi monitorada para observar sua variação em função dos parâmetros adotados na alimentação do secador e das características do produto final, ficando em torno de 65, 90 ou 111°C, para as temperaturas de secagem de 120, 150 e 180°C respectivamente. Para a liofilização foi utilizado o equipamento Virtis-Freezemobile 12EL (New Jersey, US), onde as amostras foram submetidas a uma temperatura de -53°C e vácuo.

As frações secas foram caracterizadas por eletroforese em gel de poliacrilamida (seção 3.3.1). Também foram realizadas análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) (seção 3.3.2), potencial zeta (seção 3.3.3), isotermas de sorção (seção 3.3.4), densidade real e aparente (seção 3.3.5), microscopia eletrônica de varredura (seção 3.3.6), distribuição do tamanho de partículas (seção 3.3.7), cor (seção 3.3.8) e análises físico-químicas (quantificação da umidade, cinzas e proteínas - seção 3.3.9). Essas frações secas, ricas em 7S e 11S, também foram usadas no preparo de emulsões e géis para avaliar sua capacidade emulsificante e gelificante.

FARINHA DESENGORDURADA DE SOJA

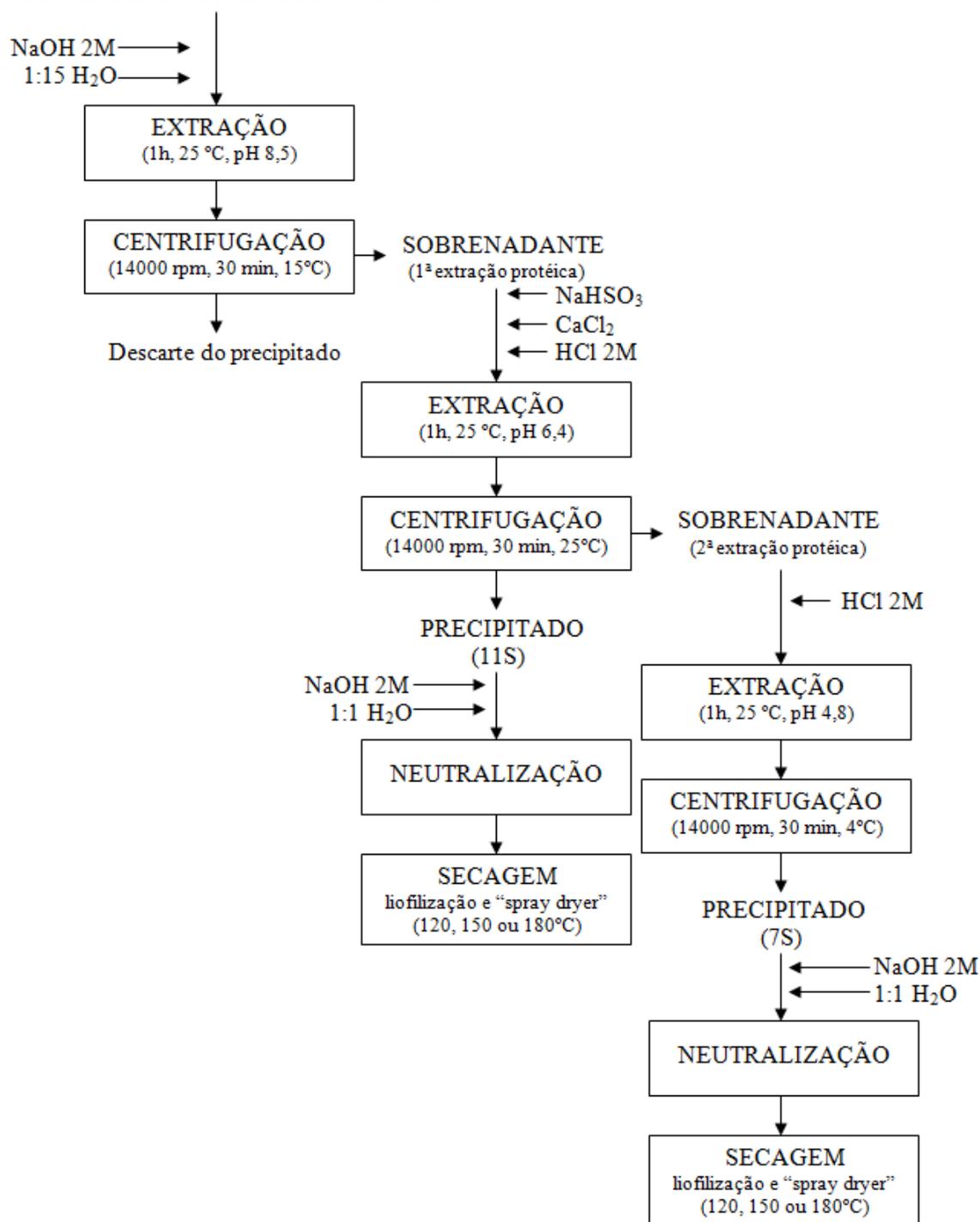


Figura 3.1. Fluxograma do processo de isolamento das frações protéicas 7S e 11S da proteína da soja.

3.2.2. Preparo das emulsões O/A

Emulsões O/A foram preparadas pela mistura de óleo de soja (30% v/v) com uma dispersão aquosa (70% v/v) contendo uma das frações protéicas (1% m/v) em pH 3 e 7, sendo, portanto, avaliadas 16 diferentes emulsões. Primeiramente, foram preparadas pré-emulsões em um agitador Ultra Turrax modelo T18 (IKA, Alemanha) a 14000 rpm por 4 minutos. Estas pré-emulsões foram homogeneizadas em um homogeneizador de alta pressão NS1001L2K-PANDA2K, Niro Soave S.p.A. (Parma, Itália), empregando-se uma pressão de 300 bar no primeiro estágio e 50 bar no segundo estágio (KIOKIAS et al., 2007). As emulsões obtidas foram avaliadas com relação à estabilidade a cremeação (seção 3.3.10), distribuição do tamanho de gota (seção 3.3.7) e medidas reológicas (seção 3.3.11). Adicionalmente, as emulsões que mostraram separação de fases foram analisadas quanto à quantidade de proteínas na fase superior, obtendo-se o teor da fase inferior por balanço de massa (seção 3.3.9).

3.2.3. Preparo dos Géis

Dispersões dos isolados protéicos (10% m/v) foram preparadas à temperatura ambiente por agitação magnética misturando-se água deionizada e as frações obtidas durante 1 hora. As soluções foram ajustadas para pH 3 e 7 com HCl 2 M e NaCl 2 M, respectivamente, totalizando 16 amostras. As soluções foram, então, colocadas em tubos de cobre (1,8 cm de diâmetro e 2 cm de altura), fechadas com rolhas e seladas. A gelificação foi realizada pelo aquecimento dos tubos em banho-maria a 90°C por 30 minutos (DAMODARAN, 1988), seguida de resfriamento rápido em banho de gelo. As amostras foram mantidas a 10°C por 20 horas e, logo após, analisadas quanto às suas propriedades. Foram realizados ensaios reológicos oscilatórios (seção 3.3.11) nas soluções antes do processo de gelificação e análises de propriedades mecânicas (seção 3.3.12), capacidade de retenção de água (seção 3.3.13), e microscopia confocal (seção 3.3.14) após a gelificação.

3.3. Análises

3.3.1. Eletroforese em gel de poliacrilamida

Eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE) foi realizada segundo o método de Laemmli (1970). Soluções dos isolados protéicos em água deionizada foram preparadas a temperatura ambiente por agitação magnética, de modo que a solução final continha aproximadamente 1% da fração protéica (m/v). As soluções foram centrifugadas a 10000 rpm por 5 minutos e os sobrenadantes foram diluídos em tampão de pH 6,8 (50 mM Tris-HCl, 10% glicerol, 2% SDS, 0,1% azul de bromofenol, 100 mM β -mercaptoetanol), os quais foram aplicados aos géis de poliacrilamida. Os géis foram submetidos a uma diferença de potencial de 120 V através dos géis de empilhamento (5% de poliacrilamida) e separação (12% de poliacrilamida) em uma unidade Mini Cell Protean (Biorad Laboratories, EUA). Após a separação, estes géis foram corados em uma solução de 0,25% (v/v) de “Comassie Brilliant Blue” em etanol:ácido-acético:água (45:10:45% v/v) por pelo menos 2h, seguido de uma descoloração com ácido acético:etanol:água (5:10:85% v/v). As amostras foram comparadas com marcador comercial de massa molecular variando entre 6 e 180 kDa (Sigma-Aldrich Co., USA).

3.3.2. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A análise térmica das frações protéicas foi realizada em um calorímetro diferencial de varredura DSC 2920 Modulado (TA Instruments, EUA). Índio e água foram usados para calibrar a escala de temperatura e resposta entálpica do equipamento. Soluções contendo 20% (m/m) de cada um dos 8 isolados protéicos dispersos em água deionizada foram usadas para as medidas calorimétricas. Cerca de 10-15 mg de amostra foi colocada em célula hermeticamente fechada e uma célula vazia foi usada como referência. As amostras foram analisadas em triplicata, usando uma taxa de 10°C/min em temperaturas variando entre 10 e 110°C para a fração rica em globulina 7S e entre 10 e 130°C para a fração rica em globulina 11S. A temperatura de início do evento térmico, conhecida como T_0 , foi calculada tomando a intersecção da linha base com a inclinação máxima extrapolada do pico. A temperatura de desnaturação (T_{pico}) foi tomada no pico máximo e é a temperatura máxima de fluxo de calor. A entalpia de desnaturação térmica foi calculada a partir da área do pico endotérmico da curva de fluxo de calor em função da temperatura.

3.3.3. Potencial Zeta

Para determinar a carga elétrica superficial das frações protéicas, soluções das diferentes frações (1% m/v) foram diluídas em tampão citrato-fosfato 5 mM, em pH variando entre 3 e 7. As medidas de potencial zeta foram realizadas a 20°C com um Zetasizer – Nano ZS com voltagem de 100 V (Malvern Instruments, Reino Unido). Este instrumento determina a carga elétrica (potencial ζ) superficial das partículas através da medida da direção e velocidade do movimento de partículas com a aplicação de um campo elétrico (CHO & MCCLEMENTS, 2009). As análises foram realizadas em triplicata.

3.3.4. Isotermas de sorção

As umidades de equilíbrio das amostras em pó foram determinadas por método gravimétrico estático, utilizando-se soluções salinas saturadas nas faixas de atividade de água apresentada na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Atividade de água das soluções salinas saturadas a 25°C

Sal	a_w
LiCl	0,112
CH ₃ COOK	0,226
MgCl ₂	0,328
K ₂ CO ₃	0,432
Mg(NO ₃) ₂	0,529
KI	0,689
NaCl	0,753
KCl	0,840

Fonte: GREENSPAN (1977)

As amostras foram colocadas em cadinhos de plástico e, em seguida, armazenadas em potes herméticos contendo as respectivas soluções salinas para cada valor de umidade relativa desejada, a 25°C. As amostras foram pesadas em balança analítica até atingirem o equilíbrio (cerca de 4 semanas). Depois de alcançado o equilíbrio, as amostras foram secas em estufa a vácuo a 70 °C por 72h, para obtenção da umidade (base seca).

Os dados experimentais obtidos foram ajustados pelos seguintes modelos encontrados na literatura para isotermas de sorção: GAB, BET, BET Modificado, Halsey, Oswin e Henderson (Tabela 3.2). Os parâmetros destes modelos foram determinados através de uma análise de regressão não linear dos dados experimentais, realizada com o auxílio da ferramenta Solver do *software* Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, EUA). Os critérios de escolha dos melhores ajustes foram o coeficiente de determinação (R^2) e o módulo do desvio relativo médio (DR), calculado de acordo com a Equação 3.1:

$$DR = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^N \frac{|V_p - V_o|}{V_o} \quad (\%) \quad (3.1)$$

Onde: N= número de amostras, V_o = valor experimental e V_p = valor predito pelo modelo.

Tabela 3.2. Modelos para ajuste de isotermas de sorção.

Modelo	Equação
GAB (VAN DEN BERG, 1984)	$X_e = \frac{X_m C_{GAB} K_{GAB} a_w}{[(1 - K_{GAB} a_w)(1 + K_{GAB} (C_{GAB} - 1) a_w)]}$
BET (BRUNAUER; EMMET; TELLER, 1938)	$X_e = \frac{X_m C_{BET} a_w}{(1 - a_w) + (1 + (C_{BET} - 1) a_w)}$
BET Modificado (BRUNAUER; EMMET; TELLER, 1938)	$X_e = \frac{X_m C_{BET} a_w [1 - (N + 1)(a_w)^N + N(a_w)^{N+1}]}{(1 - a_w)[1 - (1 - C_{BET}) a_w - C_{BET} (a_w)^{N+1}]}$
HALSEY (HALSEY, 1948)	$a_w = \exp\left[\frac{-A}{X_e^B}\right]$
OSWIN (OSWIN, 1983)	$X_e = C \left(\frac{a_w}{1 - a_w}\right)^D$
HENDERSON (HENDERSON, 1952)	$1 - a_w = \exp(-k_H X_e^n)$

Sendo X_e a umidade de equilíbrio (g de água/g massa seca), X_m umidade da monocamada (g de água/g de massa seca), N número de camadas moleculares e C_{GAB} , K_{GAB} , C_{BET} , A , B , C , D , k_H e n parâmetros de ajuste dos modelos. As análises foram realizadas em triplicata.

3.3.5. Densidade aparente e real

A determinação da densidade aparente foi realizada de acordo com o método descrito por Beristain et. al. (2001), com algumas modificações. O pó (2 g) foi colocado em uma proveta graduada de 25 mL e foi compactado, batendo-se a proveta 100 vezes sobre a bancada. A densidade aparente foi calculada utilizando-se o volume de amostra obtido após a compactação e foi expressa em kg/m^3 . A determinação da densidade real foi feita utilizando-se um picnômetro a gás hélio automático Accu Pyr II 1340 V1.02. (Micromeritics, Norcross, USA). Os resultados foram expressos em kg/m^3 e as análises foram realizadas em triplicata.

3.3.6. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para caracterizar as partículas dos isolados protéicos. As amostras secas foram montadas em suportes de alumínio e recobertas com ouro em um Sputter Coater SCD 050-Balzers (Alzenau, Alemanha). As imagens foram obtidas em um microscópio JEOL JSM 5800 LV (Tokyo, Japão) operando a 10 kV.

3.3.7. Distribuição do tamanho de partículas e gotas

A distribuição do tamanho de partículas e gotas foi determinada em aparelho com difração a laser (Laser Scattering Spectrometer Mastersizer S, modelo MAM 5005 – Malvern Instruments Ltd., Reino Unido), utilizando etanol como líquido sedimentador para as partículas dos isolados protéicos em pó e tampão citrato-fosfato em pH 3 e 7 para as emulsões. As medidas foram realizadas em triplicata.

3.3.8. Análise de cor

A cor dos isolados protéicos diluídos em água deionizada na proporção de 1:10 foi determinada em colorímetro Ultra Scan Vis 1043 (Hunter Lab, Reston, EUA), com escala CIELab (L^* , a^* , b^*) mostrada na Figura 3.1. Medições de coloração foram expressas em termos da luminosidade L^* ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco), e da cromaticidade definida por a^* ($+a^*$ =vermelho e $-a^*$ =verde) e b^* ($+b^*$ =amarelo e $-b^*$ =azul). Nas leituras foi utilizado o modo transmitância, com índice iluminante D65 e ângulo de observação de 10° . As medidas em cada amostra foram realizadas com quatro repetições, obtendo-se valores médios de L^* , a^* e b^* .

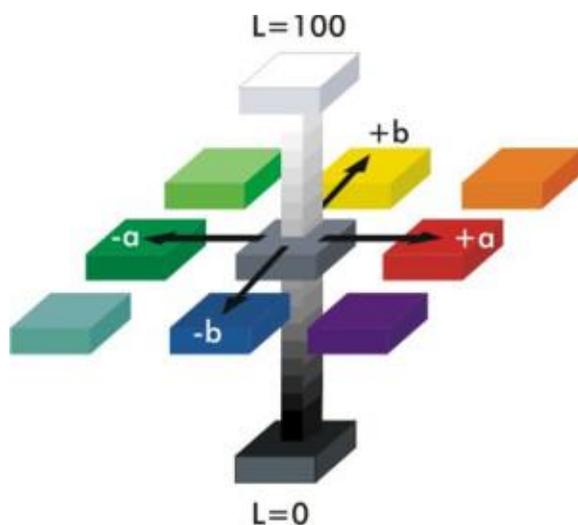


Figura 3.2. Esquema para medição de cores CIELAB (1976), L^* (escuro-claro), a^* (verde-vermelha) e b^* (azul-amarelo). Fonte: Flexomagazine (2010).

3.3.9. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas (umidade, cinzas e proteínas) foram determinadas de acordo com AOAC (1996). O teor de umidade e cinzas foi determinado pelo método gravimétrico e a quantificação protéica foi obtida pela determinação da porcentagem de nitrogênio total da amostra (método de Kjehldal) com fator de multiplicação igual a 6,25. A porcentagem de proteína da fase inferior das emulsões foi obtida através do balanço de massa apresentado na Equação 3.2:

$$m_T = X_{FS}m_T + X_{FI}m_T \quad (3.2)$$

Onde m_T é a massa de proteína total do sistema, m_{FS} é a massa de proteína da fase superior do sistema e m_{FI} é a massa de proteína da fase inferior do sistema.

3.3.10. Estabilidade à cremeação

Imediatamente após o preparo das emulsões, alíquotas de 50 mL de cada amostra foram transferidas para tubos cilíndricos graduados (diâmetro interno = 25 mm, altura = 200 mm), selados e estocados à temperatura ambiente por 7 dias, sendo o volume da fase aquosa inferior quantificado diariamente. As emulsões apresentaram separação de fases com a formação de uma fase superior oleosa e uma fase inferior aquosa, sendo a estabilidade medida através da altura da fase inferior (H) com o tempo de estocagem. O índice de cremeação (IC) foi descrito através da Equação 3.3:

$$IC(\%) = \left(\frac{H}{H_0} \right) \times 100 \quad (3.3)$$

Onde H_0 representa a altura inicial (KEOWMANEECHAI & MCCLEMENTS, 2002). As análises foram realizadas em triplicata.

3.3.11. Medidas Reológicas

Para a determinação das propriedades reológicas das emulsões e dos géis foi utilizado o reômetro de tensão controlada AR 1500 (TA Instruments, Reino Unido). Para as emulsões foi usada uma geometria de placa rugosa de aço inoxidável de 4 cm de diâmetro e as medidas foram avaliadas 7 dias após o seu preparo, de modo a garantir o equilíbrio de fases (índice de cremeação constante). Foi utilizado um “gap”, ou separação entre as placas, de 0,2 cm. Para os ensaios de gelificação foi usada uma geometria cone-placa de aço inoxidável de 6 cm de diâmetro e, para evitar evaporação, colocou-se uma fina camada de óleo de silicone ao redor da amostra. Todos os ensaios foram feitos em triplicata.

3.3.11.1. Curvas de escoamento das emulsões

Curvas de escoamento foram obtidas através de um programa de passos múltiplos usando um intervalo de taxa de deformação entre 0-300 s⁻¹, de forma que a relação entre viscosidade (η) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) para as diferentes emulsões pudesse ser avaliada. As medidas foram feitas a 25°C. Os modelos para fluidos Newtonianos (Equação 3.4), lei da potência (Equação 3.5) e de Herschel-Bulkley (Equação 3.6) foram utilizados para ajustar as curvas de escoamento:

$$\sigma = \eta \times \dot{\gamma} \quad (3.4)$$

$$\sigma = k \times \left(\dot{\gamma} \right)^n \quad (3.5)$$

$$\sigma = \sigma_0 + k \times \left(\dot{\gamma} \right)^n \quad (3.6)$$

Onde $\dot{\gamma}$ (s⁻¹) é a taxa de deformação, η (Pa.s) é a viscosidade, n é o índice de comportamento, σ_0 (Pa) é a tensão residual, e k (Pa.sⁿ) é o índice de consistência.

Os parâmetros das equações foram ajustados utilizando o software STATISTICA 7 (Statsoft Inc., Tulsa USA, 2000).

3.3.11.2. Espectros mecânicos das emulsões

Varreduras de frequência entre 0,01 e 10 Hz foram feitas a 25°C para caracterizar a estrutura viscoelástica desses materiais. Os parâmetros determinados foram módulo elástico ou de armazenamento (G') e módulo viscoso ou de dissipação (G''). As amostras que apresentaram menor dependência da frequência foram consideradas as mais estáveis à separação de fases.

3.3.11.3. Varredura de temperatura

A gelificação das frações protéicas foi avaliada através de varredura de temperatura a 1°C/ min de 20 a 90°C. Em todos os ensaios utilizou-se freqüência de 1 Hz e deformação máxima de 1%.

3.3.12. Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas dos géis obtidos foram avaliadas por ensaios de compressão uniaxial até 80% de sua altura inicial, à velocidade de compressão de 1 mm/s em um texturômetro TA-XT Plus Texture Analyser (Stable Microsystems Ltd., Surrey, Inglaterra) à temperatura de 10°C.

As propriedades dos géis foram mensuradas usando-se uma célula de carga de 25 kg e geometria do tipo placa cilíndrica de acrílico com 6 cm de diâmetro, lubrificada com óleo de silicone de baixa viscosidade de forma a evitar o atrito com a amostra (LAU *et al.*, 2000). Todas as medidas foram realizadas em triplicata. A partir dos dados de força e altura obtidos calculou-se a tensão (σ_H) e deformação (ε_H) de Hencky segundo as Equações 3.7 e 3.8 (STEFFE, 1996). O ponto de ruptura foi considerado como o pico máximo da curva tensão *versus* deformação.

O módulo de elasticidade (E) foi determinado a partir da tangente da região linear inicial da curva tensão-deformação (ROSENTHAL, 1999; STEFFE, 1996), conforme a Equação 3.9, quando a deformação do material é reversível.

$$\sigma_H = F(t) \times \left[\frac{H(t)}{H_0 A_0} \right] \quad (3.7)$$

$$\varepsilon_H = -\ln \left[\frac{H(t)}{H_0} \right] \quad (3.8)$$

$$E = \frac{d\sigma_H}{d\varepsilon_H} \varepsilon \approx 0 \quad (3.9)$$

Onde σ_H (Pa) é a tensão de Hencky e ϵ_H (Pa) a deformação de Hencky, $F(t)$ é a força (N), A_0 (m²) e H_0 (m) são, respectivamente, a área e a altura iniciais da amostra e $H(t)$ é a altura do material no tempo t .

3.3.13. Capacidade de Retenção de Água (WHC)

A capacidade de retenção de água dos géis foi determinada de acordo com a metodologia de Kocher & Foegeding (1993), após 20 horas de sua preparação e permanência em 10°C para sua total gelificação/estabilização, sob refrigeração em centrífuga modelo Allegra 25 – R (Beckman Coulter, Alemanha) com rotor A-10. Os géis foram cortados em pedaços de aproximadamente 1 g, colocados em disco de papel filtro Whatman nº 1 (Whatman, UK) e posicionados no centro de tubos de centrífuga de 50 mL previamente pesados e fechados hermeticamente para que se procedesse à centrifugação. A centrifugação foi realizada a 4000 rpm, em uma temperatura de 15°C por 10 minutos. A análise foi realizada em triplicata.

A quantidade de água liberada dos géis foi quantificada gravimetricamente e a WHC calculada de acordo com a Equação 3.10, sendo expressa em porcentagem de água retida:

$$WHC = 100 \times \left[1 - \left(\frac{\text{água liberada (g)}}{\text{água gel (g)}} \right) \right] \quad (\%) \quad (3.10)$$

3.3.14. Microscopia Confocal (CSLM)

Soluções dos isolados protéicos foram preparadas de acordo com a seção 3.2.3 utilizando corante fluorescente Rodamina B. Amostras das soluções foram colocadas em lâminas de microscopia, cobertas com uma lamínula de vidro, seladas com tinta tipo esmalte para prevenir evaporação e vedadas com veda-rosca. As lâminas foram então aquecidas em banho-maria a 90°C por 30 minutos e em seguida foram resfriadas em banho de gelo.

Um sistema confocal (MRC 1024 UV, Biorad, USA) composto por um microscópio invertido Olympus IX-81, leitor de varredura FV300 e equipado com laser Mai Tai foi

usado para observar os géis. Um comprimento de onda de 800 nm foi usado para excitar as amostras coradas com Rodamina. As configurações de contraste, brilho e diâmetro da íris foram ajustadas e mantidas constantes durante as observações. As imagens foram obtidas usando uma lente objetiva de imersão em óleo com aumento de 60x.

3.3.15. Análise Estatística

A comparação entre as amostras foi feita através de análise de variância (ANOVA) em que diferenças estatísticas ($p < 0,05$) foram determinadas pelo teste de Tukey utilizando o software STATISTICA 7 (Statsoft Inc., Tulsa USA, 2000).

CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Caracterização dos isolados protéicos de soja fracionados

4.1.1. Análises Químicas

Na Tabela 4.1 são mostrados os valores médios dos teores de umidade, proteína e cinzas das frações isoladas 7S e 11S da proteína de soja secas por liofilização ou “spray dryer”.

Tabela 4.1. Teor médio de umidade, proteína e cinzas das frações 7S e 11S da proteína de soja secas por liofilização ou “spray dryer” (SD).

Condição de Secagem	Umidade (%)		Proteína (%)		Cinzas (%)	
	7S	11S	7S	11S	7S	11S
Liofilizada	4,34 ^a	4,40 ^a	84,26 ^a	83,01 ^a	2,79 ^a	6,83 ^a
SD 120° C	4,39 ^a	4,18 ^a	85,10 ^a	83,72 ^a	2,50 ^a	6,86 ^a
SD 150° C	3,12 ^b	2,81 ^b	86,15 ^a	84,52 ^a	2,62 ^a	6,50 ^a
SD 180° C	2,50 ^b	2,32 ^c	86,99 ^a	84,86 ^a	2,92 ^a	6,62 ^a

Valores com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

O teor de umidade das duas frações protéicas apresentou uma queda de valor significativa ($p \leq 0,05$) com o aumento da temperatura de secagem, devido à maior taxa de transferência de calor. Como esperado, não foram observados efeitos significativos ($p < 0,05$) das condições de secagem sobre o teor de proteína e cinzas.

Comparando as duas frações, os teores de umidade e proteína se apresentaram próximos, mas o teor de cinzas se mostrou bem maior na fração 11S do que na fração 7S. Isolados protéicos de soja são muito ricos em minerais e aminoácidos, possuindo um teor de cinzas em torno de 6% (CHINMA et. al., 2011; CAILLARD & SUBIRADE, 2011); então, pressupõe-se que a fração 11S apresente um maior teor de cinzas devido à sua maior cadeia de aminoácidos em relação à fração 7S. No entanto, essa diferença entre o teor de cinzas das duas frações também pode ter sido resultado das quantidades de sal/base utilizadas para precipitar as frações na etapa de extração, pois maiores quantidades de sal/base foram utilizadas para a precipitação da fração 11S, o que também poderia explicar o seu maior teor de cinzas.

4.1.2. Colorimetria

As frações de isolados protéicos diluídos em água deionizada (1:10) foram analisadas quanto a sua cor e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Parâmetros de cor das dispersões das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” (SD).

Condição de Secagem	7S			11S		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Liofilizada	89,26 ^a	11,80 ^a	17,21 ^a	99,70 ^a	0,52 ^a	0,46 ^a
SD 120°C	89,57 ^b	8,86 ^b	16,21 ^b	99,99 ^b	0,03 ^b	-0,04 ^b
SD 150°C	94,40 ^c	7,16 ^c	8,91 ^c	99,99 ^b	0,05 ^b	-0,05 ^b
SD 180°C	96,98 ^d	4,68 ^d	4,91 ^d	99,98 ^b	0,05 ^b	-0,02 ^b

Valores com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si (p<0,05).

L* indica grau de luminosidade; a* indica cromaticidade vermelho/verde; b* indica cromaticidade amarelo/azul.

O grau de luminosidade L* é a relação entre luz refletida e absorvida (claro e escuro), e, de acordo com a Figura 3.1, os valores de suas médias mostrados na Tabela 4.2 indicam que as amostras são extremamente claras, com a fração 7S sendo mais escura que a 11S. Visualmente, a fração 11S era branca, e a 7S mostrava cor creme clara.

Para a fração protéica 7S foram encontradas diferenças significativas (p<0,05) entre todas as amostras para os valores de L*, a* e b*. Isso mostra que tanto o método de secagem, quanto as diferentes temperaturas usadas no “spray dryer” influenciaram na cor. Já para a fração 11S, somente foram encontradas diferenças significativas (p<0,05) entre os métodos de secagem (liofilização ou atomização), ou seja, as diferentes temperaturas usadas no “spray dryer” não influenciaram na cor.

Um menor valor de L* e maiores valores de a* e b* foram observados para as frações liofilizadas, indicando que são mais escuras que as secas em “spray dryer”, o que também foi constatado por Hu et. al. (2009) em concentrado protéico de batata liofilizado e seco em “spray dryer” à 120 e 195°C. Essa diferença de valores é provavelmente ocasionada pela diferença de tamanho e formato das partículas, o que, em geral, afeta criticamente a cor, solubilidade, densidade e textura dos pós (Wang e Johnson, 2001).

4.1.3. Densidade real e aparente

A densidade real ou absoluta corresponde à real densidade do sólido e não considera os espaços presentes entre as partículas, ao contrário da densidade aparente, também conhecida como densidade do leite, que considera todos esses espaços. O efeito da secagem nas densidades real e aparente das frações 7S e 11S da proteína de soja está mostrado na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Densidade real (ρ_{real}) e aparente (ρ_{aparente}) das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” (SD).

Condições de secagem	ρ_{real} (kg/m ³)		ρ_{aparente} (kg/m ³)	
	7S	11S	7S	11S
Liofilizada	1345,1 ^a	1411,4 ^a	489,09 ^a	524,11 ^a
SD 120°C	1388,8 ^a	1400,1 ^a	275,63 ^b	343,92 ^b
SD 150°C	1362,9 ^a	1421,3 ^a	278,38 ^b	328,54 ^b
SD 180°C	1373,9 ^a	1446,0 ^a	245,48 ^c	279,70 ^c

Valores com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Os valores de densidade aparente foram significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) entre os métodos de secagem, bem como entre as temperaturas do “spray dryer”. A fração liofilizada mostrou a maior densidade aparente e uma diminuição destes valores ocorreu com o aumento da temperatura de secagem. Isto provavelmente ocorreu devido ao fato das amostras liofilizadas apresentarem um maior diâmetro médio de partícula em relação às amostras secas em “spray dryer”. Resultados similares foram obtidos para secagem em “spray dryer” de suco de tomate (GOULA E ADAMOPOULOS, 2004) e suco de açaí (TONON et. al. 2010).

Quanto à densidade real, não foram encontradas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre nenhuma das condições de secagem, somente entre as duas frações. Isto se deve, provavelmente, ao fato de que a fração 11S possui maior número de aminoácidos em sua cadeia e, conseqüentemente, maior massa para uma mesma quantidade em volume em comparação com a fração 7S (UTSUMI & KINSELLA, 1985). A maior densidade real da

fração 11S também pode estar relacionada com o seu maior teor de cinzas em relação à fração 7S.

4.1.4. Distribuição do tamanho de partículas

A análise de tamanho de partícula revela que a secagem em “spray dryer” produziu um pó mais fino que a liofilização seguida de moagem em liquidificador. Na Figura 4.1 são mostradas as distribuições do tamanho das partículas das frações protéicas 7S e 11S em pó. Uma distribuição bimodal foi observada para as frações secas em “spray dryer”, indicando dois tamanhos de partículas predominantes. Essa distribuição bimodal observada pode ser conseqüência de aglomeração ou precipitação provocada pelo etanol utilizado como diluente na análise. Para as duas frações, o primeiro pico apresentou menores volumes (<2%) e diâmetros de partículas do que o segundo pico. Os valores do diâmetro médio das partículas estão apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Diâmetro médio das partículas $D_{3,2}$ (μm) das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” (SD).

Condições de Secagem	$D_{3,2}$ (μm)	
	7S	11S
Liofilizada	30,20	26,63
SD 120° C	2,33 ^a	2,38 ^a
SD 150° C	2,45 ^b	2,46 ^b
SD 180° C	2,42 ^b	2,55 ^c

Valores com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Foi observada uma diferença muito grande nos valores de diâmetro médio entre os métodos de secagem utilizados, sendo as amostras secas em “spray dryer” bem menores que as liofilizadas. Resultado semelhante foi obtido por Resch et. al. (2004) para proteína do soro de leite. Apesar de observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras secas em “spray dryer”, que apresentaram um pequeno aumento de diâmetro com o incremento da temperatura de secagem, esta foi mínima e, portanto, desconsiderada.

Tonon et. al. (2010) observaram comportamento similar para óleo de linhaça microencapsulado, em que o diâmetro médio tendeu a aumentar a maiores temperaturas de secagem em “spray dryer”. Secagem em temperaturas mais elevadas resulta em maiores taxas de transferência de massa, levando à formação de uma crosta superficial que não permite o encolhimento do material durante a secagem (REINECCIUS, 2004).

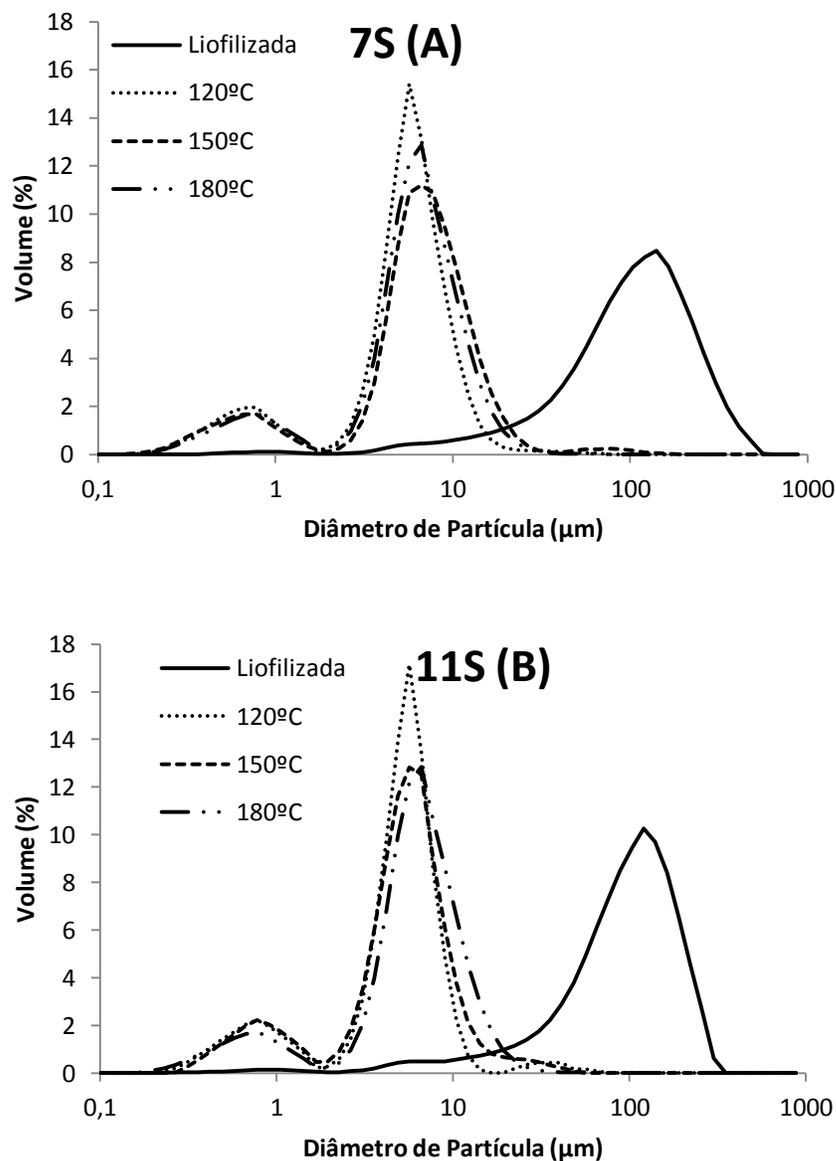


Figura 4.1. Curvas de distribuição de tamanho das partículas das frações 7S (A) e 11S (B) da proteína de soja.

4.1.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na Figura 4.2 são apresentadas micrografias das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C.

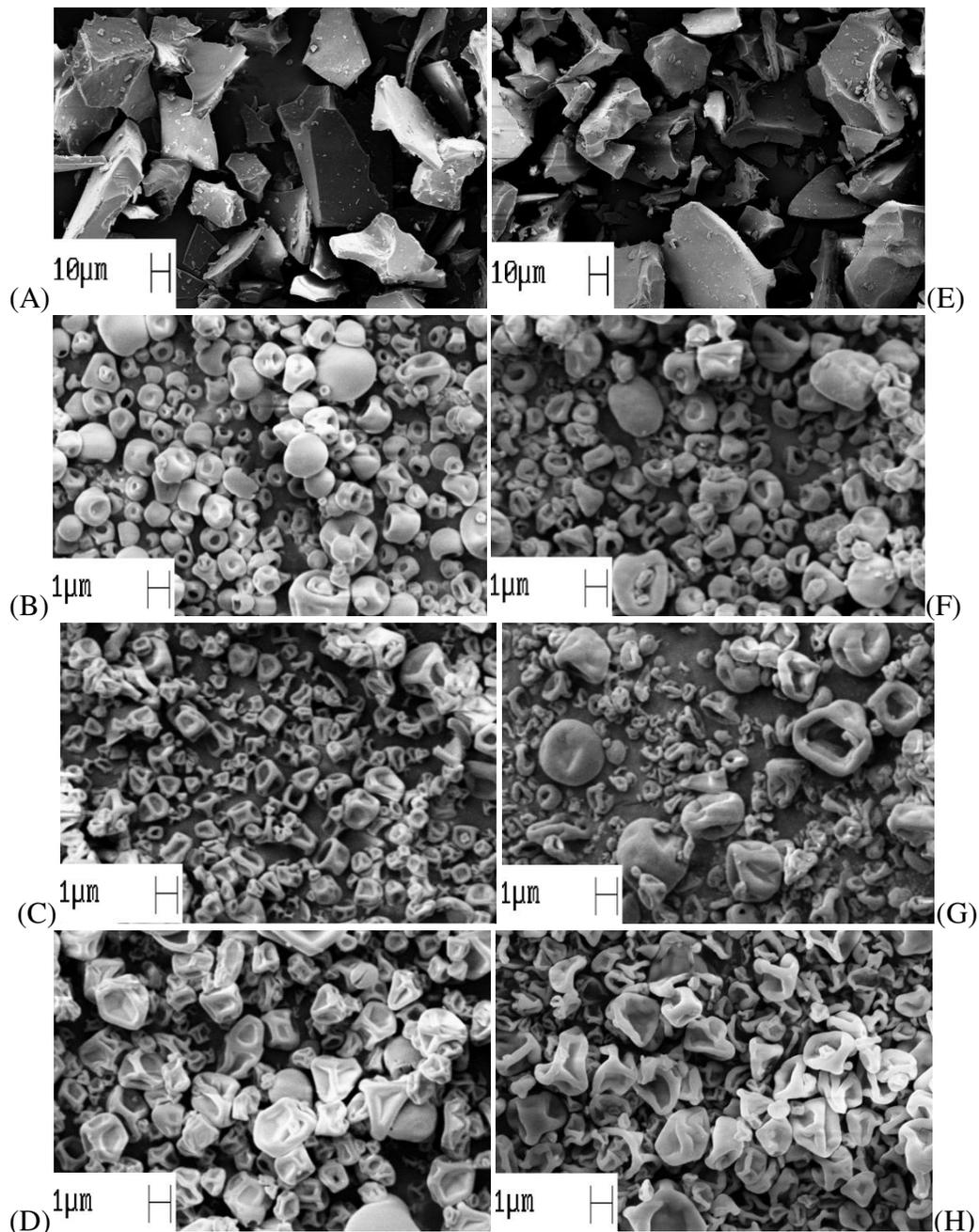


Figura 4.2. Microscopia eletrônica de varredura das frações 7S e 11S da proteína de soja. As figuras (A) e (E) representam as amostras liofilizadas das frações 7S e 11S, respectivamente, e possuem um aumento de 500x. As Figuras (B), (C), (D), (F), (G) e (H) representam as amostras secas em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C das frações 7S e 11S, respectivamente, e possuem um aumento de 6000x.

De acordo com a Figura 4.2, as partículas das amostras liofilizadas (A) e (F) apresentaram uma conformação plana e bastante característica dos produtos liofilizados, também observada por Torrezan (2007) para isolado protéico de soja e Haque e Roos (2006) para lactose.

Já as partículas das amostras secas em “spray dryer” apresentaram formato mais esférico e área superficial muito maior por causa do menor tamanho das partículas, quando comparadas às liofilizadas. As superfícies das partículas apresentaram concavidades, que se mostraram mais acentuadas nas amostras secas em maior temperatura. As concavidades são formadas quando não há formação de uma rede rígida, cristalina, por algum motivo, e ocorre um rápido resfriamento. De acordo com Rosemberg et. al. (1985), essas concavidades na superfície das partículas podem estar associadas à rápida evaporação durante o processo de secagem.

4.1.6. Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Na Tabela 4.5 são apresentados os resultados obtidos por calorimetria diferencial de varredura (DSC) para as soluções de frações protéicas 7S e 11S em pó obtidas em liofilizador e “spray dryer” (secas a 120, 150 ou 180°C), contendo 20% (m/m) de proteína. A Figura 4.3 mostra os termogramas referentes às frações ricas em 7S e 11S.

Tabela 4.5. Efeito do tratamento térmico sobre a entalpia de desnaturação total (ΔH_T) e temperaturas de desnaturação, T_0 e T_{pico} , nas frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” (SD).

Condições de Secagem	7S			11S		
	ΔH_T (J/g proteína)	T_0 (°C)	T_{pico} (°C)	ΔH_T (J/g proteína)	T_0 (°C)	T_{pico} (°C)
Liofilizada	1,16 ^a	70,6 ^a	77,2 ^a	2,27 ^a	91,5 ^a	98,4 ^a
SD 120°C	1,35 ^b	70,7 ^a	76,9 ^a	2,22 ^a	92,2 ^a	99,2 ^b
SD 150°C	1,13 ^a	70,9 ^a	76,7 ^a	2,02 ^a	92,1 ^a	98,8 ^b
SD 180°C	0,91 ^a	70,0 ^a	75,4 ^a	2,65 ^b	89,8 ^b	98,2 ^a

Valores com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

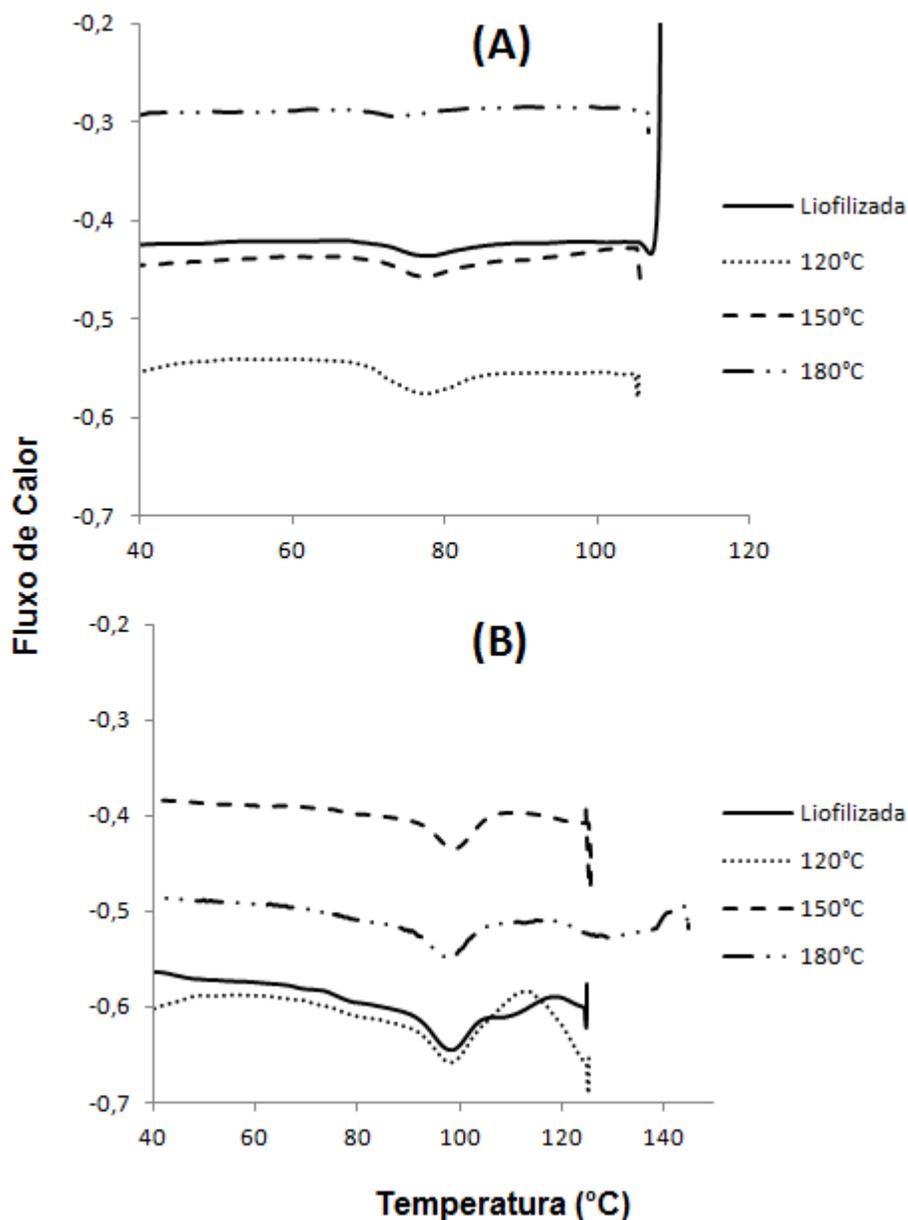


Figura 4.3. Termogramas referentes às frações ricas em 7S (A) e 11(B).

As condições de secagem não exerceram efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre as temperaturas de início (T_0) e de pico de desnaturação (T_{pico}) da fração 7S, porém para a 11S foram encontradas pequenas diferenças significativas, mas que podem ser desconsideradas. A temperatura de pico de desnaturação (T_{pico}) para a fração 7S ficou entre 75 e 78°C, e para a fração 11S por volta de 99°C. Para a fração 7S, essas temperaturas estão dentro do intervalo citado por Corredig & Keerati-U-Rai (2009) e Molina et. al. (2001), que obtiveram valores entre 70-78°C e 78,44°C, respectivamente. Os valores obtidos para a

fração 11S estão próximos aos obtidos por Corredig & Keerati-U-Rai (2009) e Molina et. al. (2001), que obtiveram valores entre 80-98°C e 96,88°C, respectivamente. Já o valor obtido por Achouri et. al. (2010) para a fração 7S (77,02°C) foi similar ao deste trabalho, porém para a fração 11S (92,31°C) foi menor.

A entalpia de desnaturação da fração 11S foi aproximadamente duas vezes maior que da fração 7S. A desnaturação térmica envolve rompimento das ligações intramoleculares, desdobramentos e agregações das moléculas de proteína. Assim, um maior número de pontes dissulfídicas intra e inter subunidades presentes na fração 11S proporcionam uma maior estabilidade contra a desnaturação térmica (SOBRAL et. al., 2010), explicando os maiores valores de entalpia de desnaturação para esta fração em relação à 7S. Além disso, ambas as frações apresentaram uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) muito pequena entre as condições de secagem, bem como entre as temperaturas no “spray dryer”, que também pode ser desconsideradas. A entalpia da amostra seca em “spray dryer” a 120°C da fração 7S mostrou o maior valor, com os valores das demais amostras menores e estatisticamente iguais entre si. A entalpia da amostra seca em “spray dryer” a 180°C fração 11S mostrou o maior valor, com as entalpias das demais amostras também menores e estatisticamente iguais entre si.

Para as amostras liofilizadas, valor próximo foi encontrado por Achouri et. al. (2010) para a fração 7S, ($1,04 \pm 0,03$ J/g), diferindo do publicado por Molina (2001), que foi de $0,277 \pm 0,01$ J/g. Já para a fração 11S, o valor encontrado por Achouri et. al. (2010) ($6,11 \pm 0,08$ J/g) é praticamente três vezes o valor obtido neste trabalho, que é praticamente o dobro do encontrado por Molina (2001) ($1,37 \pm 0,06$ J/g). Essa diferença de valores pode estar relacionada com o grau de pureza das frações protéicas, visto que o método de extração realizado neste trabalho difere dos demais.

4.1.7. Eletroforese em gel de poliacrilamida

A caracterização das frações 7S e 11S da proteína de soja foi realizada por eletroforese em gel de poliacrilamida em condições desnaturantes (reduzidoras) e está apresentada na Figura 4.4.

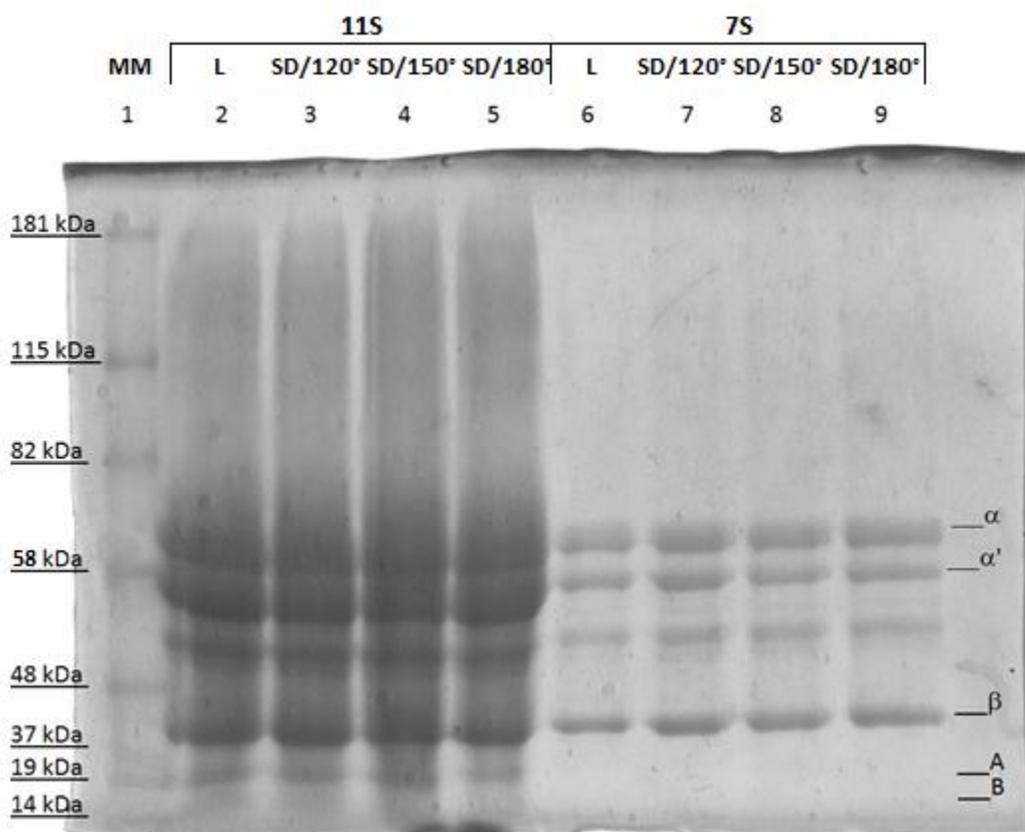


Figura 4.4. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS PAGE), em condições redutoras, das frações 7S e 11S da proteína de soja. A linha 1 (MM) corresponde ao marcador molecular; as linhas 2 a 5 correspondem à fração 11S liofilizada e seca em “spray dryer” (SD) a 120, 150 ou 180°C, respectivamente, e as linhas 6 a 9 correspondem à fração 7S liofilizada (L) e seca em “spray dryer” (SD) a 120, 150 ou 180°C, respectivamente.

Todas as amostras apresentaram duas bandas bem definidas entre 80 e 60 kDa que representam as subunidades α e α' e outra entre 48 e 37 kDa que representa a subunidade β . As amostras 2 a 5 apresentam duas bandas de menor massa molecular, que se encontram entre 37 e 14 kDa, que representam as subunidades ácidas (A) e básicas (B) respectivamente.

A fração 7S é composta das três subunidades α (57 kDa), α' (58 kDa) e β (42 kDa) e a fração 11S de subunidades ácidas (35-37 kDa) e básicas (20 kDa) (Utsumi e Kinsella, 1985). Assim, pode-se concluir que as amostras 2 a 5, que correspondem à fração 11S e deveriam apresentar apenas subunidades A e B, continham também as subunidades α , α' e β , que são susceptíveis de serem contaminantes. Resultados semelhantes foram observados

por Achouri et. al. (2010) e Teng et, al. (2009), com o último atribuindo a contaminação ao método de extração, que foi o mesmo utilizado neste trabalho.

Não foram observadas diferenças na caracterização das frações protéicas em relação aos métodos de secagem e entre as diferentes temperaturas de secagem em “spray dryer”, uma vez que o método utilizado (SDS PAGE redutor) não permite observar interações entre as proteínas. Assim, somente o método de extração afetou a composição protéica das frações.

4.1.8. Isotermas de sorção

As Tabelas 4.6 e 4.7 mostram os valores experimentais médios de umidade de equilíbrio (X_e) correspondentes às atividades de água (A_w) determinadas pelas soluções salinas saturadas utilizadas, para a construção das isotermas de sorção.

Tabela 4.6. Umidade de equilíbrio (X_e) da fração protéica 7S, armazenada sob diferentes condições de atividade de água a 25°C. SD: "spray dryer".

Solução		$X_e \pm$ desvio (g água/g massa seca)			
Salina	A_w	Liofilizada	SD 120°C	SD 150°C	SD 180°C
		0,0065 ±	0,0238 ±	0,0156 ±	0,0379 ±
LiCl	0,112	0,0020	0,0109	0,0057	0,0295
		0,0455 ±	0,0416 ±	0,0618 ±	0,0566 ±
CH ₃ COOK	0,226	0,0107	0,0084	0,0087	0,0045
		0,0381 ±	0,0283 ±	0,0456 ±	0,0534 ±
MgCL ₂	0,328	0,0032	0,0012	0,0036	0,0071
		0,0530 ±	0,0585 ±	0,0599 ±	0,0813 ±
K ₂ CO ₃	0,432	0,0013	0,0209	0,0026	0,0184
		0,0696 ±	0,0675 ±	0,0766 ±	0,0920 ±
Mg(NO ₃) ₂	0,529	0,0022	0,0150	0,0014	0,0090
		0,1047 ±	0,1021 ±	0,1165 ±	0,1304 ±
KI	0,689	0,0003	0,0034	0,0093	0,0037
		0,1250 ±	0,1243 ±	0,1547 ±	0,1518 ±
NaCl	0,753	0,0012	0,0019	0,0183	0,0004
		0,1776 ±	0,1719 ±	0,1974 ±	0,2092 ±
KCl	0,843	0,0006	0,0022	0,0052	0,0023

Tabela 4.7. Umidade de equilíbrio (X_e) da fração protéica 11S, armazenada sob diferentes condições de atividade de água a 25°C. SD: “spray dryer”.

Solução	A_w	$X_e \pm$ desvio (g água/g massa seca)			
		Liofilizada	SD 120°C	SD 150°C	SD 180°C
		0,0137 ±	0,0171 ±	0,0210 ±	0,0184 ±
LiCl	0,112	0,0007	0,0027	0,0117	0,0038
		0,0553 ±	0,0341 ±	0,0415 ±	0,0518 ±
CH ₃ COOK	0,226	0,0011	0,0027	0,0063	0,0038
		0,0517 ±	0,0274 ±	0,0391 ±	0,0484 ±
MgCL ₂	0,328	0,0042	0,0033	0,0113	0,0051
		0,0670 ±	0,0432 ±	0,0645 ±	0,0593 ±
K ₂ CO ₃	0,432	0,0005	0,0176	0,0106	0,0015
		0,0722 ±	0,0549 ±	0,0757 ±	0,0746 ±
Mg(NO ₃) ₂	0,529	0,0056	0,0102	0,0085	0,0042
		0,0887 ±	0,0802 ±	0,1039 ±	0,1079 ±
KI	0,689	0,0028	0,0156	0,0590	0,0094
		0,1076 ±	0,0958 ±	0,1164 ±	0,1200 ±
NaCl	0,753	0,0006	0,0024	0,0582	0,0020
		0,1425 ±	0,1289 ±	0,1780 ±	0,1625 ±
KCl	0,843	0,0093	0,0011	0,0529	0,0029

Os dados experimentais das isotermas de sorção das frações protéicas 7S e 11S em pó da proteína de soja foram ajustados por seis modelos da literatura, obtendo-se também o coeficiente de determinação (R^2) e o desvio relativo médio (DR). Estes valores, juntamente com os parâmetros das equações, estão descritos nas Tabelas 4.8 e 4.9.

Tabela 4.8. Parâmetros de ajuste da isoterma da fração protéica 7S. SD: “spray dryer”.

Modelo	Condição de Secagem	Parâmetro de ajuste			R ²	DR(%)
GAB	Liofilizada SD 120°C SD 150°C SD 180°C	<u>X_m</u>	<u>C_{GAB}</u>	<u>K_{GAB}</u>	0,9831 0,9827 0,9701 0,9936	17,65 11,46 17,16 4,59
		0,0299	5,082	0,914		
		0,0382	8,938	0,932		
		0,0474	7,996	0,916		
BET	Liofilizada SD 120°C SD 150°C SD 180°C	<u>X_m</u>	<u>C_{BET}</u>		0,9674 0,9729 0,9469 0,9704	30,87 20,85 22,86 10,74
		0,0299	5,885			
		0,0288	7,329			
		0,0341	38,617			
BET modificado	Liofilizada SD 120°C SD 150°C SD 180°C	<u>X_m</u>	<u>C_{BET}</u>	<u>n</u>	0,9699 0,9743 0,9578 0,9825	42,36 16,05 24,17 9,64
		0,0299	19,803	25,2131		
		0,0288	79,688	25,1241		
		0,0341	88,968	22,6018		
HALSEY	Liofilizada SD 120°C SD 150°C SD 180°C	<u>A</u>	<u>B</u>		0,9741 0,9817 0,9640 0,9932	43,14 12,43 21,94 5,62
		0,0185	1,3023			
		0,0162	1,3534			
		0,0190	1,3829			
OSWIN	Liofilizada SD 120°C SD 150°C SD 180°C	<u>C</u>	<u>D</u>		0,9821 0,9822 0,9676 0,9906	18,99 12,81 16,48 7,43
		0,0644	0,6030			
		0,0646	0,5811			
		0,0771	0,5662			
HENDERSON	Liofilizada SD 120°C SD 150°C SD 180°C	<u>k'</u>	<u>n'</u>		0,9750 0,9758 0,9619 0,9873	19,61 18,62 12,29 20,35
		11,7551	1,0456			
		3,3066	3,3066			
		3,0517	3,0517			
		1,8072	0,2083			

Onde X_m é a umidade da monocamada (g de água/g de sólidos secos) e C_{GAB}, K_{GAB}, C_{BET}, n, A, B, C, D, k' e n' parâmetros de ajuste dos modelos. Os valores de X_m correspondentes ao modelo de BET foram fixados para o ajuste do modelo de BET modificado.

Tabela 4.9. Parâmetros de ajuste da isoterma da fração protéica 11S. SD: “spray dryer”.

Modelo	Condição de Secagem	Parâmetro de ajuste			R ²	DR(%)
		X _m	C _{GAB}	K _{GAB}		
GAB	Liofilizada	0,0349	6,688	0,787	0,9750	11,98
	SD 120°C	0,0317	8,608	0,906	0,9891	7,14
	SD 150°C	0,0394	10,815	0,926	0,9864	9,23
	SD 180°C	0,0501	6,250	0,839	0,9835	7,36
BET	Liofilizada	0,0256	C _{BET}	64,000	0,8979	25,17
	SD 120°C	0,0222		66,000	0,9626	15,15
	SD 150°C	0,0296		68,808	0,9693	14,94
	SD 180°C	0,0287		59,1649	0,9423	21,21
BET modificado	Liofilizada	0,0256	C _{BET}	n	0,8625	21,94
	SD 120°C	0,0222	29,299	19,7702	0,9769	13,72
	SD 150°C	0,0296	45,259	22,7847	0,9748	13,55
	SD 180°C	0,0287	45,502	25,7606	0,9606	19,92
HALSEY	Liofilizada	A	B		0,9512	21,29
	SD 120°C	0,0063	1,7059		0,9852	11,09
	SD 150°C	0,0095	1,4292		0,9849	11,74
	SD 180°C	0,0148	1,4112		0,9745	13,89
OSWIN	Liofilizada	C	D		0,9724	15,19
	SD 120°C	0,0659	0,4538		0,9886	7,22
	SD 150°C	0,0515	0,5468		0,9855	8,01
	SD 180°C	0,0683	0,5511		0,9834	9,00
HENDERSON	Liofilizada	k'	n'		0,9595	16,51
	SD 120°C	3,5136	3,5136		0,9859	14,73
	SD 150°C	3,7705	3,7705		0,9757	17,47
	SD 180°C	3,2704	3,2704		0,9792	19,15

Onde X_m é a umidade da monocamada (g de água/g de sólidos secos) e C_{GAB}, K_{GAB}, C_{BET}, A, B, C, D, k' e n' parâmetros de ajuste dos modelos. Os valores de X_m correspondentes ao modelo de BET foram fixados para o ajuste do modelo de BET modificado.

De forma geral, as isotermas apresentaram bons ajustes aos modelos testados, com a maioria dos valores de coeficiente de determinação superiores a 0,90. Para uma avaliação mais adequada desses ajustes, o desvio relativo médio entre os valores preditos e os observados também foi analisado. Desta forma, para as frações 7S e 11S da proteína de

soja, os modelos de GAB e Oswin foram os que apresentaram melhores ajustes, com desvios inferiores a 18% e coeficientes de determinação próximos à unidade.

O modelo de GAB é amplamente utilizado na literatura por descrever bem as curvas de sorção de diversos alimentos. Lewicki (1997) sugere que as constantes deveriam assumir valores na faixa de $0,24 \leq K_{GAB} \leq 1$ e $5,67 \leq C_{GAB} \leq \infty$, de modo a garantir uma boa descrição da curva sigmoideal e preencher os requisitos do modelo de BET, bem como assegurar que os valores da umidade na monocamada não diferenciem mais que 15% da umidade real. Analisando as Tabelas 4.8 e 4.9, observa-se que as constantes encontram-se dentro do intervalo sugerido por este autor.

Também pode-se observar nas Tabelas 4.6 e 4.7 que para atividade de água de até 0,532, o aumento da umidade de equilíbrio (X_e) foi pequeno, quando comparado às umidades atingidas em valores de atividade de água maiores, o que também foi observado por outros autores (Righetto e Netto, 2005, Gabas et al., 2007 e Tonon, 2009). Nessa última região, a água exerce uma forte influência sobre a estabilidade do pó, uma vez que, estando na forma de moléculas livres, pode dissolver componentes, resultando em uma aceleração de reações indesejáveis.

O valor de X_m (umidade da monocamada) calculado pelos modelos de BET e GAB é de particular interesse, uma vez que indica a quantidade de água que está fortemente adsorvida aos sítios específicos na superfície do alimento, e é considerado como o valor ótimo para assegurar sua estabilidade (FENNEMA, 1996). Os valores de X_m obtidos para as frações 7S ficaram entre 3% e 5% obtidos a partir do modelo de GAB e 3% e 3,7% pelo modelo de BET. Para a fração 11S, esses valores ficaram entre 3% e 5% para GAB e 2% e 3% para BET. Cassini et. al. (2006) encontraram valores de 7,5% para GAB e 7,4% para BET em proteína texturizada de soja. Essa diferença entre os valores de X_m encontrados para as frações 7S e 11S da proteína da soja e para a proteína texturizada da soja pode ser atribuída à diferença na composição dos produtos.

Por apresentar uma boa fundamentação teórica, foi realizada uma representação gráfica das isotermas de sorção das frações protéicas 7S e 11S da proteína de soja, ajustadas pelo modelo de GAB (Figura 4.5). As isotermas de sorção para as duas frações podem ser consideradas como curvas do tipo II, seguindo a classificação de Brunauer, Emmet e Teller (1938).

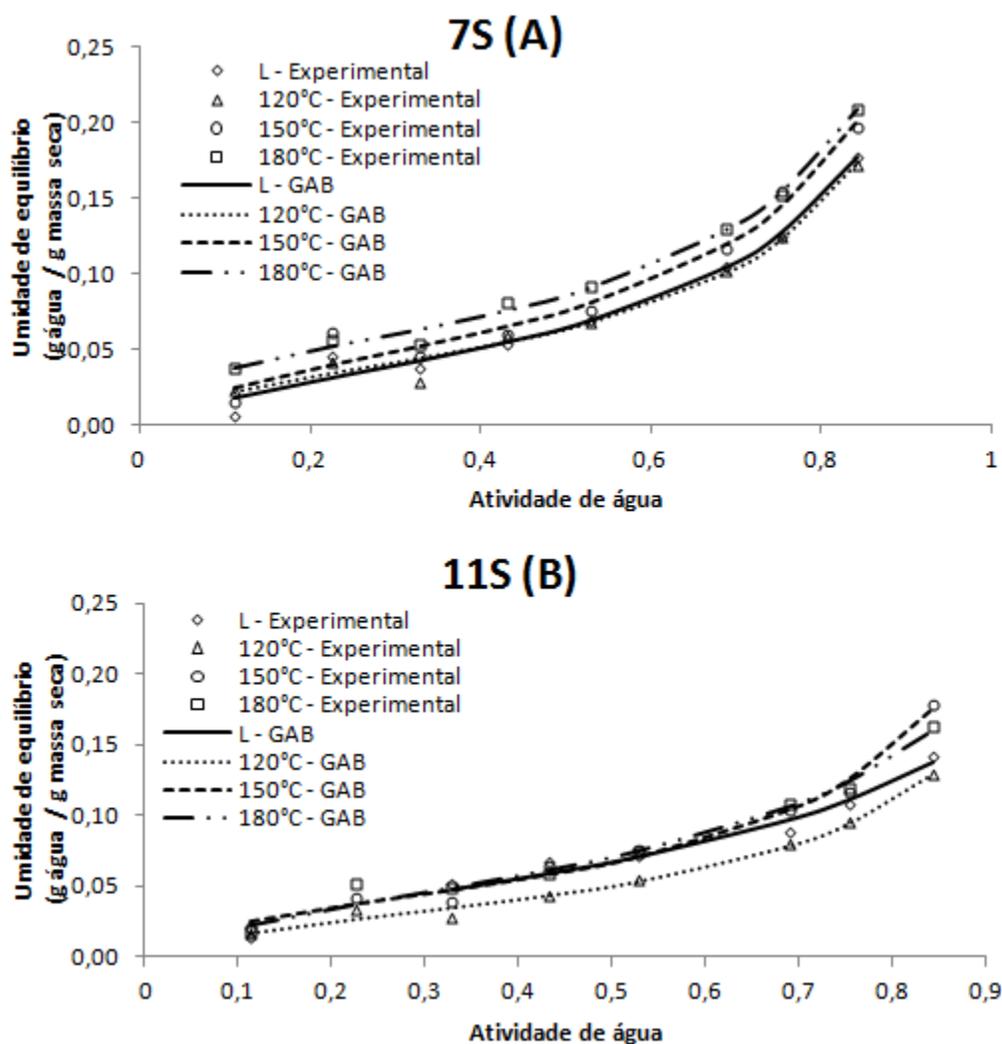


Figura 4.5. Isotermas de sorção obtidas para as frações 7S (A) e 11S (A) da proteína de soja. SD: “spray dryer” e L: liofilizada.

De acordo com a Figura 4.5, para as duas frações, pode-se dividir em dois grupos: as liofilizadas e secas em “spray dryer” a 120°C e as secas em “spray dryer” a 150 ou 180°C. Esse comportamento provavelmente ocorre devido à higroscopicidade das amostras, que é maior nas secas em maior temperatura devido ao seu menor tamanho de partícula e conseqüente maior área de adsorção. Além disso, a umidade da monocamada (X_m) aumentou a maiores temperaturas de secagem, ou seja, a secagem mais rápida resultou em maior quantidade de água fortemente ligada.

4.2. Caracterização dos géis obtidos a partir da fração 7s e 11s da proteína de soja.

4.2.1. Ensaio Reológico Oscilatório

A gelificação térmica dos isolados protéicos de soja foi estudada por ensaios oscilatórios usando rampas de aquecimento. O fornecimento contínuo de energia promove a ruptura das interações intra-moleculares, levando à desnaturação das proteínas globulares. Esse processo favorece, posteriormente, interações entre moléculas vizinhas e, dependendo da intensidade e quantidade destas alterações pode ocorrer a formação de agregados moleculares até o ponto em que é formado um gel (CAVALLIERI et. al., 2010). Nos ensaios reológicos oscilatórios, foram observados dois parâmetros: G' e G'' . O parâmetro G' é denominado módulo de armazenamento e é a medida do componente elástico da medida, representando a resistência da estrutura e está associado à formação de uma rede tridimensional. O parâmetro G'' é denominado módulo de dissipação e é a medida do componente viscoso da medida, representando as interações que não contribuem para a natureza tridimensional da rede. (SUN & ARNFIELD, 2010).

As Figuras 4.6 e 4.7 mostram os valores de G' e G'' para as frações enriquecidas em 7S e 11S, respectivamente.

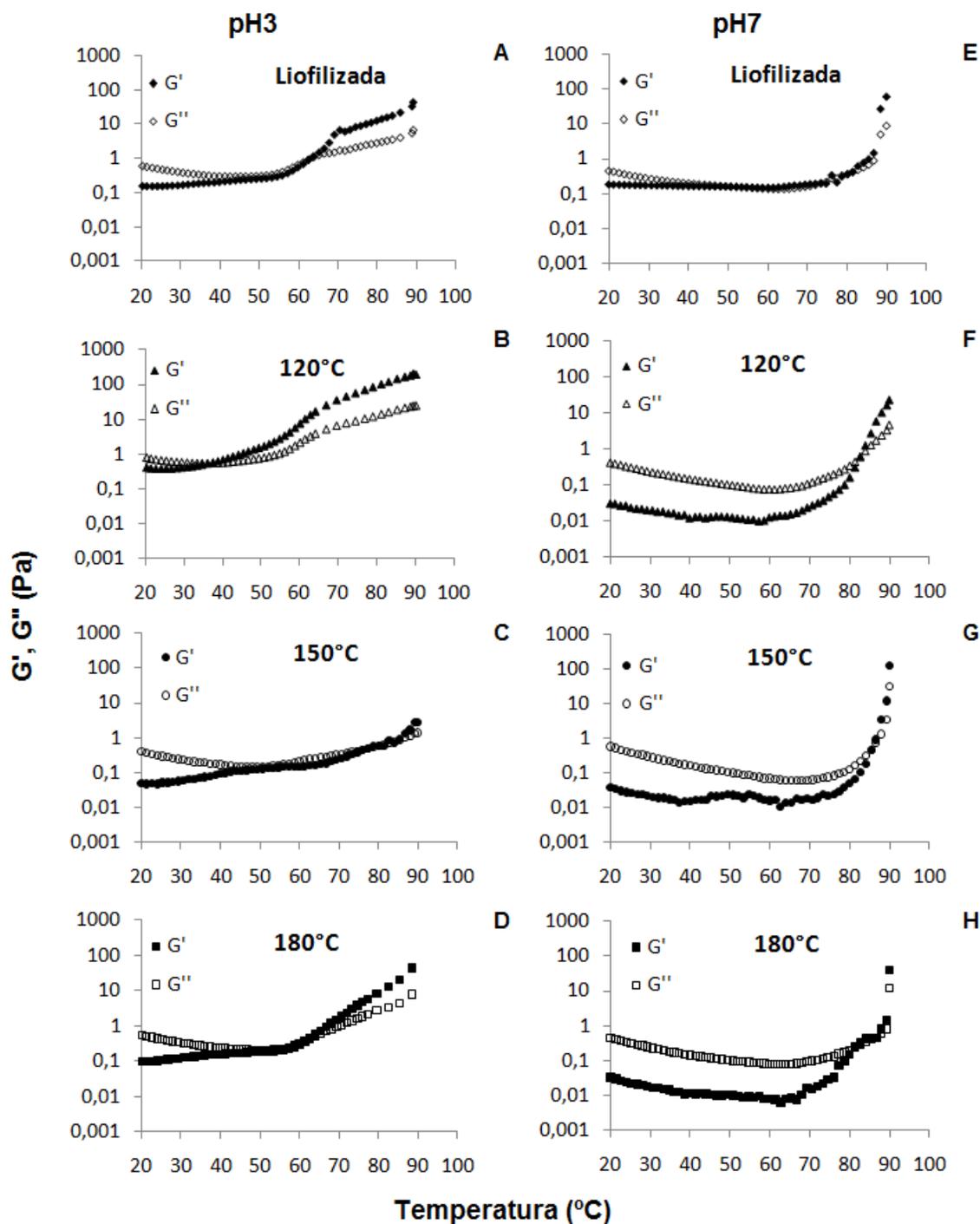


Figura 4.6. Variação dos módulos de armazenamento (G') e de dissipação (G'') durante o aquecimento da fração enriquecida em 7S nos valores de pH 3 (A, B, C e D) e 7 (E, F, G e H) nas formas de secagem: liofilização (A e E) e secagem em “spray dryer” a 120 (B e F), 150 (C e G) e 180°C (D e H).

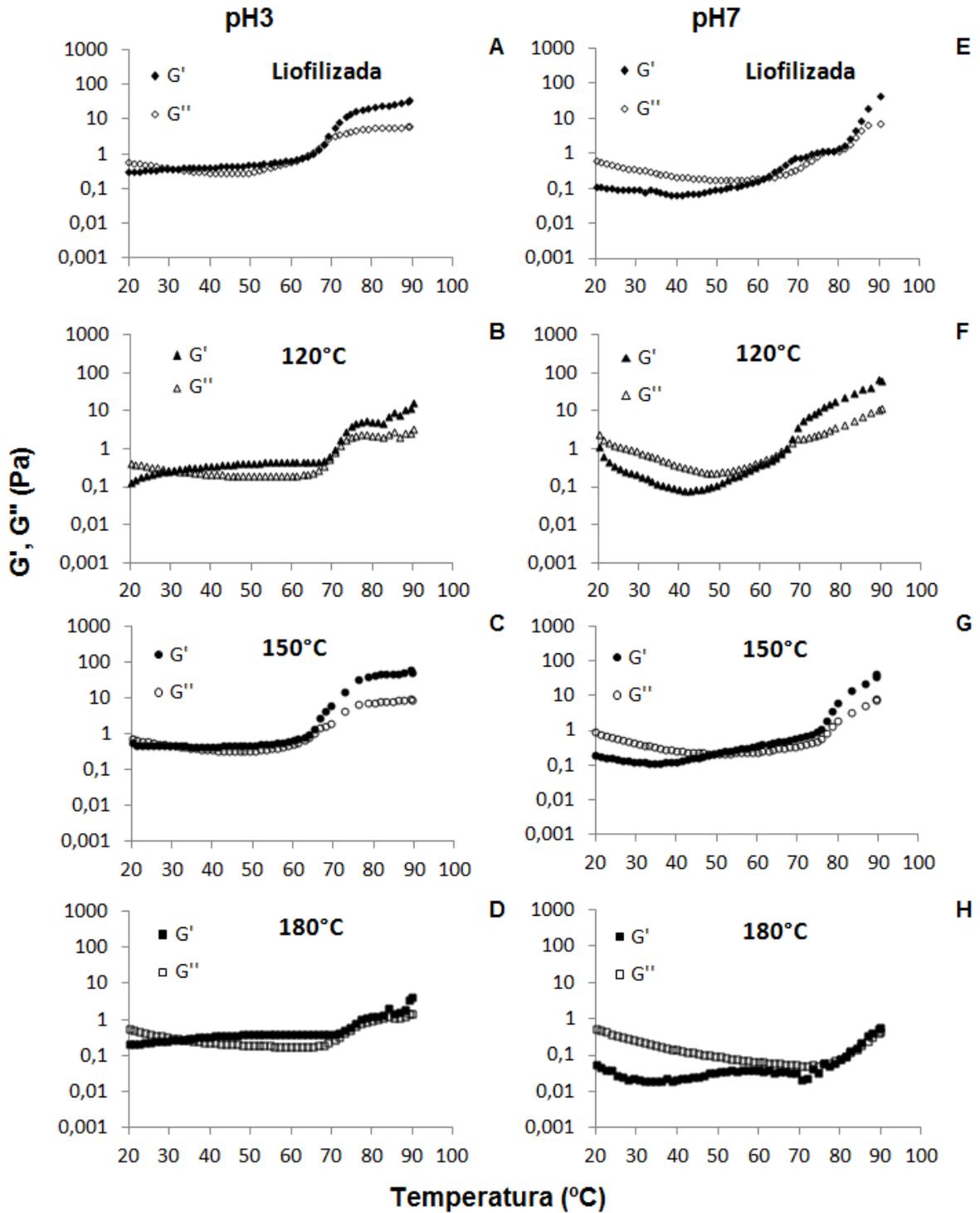


Figura 4.7. Variação dos módulos de armazenamento (G') e de dissipação (G'') durante o aquecimento da fração enriquecida em 11S nos valores de pH 3 (A, B, C e D) e 7 (E, F, G e H) nas formas de secagem: liofilização (A e E) e secagem em “spray dryer” a 120 (B e F), 150 (C e G) e 180°C (D e H).

Tanto na Figura 4.6 (fração rica em 7S) quanto na Figura 4.7 (fração rica em 11S), nota-se a grande diferença no perfil de G' e G'' das amostras em pH 3 em relação às amostras em pH 7. Quando G' é maior que G'' , o material se comporta mais como um sólido, isto é, as deformações são essencialmente elásticas (RAO, 1999). Então, os resultados apresentados mostram que o escoamento elástico predominou sobre o viscoso em todas as amostras, sendo este comportamento mais acentuado em pH 3.

Para a fração de proteína de soja enriquecida em 7S (Figura 4.5), tanto as amostras em pH 3 como em pH 7 apresentaram valores finais entre 3 e 9 vezes maior de G' em relação a G'' . No entanto, cabe ressaltar que esta diferença caiu com o aumento da temperatura de secagem. Já para a fração enriquecida em 11S (Figura 4.6), G' se apresentou maior que G'' em média entre 1 e 6 vezes, sendo esta diferença mais acentuada em menor valor de pH e temperatura de secagem.

Como a relação entre G' e G'' foi sempre inferior a 10, tanto para os géis obtidos a partir da fração enriquecida em 7S, como com a fração enriquecida em 11S, estes géis podem ser considerados fracos. Considerando esta classificação, tanto para a fração 7S como para a 11S e nos dois valores de pH estudados, os géis obtidos a partir da fração liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120°C se mostraram os mais fortes, ficando mais frágeis com o aumento da temperatura de secagem. Estes resultados mostram que, quanto maior a temperatura de secagem, menor foi a capacidade de formação de gel nas amostras. Bainy et. al. (2008) também observaram maiores valores de G' em relação a G'' para as frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada e solubilizada em pH 7, sendo essa diferença mais acentuada na fração 11S.

O ponto de cruce ou a interseção de G' e G'' é o critério arbitrário mais utilizado para a definição do ponto de gel (HORNE, 1995). Além disso, em uma varredura de temperatura a frequência constante, o ponto em que esses dois parâmetros se cruzam pode ser interpretado como a temperatura de mudança da característica viscoelástica predominante da amostra (DJABOUROV et al., 1988). Os pontos de cruce de G' e G'' durante o aquecimento estão representados na Tabela 4.10, ou seja, nessas temperaturas a característica reológica das amostras passou de predominantemente viscosa para elástica.

Tabela 4.10. Temperaturas de cruze (°C) de G' e G'' das frações enriquecidas em 7S e 11S da proteína de soja secas por liofilização ou “spray dryer” (SD) em 120, 150 ou 180°C e solubilizadas em pH 3 e 7.

Temperatura de cruze de G' e G'' (°C)					
Amostra	pH	Condições de secagem			
		Liofilizada	SD 120°C	SD 150°C	SD 180°C
7S	3	63,5	37,8	52,7	62,8
	7	49,9	82,7	85,5	82,0
11S	3	30,8	30,5	30,6	33,0
	7	61,4	66,9	50,5	81,1

Os géis obtidos em pH 3 apresentaram os pontos de cruzamento entre G' e G'' em temperaturas inferiores aos pontos obtidos pelos géis em pH 7 para ambas as frações, com exceção da amostra liofilizada da fração 7S, que apresentou comportamento oposto. Esses valores mostram que em pH 3 o ponto de gel ocorre em temperaturas mais baixas que em pH 7. Esse predomínio do escoamento elástico sobre o viscoso é bem mais acentuado na fração enriquecida em 11S, pois o ponto de gel ocorreu em temperaturas bem menores que na fração 7S. Isto provavelmente se deve ao fato da fração 11S ter a capacidade de formar géis mais fortes que a fração 7S (MANION & CORREDIG, 2006).

Tseng et. al. (2009) constataram que com a diminuição de pH, houve um aumento acentuado no valor de G', indicando a formação de uma rede de proteína elástica para as frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizada, resultado similar ao observado neste trabalho. Já Alvarez et. al. (2008) observaram que tanto o módulo elástico quanto o viscoso decresceram com a queda de pH para as duas frações liofilizadas. No entanto, não foram encontrados na literatura dados sobre o efeito da secagem em “spray dryer” na capacidade de gelificação de frações enriquecidas em 7S e 11S da proteína de soja.

As Figuras 4.8 e 4.9 apresentam as microestruturas dos géis formados a partir das frações enriquecidas em 7 e 11S nos diferentes valores de pH estudados usando as mesmas concentrações dos ensaios reológicos. Os géis obtidos a partir da fração enriquecida em 7S em pH 7 mostram grânulos de diferentes dimensões distribuídos aleatoriamente, enquanto que os géis obtidos a partir da fração enriquecida em 11S mostram uma rede mais estruturada porém heterogênea, que são características típicas das redes dessas frações protéicas (SPERONI et. al. 2009). Em pH 3, tanto para os géis obtidos a partir da fração enriquecida em 7S quanto para os obtidos a partir da fração enriquecida em 11S, a rede

principal tornou-se mais contínua o que aparentemente induz ao fechamento dos poros que se tornam menores e mais homogeneamente distribuídos pela estrutura. Isso explicaria os maiores valores de caráter elástico observados para os géis formados neste valor de pH, principalmente os formados a partir da fração enriquecida em 11S, visto que a tensão aplicada é melhor distribuída pela estrutura que suporta maiores deformações.

Para ambas as frações protéicas estudadas, observa-se nas imagens a formação de uma rede um pouco mais densa nos géis formados a partir da fração liofilizada. Nos géis formados a partir das frações secas em “spray dryer”, não é possível verificar grandes diferenças entre os géis avaliados.

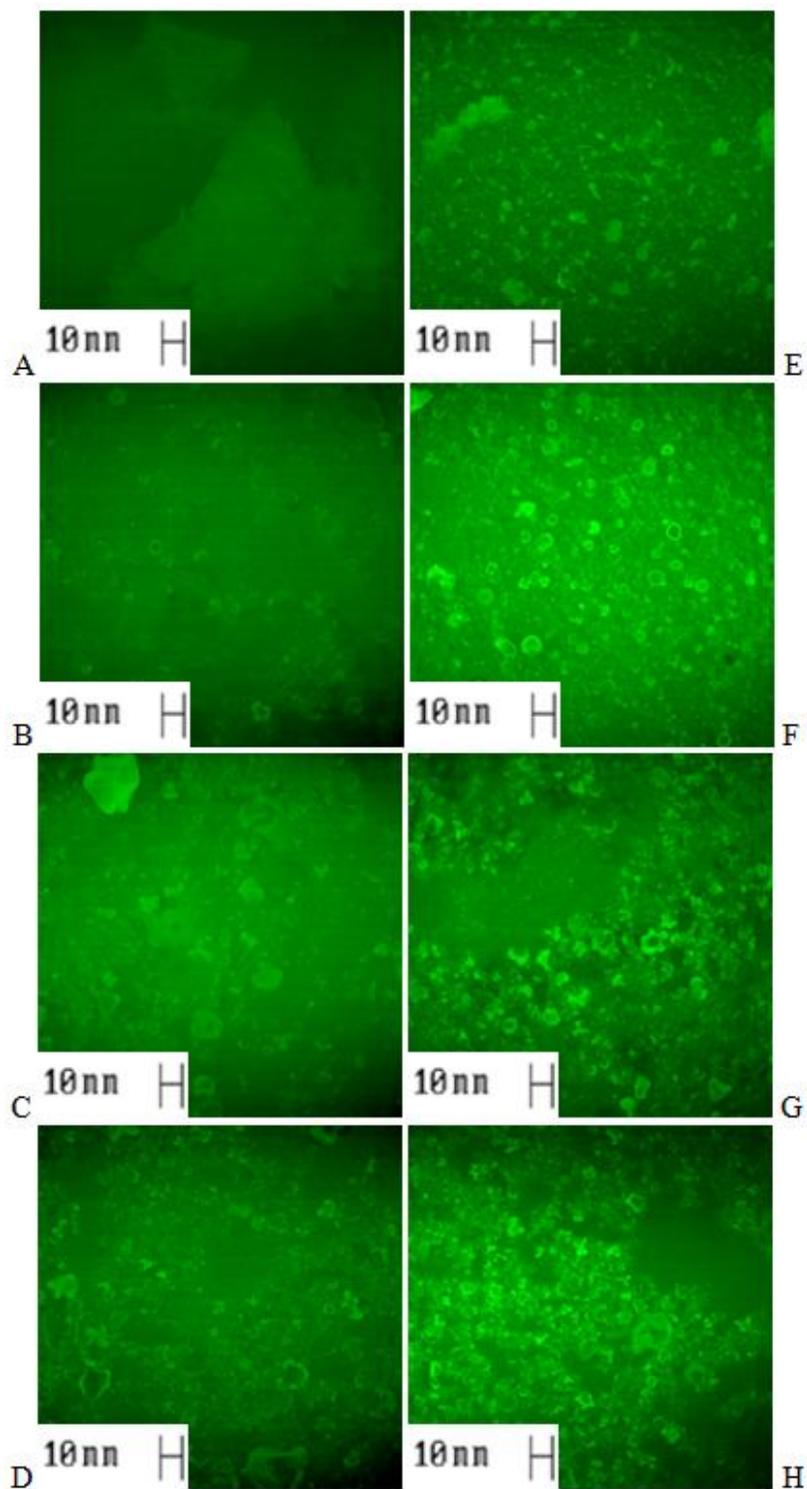


Figura 4.8. Microscopia confocal de géis de fração enriquecida em 7S liofilizada ou seca em “spray dryer” em 120, 150 ou 180°C em pH 3 (A,B,C e D) e pH 7 (E, F, G, H) respectivamente.

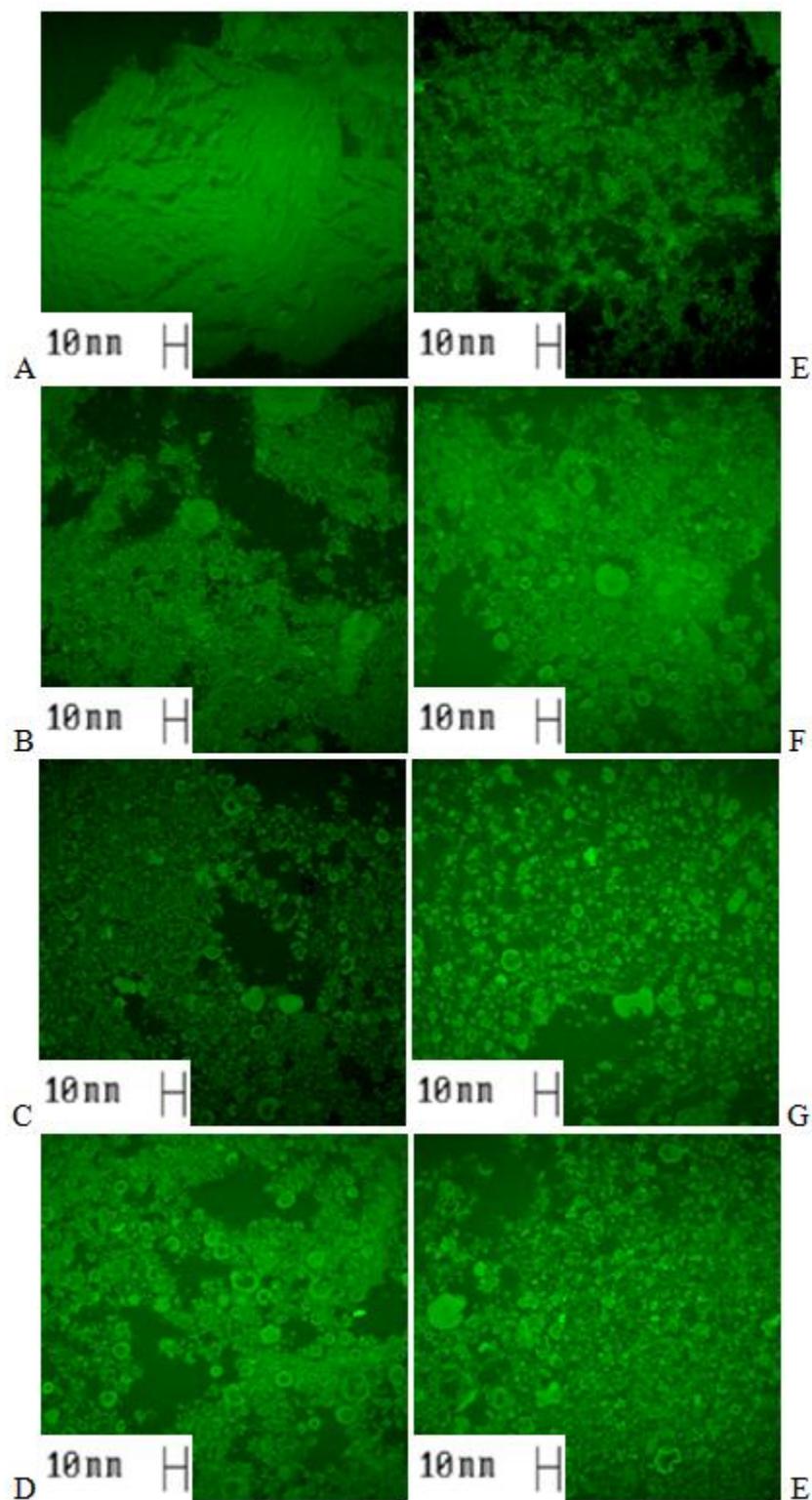


Figura 4.9. Microscopia confocal de géis de fração enriquecida em 11S liofilizada ou seca em “spray dryer” em 120, 150 ou 180°C em pH 3 (A,B,C e D) e pH 7 (E, F, G, H) respectivamente.

4.2.2. Propriedades Mecânicas

As propriedades mecânicas estão correlacionadas às características de textura do produto, que é um importante fator relacionado à qualidade de alimentos. A avaliação destas propriedades é de grande importância prática, uma vez que os alimentos são submetidos a tais deformações durante o processamento e o consumo (PICONE, 2005). Os fatores que afetam as propriedades mecânicas ou de ruptura de géis incluem o número de ligações por seção transversal da rede e a força de cada ligação (VAN VLIET et. al., 1991), que dependem do pH, natureza e concentração das macromoléculas e força iônica do meio.

Os efeitos da modificação do pH (3 ou 7) sobre as propriedades mecânicas dos géis obtidos a partir das frações enriquecidas em 7S ou 11S foram avaliados a partir dos resultados de compressão uniaxial. A partir desses ensaios, foram obtidos valores para tensão e a deformação na ruptura, que podem ser associados, respectivamente, com a dureza do gel e a sua deformabilidade.

As soluções obtidas a partir da fração 11S da proteína de soja seca em “spray dryer” a 150 e 180°C não formaram géis auto-sustentáveis em pH 7 e, portanto, estes sistemas não foram submetidos a testes de compressão. No entanto, todos os sistemas estudados em pH 3 formaram géis auto-sustentáveis. Cavallieri et. al. (2010) identificaram que sistemas contendo 8% de isolado protéico de soja (SPI) não formaram géis auto-sustentáveis em pH 6,7, mas em pH 5,7 houve a formação de géis auto-sustentáveis.

4.2.2.1. Tensão de Ruptura (σ_R)

As Figuras 4.10 e 4.11 mostram os valores obtidos para a tensão na ruptura dos géis obtidos a partir das frações enriquecidas em 7S e 11S da proteína de soja em pH 3 e 7, respectivamente.

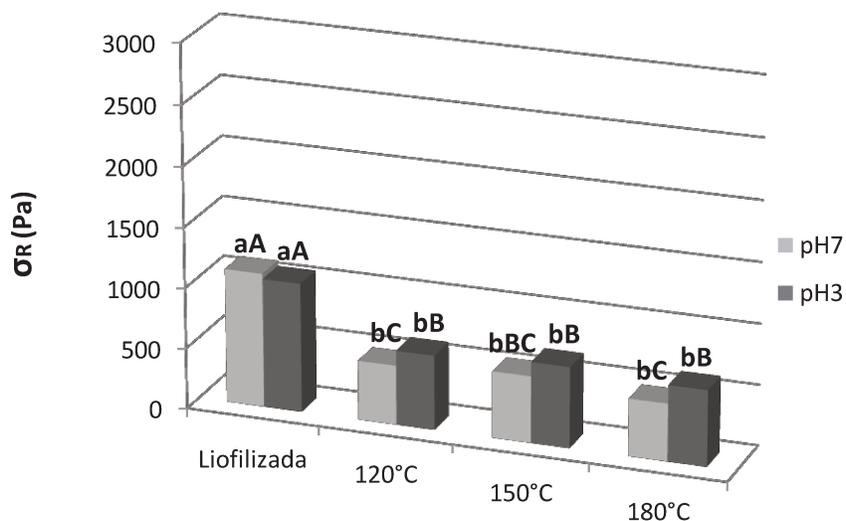


Figura 4.10. Tensão na ruptura dos géis obtidos a partir da fração enriquecida em 7S da proteína de soja em pH 3 e 7. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.

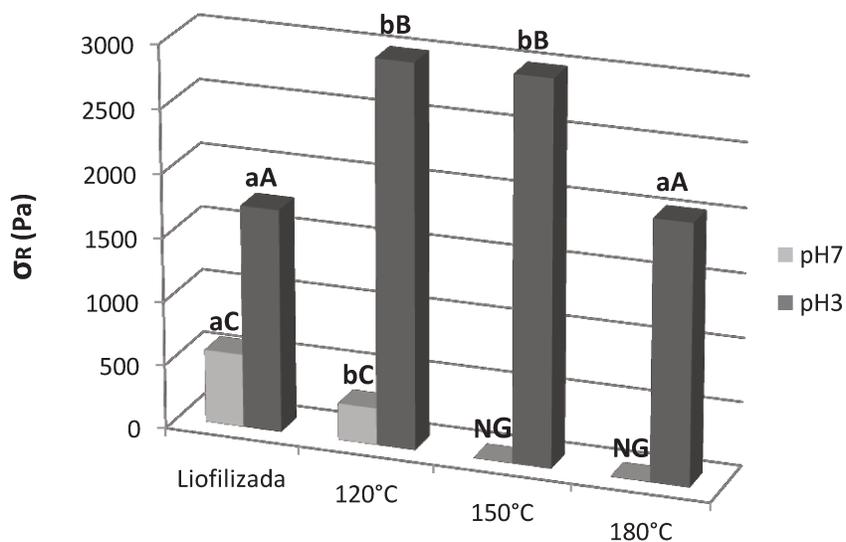


Figura 4.11. Tensão na ruptura dos géis obtidos a partir da fração enriquecida em 11S da proteína de soja em pH 3 e 7. NG significa a não formação de gel auto-sustentável. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.

Nos géis obtidos a partir da fração enriquecida em 7S, para ambos os valores de pH estudados, a tensão na ruptura se apresentou muito maior e estatisticamente igual nas amostras liofilizadas, resultando em géis mais “duros” que nas demais amostras (Figura 4.10). Em uma comparação entre os géis obtidos a partir das amostras secas em “spray dryer” e em cada pH, observou-se que não houve diferença significativa entre os valores de tensão na ruptura. Comparando os dois valores de pH para as amostras secas em “spray dryer” nas diferentes temperaturas, foi possível verificar que em pH 7 os géis eram mais frágeis, com exceção da amostra seca a 150°C em pH 7, que se apresentou estatisticamente igual à amostra em pH 3.

Nos géis obtidos a partir da fração enriquecida em 11S da proteína de soja, a diferença nos valores na tensão de ruptura se mostra bem acentuada entre os dois valores de pH estudados. Em pH 3, os géis obtidos a partir das amostras liofilizada e seca em “spray dryer” a 180°C (maior temperatura) se mostraram estatisticamente iguais e com valores menores de tensão na ruptura do que os géis obtidos a partir das amostras secas em “spray dryer” a 120 e 150°C (Figura 4.11). Já em pH 7, o valor encontrado para o gel obtido a partir da amostra liofilizada foi maior e estatisticamente diferente do que o encontrado para o gel obtido a partir da amostra seca em “spray dryer” a 120°C, enquanto que as amostras secas em maiores temperaturas não formaram géis auto-sustentáveis neste pH. Em uma comparação entre os dois valores de pH estudados, os géis obtidos em pH 7 tiveram valores de tensão na ruptura bem menores e estatisticamente diferentes dos encontrados em pH 3.

Comparando os géis obtidos a partir das duas frações estudadas, os valores de tensão na ruptura obtidos para a fração rica em 11S foram bem maiores que os obtidos para a 7S em pH 3. Os géis obtidos em pH 3 a partir da fração rica em 11S seca em “spray dryer” a 120 e 150°C foram os mais rígidos e fortes. Para géis formados a partir de isolado protéico de soja liofilizado, Puppó e Añón (1998) e Cavallieri et. al. (2010) obtiveram resultados opostos, encontrando valores de tensão na ruptura maiores com o aumento do pH. Em contrapartida, Torres et. al. (2010) e Valim et. al. (2009) encontraram valores de tensão na ruptura menores com o aumento do pH para géis formados a partir de ovalbumina e proteína do soro de leite comerciais, respectivamente. Dados de propriedades mecânicas de géis formados a partir das frações ricas em 7 e 11S da proteína de soja não foram encontrados na literatura para nenhum dos dois métodos de secagem.

No geral, os géis da duas frações formados no pH 7 se apresentaram mais frágeis que os géis formados em pH 3. Esses resultados são uma consequência das interações eletrostáticas mais favoráveis em pH 3 e dissulfídicas em pH 7. No pH 7, as interações dissulfídicas estão provavelmente comprometidas pelo processo de secagem, o que leva à formação de géis mais frágeis.

4.2.2.2. Deformação na Ruptura (ϵ_R)

As Figuras 4.12 e 4.13 mostram os valores obtidos para a deformação na ruptura dos géis obtidos a partir das frações ricas em 7 e 11S da proteína de soja em pH 3 e 7, respectivamente.

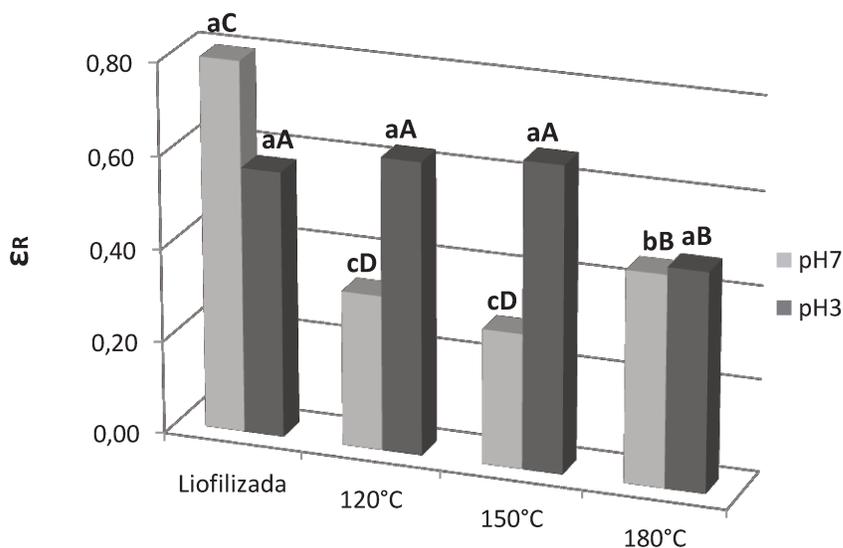


Figura 4.12. Deformação na ruptura (ϵ_R) dos géis obtidos a partir da fração rica em 7S da proteína de soja em pH 3 e 7. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.

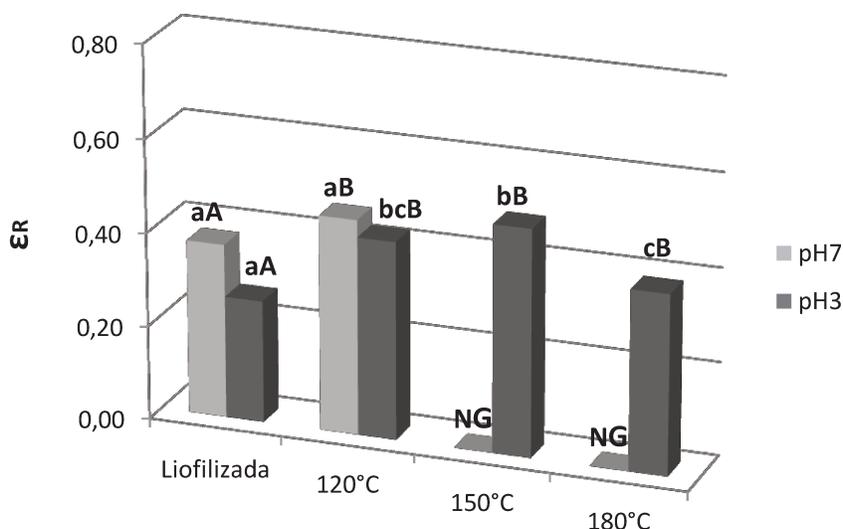


Figura 4.13. Deformação na ruptura dos géis obtidos a partir da fração rica em 11S em pH 3 e 7. NG significa a não formação de gel auto-sustentável. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.

Nos géis obtidos a partir da fração 7S da proteína de soja, a deformação na ruptura apresentou-se estatisticamente igual em pH 3 para todas as amostras avaliadas. Já em pH 7, o gel obtido a partir da amostra liofilizada apresentou a maior deformação na ruptura, valor este que decresceu para as amostras secas em “spray dryer” a 120 e 150°C e voltou a aumentar para a amostra seca em 180°C. Comparando-se os dois valores de pH estudados, o maior valor de ϵ_R foi observado no gel formado no pH 7 obtido a partir da amostra liofilizada, seguido pelas amostras em pH 3 secas nas condições mais brandas (liofilizada e secas em “spray dryer” a 120 e 150°C), que foram estatisticamente iguais. Os valores de ϵ_R foram iguais para as amostras secas em “spray dryer” a 180°C, independente do pH avaliado. Estes resultados mostram que, em geral, os géis obtidos em pH 3 (predominantemente eletrostáticos) foram mais deformáveis que os géis formados em pH 7 (dissulfídicos).

Para a fração enriquecida em 11S a pH 3, a deformação na ruptura apresentou valores crescentes entre o gel obtido a partir da amostra liofilizada e o formado a partir da amostra seca em “spray dryer” a 150°C, decrescendo ligeiramente na amostra seca em “spray dryer” a 180°C. Em pH 7, os valores de ϵ_R foram estatisticamente iguais para os géis obtidos a partir das amostras liofilizada e seca a 120°C. Como já comentado anteriormente,

as amostras secas em “spray dryer” a 150 e 180°C não formaram géis auto-sustentáveis. Comparando os dois valores de pH estudados, os géis obtidos a partir das amostras liofilizadas ou secas a 120°C foram estatisticamente iguais. Estes resultados mostram que o pH não influenciou significativamente os valores de deformação na ruptura para os géis obtidos a partir da fração rica em 11S da proteína de soja, porém o método de secagem modificou esta propriedade mecânica.

No geral, para ambas as frações, os valores de ϵ_R foram maiores em pH 7 para os géis formados a partir das amostras liofilizadas e em pH 3 para os géis obtidos a partir das amostras secas em “spray dryer”. Novamente, esses resultados são uma consequência das interações dissulfídicas provavelmente terem sido comprometidas pelo processo de secagem.

4.2.3. Módulo de Elasticidade (E)

A região linear inicial das curvas de tensão - deformação corresponde à faixa de deformação reversível dos géis, ou seja, onde não ocorrem danos irreversíveis à sua estrutura. O coeficiente angular da curva nesta região corresponde ao módulo de elasticidade dos géis e representa a firmeza ou força da rede a baixas deformações.

As Figuras 4.14 e 4.15 mostram os valores obtidos para o módulo de elasticidade dos géis obtidos a partir das frações ricas em 7 e 11S da proteína de soja em pH 3 e 7, respectivamente.

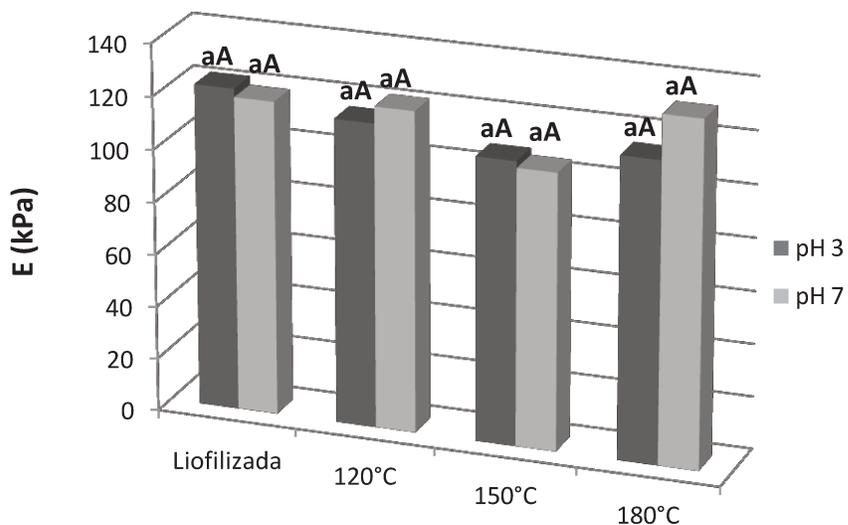


Figura 4.14. Módulo de elasticidade (E) dos géis obtidos a partir da fração rica em 7S da proteína de soja em pH 3 e 7. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.

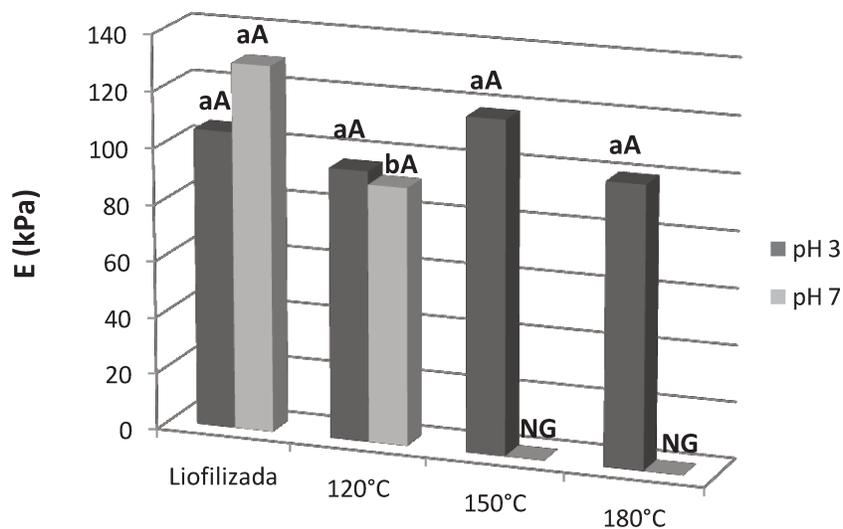


Figura 4.15. Módulo de elasticidade (E) dos géis obtidos a partir da fração rica em 11S da proteína de soja em pH 3 e 7. NG significa a não formação de gel auto-sustentável. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.

De acordo com as Figuras 4.14 e 4.15, tanto os géis obtidos a partir da fração rica em 7S como em 11S mostraram valores de módulo de elasticidade estatisticamente iguais, independente do pH ou condição de secagem usados. A única exceção foi para a fração rica em 11S em pH 7, que mostrou um valor menor do módulo de elasticidade, mas ainda próximo dos demais. Puppo e Añón (1998) também observaram valores próximos do módulo de elasticidade em pH 3,0 e 8 para géis de isolado protéico de soja (SPI) com a mesma concentração de proteína utilizada neste trabalho, porém os valores do módulo de elasticidade encontrados por estes autores foram bem menores em comparação com os avaliados neste trabalho. Isto provavelmente ocorreu devido à diferença entre as redes dos géis de SPI e de suas frações, visto que as mudanças provocadas nas propriedades dos géis termicamente induzidos são funções da composição do isolado ou de frações da proteína de soja (BAINY et. al., 2008).

4.2.4. Capacidade de Retenção de Água (WHC)

A capacidade de retenção de água está intimamente relacionada à estrutura da rede dos géis e é uma característica que influencia fortemente a aceitação dos produtos pelos consumidores. Os resultados obtidos para capacidade de retenção de água de géis em pH 3 compostos pelas frações ricas em 7 e 11S liofilizadas ou secas em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C estão apresentados na Figura 4.16. Como para algumas amostras não houve a formação de géis auto-sustentáveis em pH 7, estes sistemas não foram submetidos a testes de capacidade de retenção de água, pois eram tão frágeis que se rompiam no preparo da amostra, impossibilitando a realização dos mesmos.

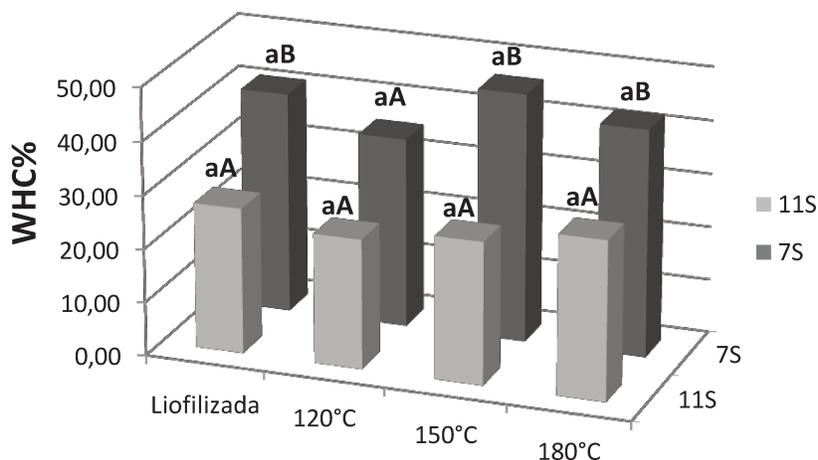


Figura 4.16. Capacidade de retenção de água (WHC) das frações 7 e 11S da proteína de soja em pH 3. * Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$). Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH e maiúsculas entre os dois valores de pH.

Entre os géis obtidos a partir da fração rica em 7S da proteína de soja, somente o obtido a partir da amostra seca em “spray dryer” a 120°C apresentou-se estatisticamente diferente e com menor valor. Já os géis obtidos a partir da fração rica em 11S da proteína de soja mostraram valores de WHC estatisticamente iguais. Comparando as duas frações, os géis obtidos a partir da fração rica em 7S apresentaram os maiores valores de WHC, sendo somente o gel obtido a partir da amostra seca em “spray dryer” a 120°C estatisticamente igual aos géis obtidos a partir da fração rica em 11S, ou seja, a fração rica em 7S produziu géis com maior capacidade de retenção de água. No entanto, Molina et. al. (2002) observaram que a capacidade de retenção de água dos géis obtidos a partir da fração rica em 11S foi bem maior (em torno de 27%, e próxima do resultado obtido) que a dos géis obtidos a partir da fração rica em 7S (em torno de 1%), ambos na mesma concentração utilizada neste trabalho e em pH 7; enquanto que Puppo e Añón (1998) encontraram valores acima de 80% para a capacidade de retenção de água de géis obtidos a partir de SPI em pH 3.

4.3. Caracterização das emulsões obtidas a partir da fração 7s e 11s da proteína de soja.

4.3.1. Estabilidade à cremeação

Emulsões O/A obtidas a partir da mistura de óleo de soja (30% v/v) com uma dispersão aquosa (70% v/v) contendo as frações protéicas 7S ou 11S (1% m/v) foram preparadas em valores de pH 3 e 7. Sob essas condições, a maioria das emulsões apresentaram separação de fases com a formação de uma fase superior oleosa e uma inferior aquosa, com exceção da emulsão contendo a fração rica em 7S seca em “spray dryer” a 180°C (maior temperatura usada) preparada em pH 7, que se manteve estável mesmo após 7 dias de estocagem. A separação de fases observada nestas emulsões ocorreu devido ao mecanismo de cremeação, sendo que, para ambos os valores de pH, este processo foi mais acentuado no segundo dia de estocagem para as emulsões contendo a fração rica em 7S e já nas primeiras 24 horas para as emulsões contendo a fração rica em 11S.

As Figuras 4.17 e 4.18 apresentam o perfil de cremeação das emulsões obtidas a partir das frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja, respectivamente. Em ambos os valores de pH, houve pouca separação de fases nas emulsões contendo a fração rica em 7S, sendo esta mais acentuada nas emulsões contendo a fração rica em 11S. Nas emulsões contendo a fração rica em 11S preparadas em pH 7 observou-se a formação de uma terceira fase acumulada no fundo da proveta, que, provavelmente, se tratava de proteína precipitada.

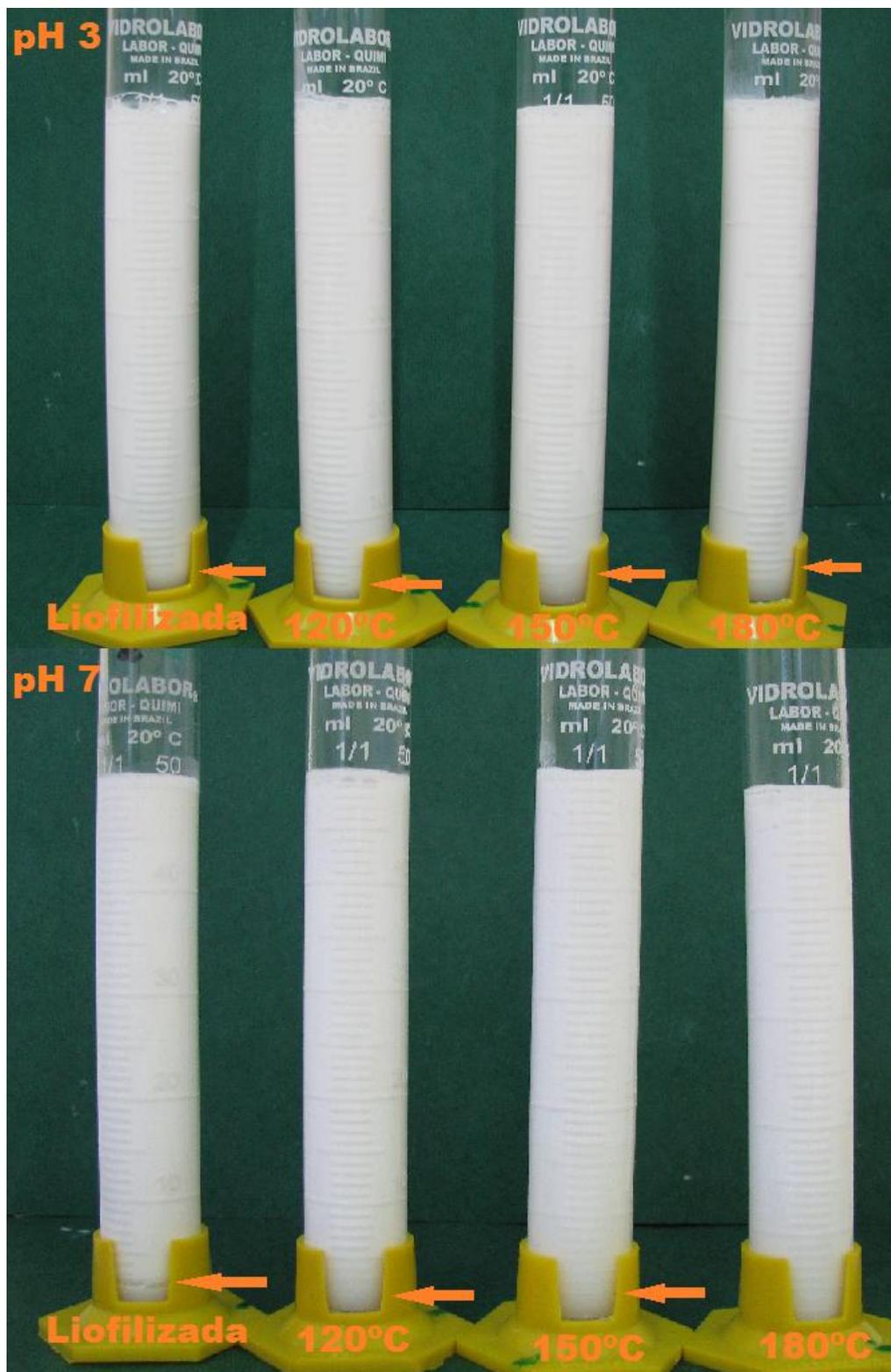


Figura 4.17. Perfil de cremeação das emulsões obtidas a partir da fração rica em 7S da proteína de soja liofilizada e seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C após 7 dias de estocagem. Emulsões preparadas em pH 3 e 7.



Figura 4.18. Perfil de cremação das emulsões obtidas a partir da fração rica em 11S da proteína de soja liofilizada e seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C após 7 dias de estocagem. Emulsões preparadas em pH 3 e 7.

A estabilidade à cremeação é medida através do índice de cremeação (IC), que fornece informações indiretas sobre o grau de agregação das gotas em uma emulsão: quanto maior a agregação, maiores são as partículas e mais rapidamente ocorre a cremeação (Kulmyrzaev et. al. 2000). As Figuras 4.19 e 4.20 apresentam os valores do índice de cremeação, calculados a partir da Equação 3.2, das emulsões formadas com as frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja, ao longo dos 7 dias de estocagem.

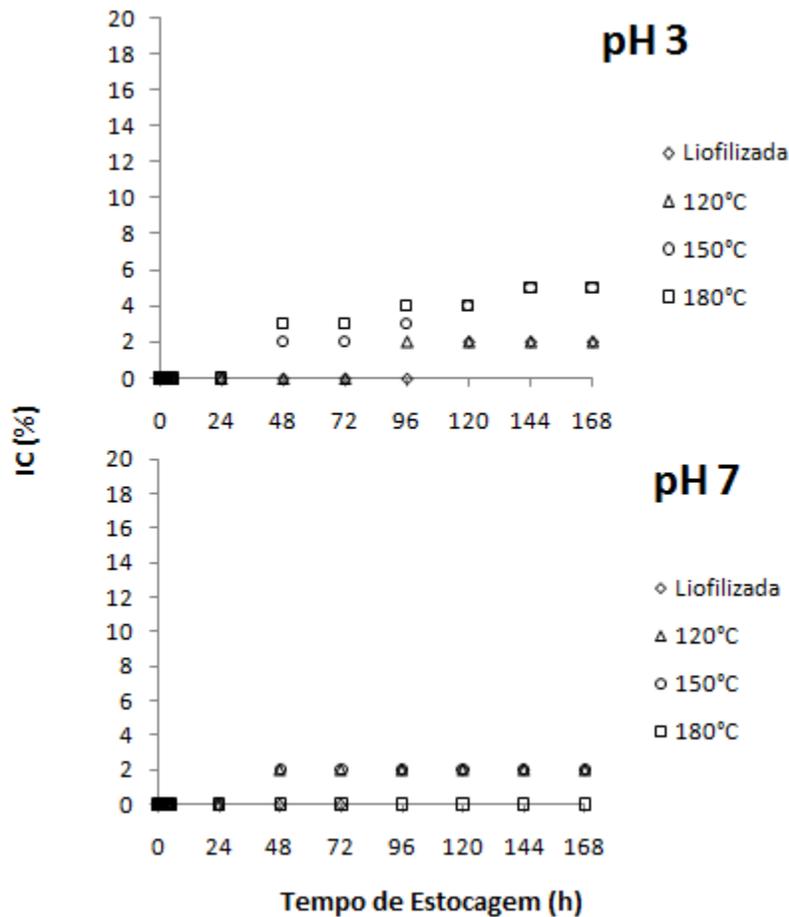


Figura 4.19. Índice de cremeação das emulsões obtidas a partir da fração rica em 7S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C, ao longo dos 7 dias de estocagem.

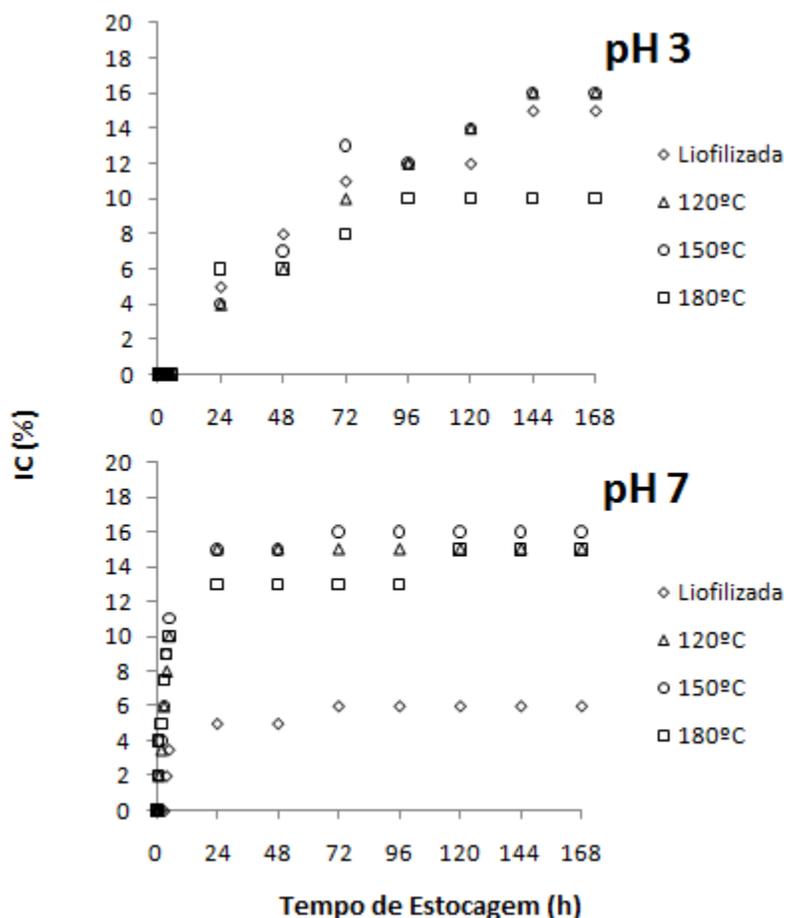


Figura 4.20. Índice de cremeação das emulsões obtidas a partir da fração rica em 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C, ao longo dos 7 dias de estocagem.

A Figura 4.19 mostra que o IC máximo para as emulsões obtidas a partir da fração rica em 7S foi próximo a 5%, indicando que as emulsões apresentaram uma pequena separação de fases. Em pH 3, as emulsões obtidas a partir das frações protéicas liofilizada e seca em “spray dryer” a 120°C apresentaram comportamento semelhante, com início da cremeação entre 3 e 4 dias. Além disso, o IC final (em equilíbrio) foi duas vezes menor que o das emulsões obtidas a partir das frações protéicas secas em “spray dryer” a 150 e 180°C, que também apresentaram comportamento similar ao longo do tempo de estocagem. Em pH 7, todas as emulsões apresentaram comportamento similar, exceto a emulsão obtida a partir da fração protéica seca em “spray dryer” a 180°C, que não mostrou separação de fases. Comparando-se os dois valores de pH estudados, nota-se que as emulsões obtidas em pH 3 apresentaram uma curva crescente de IC, atingindo a estabilidade apenas nas últimas 24

horas de estocagem; já as emulsões obtidas em pH 7 apresentaram uma curva crescente de IC até o 3º dia de estocagem, tornando-se praticamente estáveis a partir deste ponto.

Já com a fração rica em 11S, o IC máximo foi próximo a 15%, indicando que as emulsões apresentaram maior instabilidade em comparação às emulsões estabilizadas com a fração rica em 7S (Figura 4.20). Em pH 3, todas as emulsões apresentaram comportamento semelhante em uma curva crescente até o 4º dia de estocagem. A partir deste ponto, a emulsão obtida a partir da fração protéica seca em “spray dryer” a 180°C apresentou um IC aproximadamente constante, enquanto que as demais emulsões continuaram em uma curva crescente até a estabilidade no final da estocagem (últimos dois dias). Já em pH 7, o IC aumentou fortemente nas primeiras 24 horas e, posteriormente, permaneceu praticamente constante em todo o período de estocagem. A emulsão obtida a partir da fração protéica liofilizada apresentou um IC final cerca de dois terços menor que o das emulsões obtidas a partir das frações protéicas secas em “spray dryer”, que apresentaram um comportamento semelhante independente da temperatura de secagem.

Comparando os dois valores de pH estudados para as duas frações protéicas, observa-se que as emulsões obtidas em pH 3 apresentaram uma curva crescente de IC, atingindo a estabilidade apenas nas últimas 24 horas de estocagem, enquanto que em pH 7, houve um aumento do IC apenas nas primeiras 24 horas, e este tornou-se praticamente estável ao longo do restante do tempo de estocagem. Mudanças na estrutura das proteínas são um fenômeno dependente do pH (PUPPO et. al., 2004), pois as proteínas de soja em solução apresentam um tamanho médio em torno de 50 nm, com grandes agregados presentes em pH ácido, que dificultam a estabilização do sistema (LAM et. al., 2008). Tratamentos físicos, como a homogeneização a alta pressão, envolvem altas forças de cisalhamento, podendo também causar mudanças estruturais e desnaturação das proteínas. Tratamentos a alta pressão modificam a conformação da proteína afetando as interações hidrofóbicas e por pontes de hidrogênio devido ao rompimento das estruturas terciárias e/ou quaternárias da maioria das proteínas globulares. Essas mudanças na conformação da proteína melhoram sua capacidade emulsificante, mas não a estabilidade das emulsões (KEERATI-U-RAI & CORREDIG, 2009). Em pH neutro (pH 7), este tipo de tratamento causa agregação na fração protéica rica em 11S e um parcial desdobramento da fração rica

em 7S, tornando a segunda mais estável que a primeira (MOLINA et. al., 2001; PUPPO et. al., 2004; PUPPO et. al., 2011).

Wang et. al. (2001) encontraram valores de IC próximos a 2% para emulsões obtidas a partir de SPI homogeneizadas a alta pressão num período de 7 dias de estocagem, que estão próximos dos encontrados neste trabalho para as emulsões obtidas a partir da fração rica em 7S da proteína de soja. Galazka et. al. (1999) constataram que a fração rica em 11S da proteína de fava tem capacidade emulsificante e estabilizante inferior quando comparada com a proteína integral. Com base no IC das frações 7S e 11S da proteína de soja, Puppo et. al. (2011) mostraram que a fração 7S é a responsável pelas propriedades globais das emulsões de proteína de soja, enquanto que a fração 11S não exerce um efeito significativo. No entanto, cabe ressaltar que em todos estes trabalhos foi utilizada proteína liofilizada.

4.3.2. Potencial Zeta (ζ)

Potencial zeta é a diferença de potencial entre a camada de íons próxima à superfície da partícula e o meio de dispersão. Altos valores numéricos do potencial zeta podem ser relacionados com a estabilidade de emulsões (WANG et. al., 2011). A Figura 4.21 mostra o perfil do potencial zeta encontrado para as frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja liofilizadas ou secas em “spray dryer” a diferentes temperaturas em função do pH. Malhotra & Coupland (2004) encontraram um perfil de potencial zeta para emulsões obtidas a partir de SPI bem próximo do apresentado.

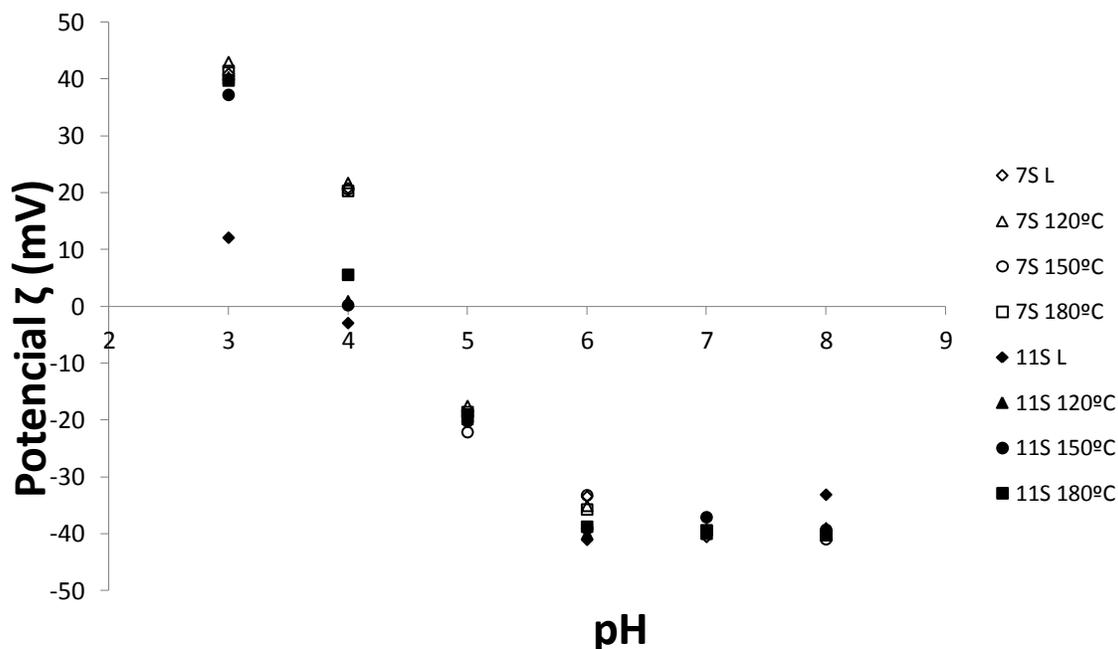


Figura 4.21. Perfil do potencial zeta das frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C em função do pH.

De acordo com a Figura 4.21, a fração rica em 7S apresentou o mesmo comportamento independente da condição de secagem, obtendo valores de potencial zeta muito parecidos em cada pH. Já para a fração rica em 11S, apenas a amostra liofilizada apresentou um comportamento diferente das demais, com valores de potencial zeta menores em pH abaixo do ponto isoelétrico. De maneira geral, o potencial zeta aumentou gradualmente de um valor negativo para positivo com o decréscimo do pH entre 8 e 3. Estes valores refletem no padrão da força de interação entre as proteínas, que gradualmente mudou de repulsão eletrostática negativa para positiva, passando pela atração eletrostática. Quando o módulo do potencial zeta é alto, as forças repulsivas predominam em relação às atrativas, fazendo com as gotículas fiquem dispersas no sistema, tornando o sistema eletrostaticamente estabilizado. Por outro lado, quando o módulo do potencial zeta é baixo (próximo a zero), as forças atrativas predominam em relação às repulsivas, favorecendo a aproximação das partículas, o que resulta em instabilidade do sistema (YUAN et. al., 2010). Pelos valores encontrados de potencial zeta em pH 3 e 7, todas as amostras deveriam ser

estáveis, mas não são provavelmente devido ao fato de a proteína não ser um emulsificante muito eficiente para se adsorver no glóbulo de gordura.

4.3.3. Distribuição da Proteína nas Fases

A Tabela 4.11 apresenta os valores do teor de proteína das fases separadas das emulsões. As análises de proteína da fase superior foram realizadas após 7 dias de estocagem, quando as amostras atingiram equilíbrio cinético (índice de cremação constante). O teor de proteína da fase inferior foi obtido através do balanço de massa apresentado na Equação 3.2. O teor de proteína inicial de todas as emulsões foi de 1%, com os teores de óleo e água sendo de 30% e 70%, respectivamente.

Tabela 4.11. Teor de proteína das fases separadas das emulsões após 7 dias de estocagem. SD: "spray dryer".

Fração	pH	Fase Superior (% m/m)				Fase Inferior (% m/m)			
		Liofilizada	SD120°C	SD150°C	SD180°C	Liofilizada	SD120°C	SD150°C	SD180°C
7S	3	0,981 ^a	1,002 ^a	0,921 ^b	0,816 ^c	0,419 ^a	0,398 ^a	0,479 ^b	0,584 ^c
	7	0,754 ^a	0,939 ^b	0,842 ^c	0,815 ^d	0,647 ^a	0,461 ^b	0,553 ^c	0,585 ^d
11S	3	1,156 ^a	1,185 ^a	1,248 ^b	1,163 ^a	0,244 ^a	0,215 ^a	0,152 ^b	0,237 ^a
	7	0,857 ^a	0,879 ^a	0,825 ^a	1,117 ^b	0,543 ^a	0,521 ^a	0,575 ^a	0,283 ^b

Valores com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

Com base na Tabela 4.11, para as duas frações protéicas a fase superior do sistema apresentou um teor de proteína maior que a fase inferior. A fase superior das emulsões em pH 3 apresentou um teor maior de proteína que as emulsões em pH 7, ocorrendo o inverso na fase inferior. O fato das proteínas de soja não adsorvidas poderem vir a gelificar, em pH ácido, principalmente com a fração 11S (ALVAREZ et. al., 2008), explica a gelificação das emulsões em pH 3. Isto também poderia explicar o maior teor de proteína da fase superior das emulsões obtidas a partir da fração rica em 11S em comparação com as emulsões obtidas a partir da fração rica 7S. Os processos de secagem das frações protéicas utilizadas no preparo das emulsões teve pouca influência sobre o teor de proteína nos sistemas, sendo o pH o fator de maior influência.

4.3.4. Distribuição do Tamanho de Gotas

O tamanho das gotas é um parâmetro muito importante para diversas propriedades das emulsões como, por exemplo, vida de prateleira, aparência, textura e aroma. Conseqüentemente, é fundamental que se possa controlar e medir com precisão o tamanho das gotas em emulsões (MCCLEMENTS, 2005). A Tabela 4.12 apresenta os valores do diâmetro médio das gotas das emulsões obtidas a partir das frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C em valores de pH 3 e 7.

Tabela 4.12. Diâmetro médio das gotas $D_{3,2}$ (μm) das emulsões obtidas a partir das frações 7S e 11S da proteína de soja liofilizadas ou secas em “spray dryer” (SD) a 120, 150 ou 180°C solubilizadas em valores de pH 3 e 7.

Amostra	$D_{3,2}$ (μm)			
	7S		11S	
	pH 3	pH 7	pH 3	pH 7
Liofilizada	2,27 ^{bb}	1,96 ^{aA}	4,33 ^{bA}	14,77 ^{ab}
SD 120°C	2,05 ^{aA}	2,53 ^{bE}	2,98 ^{aA}	16,17 ^{ab}
SD 150°C	3,65 ^{dd}	2,72 ^{cf}	3,03 ^{aA}	15,89 ^{ab}
SD 180°C	3,25 ^{cC}	3,04 ^{dG}	4,63 ^{cA}	19,31 ^{bb}

* Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p \leq 0,05$).

**Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH;

***Letras maiúsculas representam a análise estatística das amostras entre os dois valores de pH.

A Tabela 4.12 mostra que as emulsões obtidas a partir da fração rica em 7S da proteína da soja tanto em pH 3 como em pH 7 apresentaram tamanhos de gotas estatisticamente diferentes para todos os processos de secagem. De forma geral, o tamanho médio de gota tende a aumentar com a intensidade do processo de secagem, porém isso foi mais notável em pH 7. Comparando-se os valores de pH estudados, observa-se uma tendência de maior tamanho médio de gota em pH 3. As emulsões mais estáveis feitas a partir da fração 7S possuíam pH 7 (Figura 4.21), o que se confirmou com os menores tamanhos de gota observados nesta condição de pH (GALAZKA et. al., 1999).

Para as emulsões estabilizadas com a fração rica em 11S da proteína de soja pode-se concluir através da Tabela 4.12 que em pH 3, a emulsão que apresentou o menor tamanho

de gota foi a que utilizou a fração seca em “spray dryer” a 120°C, sendo que houve tendência a aumentar o tamanho de gota com o aumento da temperatura de secagem. A fração liofilizada mostrou resultado próximo à fração seca em “spray dryer” a 180°C. Em pH 7 também foi observada tendência de aumento do tamanho médio de gota com o aumento da temperatura de secagem. Comparando os dois valores de pH estudados, estes se mostraram bem diferentes, com as emulsões em pH 7 apresentando um diâmetro médio de gotas até quatro vezes maior que as emulsões em pH 3, confirmando os resultados de estabilidade apresentados na Figura 4.20.

As Figuras 4.22 e 4.23 mostram a distribuição de tamanho das gotas das emulsões obtidas a partir das frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja liofilizada ou seca em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C em pH 3 ou 7. A tendência para a distribuição bimodal de algumas frações é caracterizada pela sua funcionalidade relativamente pobre (baixa capacidade emulsificante) e é uma indicação de emulsões mais instáveis (CHOVE et. al., 2007). As amostras que apresentaram distribuição bimodal são as emulsões obtidas com as frações secas em “spray dryer” a 150 e 180°C em pH 3 e seca em “spray dryer” a 180°C em pH 7 para a fração rica em 7S e em todas as amostras obtidas pela fração rica em 11S. Esses resultados condizem com as análises anteriores de estabilidade, mostrando que essas são as emulsões mais instáveis com exceção da emulsão obtida pela fração 7S seca em “spray dryer” a 180°C em pH 7, que não apresentou separação macroscópica de fases. Como emulsões obtidas a alta pressão em pH neutro (pH 7) mostram algum grau de agregação, pode haver a formação de uma rede tridimensional (CHEN et al., 1999), que se for relativamente forte pode ser a responsável pela não separação de fases, apesar da distribuição bimodal e do maior diâmetro médio de gota apresentado.

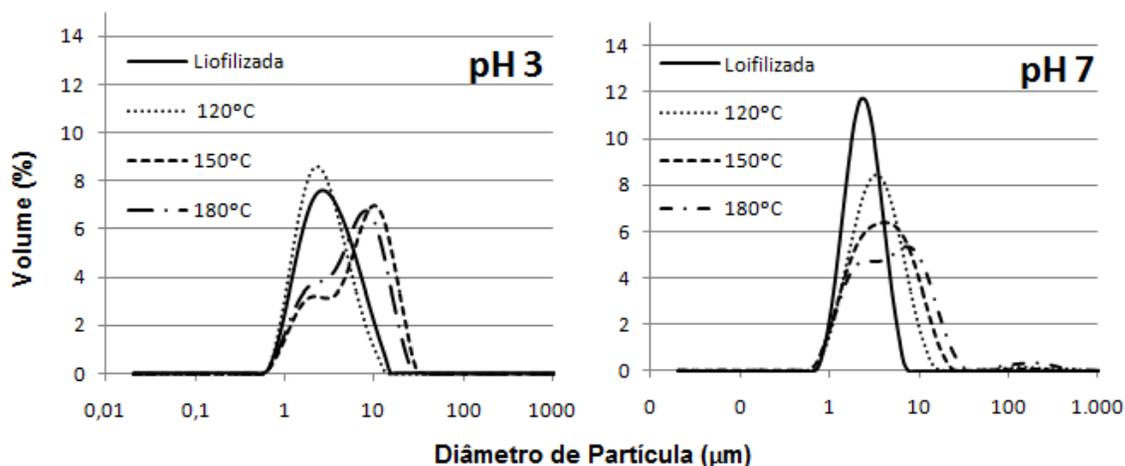


Figura 4.22. Curvas de distribuição de tamanho de partícula das emulsões obtidas a partir da fração 7S da proteína de soja em pH 3 e 7.

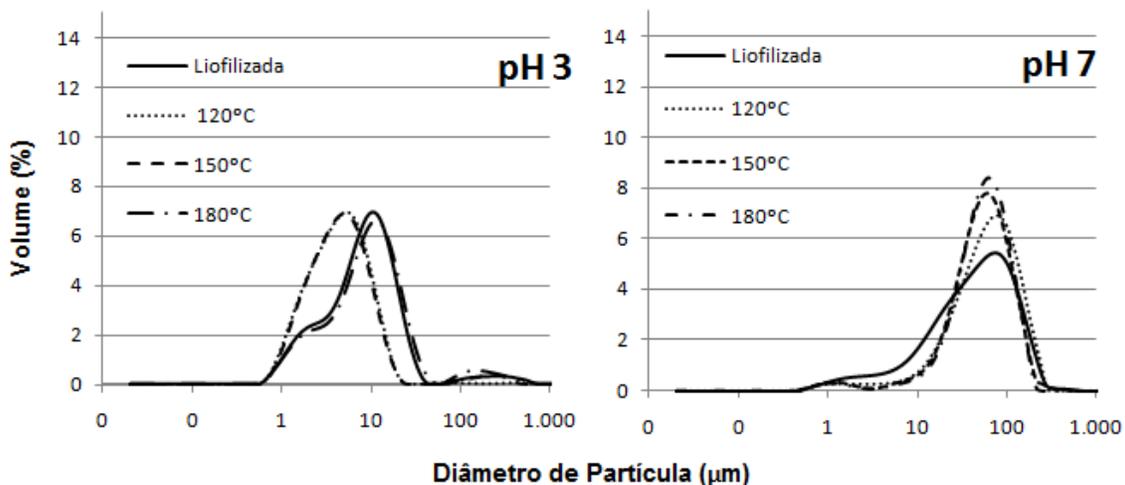


Figura 4.23. Curvas de distribuição de tamanho de partícula das emulsões obtidas a partir da fração 11S da proteína de soja em pH 3 e 7.

4.3.5. Medidas Reológicas

4.3.5.1. Estado Estacionário (Curvas de Escoamento)

Medidas reológicas em estado estacionário foram realizadas para todas as emulsões. As Figuras 4.24 e 4.25 apresentam as curvas de escoamento referentes à segunda subida das emulsões estabilizadas pelas frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja em pH 3 e 7, respectivamente. A maioria das emulsões mostrou aumento da viscosidade aparente com o

tempo de cisalhamento, caracterizando esses fluidos como reopéticos. Uma explicação para este tipo de comportamento é que a aplicação de uma força de cisalhamento em uma emulsão aumenta tanto a frequência quanto a eficiência das colisões entre as gotas, o que leva a um aumento da agregação e, conseqüentemente, a um aumento na viscosidade aparente com o tempo (MCCLEMENTS, 2005). No entanto, algumas amostras não apresentaram reopexia, e sim tixotropia, e são mostradas no detalhe das Figuras 4.24 e 4.25.

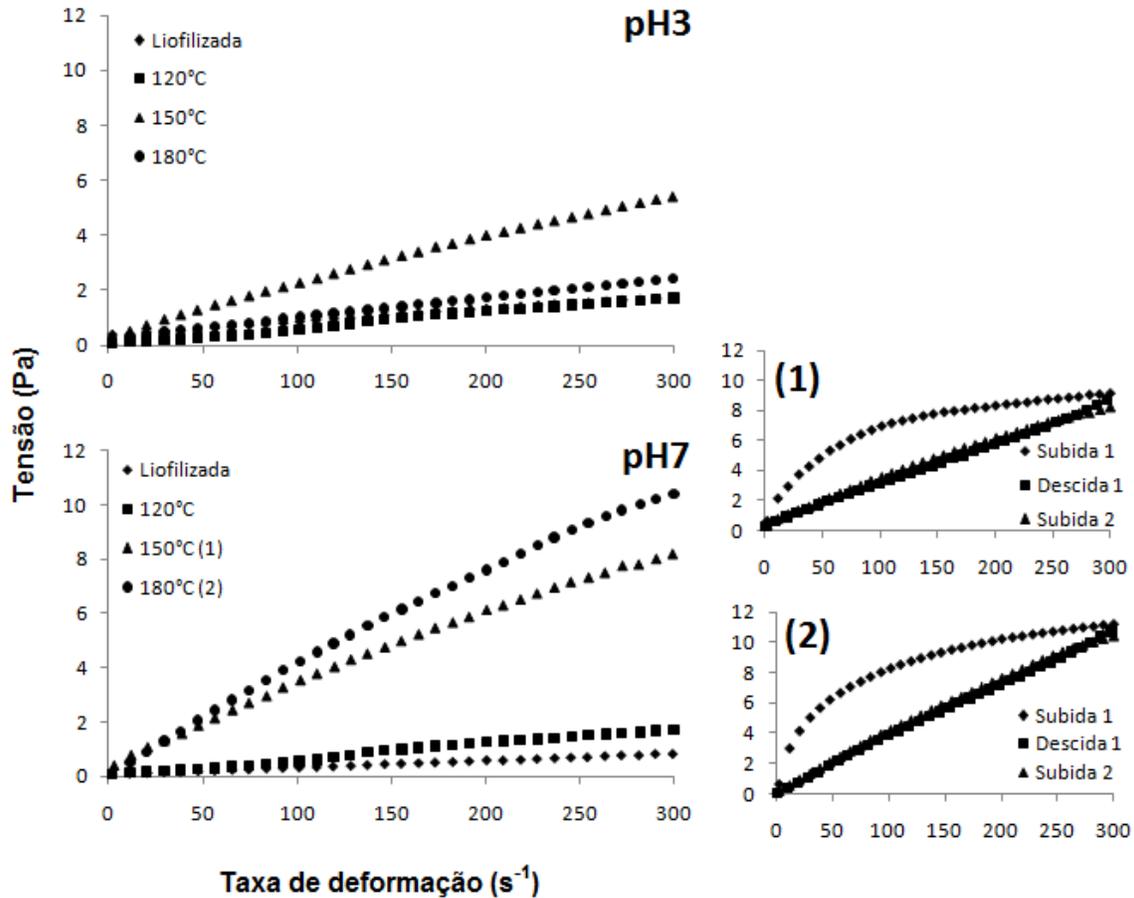


Figura 4.24. Propriedades reológicas das emulsões estabilizadas pela fração rica em 7S da proteína da soja em pH 3 e 7: curvas de escoamento da segunda subida da fase superior das emulsões. Detalhes: curvas de escoamento da emulsão em pH 7 da fração seca em “spray dryer” a 150°C (1) e a 180°C (2).

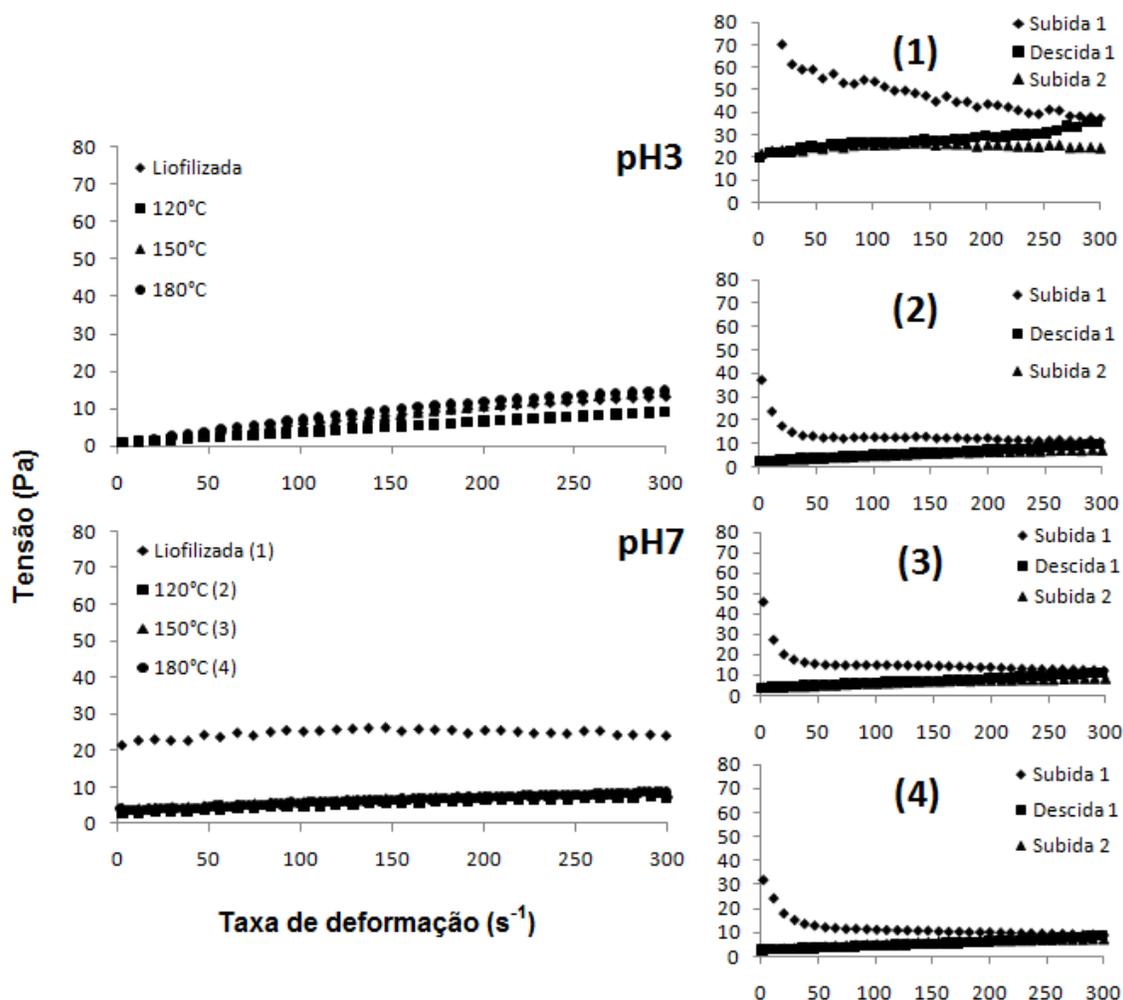


Figura 4.25. Propriedades reológicas das emulsões estabilizadas pela fração rica em 11S da proteína da soja em pH 3 e 7: curvas de escoamento da segunda subida da fase superior das emulsões. Detalhes: curvas de escoamento da emulsão em pH 7 da fração liofilizada (1) e seca em “spray dryer” a 120°C (2), 150°C (3) e a 180°C (4).

Na Figura 4.24, os detalhes (1) e (2) representam as emulsões estabilizadas com a fração rica em 7S seca nas temperaturas mais elevadas e preparadas em pH 7, mostrando uma ruptura estrutural da emulsão na primeira etapa do escoamento, apesar da maior viscosidade em comparação com as demais amostras em estado estacionário. O comportamento reopético também foi observado para a fase superior das emulsões estabilizadas com a fração rica em 11S em pH 3, porém em pH 7 também foi verificada tixotropia (Figura 4.25 (1), (2), (3) e (4)) devido à presença de uma rede tridimensional (CHEN et. al., 2011) provavelmente formada pela gelificação dessas emulsões. É interessante observar que a emulsão estabilizada pela fração liofilizada apresentou maior

tixotropia em relação às outras amostras. Além disso, a tixotropia diminuiu com o aumento da temperatura de secagem em “spray dryer” da fração rica em 11S da proteína da soja.

Em estado estacionário, observa-se a existência de um comportamento pseudoplástico para todas as amostras, exceto para a fase superior das emulsões em pH 7 estabilizadas pela fração rica em 11S, que mostrou um comportamento mais complexo e não foi possível o ajuste da equação da lei da potência. Os parâmetros de ajuste da equação da lei da potência e os valores de viscosidade aparente foram calculados e são mostrados na Tabela 4.13. A taxa de deformação de 100 s^{-1} foi arbitrariamente escolhida considerando alguns processos como escoamento em tubulação, agitação ou mastigação de alimentos (STEFFE, 1996).

Tabela 4.13. Efeito das diferentes condições de secagem nas propriedades reológicas das emulsões estabilizadas pelas frações ricas em 7S e 11S da proteína da soja em pH 3 e 7. Índice de consistência (k), índice de comportamento (n), tensão residual (σ_0) e viscosidade (η) a 100 s^{-1} da fase superior dessas emulsões. SD: "spray dryer".

Amostra		pH 3				
		σ_0 (Pa)	k (Pa.s ⁿ)	n	η_{100} (Pa.s)	R ²
7S	Liofilizada	0	0,011 ^{aA}	0,889 ^{abAB}	0,009 ^{aA}	0,9983
	SD 120°C	0	0,006 ^{aA}	0,983 ^{bAC}	0,010 ^{aA}	0,9994
	SD 150°C	0	0,050 ^{bB}	0,836 ^{aB}	0,025 ^{bB}	0,9997
	SD 180°C	0	0,009 ^{aA}	0,955 ^{bAD}	0,010 ^{aA}	0,9997
11S	Liofilizada	0	0,147 ^b	0,796 ^b	0,059 ^{cA}	0,9955
	SD 120°C	0	0,118 ^b	0,852 ^b	0,037 ^{aA}	0,9945
	SD 150°C	0	0,078 ^a	0,924 ^c	0,053 ^{bA}	0,9963
	SD 180°C	0	0,270 ^c	0,712 ^a	0,072 ^{dA}	0,9946
Amostra		pH 7				
		σ_0 (Pa)	k (Pa.s ⁿ)	n	η_{100} (Pa.s)	R ²
7S	Liofilizada	0	0,002 ^{aA}	1,029 ^{bCD}	0,003 ^{aC}	0,9991
	SD 120°C	0	0,005 ^{aA}	1,039 ^{bCD}	0,005 ^{aC}	0,9904
	SD 150°C	0	0,086 ^{bC}	0,786 ^{aAB}	0,036 ^{bD}	0,9988
	SD 180°C	0	0,096 ^{bC}	0,846 ^{aABD}	0,042 ^{cE}	0,9977
11S	Liofilizada	-	-	-	0,259 ^{bB}	-
	SD 120°C	-	-	-	0,067 ^{aA}	-
	SD 150°C	-	-	-	0,061 ^{aA}	-
	SD 180°C	-	-	-	0,053 ^{aA}	-

* Letras iguais correspondem a valores estatisticamente iguais ($p < 0,05$).

**Letras minúsculas representam a análise estatística das amostras no mesmo pH;

***Letras maiúsculas representam a análise estatística das amostras entre os dois valores de pH.

A partir da Tabela 4.13, pode-se observar que para as emulsões em pH 3 estabilizadas pela fração rica em 7S, a viscosidade e o índice de consistência (k) se apresentaram maiores na amostra estabilizada pela fração seca em "spray dryer" a 150°C, sendo menores e estatisticamente iguais nas demais amostras. Por outro lado, os valores de índice de comportamento (n) apresentaram um comportamento inverso. Já para as emulsões em pH 7 estabilizadas pela fração rica em 7S, a viscosidade e o índice de consistência (k)

aumentaram com a intensidade do tratamento térmico. Os valores de índice de comportamento (n) também apresentaram um comportamento inverso, ou seja, diminuíram com o aumento da temperatura de secagem. Comparando os dois valores de pH estudados, a viscosidade e o índice de consistência (k) se apresentaram maiores valores nas emulsões em pH 7 com as maiores temperaturas de secagem, enquanto que os valores de índice de comportamento (n) foram menores. Assim, a elevação da temperatura de secagem da fração rica em 7S promoveu aumento da viscosidade e da pseudoplasticidade, favorecendo a estabilidade dessas emulsões.

A partir da Tabela 4.13 também pode-se observar que para as emulsões em pH 3 estabilizadas pela fração rica em 11S, a viscosidade e o índice de consistência (k) foram maiores nas amostras secas a maiores temperaturas, mas a amostra estabilizada pela fração liofilizada mostrou viscosidade mais elevada que as demais emulsões. Já para as emulsões em pH 7 estabilizadas pela fração rica em 11S, a viscosidade foi maior na amostra estabilizada pela fração liofilizada e não mostrou diferença entre as demais emulsões. Comparando os dois valores de pH estudados, a viscosidade foi maior na amostra em pH 7 estabilizada pela fração liofilizada, sendo menor e estatisticamente igual nas demais amostras. Assim, tem-se que a elevação da temperatura de secagem em “spray dryer” da fração rica em 11S da proteína de soja promoveu um aumento da viscosidade da fase superior das emulsões em pH 3, e a sua diminuição em pH 7, provavelmente como consequência da possível gelificação dessas emulsões já mencionada anteriormente, o que favoreceu a estabilidade em pH ácido e desfavoreceu a estabilidade no pH neutro.

4.3.5.2. Ensaio oscilatório

As Figuras 4.26 e 4.27 apresentam as medidas reológicas dinâmicas da fase superior das emulsões estabilizadas pelas frações ricas em 7S e 11S da proteína de soja em pH 3 e 7 respectivamente.

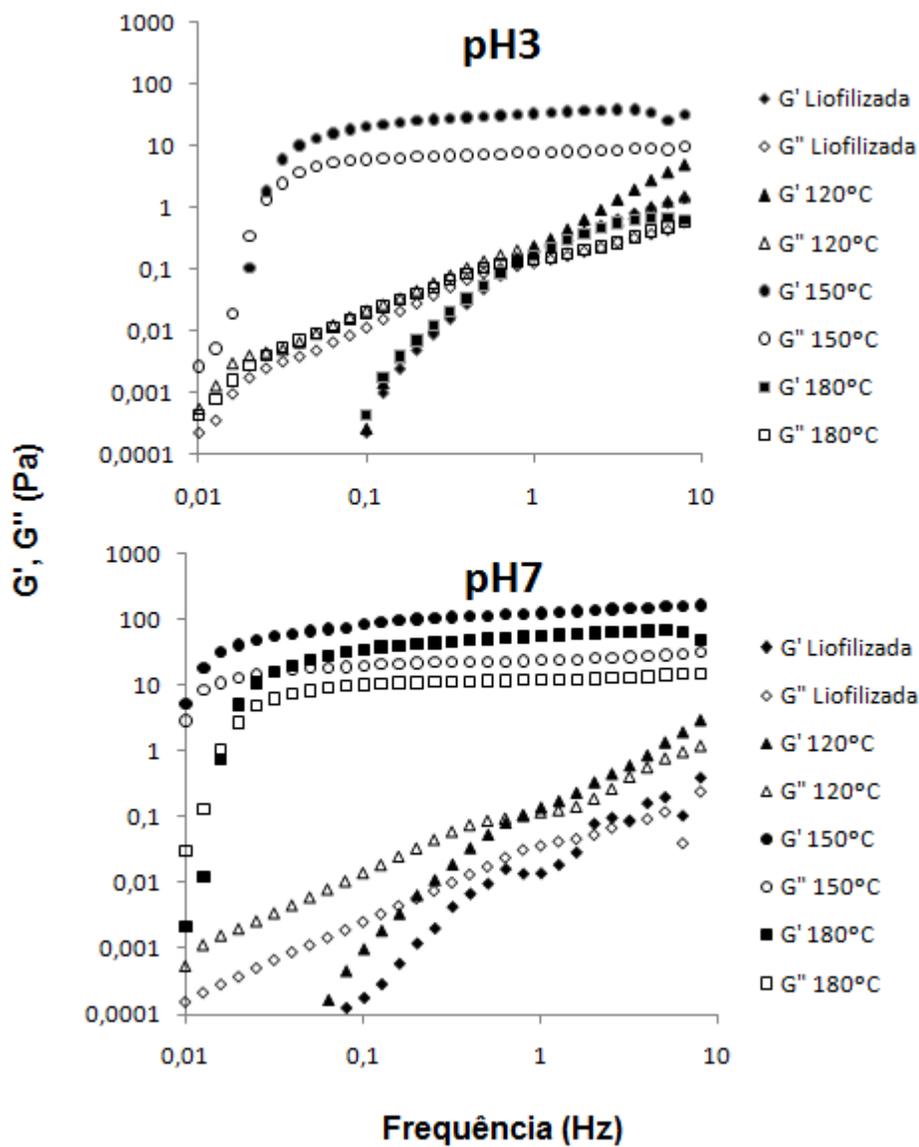


Figura 4.26. Espectro mecânico da fase superior das emulsões estabilizadas pela fração rica em 7S da proteína de soja em pH 3 e 7.

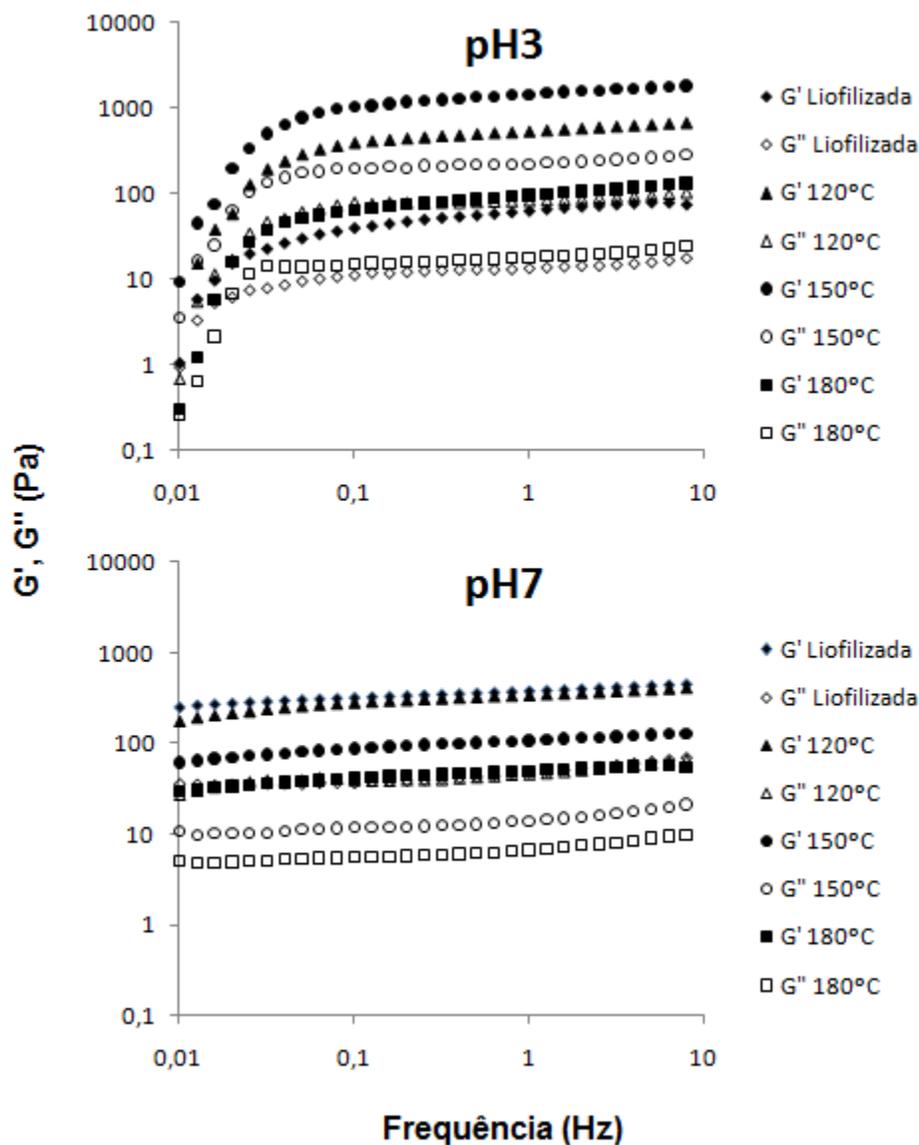


Figura 4.27. Espectro mecânico da fase superior das emulsões estabilizadas pela fração rica em 11S da proteína de soja em pH 3 e 7.

As medidas reológicas dinâmicas da fase superior das emulsões estabilizadas pela fração 7S mostradas na Figura 4.26 indicam que quase todos os sistemas apresentaram comportamento de solução semi-diluída. Neste caso, G'' foi maior do que G' em baixas frequências e estes dois módulos se cruzaram em aproximadamente 1 Hz nas emulsões em pH 3 estabilizadas pelas frações liofilizadas e secas em “spray dryer” a 120 e 180°C e nas emulsões em pH 7 estabilizadas pelas frações liofilizadas e seca em “spray dryer” a 120°C.

As medidas reológicas dinâmicas da fase superior das emulsões estabilizadas pela fração rica em 11S mostradas na Figura 4.27 indicaram que a maior parte dos sistemas em

pH 3 se cruzaram a baixa frequência (próximo a 0,01 Hz), apresentando um comportamento de solução concentrada, sendo G' maior que G'' em todo o intervalo de frequência. Os sistemas em pH 7 apresentaram um comportamento de gel, com G' maior que G'' e com pouca dependência da frequência estudada.

O módulo de armazenamento ou G' é a medida da componente elástica dos agregados e representa a resistência da estrutura, contribuindo para a formação de uma rede tridimensional e G'' (ou módulo de dissipação) é a medida da componente viscosa e representa as interações que não contribuem para a natureza tridimensional da rede (SUN & ARNFIELD, 2010). A relação entre G'' e G' pode indicar o tipo de rede formada e esta pode ser expressa pela tangente do ângulo de fases, $\tan \delta$ (G''/G'). Menores valores de $\tan \delta$ representam estruturas tridimensionais mais fortes (SUN & ARNFIELD, 2010), e este comportamento foi observado para a fração rica em 11S, como mostra a Figura 4.28.

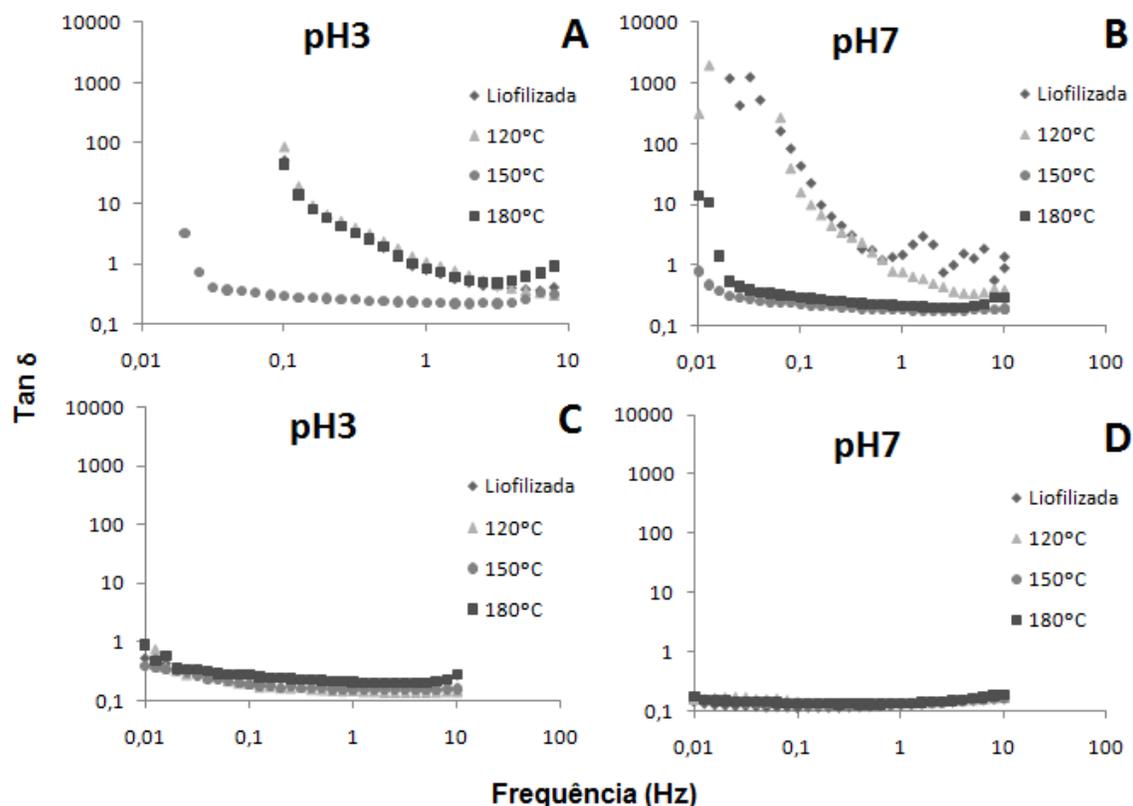


Figura 4.28. Tangente do ângulo de fase ($\tan \delta$) em relação à frequência para as frações 7S (A e B) e 11S (C e D) em diferentes condições de secagem (liofilizadas e secas em “spray dryer” a 120, 150 ou 180°C).

CAPÍTULO 5. CONCLUSÃO

Os diferentes métodos de secagem e a variação da temperatura de secagem no “spray dryer” não levaram à desnaturação das proteínas, mantendo as propriedades funcionais desejáveis. Quanto às características do pó, as amostras secas em “spray dryer” e em maiores temperaturas foram as mais claras. Estas também apresentaram menor umidade devido às taxas de secagem mais elevadas, porém as altas temperaturas resultaram na obtenção de produtos em pó com baixa densidade volumétrica, o que resultaria em pacotes/embalagens de maior volume e, conseqüentemente, um maior valor agregado do produto.

Na gelificação das frações 7S e 11S foi observado que o módulo elástico predominou sobre o viscoso nas amostras em pH 3, ocorrendo o inverso em pH 7. Esse predomínio do módulo elástico sobre o viscoso foi bem mais acentuado na fração rica em 11S, que mostrou géis mais fortes que a fração rica em 7S. Além disso, os géis obtidos a partir das frações secas em condições mais brandas (liofilizada ou seca a 120°C) eram mais fortes e com a rede tridimensional mais resistente. A redução do pH (de 7 para 3) também levou ao aumento da resistência e deformabilidade dos géis. Já para o módulo de elasticidade, nem o pH e nem as condições de secagem influenciaram os resultados. De forma geral, as melhores propriedades mecânicas (resistência, dureza e deformação) foram obtidas para os géis formados com a fração rica em 11S da proteína de soja. Apesar deste fato, esses géis apresentaram-se com a metade da capacidade de retenção de água que os obtidos a partir da fração rica em 7S.

Com relação à capacidade emulsificante, os resultados indicaram que as emulsões estabilizadas pela fração 7S da proteína de soja foram mais estáveis que as emulsões estabilizadas pela fração 11S. As emulsões em pH 7 se mostraram mais estáveis que as obtidas em pH 3. Nas emulsões estabilizadas pela fração 7S, a condição de secagem mais drástica levou à emulsão mais estável em pH 7, devido provavelmente à mais densa rede tridimensional formada que impediu a separação de fases, mostrando um menor índice de cremação, tamanho de gota e um comportamento mais viscoso que elástico. No entanto, em pH 3 o aumento da temperatura de secagem diminuiu a estabilidade das emulsões obtidas a partir das frações ricas em 7S, ou seja, a emulsão adicionada da fração liofilizada foi a mais estável. As emulsões estabilizadas pela fração 11S da proteína de soja gelificaram ao passar pelo processo de homogeneização a alta pressão, o que foi

confirmado pelos ensaios reológicos oscilatórios. O maior índice de cremeação e tamanho de gota confirmaram que esta fração (11S) levou a emulsões mais instáveis que as estabilizadas pela fração 7S.

A secagem em condições mais brandas levou à obtenção de frações ricas em 7S e 11S com a melhor capacidade gelificante, levando à formação de géis mais resistentes especialmente em pH 3. As condições mais brandas de secagem também favoreceram a capacidade emulsificante da fração 7S em pH 3 e da 11S em pH 7. No entanto, frações 7S e 11S secas em condições mais drásticas formaram emulsões mais estáveis em pH 7 e 3, respectivamente. Assim, pode-se afirmar a partir dos resultados obtidos que as condições de extração e secagem das frações da proteína de soja deveriam ser adequadas e ajustadas de acordo com a aplicação final, ou seja, de forma a se obter melhores propriedades gelificante ou emulsificante.

CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ACHOURI, A., BOYE J. I., BELANGER D., CHIRON T., YAYLAYAN V. A., YEBOAH F. K. Functional and molecular properties of calcium precipitated soy glycinin and the effect of glycation with k-carrageenan. **Food Research International**, v.43, p.1494–1504, 2010.

ALUKO R.E., YADA R.Y. Structure-function relationships of cowpea (*Vigna unguiculata*) globulin isolate: influence of pH and NaCl on physicochemical and functional properties. **Food Chemistry**, v.53, p.259-265, 1995.

ALVAREZ, P.A.; RAMASWAMY, H.S.; ISMAIL, A.A. High pressure gelation of soy proteins: Effect of concentration, pH and additives. **Journal of Food Engineering**, v.88, p.331–340, 2008.

ANTON, N., BENOIT, J., SAULNIER, P. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates - A review. **Journal of Controlled Release**, v. 128, p. 185–199, 2008.

AOAC. Dairy Products. In: **Official Method of Analysis of AOAC International**, 16th edition, v.2, 1996.

BAINY, E.M.; TOSH, S.M.; CORREDIG, M.; WOODROW, L.; POYSA, V. Protein Subunit Composition Effects on the Thermal Denaturation at Different Stages During the Soy Protein Isolate Processing and Gelation Profiles of Soy Protein Isolates. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v.85, p.581-590, 2008.

BATISTA, A.P.; PORTUGAL, C.A.M.; SOUSA, I.; CRESPO, J.G.; RAYMUNDO, A. Accessing gelling ability of vegetable proteins using rheological and fluorescence techniques. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 36, p. 135–143, 2005.

BERISTAIN, C. I., GARCIA, H. S., VERNON-CARTER, E. J. Spray-dried encapsulation of cardamom (*elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*prosopis juli-ora*) gum. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.34, p.398–401, 2001.

BRUNAUER, S.; EMMET, T.H.; TELLER, F. Adsorption of gases in multimolecular layers. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, DC, v. 60, n. 2, p. 309-319, 1938.

CAILLARD, R.; SUBIRADE, M. Quantification of the compactibility of several protein isolates: Relationship between isolate physical–chemical properties and compaction properties. **Food Research International**, v. 44, p. 917–924, 2011.

CASSINI, A.S., MARCZAK L.D.F., NOREÑA, C.P.Z. Water adsorption isotherms of texturized soy protein. **Journal of Food Engineering**, v.77, p.194–199, 2006.

CAVALLIERI, A.L.F.; GARCEZ, M.M.; TAKEUCHI, K.P.; CUNHA R.L. Heat-induced gels of soy protein and j-carrageenan at different pH values. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p.1130–1137, 2010.

CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. P. **Proteínas Alimentárias**. Ed. Acribia: Zaragoza, 1989. 346p.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Amino acids, peptides and proteins**. In Food Chemistry; Fennema, O. R., Ed. Acribia: Zaragoza, Spain, 1993; Chapter 5, p. 275-414.

CHEN, J.; DICKINSON, E.; EDWARDS, M. Rheology of acid-induced sodium caseinate stabilized emulsion gels. **Journal of Texture Studies**, v.30, p.377-396, 1999.

CHEN, J.; R. VOGEL, R.; WERNERB. S.; HEINRICHA, G.; CLAUSSEC, D.; DUTSCHK V. Influence of the particle type on the rheological behavior of Pickering emulsions. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 382, p. 238–245, 2001.

CHINMA, C. E.; ARIAHU, C. C.; ABU, J. O. Chemical composition, functional and pasting properties of cassava starch and soy protein concentrate blends. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 1-7, 2011.

CHO Y-H., MCCLEMENTS, D.J. Theoretical Stability Maps for Guiding Preparation of Emulsions Stabilized by Protein-Polysaccharide Interfacial Complexes. **Langmuir**, v.25(12), p.6649–6657, 2009.

CHOVE B.E.; GRANDISONB, A. S.; LEWIS, M.J. Some functional properties of fractionated soy protein isolates obtained by microfiltration. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 1379–1388, 2007.

CORREDIG, M., KEERATI-U-RAI, M. Effect of Dynamic High Pressure Homogenization on the Aggregation State of Soy Protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p. 3556–3562, 2009.

DAMODARAN, S. Refolding of thermally unfolded soy proteins during the cooling regime of the gelation process: Effect on gelation. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.36, p.262–269, 1988.

DEAK, N.A., MURPHY, P.A., JOHNSON, L.A. Characterization of fractionated soy proteins produced by a new simplified procedure. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v.84, p.137-149, 2007.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, v.17, p.25-39, 2003.

DICKINSON, E., STANSBY, G. Emulsion Stability. In E. Dickinson & G. Stansby (Eds.), *Advances in food emulsions and foams*. London, UK: Elsevier Applied Science, 1988.

DJABOUROV, M. LEBLOND, J.; PAPON, P. Gelation of aqueous gelatin solutions. Structural investigation. **Journal of Physics of France**, v.49, p.319–332, 1988.

DUMAY, E. **Denaturation thermique de la β -lactoglobuline et proprietes gelifiantes des concentres proteiques de lactoserum.** In *Proprietes Fonctionnelles des Macromolecules Alimentaires*; Lorient, D., Colas, B., Le Meste, M., Ed.; Technique et Documentation, Paris, 1988; p. 67-87.

ELIAS F.O., CAPITANI C.D., MOLINA S., AÑON, M.C., PACHECO M.T.B. Propriedades Emulsificantes de Complexos de Proteínas de Soro de Leite com Polissacarídeos. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2006.

EMBRAPA, **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.** Embrapa Soja. In: <http://www.cnpsa.embrapa.br>, 2011.

FASOLIN, L. H. **Extração e estudo do polissacarídeo solúvel de soja e sua avaliação na estabilidade e reologia de suco de graviola adicionado de isolado protéico de soja.** Campinas, 2009. 124p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

FENNEMA, O.R. Water and ice. In: FENNEMA, O.R. (Ed.). *Food Chemistry*. New York, Marcel Dekker, 1996, p.17-94.

FLEXOMAGAZINE. **Colorimetria - Transformando Teoria em Resultados (Parte 2)** Disponível em: <http://flexomagazine.blogspot.com/2010/10/colorimetria-transformando-teoria-em.html>

GARTI, N., LESER, M.E. Emulsification properties of hydrocolloids. **Polymers for Advanced Technologies**, v.12, p.123 135, 2001.

GABAS, A.L.; TELIS, V.R.N.; SOBRAL, P.J.A.; TELIS-ROMERO, J. Effect of maltodextrin and arabic gum in water vapor sorption thermodynamic properties of vacuum dried pineapple pulp powder. **Journal of Food Engineering**, v.82, n.2, p.246-252, 2007.

GALAZKA, V.B.; E. DICKINSON; LEDWARD, D.A. Emulsifying behaviour of 11S globulin Vicia faba in mixtures with sulphated polysaccharides: comparison of thermal and high-pressure treatments. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 425–435, 1999.

GERMAN B., DAMODARAN S., KINSELLA J. E. Thermal dissociation and association behavior of soy proteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 30, p. 807-811, 1982.

GOULA, A. M., ADAMOPOULOS, K. G. Spray drying of tomato pulp: Effect of feed concentration. **Drying Technology**, v.22 (10), p.2309–2330, 2004.

GOULA, A.M., ADAMOPOULOS K.G. A new technique for spray drying orange juice concentrate. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 342–351, 2010.

GREENSPAN, L. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. **Journal of Research of the National Bureau of Standards - Physics and Chemistry**, v.81, n.1, p.89-96, 1977.

GUERRERO L. C., FLORES V.P., ANCONA D.B., ORTIZ G.D. Functional Properties of Flours and Protein Isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* Seeds L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.584-591, 2002.

HALSEY, G. Physical adsorption on uniform surfaces. **Journal of Chemical and Physics**, Melville, v.16, n.10, p.931-937, 1948.

HEERTJE, I. Structure and function of food products: a review. **Food Structure**, v. 12, p. 343-364, 1993.

HENDERSON, S.M. A basic concept of equilibrium moisture. **Agricultural Engineering**, St. Joseph, v. 33, n. 1, p. 29-32, 1952.

HORNE, D.S.; LEAVER, J. Milk proteins on surfaces. **Food hydrocolloids**, v. 9, p. 91-95, 1995.

HU, X-Z., CHENG, Y-Q., FAN, J-F., LU, J-F., YAMAKI, K., LI, L-T. Effects of Drying Method on Physicochemical and Functional Properties of Soy Protein Isolates. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.34, p.520-540, 2009.

HUA, Y.; CUI, S. W.; WANG, Q.; MINE, Y.; POYSA, V. Heat induced gelling properties of soy protein isolates prepared from different defatted soybean flours. **Food Research International**, v. 38, p. 377–385, 2005.

KEERATI-U-RAI, M.; CORREDIG, M. Effect of Dynamic High Pressure Homogenization on the Aggregation State of Soy Protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p. 3556–3562, 2009.

KEOWMANEECHAI, E., MCCLEMENTS, D.J. Influence of EDTA and citrate on physicochemical properties of whey protein-stabilized oil-in-water emulsions containing CaCl₂. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 0, p. 145-7153, 2002.

KIM H-J., DECKER E.A., MCCLEMENTS D.J. Preparation of multiple emulsions based on thermodynamic incompatibility of heat-denatured whey protein and pectin solutions. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.586–595, 2006.

KIMURA A., FUKUDA T., ZHANG M., MOTOYAMA S., MARUYAMA N., UTSUMI S. Comparison of physicochemical properties of 7s and 11s globulins from pea, fava bean, cowpea, and french bean with those of soybean-french bean 7s globulin exhibits excellent properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.10273–10279, 2008.

KINSELLA, J.E.; SOUCIE, W.G. **Food Proteins**. AOCS: New York, 1989.

KIOKIAS S.; BOT A. Temperature cycling stability of preheated acidified whey protein-stabilised o/w emulsion gels in relation to the internal surface area of the emulsion. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.246–252, 2006.

KOCHER, P. N., & FOEGEDING, E. A. Microcentrifuge-based method for measuring water-holding of protein gels. **Journal of Food Science**, v.58, p.1040–1046, 1993.

KULMYRZAEV, A.; CHANAMAI, R.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of pH and CaCl₂ on the stability of dilute whey protein stabilized emulsions. **Food Research International**, v. 33, p. 15-20, 2000.

LAEMMLI U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.685-689, 1970.

LAM, M.; PAULSEN, P.; CORREDIG, M. Interactions of soy protein fractions with high-methoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 4726–4735, 2008.

LAU, M.H.; TANG, J.; PAULSON, A. T. Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. **Food Research International**, v.33, p.665-671, 2000

LAWAL O.S., ADEBOWALE K.O., OGUNSANWO B.M., SOSANWO O.A., BANKOLE S.A. On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (*Parkia biglobosa*). **Food Chemistry**, v.92, p.681–691, 2005.

LEDWARD, D. A. **Gelation of gelatin**. In Functional Properties of Food Macromolecules; Mitchell, J. R., Ledward, D. A., Eds.; Elsevier Applied Science Publishers: London, 1986; Chapter 4, p. 171-201.

LEWICKI, P. The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 32, n. 66, p. 553-557, 1997.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology, and utilization**. New York: Chapman e Hall, 1997. 532 p.

LIU M., LEE D.S., DAMODARAN S. Emulsifying properties of acidic subunits of soy 11S globulin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.4970-4975, 1999.

MAKRI, E.A., PAPALAMPROU, E., DOXASTAKIS, G.I. Study of functional properties of seed storage proteins from indigenous European legume crops (lupin, pea, broad bean) in admixture with polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.583–594, 2005.

MAKRI, E.A., DOXASTAKIS, G.I. Emulsifying and foaming properties of *Phaseolus vulgaris* and *coccineus* proteins. **Food Chemistry**, v.98, p.558–568, 2006a.

MAKRI, E.A., DOXASTAKIS, G.I. Study of emulsions and foams stabilized with *Phaseolus vulgaris* or *Phaseolus coccineus* with the addition of xanthan gum or NaCl. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p.1863–1870, 2006b.

MAKRI, E.A., DOXASTAKIS, G.I. Study of emulsions stabilized with *Phaseolus vulgaris* or *Phaseolus coccineus* with the addition of Arabic gum, locust bean gum and xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.1141–1152, 2006c.

MALHOTRA, A.; COUPLAND, J. N. The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. **Food Hydrocolloids**, v.18, p. 101–108, 2004.

MANION, B.; CORREDIG, M. Interactions between whey protein isolate and soy protein fractions at oil-water interfaces: effects of heat and concentration of protein in the aqueous phase. **Journal of Food Science**, v.71, p.343-349, 2006.

MATSUMURA, Y.; MORI, T. **Gelation**. In Hall, G.M. Methods of testing protein functionality. 1.ed. London: Chapman e Hall, 1996. P. 76-109.

MCCLEMENTS, D.J. Protein-stabilized emulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v.9, p.305–313, 2004.

MCCLEMENTS, D.J. **Food emulsions: principles, practice, and techniques**. Washington: CRC Press, 2005.

MCKLEM, L. K. **Investigation of molecular forces involved in gelation of commercially prepared soy protein isolates**. Raleigh: Faculty of North Carolina State University, 2002, 72p. (Tese de Mestrado)

MOLINA, E., PAPADOPOULOU, A., LEDWARD, D.A. Emulsifying properties of high pressure treated soy protein isolate and 7S and 11S globulins. **Food Hydrocolloids**, v.15, p.263-269, 2001.

MOLINA, E.; DEFAYE, A.B.; LEDWARD, D.A. Soy protein pressure-induced gels. **Food hydrocolloids**, v.16, p.625-632, 2002.

NAKAMURA, T.; UTSUMI, S.; MORI, T. Interactions during heat-induced gelation in a mixed system of soy 7S and 11S globulins. **Agricultural and Biological Chemistry**. v. 50, p. 2429-2435, 1986.

NAGANO, T.; HIROTSUKA, M.; MORI, H.; KOHYAMA, K.; NISHINARIT, K. Dynamic Viscoelastic Study on the Gelation of 7S Globulin from Soybeans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, p.941–944, 1992.

OSWIN, C.R. Isotherms and package life: Some advances in emballistics. **Food Chemistry**, v.12, p.179-188, 1983.

PARKINSON E.L., DICKINSON E. Inhibition of heat-induced aggregation of a β – lactoglobulin-stabilized emulsion by very small additions of casein. **Colloids and Surfaces B**, v.39, p.23-30, 2004.

PARKINSON E.L., DICKINSON E. Synergistic stabilization of heat-treated emulsions containing mixture of milk proteins. **International Dairy Journal**, v.17, p.95-103, 2007.

PATINO J.M.R., RODRÍGUEZ NINÑO M.R., SÁNCHEZ C.C. Protein–emulsifier interactions at the air–water interface. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v.8, p.387–395, 2003.

PERRECHIL F. de A. **Avaliação estrutural e reológica de emulsões simples e múltiplas estabilizadas por caseinato de sódio e jataí**. 2008. 117p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PICONE, C.S.F. **Influência da conformação da gelatina sobre a gelificação das proteínas do leite**, 2005. 141p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PUPPO, M.C.; AÑÓN, M.C. Effect of pH and Protein Concentration on Rheological Behavior of Acidic Soybean Protein Gels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p. 3039–3046, 1998.

PUPPO, M.C.; AÑÓN, M.C. Rheological properties of acidic soybean protein gels: Salt addition effect. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 167–176, 1999.

PUPPO, M. C.; CHAPLEAU, N.; SPERONI, F.; LAMBALLERIE, M. de; AÑÓN, M. C.; ANTON, M. Physicochemical modifications of high-pressure-treated soybean protein isolates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 1564-1571, 2004.

PUPPO, M. C.; BEAUMAL, V.; SPERONI, F.; LAMBALLERIE, M. de; AÑÓN, M. C.; ANTON, M. β -Conglycinin and glycinin soybean protein emulsions treated by combined temperature-high-pressure treatment. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 389-397, 2011.

RAGAB D.M., BABIKER E.E., ELTINAY A.H. Fractionation, solubility and functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) proteins as affected by pH and/or salt concentration. **Food Chemistry**, v.84, p.207–212, 2004.

RAMOS, V.A. **Desenvolvimento de emulsificantes naturais a base de soja**. In: XVII Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp. Campinas, 2009.

- RAO, M.A., 1999. Rheology of Fluid and Semisolid Foods Principles and Applications. Aspen Publishers, Inc., USA.
- REINECCIUS, G. A. The spray drying of food flavours. **Drying Technology**, v.22(6), p.1289–1324, 2004.
- RESCH, J.J., DAUBERT, C.R., ALLEN FOEGEDING, E. A comparison of drying operations on the rheological properties of whey protein thickening ingredients. **International Journal of Food Science and Technology**, v.39, p.1023–1031, 2004.
- RIGHETTO, A.M.; NETTO, F.M. Effect of encapsulating materials on water sorption, glass transition and stability of juice from immature acerola. **International Journal of Food Properties**, v.8, n.2, p.337-346, 2005.
- ROSENBERG, M., KOPELMAN, I. J., TALMON, Y. A scanning electron microscopy study of microencapsulation. **Journal of Food Science**, v.50(1), p.139–144, 1985.
- ROSENTHAL, A. J. **Food Texture**. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, p.311, 1999.
- SAIDU, J. E. P. **Development, evaluation and characterization of protein-isoflavone enriched soymilk**. Louisiana: Faculty of the Louisiana State University, 2005, 216p. (Tese de Doutorado).
- SÁNCHEZ C.C., NINÑO M.R.R., CARO A.L., PATINO J.M.R. Biopolymers and emulsifiers at the air–water interface. Implications in food colloid formulations. **Journal of Food Engineering**, v.67, p.225–234, 2005.
- SANDERS T.A.B. DHA status of vegetarians. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.81, p.137–141, 2009.
- SPERONI, F.; BEAUMAL, V.; LAMBALLERIE, M. de; ANTON, M.; AÑÓN, M.C.; PUPPO, M.C. Gelation of soybean proteins induced by sequential high-pressure and thermal treatments. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.1433–1442, 2009.
- STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. Freeman Press, East Lansing, p.1-93, 1996.
- SOBRAL P. A., PALAZOLO, G. G., WAGNER, J.R. Thermal Behavior of Soy Protein Fractions Depending on Their Preparation Methods, Individual Interactions, and Storage Conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.10092–10100, 2010.
- SUN, X.D.; ARNFIELD, S.D. Gelation properties of salt-extracted pea protein induced by heat treatment. **Food Research International**, v.43, p.509–515, 2010.

THANASUKARNA P., PONGSAWATMANITA R., MCCLEMENTS D.J. Influence of emulsifier type on freeze-thaw stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.1033–1043, 2004.

TSENG, Z., LIU, C., YANG, X., LI, L., TANG, C., JIANG, Y. Fractionation of Soybean Globulins Using Ca²⁺ and Mg²⁺: A Comparative Analysis **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v.86, p.409–417, 2009.

TONON, R.V. **Secagem por atomização do suco de açaí: influência das variáveis de processo, qualidade e estabilidade do produto**. Campinas, 2009. 212p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

TONON, R.V., GROSSO, C.R.F., HUBINGER, M.D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 43, p. 907–914, 2010.

TORRES, L.M.; CALDERAS, F.; INFANTE, J.A.G.; LAREDO, R.F.G.; GUZMAN, N.E.R.; HARTE, F. Mechanical Properties of Ovalbumin Gels Formed at Different Conditions of Concentration, Ionic Strength, pH, and Aging Time. **Food Bioprocess Technol**, v. 3, p.150–154, 2010.

TORREZAM, R. Efeitos do processamento à alta pressão nas propriedades funcionais da proteína de soja e suas misturas com polissacarídeos. Campinas, 2007. 281p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

TSENG, Y-C.; XIONGA, Y.L.; YANG, F. Influence of inulin/oligofructose on the acid-induced cold aggregation and gelation of preheated soy proteins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, p.2650–2658, 2009.

URUAKPA F.O., ARNTFIELD, S.D. Emulsifying characteristics of commercial canola protein–hydrocolloid systems. **Food Research International**, v.38, p. 659–672, 2005.

UTSUMI S., KINSELLA J.E. Structure-Function Relationships in Food Proteins: Subunit Interactions in Heat-Induced Gelation of 7S, 11S, and Soy Isolate Proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.33, p.297-303, 1985.

VALIM, M.D.; CAVALLIERI A.L.F.; CUNHA, R.L. Whey Protein/Arabic Gum Gels Formed by Chemical or Physical Gelation Process. **Food Biophysics**, v.4, p.23–31, 2009.

VAN DEN BERG, C. Description of water activity of foods for engineering purposes by means of the GAB model of sorption. In: MCKENNA, B.M. (ED.). **Engineering and Food**, v. 1, p. 311-321, 1984.

VAN KLEEF, F. S. M. Thermally induced protein gelation: gelation and rheological characterization of highly concentrated ovalbumin and soy protein gels. **Biopolymers**, v. 25, p. 31-59, 1986.

VAN VLIET, T.; VAN DIJK, H.J.M.; ZOON, P.; WALSTRA, P. Relation between syneresis and rheological properties of particle gels. **Colloid and Polymer Science**, v. 269, p.620-627, 1991.

WANG, C.Y., JOHNSON, L.A. Functional properties of hydrothermally cooked soy protein products. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v.78, p.189-195, 2001.

WANG, Y.; LI, D.; WANG, L-J; ADHIKARI, B. The effect of addition of flaxseed gum on the emulsion properties of soybean protein isolate (SPI). **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 56-62, 2011.

YUAN, D-B.; MIN, W.; YANG, X-Q.; TANG, C-H.; HUANG, K-L.; GUO, J.; WANG, J-M.; WU, N-N.; ZHENG, H-G.; QI, J-R. An improved isolation method of soy b-conglycinin subunits and their characterization. **Journal of the American Oil Chemistry Society**, v. 87, p. 997-1004, 2010.